

## Süt Örneğinde FTIR ile Birleştirilmiş Kemometrik Yöntemle Tağış Tespiti

Sinem ÇOLAK\* 

\*Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Çaycuma Gıda ve Tarım MYO, Kimya ve Kimyasal İşleme Bölümü, Zonguldak, Türkiye

\*Sorumlu Yazar/Corresponding Author  
E-mail: sinem.colak@beun.edu.tr

Araştırma Makalesi/Research Article  
Geliş Tarihi/Received: 13.11.2023  
Kabul Tarihi/Accepted: 23.01.2024

### ÖZ

Bu Hayvansal kaynaklı gıda ürünlerinde tür tağışı tüketici hakları ve işletme güvenilirliği açısından çok önemlidir. Bu çalışmada, çiğ manda sütüne %0,25, %0,5, %1, %1,5, %2, %5, %10, %15 ve %20 oranlarında çiğ inek sütü karıştırılmış ve örnekler Fourier Dönüşümlü Kızılötesi - Zayıflatılmış Toplam Yansıma (FTIR-ATR) cihazında analiz edilmiştir. Elde edilen spektrumlarda biyobelirteç olarak kullanılabilecek piklerin verileri tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirilmiştir. Spektrumda  $1742\text{ cm}^{-1}$  karbonil piki (C=O),  $1640\text{ cm}^{-1}$  amid I piki,  $1160\text{ cm}^{-1}$  laktoza ait C-O piki,  $2920\text{ cm}^{-1}$  CH<sub>2</sub> piki,  $2850\text{ cm}^{-1}$  CH piki ve  $3300\text{ cm}^{-1}$  O-H piki olmak üzere toplam 6 pike ait veriler kemometrik analizlerde kullanılmıştır. Hiyerarşik kümeleme analizi (HCA) ile dendrogramda %15'in üzerindeki konsantrasyonlar tespit edilmiş ancak %15 (v/v) konsantrasyonun altındaki değerlerin ayrımı dendrogramda beklenen önemlilikte yansımamıştır. Temel bileşen analizinde (PCA) ise, su ve protein içeriklerinin oldukça benzer olduğu buna karşın yağ asitlerin, laktoz ve karbonil içeriklerinin  $p<0,05$  düzeyinde anlamlı farklılık oluşturduğu ancak konsantrasyonlarda beklenen ayrımı gerçekleştirmediği görülmüştür. Saf, %1, %2 ve %5 konsantrasyonların daha düşük PC1, %15 ve 20 çoğunluğunun daha yüksek PC1 skoruna sahip olduğu görülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** FTIR, Süt tağışı, PCA, HCA.

## Adulteration Detection in Milk Sample by Chemometric Method Combined with FTIR

### ABSTRACT

Species adulteration in food products of animal origin is very important for consumer rights and business reliability. In this study, raw buffalo milk was mixed with 0.25%, 0.5%, 1%, 1.5%, 1.5%, 2%, 5%, 10%, 15% and 20% raw cow milk and the samples were analyzed by Fourier Transform Infrared-Attenuated Total Reflectance (FTIR-ATR). The data of the peaks that can be used as biomarkers in the obtained spectra were evaluated by one-way analysis of variance (ANOVA). The data of a total of 6 peaks,  $1742\text{ cm}^{-1}$  carbonyl peak (C=O),  $1640\text{ cm}^{-1}$  amide I peak,  $1160\text{ cm}^{-1}$  C-O peak of lactose,  $2920\text{ cm}^{-1}$  CH<sub>2</sub> peak,  $2850\text{ cm}^{-1}$  CH peak and  $3300\text{ cm}^{-1}$  O-H peak, were used in chemometric analysis. By hierarchical clustering analysis (HCA), cow's milk above 15% (v/v) concentration could be detected in the dendrogram, but the separation of values below 15% (v/v) concentration was not reflected in the dendrogram with the expected significance. Principal component analysis (PCA) showed that water and protein contents were quite similar, whereas fatty acids, lactose and carbonyl contents were slightly different but did not show the expected separation in concentrations. Pure, 1%, 2% and 5% concentrations had lower PC1 scores, while 15% and 20% had higher PC1 scores.

**Keywords:** FTIR, Milk adulteration, PCA, HCA.

### Cite as;

Çolak, S. (2024). Süt Örneğinde FTIR ile Birleştirilmiş Kemometrik Yöntemle Tağış Tespiti, *Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 5(1), 20-31. Doi: 10.53501/rteufemud.1389597

## 1. Giriş

İnsan yaşamında sağlık açısından önemli rolü nedeniyle süt ve süt ürünlerindeki tür taşıması, tüketici hakları ve işletme güvenilirliği açısından çok önemlidir. Genellikle hayvansal kaynaklı süt ve süt ürünleri inek, manda, keçi, deve ve koyundan elde edilmekte olup, en önemli besleyici bileşenleri proteinler, karbonhidratlar, vitaminler ve yağlardır (Miller vd., 2007). Ayrıca, süt insanlar için mükemmel bir mineral kaynağıdır (Pietrzak-Fiećko ve Kamelska-Sadowska, 2020).

Günümüzde süt içeriklerini ve taşımasını tespit eden farklı teknikler mevcuttur. Süt matrislerinin benzerliği ve karışımlarının tanımlanmasının zorluğu göz önüne alındığında taşıması belirlemek için genellikle; yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), gaz kromatografisi (GC), kolorimetrik yöntemler, immünolojik testler, elektroforetik teknikler, DNA tanımlamasına dayalı polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve kütle spektrometresi kullanılmaktadır (Lindmark-Månsson vd., 2003; Song vd., 2011; Pesic vd., 2011; Maryam vd., 2014; Parodi, 2004; Kamal ve Karoui, 2015; Di Pinto vd., 2017). Genel olarak bu teknikler, yüksek maliyetli olup, zaman alıcıdır dolayısıyla, numune hazırlama prosedürü ve vasıflı profesyonel işgücü gerektirir. Bu yüzden son yıllarda pek çok gıda ürünüde taşıması tespiti için, spektroskopik yöntemler ile kemometrik tekniklerin birleştirildiği çalışmalar yapılmaktadır (Lohumi vd., 2013).

