

ET VE ET ÜRÜNLERİNDE SERBEST YAĞ ASİTLİĞİ (SYA) ANALİZİ

2020-2021 GÜZ DÖNEMİ

Lipitlerde meydana gelen bozulmalar

- **Lipitlerin hidrolizi**
 - Kimyasal hidroliz
 - Enzimatik hidroliz
- **Lipidlerin oksidasyonu**
 - Kimyasal oksidasyon
 - Enzimatik oksidasyon
 - Termik oksidasyon

Kimyasal lipid hidrolizi

- Su ile gliseridler (ester yapısındaki lipidler) arasında monomoleküler düzeyde spontan ya da otokatalitik bir tepkime meydana gelir.
- Tepkimeyi ortamdaki serbest asitler katalizler.
- Oluşan ürünler;
 - Yapıdan ayrılan asit kökü sayısına bağlı olarak mono veya digliseridler
 - **Serbest yağ asitleri**

Kimyasal lipid hidrolizini etkileyen faktörler;

- Tepkime ortam sıcaklığı
- Ortamdaki serbest asitlik miktarı
- Suyun lipidlerdeki çözünme oranı

Enzimatik lipid hidrolizi

- Trigliserid molekülündeki ester bağlarının **lipaz** enzimi ile hidrolizasyonu sonucu mono ve digliseridler ve **serbest yağ asitleri** açığa çıkar.
- Reaksiyonu etkileyen faktörler;
 - Lipaz enziminin hidroliz hızı moleküldeki asit radikalinin uzunluğu ile ters orantılıdır.
 - Yağ-su emülsiyonlarında sınır yüzey alanı ne kadar büyük ise enzim aktivitesi o kadar fazladır.
 - Gıdanın su içeriği %10'dan fazla ise ve su aktivitesi 0,3'ün üzerinde ise enzimin aktivitesi artacaktır.

Serbest yağ asitleri miktarının önemi



Ortamda artan serbest yağ asitliği miktarının tat ve koku değişikliklerine neden olması için yapısındaki karbon atomu sayısının 16'dan düşük olması gerekir.

Uzun zincirli yağ asitleri tat ve koku üzerine etkili değilken, kısa zincirli yağ asitleri arzu edilen (peynir ve çikolata) ya da istenmeyen tat ve koku değişikliklerine yol açar.



Ortamda artan serbest yağ asitliği miktarı; yağ asidinin doymamışlık derecesine, ortamın sıcaklığına, ışık, oksijen ve metal iyonları gibi faktörlerin varlığına bağlı olarak **lipid oksidasyonuna** zemin hazırladığı için önem taşımaktadır.

SYA analizi

- Örnekten soğuk ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen yağda yapılır.
- Analizin prensibi;

Belirli miktar yağda bulunan asitlik miktarının normalitesi bilinen NaOH ile **titrimetrik** olarak belirlenmesi ve **oleik asit cinsinden** hesaplanmasıdır.

