

D3a. Et ve Et Ürünlerinde Bağ Doku Miktarı (Hidroksiprolin-HP) Analizi

1. Genel Bilgi

Ette veya et ürününde bulunan proteinin değeri, bileşimine giren aminoasitlerin miktarına ve çeşidine bağlıdır. Fakat protein miktarı, protein kalitesinin belirlenmesi için yeterli değildir. Bağ doku (konnektif doku) vücudun çeşitli kısımlarını birbirine bağlayan, vücudu kitle halinde tutan dokudur. Et ve et ürünleri içerisinde bulunan bağ doku kaynaklı protein oranının belirlenmesi, et teknolojisinde kalite ve teknolojik açılardan önemlidir. Ayrıca bağ doku proteinleri vücut tarafından sindirilemediği için biyoyararlılıkları düşüktür ve ürünün besinsel kalitesinin belirlenmesi bakımından da önem taşır.

Kollagen, bağ dokuyu oluşturan temel yapı maddesidir. Bu proteini oluşturan aminoasitler içerisinde hidroksiprolin sadece bağ dokuya özgü bir aminoasittir. Kollagen proteininde hidroksiprolin oranı sabittir ve oranı %12,5'dir. Bu sayede bir ette veya et ürününde hidroksiprolin miktarı belirlenerek ham proteindeki kollagen bağ doku miktarı belirlenebilir ve etin protein kalitesi değerlendirilebilir.

2. İlke

Örnekte bulunan aminoasitlerin SnCl_2 ve H_2SO_4 eşliğinde 110°C 'de 16 saat hidrolize edilerek sıvı faza geçirilmesi, daha sonra (pH 8'de) alkali bakır sülfatlı ortamda hidroksiprolin aminoasidinin H_2O_2 ile oksitlenmesi, oksitlenme ürününün p-dimetilaminobenzaldehit ile sulu sülfirik asitli ortamda verdiği pembe rengin optik yoğunluğunun ölçülmesidir.

3. Kimyasallar

Saf kalay-II-klorür (SnCl_2) — 6 N Sülfirik asit çözeltisi (H_2SO_4) — 3 N Sülfirik asit çözeltisi (H_2SO_4) — 0,05 M Bakır sülfat çözeltisi ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) — %6'lık Hidroperoksit çözeltisi (H_2O_2) — 3,5 N Sodyum hidroksit çözeltisi (NaOH) — %33'lük Sodyum hidroksit çözeltisi (NaOH) — Doymuş Sodyum bikarbonat çözeltisi (NaHCO_3) — İzopropil alkolde hazırlanmış %5'lik p-dimetilaminobenzaldehit çözeltisi — İzopropil alkol

4. Gereçler

Spektrofotometre—Kurutma dolabı (Etüv) —Termostatlı su banyosu —Erlenmayer, 250 mL—Ölçülü balonları, 25, 100 ve 250 mL'lik—Pipetler —Kaba filtre kâğıdı

5. İşlem

- Kıyma çekilerek homojen hale getirilen örnekten 250 mL'lik erlenmayer içerisine 10 g tartılır. Üzerine 1,8 gram SnCl_2 ve 35 mL 6 N H_2SO_4 ilave edilir.
- Erlenin ağzı, saat camıyla kapatılarak 110°C 'de kurutma dolabında 16 saat hidroliz edilir.
- Oda sıcaklığına kadar soğutulduktan sonra, %33'lük NaOH ve doymuş NaHCO_3 çözeltileri kullanılarak pH 8,0'e ayarlanır.
- Hidrolizat, 250 mL'lik bir ölçü balonuna aktarılır ve saf su ile çizgisine tamamlanır. En az 30 dakika, en çok 3 gün 4°C sıcaklıkta bekletilir.
- İçerik, bir erlen içerisine kaba filtre kağıdından filtre edilir.
- Bu süzüntüden 1/10 veya 1/20'lik seyreltmeler yapılır. Süzüntüden 10 mL alınarak destile su ile 100 mL'ye seyreltilir.

- Her seyreltiden 2,5 mL alınarak ayrı ayrı 25 mL'lik ölçü balonlarına pipetlenir. Ayrıca şahit deney için 2,5 mL destile su, 25 mL'lik ölçü balonlarına pipetlenir. Bu aşamadan sonra aşağıdaki işlemler sırasıyla uygulanır.
- Örnek ve destile su içeren ölçülü balonlara 2,5 mL 0,05 M CuSO₄ çözeltisi eklenerek karıştırılır.
- Üzerine 2,5 mL 3,5 N NaOH çözeltisi ilave edilerek karıştırılır.
- Üzerine 2,5 mL %6'lık H₂O₂ çözeltisi ilave edilerek karıştırılır (köpürmeyi ve taşmayı önlemek için H₂O₂ çözeltisi yavaşça ilave edilmelidir).
- Köpürme bitince balonların kapakları sıkıca kapatılarak, 75°C deki su banyosunda 10 dakika bekletilir (kapaklar ara sıra açılarak birikmiş gaz çıkarılmalıdır). Su banyosundan çıkarılarak musluk suyu altında soğutulur.
- Üzerine 10 mL 3 N H₂SO₄ ilave edilir ve renk berraklaşınca kadar karıştırılır.
- Üzerine 5 mL %5'lik para-dimetilaminobenzaldehit çözeltisi ilave edilir, iyice karıştırılır ve balonlar 75 °C'deki su banyosunda 20 dakika bekletilir. Süre sonunda musluk suyu altında soğutulur. Eksilmeler varsa n-propil alkolle 25 mL'ye tamamlanır ve karıştırılır.
- Çözeltilerin absorpsiyonları, 560 nm dalga boyunda şahide karşı sıfırlanan spektrofotometrede okunur. Örnekteki hidroksiprolin miktarı, standart kurveden hesaplanır.