Moleküllerin yapısının aydınlatılmasında kullanılan Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR), protein, yağ asitleri ve karbonhidrat gibi bileşiklerin belirlenmesinde sıklıkla kullanılmaktadır (Dole vd., 2011). Taranan numuneye göre yakın-kızılötesi spektroskopisine (NIR) göre kıyaslandığında daha fazla kimyasal bilgi sağladığı için bilgi bakımından daha zengin bir analitik tekniktir. Bunun nedeni, FTIR spektroskopisinin, NIR bölgesinde ölçülen kombinasyon bantları yerine temel titreşimleri ölçmesidir. Bu çalışmada kullanılan orta dalga boylu kızılötesi (MIR)

bölgesi, fonksiyonel grup bölgesi olarak bilinen 4000 ile 1500  $\text{cm}^{-1}$  ve parmak izi bölgesi olarak adlandırılan 1500 ile 500  $\text{cm}^{-1}$  olmak üzere iki farklı bölgeyi kapsamaktadır. Fonksiyonel grup bölgesinde, O-H ve N-H esneme (3700-2500  $\text{cm}^{-1}$ ), X-H esneme (4000-2500  $\text{cm}^{-1}$ , X'in C, N, O veya S olduğu), C-H germe (3300-2800  $\text{cm}^{-1}$ ) ve aldehitlerde C-H germe (2900-2700  $\text{cm}^{-1}$ ) gibi frekanslar biyolojik örneklerdeki fonksiyonel grupları temsil etmektedir. Ayrıca 2700-1850  $\text{cm}^{-1}$  bölgesinde üçlü bağlar ( $\text{C}\equiv\text{C}$ ,  $\text{C}\equiv\text{N}$  veya  $\text{C}=\text{C}=\text{C}$ ) ve 1950'den 1450  $\text{cm}^{-1}$ 'e kadar olan bölgede de çok çeşitli çift bağlı fonksiyonel gruplar ( $\text{C}=\text{C}$ ,  $\text{C}=\text{N}$ ,  $\text{C}=\text{O}$ , vb.) yer almaktadır (Hsu, 1997). FTIR cihazı tek başına veya farklı aparatlar ile birlikte kullanılabilir. Örneğin, Zayıflatılmış Toplam Yansımaya-Attenuated Total Reflectance (ATR) aparatı katı ve sıvı numuneler ile doğrudan çalışma imkanı sunmakta ve aparatta yer alan kristal, germanyum, çinko selenür ve elmas gibi maddeler içermektedir (Fagan ve O'Donnell, 2008; Sun, 2009). FTIR-ATR spektroskopisinin en önemli avantajları, örnek kalınlığından etkilenmemesi, sarf malzeme maliyetinin düşük olması, uygun biçimde temasının analiz için yeterli olması, hem kalitatif hem de kantitatif analizin hiç numune hazırlamadan veya minimum numune hazırlığıyla gerçekleştirilebilmesidir (Fagan ve O'Donnell, 2008; Sun, 2009). Spektroskopik yöntemlerin bir diğer avantajı ise, analiz sonucu elde edilen spektral verilerin, kemometrik bir çalışma ile numunenin bileşiminin tahmin edilmesine izin vermesidir (Lohumi vd., 2013; Damto vd., 2023; Limm vd., 2023; Siska vd., 2023). FTIR spektroskopisi ile farklı süt türlerine ait yağ asidi ve protein bileşimleri gibi çeşitli kimyasal bileşenlerinin tahminine ilişkin çalışmalar mevcuttur (De Marchi vd., 2011). Ancak bu çalışmalar çoğunlukla tek bir hayvan türünden alınan süt örnekleriyle gerçekleştirilmiştir (Sen vd., 2021). Farklı hayvan türlerine ait süt örnekleri arasındaki farkı belirlemek için yapılan bir çalışmada GC, FTIR ve Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM)-Enerji Dağılım X Işını spektroskopisi (EDX) kullanılmıştır. FTIR analizi sonucunda ise, tüm süt örneklerinin 1384

cm<sup>-1</sup>'de benzer pik verdiği ve spektrumda ayırt edici piklerin de var olduğu bildirilmiştir (insan için: 1077 cm<sup>-1</sup>, eşek için: 1092 cm<sup>-1</sup>, manda için: 3435 cm<sup>-1</sup>, inek için: 3450 cm<sup>-1</sup> ve keçi için: 3443 cm<sup>-1</sup>) (Ravinder vd., 2021). Farklı bir çalışmada da keçi ve inek sütü örneklerinde taşıyıcı tespiti için Raman ve FTIR Spektroskopisi kullanılmıştır (Yaman, 2020).

Ekonomik açıdan manda sütü inek sütünden daha pahalıdır ve dolayısıyla yoğurt gibi türevleri de daha yüksek katma değere sahiptir. Bu nedenle, taşıyıcı edilme olasılığı yüksektir. Manda sütü ve türevlerinde bulunan ana katkı, daha düşük maliyeti ve daha fazla bolluğu nedeniyle inek sütüdür. Bu çalışmanın temel amacı, farklı konsantrasyonlarda inek sütü karıştırılmış manda sütü örneklerinin FTIR-ATR analizi ile spektral incelemesinin yapılarak biyobelirteç olabilecek piklerin araştırılmasıdır.

## 2. Materyal ve Metot

### 2.1. Örneklerin Toplanması ve Hazırlanması

Zonguldak ilinde yer alan mandıra çiftliklerinden 18 adet manda ve 10 adet inekten çiğ süt örnekleri, sağımdan hemen sonra yaklaşık 1L'lik cam şişelerde alınmış ve soğuk zincir ile laboratuvara getirilmiştir. Çiğ manda sütüne %0,25, %0,5, %1, %1,5 %2, %5, %10, %15 ve %20 (v/v) oranlarında çiğ inek sütü karıştırılarak, her manda türü için 9 farklı konsantrasyonda ikili karışımlar hazırlanmıştır. Örnek alma ve hazırlama aynı gün içinde yapılmış ve örnekler herhangi bir ön işleme tabi tutulmadan ham halde kullanılarak analiz edilene kadar -18 °C de saklanmıştır.

### 2.2. FTIR-ATR Analizi

Çalışmada Perkin Elmer Frontier marka Fourier Dönüşümü Kızılötesi-Zayıflatılmış Toplam Yansıma (FTIR-ATR) spektroskopisi kullanılmıştır. Spektrumlar, 4 cm<sup>-1</sup>'lik tarama çözünürlüğü ile 500-4000 cm<sup>-1</sup> arasında yer alan Orta-IR (MIR) bölgesinden toplanmıştır. Her analiz üç tekrarlı alınmış ve sonuçlar geçirgenlik yüzdesi (%T) olarak ifade edilmiştir. Gürültünün en aza indirilmesi için örnekler ile oda sıcaklığında analiz yapılmıştır. Her analiz sonrası

kristal, hekzan, etil alkol ve saf su ile temizlenmiştir.