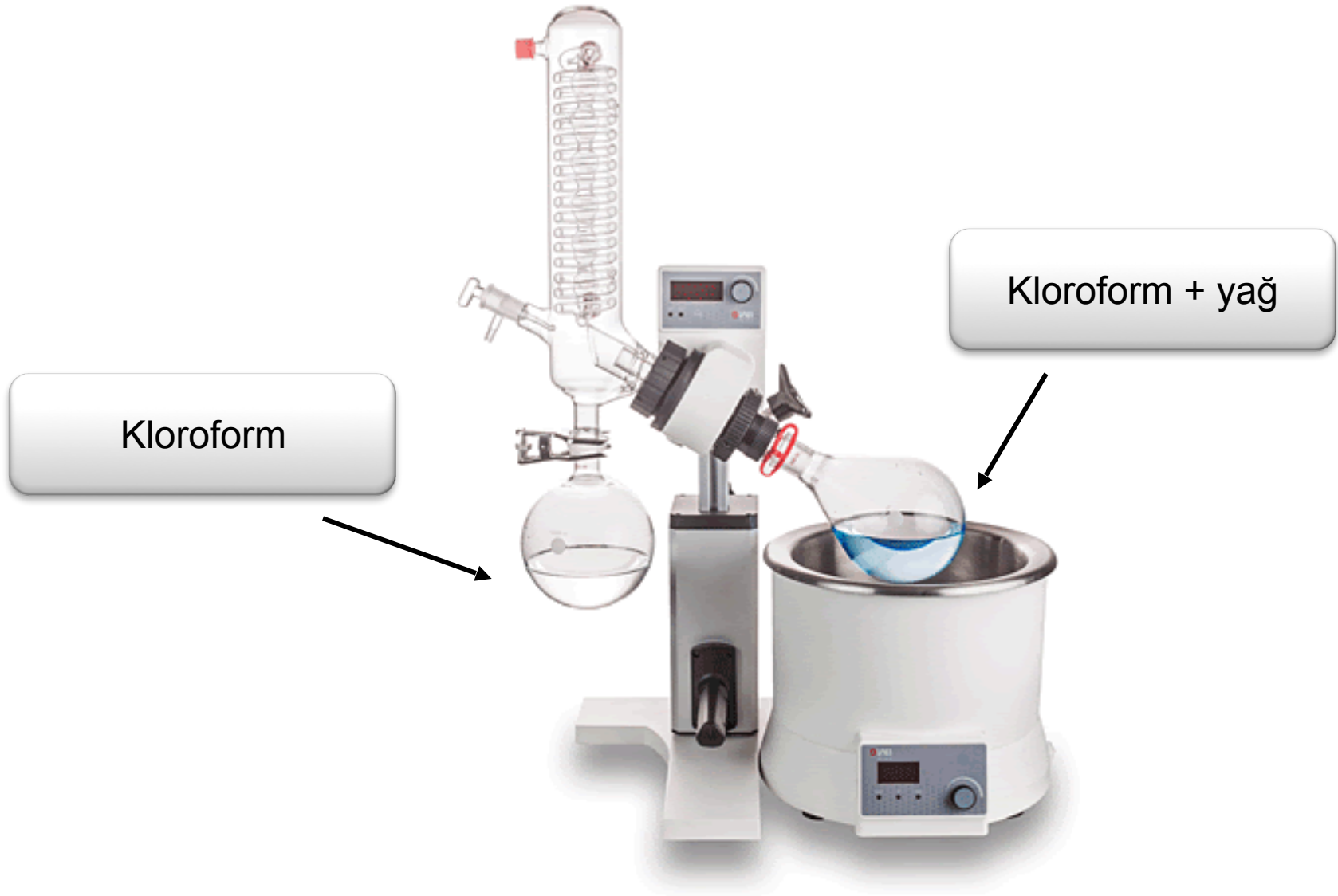
1. Soğuk ekstraksiyon ile yağ eldesi

- 20 g örnek + 1 spatül susuz sodyum sülfat +70 mL kloroform + 30 mL metanol → 2 dakika süre ile homojenize edilir.
- İçerik ayırma hunisi içerisine filtre edilir. Süzülme tamamlandıktan sonra filtre kağıdında kalan kalıntı tekrar behere aktarılır ve aynı işlem 2 kere daha uygulanır. Süzüntüler tek bir ayırma hunisi içerisinde toplanmalıdır. Ayırma hunileri düşük sıcaklıkta (+4 °C) bekletilerek kloroform ve metanol fazının ayrımı sağlanır.
- Üstte kalan metanol fazı berrak bir görünüm aldığı anda bekleme işlemine son verilir ve altta toplanan kloroform fazı Rotary balonuna alınır.
- Elde edilen bu yağdan serbest yağ asitliği, kolesterol ve peroksit analizi yapılabildiği gibi, yağ esterleştirilerek yağ asitleri dağılımı da incelenebilir.