5.1. Standart kurvenin hazırlanması

- Önceden 100 °C'de 2 saat kurutulmuş saf hidroksiprolinden 25 mg duyarlı bir şekilde tartılarak 100 mL'lik ölçü balonuna aktarılır ve destile su ile çizgisine tamamlanır (Bu çözelti, mL'sinde 0,25 mg hidroksiprolin içermektedir).
- Hacmi 100 mL olan 8 adet ölçülü balona sırasıyla yukarıdaki çözeltiden 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 ve 10 mL pipetlenir. Her biri destile su ile 100 mL'ye tamamlanır (Bu çözeltiler 100 mL'de sırasıyla 0,25; 0,50; 0,75; 1,00; 1,25; 1,50; 2,00 ve 2,50 mg hidroksiprolin içermektedirler).
- Hacmi 25 mL olan 8 adet ölçülü balona yukarıdaki seyreltilerden sırasıyla 2,5 mL pipetlenir. Madde 8, 9, 10, 11, 12, 13 ve 14 sırasıyla uygulanır. Elde edilen absorpsiyonlar ve çözeltilerin konsantrasyonları kullanılarak standart eğri hazırlanır.

6. Hesaplama ve değerlendirme

Örnek miktarı 10 g, seyreltme oranı 1/10 ise;

1. HP (mg/100 g) = [250 x (Standart kurveden bulunan HP miktarı (mg/ml))]
2. % HP (g/100 g) = [(HP, mg/100 g) / 1000]
3. Ham proteindeki HP %'si = [(% HP x 100) / % Ham protein]
4. Ham proteindeki kollajen bağ doku %'si = (Ham proteindeki HP %'si x 8)

Kaynaklar

- Anonim. 2002. Salam standardı, TS 979. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- Anonim. 2002. Sosis standardı, TS 980. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- Anonim. 2002. Türk sucuğu standardı, TS 1070. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- Gökalp, H. Y., Kaya, M., Tülek, Y. ve Zorba, Ö. 2001. Et ve et ürünlerinde kalite kontrolü ve laboratuvar uygulama klavuzu. Atatürk Üniv. Yayınları No. 751. Atatürk Üniv., Ziraat Fakültesi Ofset Tesisi, Erzurum, 268 s.
- Vural H., Öztan A. 1996. Et ve Ürünleri Kalite Kontrol Laboratuvarı Uygulama Kılavuzu. Hacettepe Üniv. Müh. Fak. Yayınları. No: 36. Ankara, 236 s.

D3b. Et ve Et Ürünlerinde Su Tutma Kapasitesi Analizi

1. Genel Bilgi

Su ette en çok bulunan bileşendir. Ette bulunan su etin gevreklik, kuruluk, renk, tat ve koku özelliklerini etkilemektedir. Su tutma kapasitesi ise et uygulanan kesme, kıyma, presleme veya ısıl işlem gibi uygulamalar süresince et tarafından tutulabilen su miktarıdır. Kas dokunun su tutma kapasitesi ne kadar az ise saklama süresince yüzeyden o kadar fazla su buharlaşır ve ağırlık kaybı fazla olur.

2. Yöntemin İlkesi

Analizin ilkesi az miktardaki et örneğinin belirli koşullarda santrifüjlenmesi ve ilk ağırlığa göre % oranının belirlenmesidir.

3. Gereçler

Santrifüj – Santrifüj tüpü – Pamuk – Hassas terazi

4. İşlem

Etler küp şeklinde 10 × 10 × 10 mm boyutlarında kesilir ve 4°C de 15 dk 1000 rcf’de santrifüj edilir (Hashizawa et al., 2013).

5. Hesaplama ve değerlendirme

Su tutma kapasitesi (STK) yapıdan ayrılan su miktarı üzerinden belirlenir ve aşağıdaki şekilde hesaplanır:

$$STK (\%) = m2/m1 \times 100$$

m1= etin ilk ağırlığı

m2= etin santrifüj sonrası ağırlığı

Kaynak

Hashizawa Y., Kubota M., Kadowaki M., Fujimura S. 2013. Effect of dietary vitamin E on broiler meat qualities, color, water-holding capacity and shear force value, under heat stress conditions. *Animal Science Journal* 84:732-736. DOI: 10.1111/asj.12079.