### 2.3. İstatistiksel Analiz

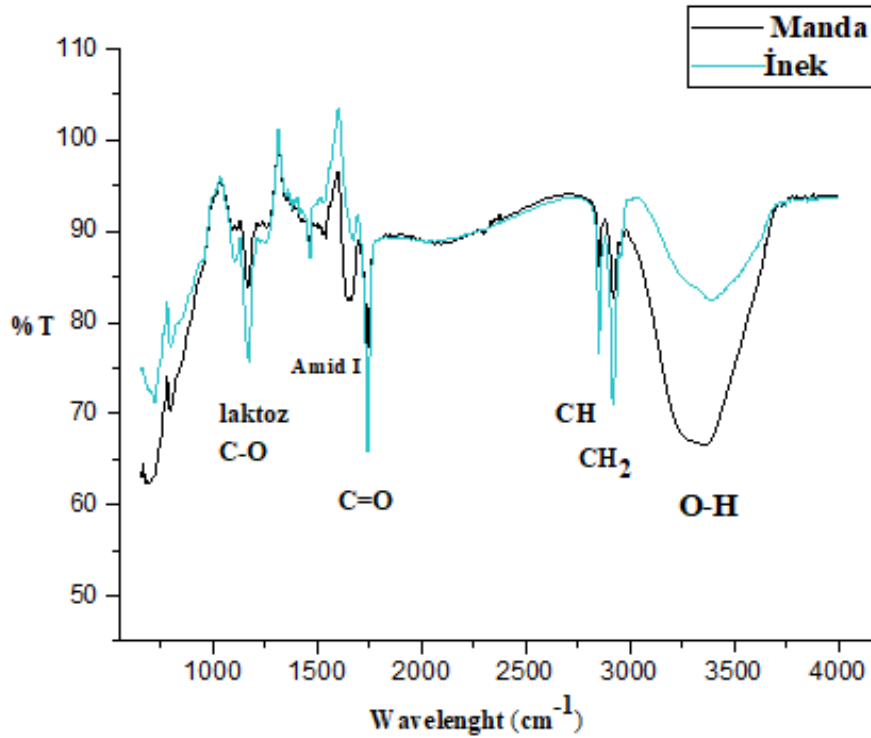
FTIR spektral verilerinin değerlendirilmesinde genellikle hiyerarşik kümelenme analizi (HCA) ve temel bileşen analizi (PCA) kullanılmaktadır (Helm vd., 1991; Handi vd., 2005; Mohsin vd., 2019; Pereira vd., 2020). Bu çalışmada da farklılık oluşturan piklerin taşıyıcı tespitinde kullanılabilirliği çok değişkenli istatistiksel yöntemler kullanılarak değerlendirilmiştir. Belirlenen piklerin anlamlı farklılık oluşturup oluşturmadığı tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile belirlenmiştir. Hiyerarşik kümelenme analizi (HCA) ile belirlenen piklerin, konsantrasyonları ne kadar birbirinden ayırabildiği araştırılmıştır. Her spektral veri kümesinin noktaları arasındaki Öklid mesafelerini hesaplamak ve seçici olan spektral özellikleri kümelemek için ise temel bileşenler analizi (PCA) uygulanmıştır.

Ortalama spektrumlardan elde edilen verilerin istatistiksel analizi için SPSS 22 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, ABD) paket programı kullanılmıştır. Veri setinde örnek sayısı (n) 50'nin üstünde olduğu için, verilerin normal dağılıp dağılmadığı Kolmogorov-Smirnov testi ile belirlenmiştir. Bu testin sonuçlarına göre normal dağılım gösteren verilerin anlamlı farklılık oluşturup oluşturmadığı tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile incelenmiştir. Levene testi ile p>0,05 olan varyanslar homojen kabul edilmiştir. Spektrumların çizimi ve konsantrasyona bağlı değişimin incelenmesi, HCA ve PCA analizi için ise OriginPro 2015 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA) programı kullanılmıştır.

## 3. Bulgular ve Tartışma

### 3.1. Sütlerin Spektral Değerlendirmesi

Spektral incelemedeki ana amaç konsantrasyon artışı ile farklılık gösteren laktoz, protein gibi diğer süt bileşenlerini tespit etmektir. Saf manda ve inek sütlerine ait FTIR spektrumları Şekil 1'de verilmiştir.



**Şekil 1.** Saf manda ve inek sütüne ait FTIR spektrumu  
**Figure 1.** FTIR spectrum of pure buffalo and cow milk

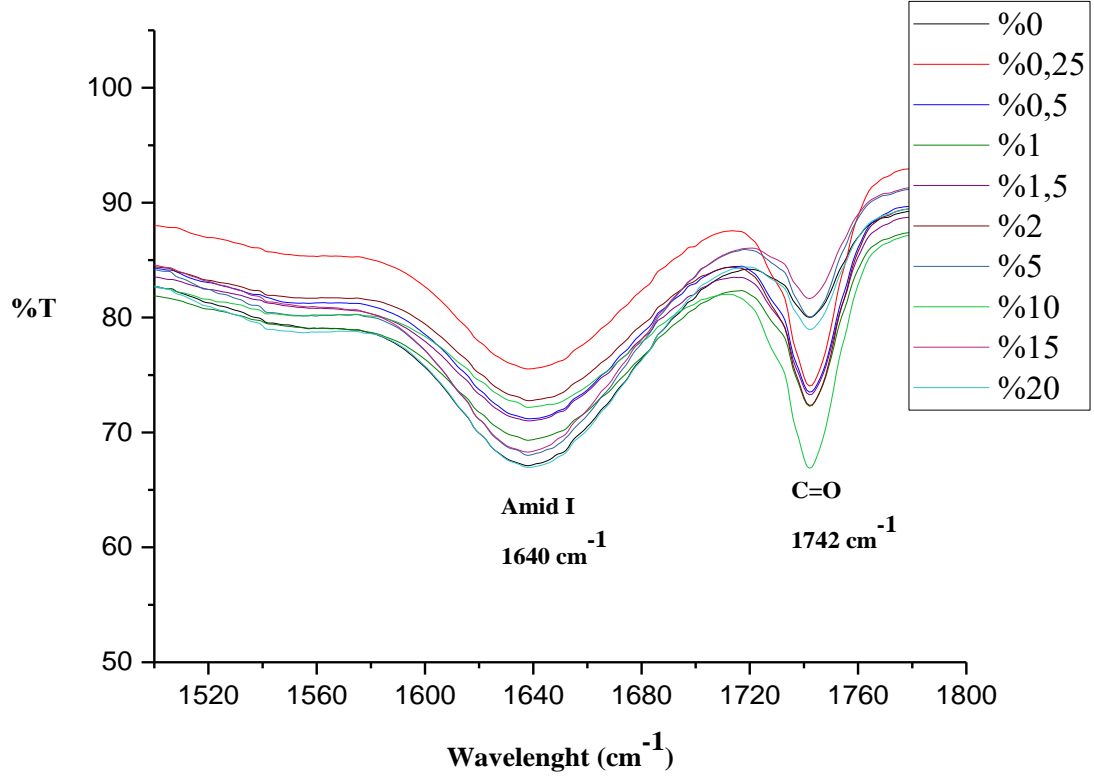
Tüm örneklerde,  $3600\text{ cm}^{-1}$  ile  $3200\text{ cm}^{-1}$  arasındaki bölgede farklı su miktarlarından kaynaklanabilecek O-H gerilme pikleri gözlenmiştir (Kang, 2016). FTIR spektral bölgelerinde,  $1700\text{--}1600\text{ cm}^{-1}$  arasındaki amid I piki, protein molekülü hakkında ve  $1200\text{--}900\text{ cm}^{-1}$  aralığı süt karbonhidratları hakkında bilgi vermektedir (Zhou vd., 2006). Spektrumda yer alan  $2943\text{ cm}^{-1}$ ,  $2920\text{ cm}^{-1}$  ve  $2850\text{ cm}^{-1}$ 'deki karakteristik pikler sırasıyla  $\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_2$  ve CH gerilme titreşimlerine ait olup (Coates, 2000), yağ asitlerinden geldiği düşünülmektedir. C=O gerilmeleri ise  $1950\text{--}1450\text{ cm}^{-1}$  aralığında pik vermiştir (Hsu, 1997).