Kloroform

Kloroform + yağ

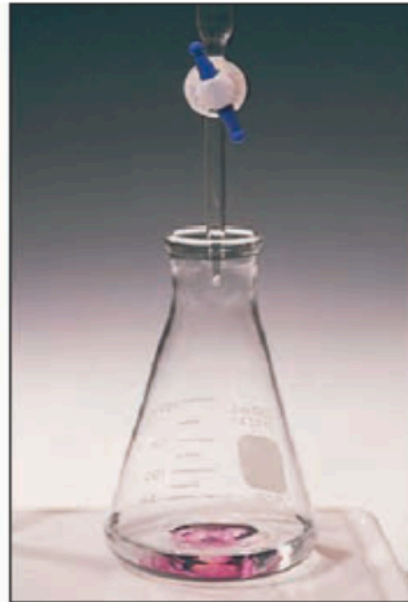


2. Serbest yağ asitliği analizi

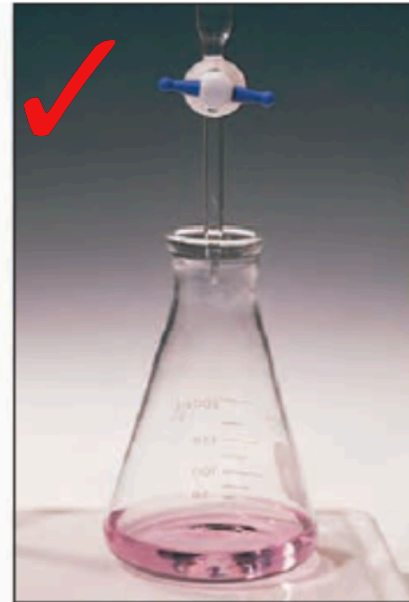
- 1 g yağ örneği erlene aktarılır, karıştırılır, ılıtılır ve sıvı formda tutulur. Üzerine 10 mL etil alkol ilave edilir.
- Fenol fitalein indikatörü eşliğinde 0,25 N NaOH ile pembe renk görülene kadar titrasyona tabi tutulur. Titrasyon sırasında içerik şiddetle çalkalanmalıdır.
- Şahit örnek için ise 10 mL etil alkol fenolfitalein eşliğinde 0,25 N NaOH çözeltisi ile titre edilir.



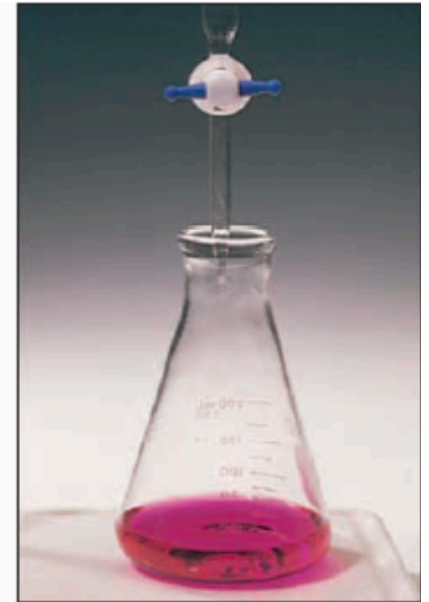
(a)



(b)

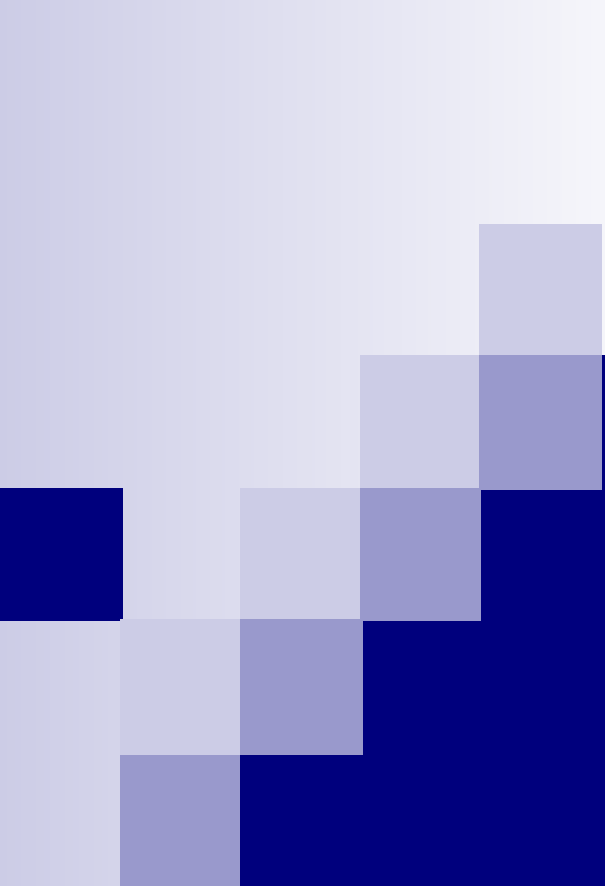


(c)



(d)

pH increasing



ET VE ET ÜRÜNLERİNDE TİYOBARBİTÜRİK ASİT SAYISI (TBA) ANALİZİ

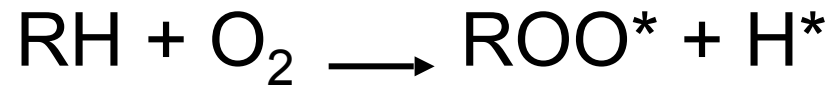
Lipid oksidasyonu

- **Kimyasal oksidasyon:** Oksijen, ısı, ışık ve metal iyonları varlığında otokatalitik olarak meydana gelir
- **Enzimatik oksidasyon:** Birincil oksidasyon ürünlerinin oluşumundan “lipoksigenazlar”; ikincil oksidasyon ürünlerinin oluşumundan da “hidroperoksit-liyaz”; “lipoperoksidaz”; “hidroperoksit-izomeraz” ve “glutasyon-peroksidaz” gibi enzimler rol oynar.
- **Termik oksidasyon:** Yağların 60 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarda ısıtılmaları sonucu meydana gelen reaksiyonlardır.

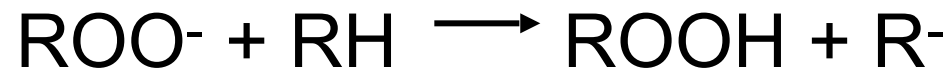
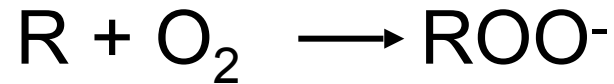
Lipid oksidasyonu

- Doymamış yağ asitleri oksijen ile tepkimeye giren bir aktif merkez görevi yapar.
- İlk aşamada **birincil oksidasyon ürünleri** (peroksitler ve hidroperoksitler); ilerleyen aşamalarda da **ikincil oksidasyon ürünleri** (aldehitler, ketonlar, alkoller, hidrokarbonlar) oluşur.
- Et ve et ürünlerinin hem duyuşal hem de kimyasal kalitesinin bozulmasına neden olur.
- Reaksiyona etkili faktörler;
 - Ortam sıcaklığı
 - Işık
 - Çok değerlikli metal iyonlarının varlığı
 - Oksijenin lipid ile temas ettiği yüzey genişliği
 - Ortamda antioksidan özellikteki maddelerin varlığı
 - Lipitteki yağ asidi dağılımı
 - Yağ asidindeki çift bağ sayısı

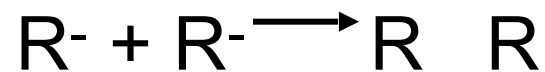
Başlangıç



Gelişme



Sonuç



RH : Yağ asidi

R⁻ : Alkil radikali

ROO : Peroksit radikali

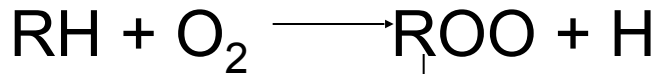
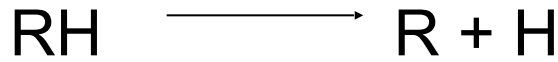
ROOH: Hidroperoksit

ROOR: Oksidasyon ürünü

Lipit oksidasyonunda oluşan parçalanma ürünleri

Doymamış yağ asitleri ve trigliseritler

Serbest radikaller



Hidroperoksitler



Parçalanma ürünleri

(Kötü koku bileşikleri, alkoller, Ketonlar, aldehitler, epoksitler, OH gliseridler, di OH gliserid)

Pigmentlerin, flavor maddelerinin ve vitaminlerin oksidasyonu

Proteinlerin çözünmez hale gelmesi

OH₂

Polimerizasyon

Ketogliseridler

Doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu sonucu;

- İstenmeyen tat ve koku bileşikleri oluşur.
- Oluşan bazı ikincil oksidasyon ürünlerinin karsinojenik özellikte olduğu ileri sürülmektedir.
- Okside olan lipitler etteki proteinler, karbonhidratlar ve vitaminlerle reaksiyona girerek ürün kalitesini düşürür.
- İkincil oksidasyon ürünlerinden biri olan **MALONALDEHİT (MA)** oluşumu gözlenir.
- Gıdanın güvenilirliği etkilenir.