İkili karışımların spektral incelemeleri sonucunda, konsantrasyon artışı ile ortak farklılık gözlenen altı karakteristik pik belirlenmiş olup bu pikler üzerinden istatistiksel analizler yapılmıştır. Bu pikler; pik 1:  $1742\text{ cm}^{-1}$  karbonil piki (C=O), pik 2:  $1640\text{ cm}^{-1}$  amid I piki, pik 3:  $1160\text{ cm}^{-1}$  laktoza ait C-O piki, pik 4:  $2920\text{ cm}^{-1}$   $\text{CH}_2$  piki, pik 5:  $2850\text{ cm}^{-1}$  CH piki ve pik 6:  $3300\text{ cm}^{-1}$  O-H piki olarak belirlenmiştir.

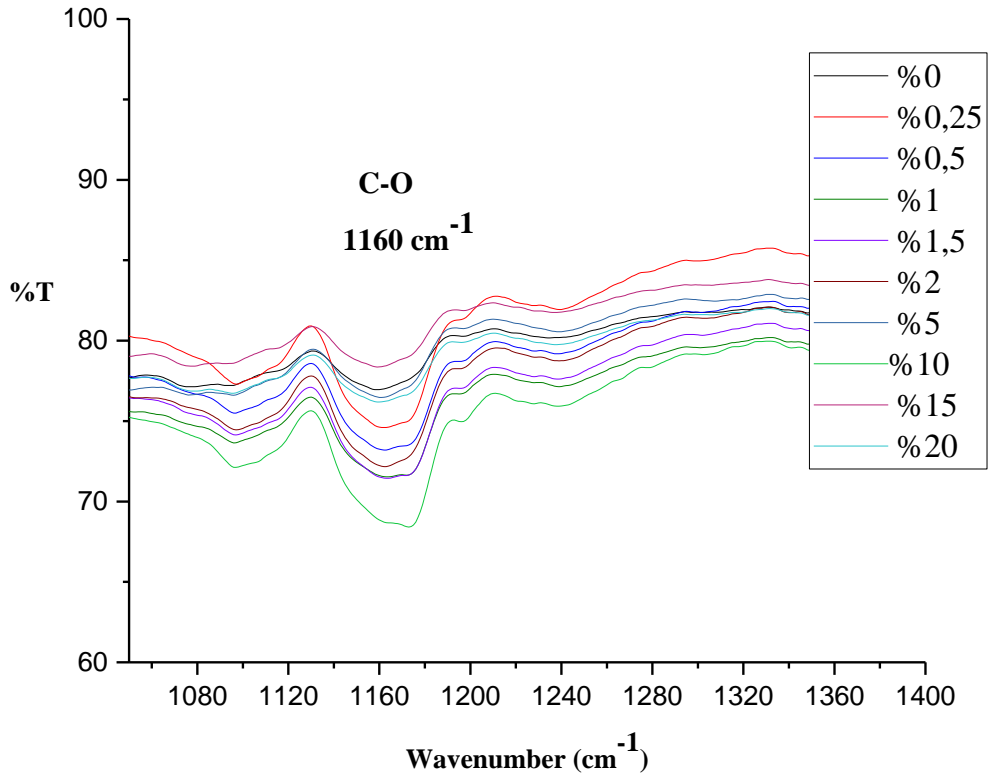
Analiz sonucu elde edilen ikili karışımların FTIR spektrumlarında konsantrasyonlardaki değişimler sırasıyla; Şekil 2'de C=O (pik 1) ve amid I (pik 2) pikleri, Şekil 3'de laktoza ait C-O piki (pik 3), Şekil 4'de  $\text{CH}_2$  (pik 4) ve CH (pik 5) pikleri ve Şekil 5'de O-H piki (pik 6) için verilmiştir.

### 3.2. ANOVA Analizi Bulguları

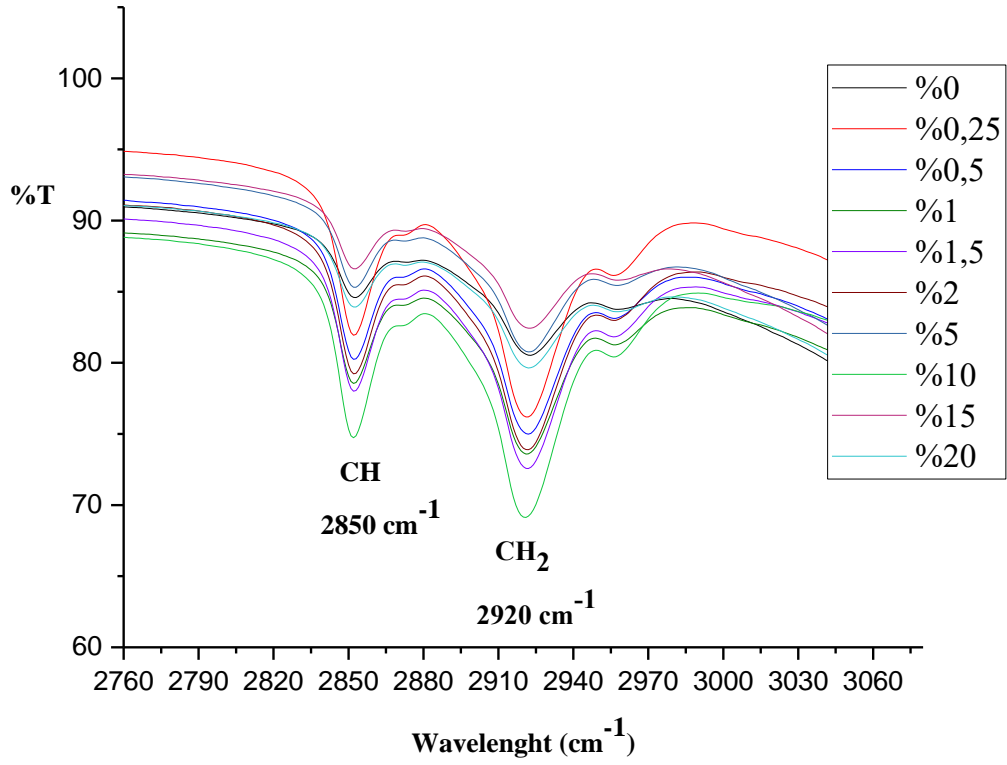
Belirlenen piklerdeki konsantrasyona bağlı farklılıklar incelenmiş ve bazı konsantrasyonlardaki piklerin birbirinden ayrılmadığı gözlenmiştir. Bu yüzden istatistiksel analizlerde saf manda sütünün yanında %1, %2, %5, %10, %15 ve %20 (v/v) oranlarındaki karışımların verileri kullanılmıştır. Öncelikle Kolmogorov-Smirnov testi ile verilerin normal dağıldığı belirlenmiştir. Belirlenen piklerin konsantrasyonlar üzerinde anlamlı farklılık oluşturup oluşturmadığını anlamak için ANOVA analizi yapılmıştır. Analizde %0-10 (v/v) ve %10-20 (v/v) olmak üzere 2 farklı konsantrasyon aralığı kullanılmıştır. Örnek sayısı %0-10 (v/v) için 72 ve %10-20 (v/v) için 54 olmak üzere toplam 126 tanedir. Tablo 1'de analiz sonuçları verilmiştir.



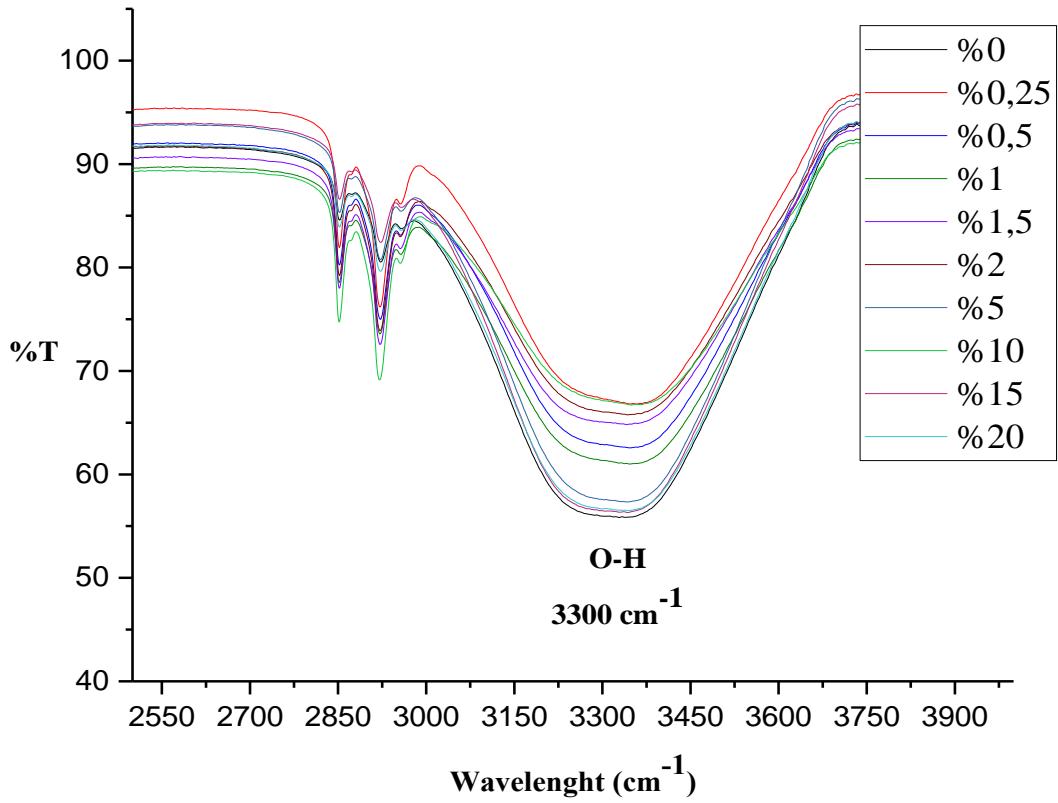
Şekil 2. C=O ve amid I pikleri  
Figure 2. C=O and amide I peaks



Şekil 3. Laktoza ait C-O piki  
Figure 3. C-O peak of lactose



Şekil 4.  $\text{CH}_2$  ve CH pikleri  
Figure 4.  $\text{CH}_2$  and CH peaks



Şekil 5. O-H piki  
Figure 5. O-H peak

**Tablo 1.** Piklerin farklı konsantrasyon üzerine etkilerine ait varyans analiz tablosu  
**Table 1.** Analysis of variance table for the effects of peaks on different concentrations

		Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Kareler Ortalaması	F değeri	P değeri
<b>Pik 1</b>	Gruplar Arası	288,488	1	288,488	6,033	0,015*
	Gruplar İçi	5929,568	124	47,819		
	Toplam	6218,056	125			
<b>Pik 2</b>	Gruplar Arası	0,766	1	0,766	0,008	0,931
	Gruplar İçi	12515,141	124	100,929		
	Toplam	12515,907	125			
<b>Pik 3</b>	Gruplar Arası	160,473	1	160,473	4,818	0,030*
	Gruplar İçi	4130,101	124	33,307		
	Toplam	4290,574	125			
<b>Pik 4</b>	Gruplar Arası	193,122	1	193,122	4,250	0,041*
	Gruplar İçi	5635,076	124	45,444		
	Toplam	5828,198	125			
<b>Pik 5</b>	Gruplar Arası	265,224	1	265,224	7,797	0,006**
	Gruplar İçi	4217,828	124	34,015		
	Toplam	4483,051	125			
<b>Pik 6</b>	Gruplar Arası	34,656	1	34,656	0,374	0,542
	Gruplar İçi	11489,931	124	92,661		
	Toplam	11524,586	125			

\* p<0,05 \*\* p<0,01

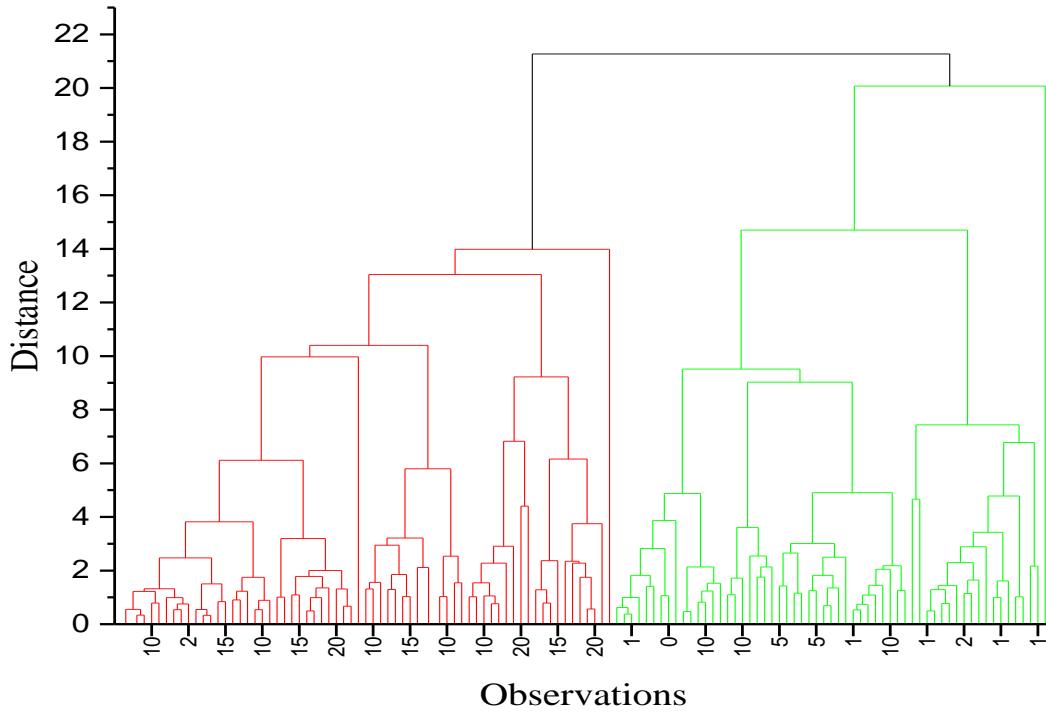
Tablo 1 incelendiğinde %10 (v/v) konsantrasyon altı ve üstü değerlerinin, pik 1, pik 3, pik 4 üzerinde p<0,05 ve pik 5 üzerinde p<0,01 düzeyinde anlamlı farklılık oluşturduğu bulunmuştur. Protein kaynaklı amid I ve su kaynaklı H-O piki üzerinde konsantrasyon değişiminin etkisinin olmadığı ancak yağ asitleri kaynaklı CH ve CH<sub>2</sub> piklerinde, laktoz kaynaklı C-O ve karbonil pikleri üzerinde etkisinin olduğu görülmüştür.