Doymamış yağ asitlerinde bağıl oksidasyon hızı

Karbon sayısı	Çift bağ sayısı	İndüksiyon süresi (h)	Bağıl oksidasyon hızı
18	1	82	100
18	2	19	1200
18	3	1,34	2500

İndüksiyon süresi sonunda

- Yağ tarafından harcanan O_2 artar.
- Peroksit miktarı bir noktaya kadar artar, sonra azalır.

Yağın oksidasyon derecesinin belirlenmesinde;

- Hidroperoksit yıkımının başladığı anda peroksit değerinin ölçülmesi gerekir.
- Ancak bu noktanın yakalanması zordur ve bu nedenle yağda oksidasyon derecesinin belirlenmesinde peroksit değeri yetersiz kalır.
- Uçucu (volatil) bileşiklerin miktarı artmaya başladığında, **Tiyobarbitürik asit (TBA) sayısı** gibi değerlerin belirlenmesi daha doğru sonuçlar verir.

TBA sayısı

- $\text{NHC}_5\text{NHCOCH}_2\text{CO}$
- Yağ ve yağlı gıdalarda otooksidasyon sonucu oluşan ransiditenin (acılaşma) ölçüsünün belirlenmesinde oldukça iyi ve hassas bir yöntemdir.
- Hidroklorik asitle hazırlanan 2-TBA çözeltisi triklor asetik asit ile ekstrakte edilmiş **malonaldehitlerle** renk oluşturarak oksidatif acılaşmanın düzeyinin saptanmasını sağlar.
- Malonaldehit, karbonil bileşikler grubunda yer alan aldehitlerin bir türevidir.

Analiz yöntemi



1. 10 g et örneği 30 ml %7,5'lük TCA çözeltisinde homojenize edilir. Whatman No:40 filtre kağıdı kullanılarak homojenat süzülür. Süzme işlemini kolaylaştırmak için 10000 rpm'de 5 dak boyunca santrifüj edilebilir.

2. 5 ml süzüntü
+
5 ml TBA çözeltisi (taze hazırlanır) vortexlenir.

3. 35 dak boyunca 100 °C'deki su banyosunda bekletilir.

4. Süre sonunda tüpler soğuk su banyosunda hızla soğutulur ve 532 nm'de şahide karşı okunur.

TBA sayısının belirlenmesinin avantajları;

- TBA sayısının belirli bir pik noktasından sonra düşüşü oldukça uzun bir süreye bağlıdır.
- Yağların ekstraksiyonuna gerek kalmadan gıdadan direkt örnek alınarak yapılabilir.

TBA Limitleri;

- ❖ Yüksek kalite bir üründe TBA değerinin 3 mg MA/kg'dan
- ❖ İyi kalite bir üründe ise 5 mg MA/kg'dan az olması gerektiği yapılan çalışmalarla bildirilmiştir.
- ❖ Ayrıca oksidasyonun ilerlemiş olduğu bir üründe ise tüketim limiti 7-8 mg MA/kg olarak ifade edilmektedir (Cadun, Kışla & Çaklı 2008).

Soru1:

10,0615 g sucuk örneğinde TBARS analizi yapılmış ve spektrofotometrede okunan ABS değerleri 0,820 ve 0,814 olarak belirlenmiştir. TEP ayırıcı kullanılarak çizilen kurve denkleminde yararlanarak TBA sayısını hesaplayınız (30 puan).

$$C = (ABS - 0.0078) / 0.3513$$

$$TBARS \text{ (mg MA/kg et)} = (30 * C) / M$$

Soru2:

%20 yağlı sığır kıyması kullanılarak üretilmiş köftelerde -18 derecede 6 aylık depolama süresince TBA sayısında değişme meydana gelir mi? Nedenleri ile birlikte açıklayınız. Cevabınızla uyumlu olarak literatürde yer alan bir (1) adet çalışmayı TBA analizi yönünden değerlendiriniz (70 puan).

Rapor tez yazım kurallarına uygun şekilde yazılacak ve 1 sayfayı geçmeyecek.