### 3.3. Hiyerarşik Kümeleme Analizi (HCA)

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan ikili (manda-inek) süt karışımlarının FTIR spektral incelemeleri sonucunda, altı karakteristik pik belirlenmiş ve hangi piklerin istatistiksel olarak anlamlı farklılık oluşturup oluşturmadığı ANOVA analizi ile saptanmıştır. ANOVA analizi sonuçlarına göre konsantrasyonlar üzerinde anlamlı farklılık oluşturan pik 1 (karbonil piki (C=O)), pik 3 (laktoza ait C-O piki), pik 4 (CH<sub>2</sub> piki) ve pik 5 (CH piki) verileri hiyerarşik kümeleme analizinde (HCA) yer almıştır. Örnekler içindeki benzerliklerinin

hesaplanması için Öklid uzaklığı uzaklık ölçütü olarak kullanılmış ve Şekil 6'daki dendogram elde edilmiştir.

Hiyerarşik kümeleme analizi, farklı konsantrasyonlara ait örneklerde grup içi benzerliği ortaya çıkarmış ve her grupta kümeler oluşturmuştur. Şekil 6'da verilen dendrogram incelendiğinde manda-inek sütü karışımlarında manda sütüne ilave edilen %15'in üzerindeki inek sütünün tespit edilebilmektedir. Buna karşın %15 (v/v) konsantrasyonun altındaki değerlerin ayrımı dendogramda beklenen önemlilikte yansımamıştır. Spektral verilerin kullanıldığı hiyerarşik kümeleme analizi, benzer spektral profillere sahip örneklerin kimyasal yapılarının ilişkili olduğunu ve tek bir gruba atanması gerektiğini varsayar (Damto vd., 2023). Bu yüzden bu çalışmada daha düşük konsantrasyonlarda ayrımı araştırmak için spektral farklılıklara dayalı bir kemometrik yöntem belirlenmiş ve FTIR spektrum verilerine PCA uygulanmıştır.



**Şekil 6.** Hiyerarşik kümeleme analizi sonucu elde edilen dendrogram

**Figure 6.** Dendrogram obtained as a result of hierarchical clustering analysis

### 3.4. Temel Bileşen Analizi (PCA)

Literatürde inek sütünün FTIR spektroskopisi ile yağ asidi bileşimi (Rutten vd., 2009; De Marchi vd., 2011), protein profili (Bonfatti vd., 2011; McDermott vd., 2016) ve mineral içeriği (Toffanin vd., 2015) gibi özelliklerinin kemometrik yaklaşımlar kullanılarak tahmin

etmeyi amaçlayan birçok başarılı çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada belirlenen pikler ile farklı konsantrasyonlardaki manda-inek sütü karışımları arasındaki ilişkileri PCA ile görsel olarak sunmak mümkündür. Çalışmada analiz için belirlenen piklere ait ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 2’de, korelasyon ilişkileri ise Tablo 3’de verilmiştir.

**Tablo 2.** Belirlenen piklere ait betimleyici istatistikler

**Table 2.** Descriptive statistics of the peaks identified

	Örnek Sayısı	Ortalama	Standart Sapma
Pik 1	126	73,91	7,05
Pik 2	126	77,80	10,00
Pik 3	126	77,43	5,86
Pik 4	126	77,09	6,83
Pik 5	126	82,62	5,99
Pik 6	126	67,24	9,60

**Tablo 3.** Korelasyon matrisi

**Table 3.** Correlation matrix

	Pik1	Pik 3	Pik 4	Pik 5	Pik 2	Pik 6
Pik 1	1					
Pik 3	0,61	1				
Pik 4	0,95	0,81	1			
Pik 5	0,88	0,81	0,95	1		
Pik 2	-0,40	0,42	-0,12	-0,08	1	
Pik 6	-0,70	0,05	-0,48	-0,41	0,90	1



Temel bileşen analizine ait sonuçlar Tablo 4’de verilmiştir. Tablo 4’de ki bulgulara göre açıklanan varyans yüzdesi en yüksek iki PCA (63,31+33,72), oluşturulan modeldeki varyansın %97,03’ünün açıklamaktadır. Bu değer Şekil 7’de elde edilen biplot grafiğinin de açıklama

kuvvetinin yüksek olduğunu söylenebilir (Johnson ve Wichern, 2002). Değişkenlerin temel bileşenler üzerindeki katkıları da Tablo 4’de verilmiş olup, PC1’e en fazla katkının pik 1 ve pik 4’e, PC2’ye ise pik 2 ve pik 6’nın sağladığı görülmüştür.

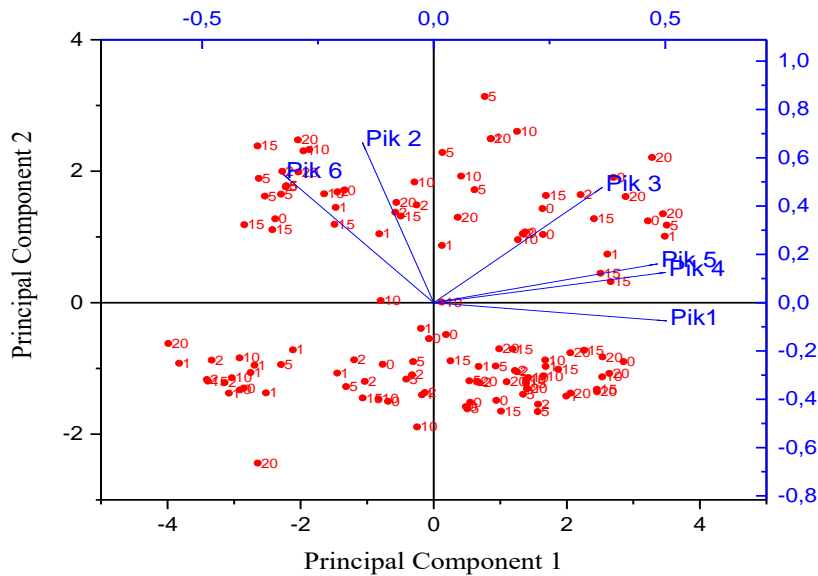
**Tablo 4.** Temel bileşen analizine ait sonuçlar

**Table 4.** Results of principal component analysis

	Özdeğer	Açıklanan varyans yüzdesi	Kümülatif varyans yüzdesi	PC1 katsayıları	PC2 katsayıları
Pik 1	3,798	63,31	63,31	Pik1	0,50
Pik 2	2,02	33,72	97,03	Pik 2	-0,15
Pik 3	0,08	1,38	98,40	Pik 3	0,36
Pik 4	0,06	1,00	99,40	Pik 4	0,50
Pik 5	0,03	0,43	99,83	Pik 5	0,48
Pik 6	0,01	0,17	100,00	Pik 6	-0,33

Temel bileşen analizinde yer alan loading (ağırlık düzlemi) grafiklerinde birbirine yakın konumda olan vektörler arasında pozitif yönlü güçlü korelasyon bulunur. Buna karşın birbirine 180° mesafede olan vektörler arasında negatif yönlü korelasyon bulunur. Eğer vektörler birbirlerine 90° lik konumda bulunuyorsa değişkenler birbirinden bağımsız olup korelasyon bulunmaz (Kopuzlu vd., 2011). Biplot grafiklerinde hem loading hem de skor grafiği bir arada bulunmakta olup Şekil 7’de verilmiştir. Şekil 7 incelendiğinde pik 1, pik 3, pik 4 ve pik 5 arasında yakın ve pozitif yönlü ilişki bulunmaktadır. Pik 4 ve pik 5 vektörleri

arasındaki açı oldukça az olduğundan korelasyon ilişkisi de fazladır. Buna karşın pik 2 ve pik 6’da birbirleri arasında negatif yönlü bir ilişki bulunmaktadır. Ayrıca pik 2 ve pik 6 diğer piklerden de bağımsızdır. Bu çalışmada su ve protein içeriklerinin oldukça benzer olduğu, buna karşın yağ asitlerin, laktoz ve karbonil içeriklerinin az da olsa farklılık oluşturduğu ancak konsantrasyonlarda beklenen ayrımı gerçekleştirmediği görülmüştür. Saf, %1, %2 ve %5 konsantrasyonlarının daha düşük PC1, %15 ve 20 çoğunluğunun daha yüksek PC1 skoruna sahip olduğu görülmektedir.



**Şekil 7.** Biplot grafiği  
**Figure 7.** Biplot plot

#### 4. Sonuçlar

FTIR ile kimyasal parametrelerin (yağ, protein, laktoz) tahmininin süt kaynağından bağımsız olarak sağlam modeller ile oldukça başarılı bir şekilde gerçekleştirilebildiği gösterilmiştir (Sen vd., 2021). Düşük konsantrasyonlardaki süt karışımlarının tespiti ile taşıyıcı ve gıda güvenilirliğine katkıda bulunmak için, bu çalışmada FTIR spektroskopisi verileri kemometrik yöntemler ile (HCA ve PCA) birleştirilerek mevcut yöntemlere daha kolay uygulanabilen alternatif bir yöntem araştırılmıştır.

Sütlerden faydalanılan hayvanlar arasında manda ve inek, süt bileşimlerinde yağ ve toplam kuru madde bakımından farklılık gösterir (Gu vd., 2017; Manuelian vd., 2017). Bu yüzden PCA analizinde özellikle yağ asitleri ve karbonil grubuna ait piklerin ayırma katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Saf inek ve saf manda sütünün FTIR spektrum verileri ile ayrılabilirdiği buna karşın düşük konsantrasyonlarda, özellikle %10 (v/v) ve altındaki karışımlarda belirlenen spesifik piklerde beklenen ayırmanın olmadığı görülmüştür. Bu yüzden özellikle karbonil, laktoz ve yağ asitlerine ait piklerde tek pik yerine o piklere ait aralık kullanılması veya daha geniş spektral veri seti ile HCA ve PCA analizlerinin yapılması düşük konsantrasyondaki karışımların ayrılmasında etkili olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca spektral veriler kullanılarak düşük konsantrasyonda hazırlanan süt karışımlarında PCA analizinin HCA analizine kıyasla daha başarılı sonuç vereceği düşünülmektedir. FTIR-ATR analiz yönteminin kemometride kullanılan algoritmaların çeşitlendirilmesi ile sağladığı avantajlar dikkate alındığında taşıyıcı tespitinde diğer yöntemlere alternatif olabileceği düşünülmektedir.

#### YazarKatkısı

**Sinem Çolak:** Metodoloji, Kavramsallaştırma, Kaynaklar, Yazma-İnceleme ve Düzenleme.

#### Teşekkür

Araştırmacı, sütlerin temin edildiği mandıra çiftliğinde sağımı gerçekleştiren ve örnek saklama koşullarına uygun biçimde laboratuvara getiren ZBEÜ Çaycuma Gıda ve Tarım MYO'da görevli Öğr. Gör. Dr. Utku DURAN'a teşekkür eder.

#### Etik standartlar

Bu çalışma için Etik Kurul Kararı gerekmemektedir.

#### Kaynaklar

- Bonfatti, V., Di Martino, G., Carnier, P. (2011). Effectiveness of mid-infrared spectroscopy for the prediction of detailed protein composition and contents of protein genetic variants of individual milk of Simmental cows. *Journal of Dairy Science*, 94(12), 5776–5785. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4401>
- Coates, J. (2000). Encyclopedia of Analytical Chemistry, In: Interpretation of Infrared Spectra A Practical Approach, John Wiley and Sons Limited, ISBN: 0471976709, Chichester, England.
- Damto, T., Zewdu, A., Birhanu, T. (2023). Application of Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy and multivariate analysis for detection of adulteration in honey markets in Ethiopia. *Current Research in Food Science*, 7, 100565. <https://doi.org/10.1016/j.crf.2023.100565>
- De Marchi, M., Penasa, M., Cecchinato, A., Mele, M., Secchiari, P., Bittante, G. (2011). Effectiveness of mid-infrared spectroscopy to predict fatty acid composition of Brown Swiss bovine milk. *Animal*, 5(10), 1653–1658. <https://doi.org/10.1017/S1751731111000747>
- Di Pinto, A., Terio, V., Marchetti, P., Bottaro, M., Mottola, A., Bozzo, G., Bonerba, E., Ceci, E., Tantillo, G. (2017). DNA-based approach for species identification of goat-milk products. *Food Chemistry*, 229, 93–97. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.067>
- Dole, M. N., Patel, P. A., Sawant, S. D., Shedpure, P. S. (2011). Advance applications of fourier transform infrared spectroscopy. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 7(2), 159-166.

- Fagan, C. C. and O'Donnell, C. P. (2008). Application of Mid-Infrared Spectroscopy to Food Processing Systems, In: *Nondestructive Testing of Food Quality*, Blackwell Publishing, ISBN: 9780813828855, Oxford, England. <https://doi.org/10.1002/9780470388310.ch5>
- Gu, M., Cosenza, G., Nicolae, I., Bota, A., Guo, Y., Di Stasio, L., Pauciullo, A. (2017). Transcript analysis at DGAT1 reveals different mRNA profiles in river buffaloes with extreme phenotypes for milk fat. *Journal of Dairy Science*, 100(10), 8265–76. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12771>
- Handi, J., Knowles, J., Kell, D. G. (2005). Computational cluster validation in post-genomic data analysis. *Bioinformatics*, 21(15), 3201–3212. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bti517>
- Helm, D., Labischinski, H., Schallehn, G., Naumann, D. (1991). Classification and identification of bacteria by fourier-transform infrared spectroscopy. *Journal of General Microbiology*, 131, 69-79. <https://doi.org/10.1099/00221287-137-1-69>
- Hsu, C. P. S. (1997). Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry, In: *Separation Sciences Research and Product Development*, Prentice-Hall Inc., ISBN: 0131773380, New Jersey, USA.
- Johnson, R. A., Wichern, D. W. (2002). *Applied Multivariate Statistical Analysis*. Prentice Hall, ISBN: 0130925535, New Jersey, USA.
- Kamal, M., Karoui, R. (2015). Analytical methods coupled with chemometric tools for determining the authenticity and detecting the adulteration of dairy products: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 46, 27–48. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.07.007>
- Kang, O. J. (2016). Evaluation of melanoidins formed from black garlic after different thermal processing steps. *Preventive Nutrition and Food Science*, 21, 398–405. <https://doi.org/10.3746/pnf.2016.21.4.398>.
- Kopuzlu, S., Onenc, A., Bilgin, O. C., Esenbuga, N. (2011). Determination of meat quality through principal components analysis. *The Journal of Animal and Plant Science*, 21(2), 151-156.
- Limm, W., Karunathilaka, S. R., Mossoba, M. M., (2023). Fourier transform infrared spectroscopy and chemometrics for the rapid screening of economically motivated adulteration of honey spiked with corn or rice syrup. *Journal of Food Processing and Preservation*, 86(4), 100054. <https://doi.org/10.1016/j.jfp.2023.100054>
- Lindmark-Månsson, H., Fonde'na, R., Pettersson, H. E. (2003). Composition of Swedish dairy milk. *International Dairy Journal*, 13, 409–425. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(03\)00032-3](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(03)00032-3)
- Lohumi, S., Mo, C., Kang, J. S., Hong, S. J., Cho, B. K. (2013). Nondestructive evaluation for the viability of watermelon (*Citrullus lanatus*) seeds using Fourier transform near infrared spectroscopy. *Journal of Biosystems Engineering*, 38(4), 312e317. <https://doi.org/10.5307/JBE.2013.38.4.312>
- Manuelian, C.L., Visentin, G., Boselli, C., Giangolini, G., Cassandro, M., De Marchi, M. (2017). Short communication: Prediction of milk coagulation and acidity traits in Mediterranean buffalo milk using fourier-transform mid-infrared spectroscopy. *Journal of Dairy Science*, 100(9), 7083–7087. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12707>
- Maryam, M. M., Pirouzi, M., Saberi, M. R., Chamani J. (2014). Comparison of the binding behavior of FCCP with HSA and HTF as determined by spectroscopic and molecular modeling techniques. *Luminescence*, 29(4), 314–331. <https://doi.org/10.1002/bio.2546>
- McDermott, A., Visentin, G., De Marchi, M., Berry, D. P., Fenelon, M.A., O'Connor, P. M., Kenny, O. A., McParland, S. (2016). Prediction of individual milk proteins including free amino acids in bovine milk using mid-infrared spectroscopy and their correlations with milk processing characteristics. *Journal of Dairy Science*, 99(4), 3171–3182. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9747>
- Miller, G. D, Jarvis, J. K., McBean, L. D. (2007). *Handbook of Dairy Foods and Nutrition*, CRC Press, ISBN: 100849328284, New York, USA.
- Mohsin, G. H., Schmitt F. J., Kanzler C., Hoehl A., Hornemann, A. (2019). PCA-based identification and differentiation of FTIR data from model melanoidins with specific molecular compositions. *Food Chemistry*, 281, 106–113. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.12.054>
- Parodi, P. W. (2004). Milk fat in human nutrition. *Australian Journal of Dairy Technology*, 59, 3–59.
- Pietrzak-Fiećko, R., Kamelska-Sadowska, A. M. (2020). The comparison of nutritional value of human milk with other mammals' milk. *Nutrients*, 12, 1404. <https://doi.org/10.3390/nu12051404>
- Pereira, E. V. S., Fernandes, D. D. S., De Araújo, M. C. U., Diniz, P. H. G. D., Maciel, M. I. S. (2020). Simultaneous determination of goat milk adulteration with cow milk and their fat and protein contents using NIR spectroscopy and

- PLS algorithms. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 127, 109427. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109427>
- Pesic, M., Barac, M., Vrvic, M., Ristic, N., Macej, O., Stanojevic, S. (2011). Qualitative and quantitative analysis of bovine milk adulteration in caprine and ovine milks using native-page. *Food Chemistry*, 125(4), 1443–1449. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.10.045>
- Ravinder, D., Gowtham, P., Khatri, K., Pawar, S. C., Botlagunta, M. (2021). Comparison of various milk samples using spectroscopy chromatography and microscopic analysis. *Journal of Food Science and Nutrition Research*, 4(1), 12-22. <https://doi.org/10.26502/jfsnr.2642-11000059>
- Rutten, M. J. M., Bovenhuis, H., Hettinga, K. A. van Valenberg, H. J. F., van Arendonk, J. A. M. (2009). Predicting bovine milk fat composition using infrared spectroscopy based on milk samples collected in winter and summer, *Journal of Dairy Science*, 92(12), 6202–6209, <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2456>
- Sen, S., Dundar, Z., Uncu, O., Ozen, B. (2021). Potential of Fourier-transform infrared spectroscopy in adulteration detection and quality assessment in buffalo and goat milks. *Microchemical Journal*, 166, 106207. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106207>
- Siska, S., Jumadil, M. I., Abdullah, S., Ramadan, D., Mun'im, A. (2023). ATR-FTIR and chemometric method for the detection of pig-based derivatives in food products-A review. *International Food Research Journal*, 30(2), 281–289. <https://doi.org/10.47836/ifrj.30.2.01>
- Song, H., Xue, H., Han, Y. (2011). Detection of cow's milk in Shaanxi goat's milk with an ELISA assay. *Food Control*, 22(6), 883–887. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.11.019>
- Sun, D-W. (2009). Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy. *Infrared Spectroscopy for Food Quality Analysis and Control*. Academic Press, ISBN: 9780123741363, Cambridge, Massachusetts, ABD. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374136-3.00007-9>
- Toffanin, V., De Marchi, M., Lopez-Villalobos, N., Cassandro, M. (2015). Effectiveness of mid infrared spectroscopy for prediction of the contents of calcium and phosphorus, and titratable acidity of milk and their relationship with milk quality and coagulation properties. *International Dairy Journal*, 41, 68–73, <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2014.10.002>
- Yaman, H. (2020). A rapid method for detection adulteration in goat milk by using vibrational spectroscopy in combination with chemometric methods. *Journal of Food Science and Technology*, 57(8), 3091–3098. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04342-4>
- Zhou, Q., Sun, S.-Q., Yu, L., Xu, C.-H., Noda, I., Zhang, X.-R. (2006). Sequential changes of main components in different kinds of milk powders using two-dimensional infrared correlation analysis. *Journal of Molecular Structure*, 799(1), 77–84.