

KGP 104 GIDA ANALİZLERİ

Protein Miktarı Tayini

Bitkisel ve hayvansal kaynaklı tüm gıdalarda protein bulunmaktadır.

Gıda içerisinde azot ihtiva eden bileşikler, genellikle protein olarak bilinir ve geleneksel olarak tayin işlemleri de gıda içindeki mevcut azot miktarının tayinine dayanır.

Genellikle azot miktarı ile belirlenen protein oranı ham protein olarak adlandırılır.

Gıda içerisinde azot ihtiva eden bileşikler, genellikle protein olarak bilinir ve geleneksel olarak tayin işlemleri de gıda içindeki mevcut azot miktarının tayinine dayanır.

Azot içeren ancak protein olmayan bileşikler;

1. Nükleik asitler
2. Nitrojenli karbonhidratlar
3. Alkaloidler
4. Nitrojenli lipitler
5. Porfirinler
6. Nitrojenli pigmentler
7. Üre
8. Pürinler
9. Amin ve amid bileşikleri

Gıdalarda Protein Analizi Yapılmasının Nedenleri

1. Gıda maddesinin mevcut kalite standartlarına uygunluğunun belirlenmesi amacıyla
2. Gıda maddesinin beslenme değerini belirlemek amacıyla
3. Proteinlerin bazı fonksiyonel teknolojik özelliklerini belirlemek amacıyla (emülsiyon kapasitesi, su ve yağ bağlama kapasitesi, köpük oluşturma, jel kuvveti, çözünürlük vs.)
4. Bir gıda maddesinin genel bileşiminin tespit edilmesi amacıyla
5. Satışa sunulacak gıda maddesinin fiyatını belirlemek amacıyla
6. Herhangi bir işleme tekniğinin proteinler üzerindeki etkisini belirlemek amacıyla
7. Gıda içindeki protein çeşitleri veya bunların yapısal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla

Gıdalarda Toplam Protein Tayin Metotları

1. Proteinlerin Bazı Bileşiklerle Verdiği Reaksiyonların Dikkate Alındığı Metotlar
2. Proteinlerin Fiziksel ve Kimyasal Özelliklerini Değerlendiren Metotlar
3. Proteinlerde Bulunan Toplam Azotun Dikkate Alındığı Metotlar

Proteinlerin Bazı Bileşiklerle Verdiği Reaksiyonların Dikkate Alındığı Metotlar

1. Biüret metodu
2. Lowry metodu
3. Pyrochemiluminescent metodu
4. Ksantoproteik asit reaksiyonu metodu
5. Millon reaksiyonu metodu
6. Boya bağlama metodu
 - Amidoswarz
 - Bradford
 - Cochineal kırmızısı
 - Bufalo siyahı
 - Orange G
7. Bicinshoninic asit metodu
8. Ninhidrin metodu

Proteinlerin Fiziksel ve Kimyasal Özelliklerini Değerlendiren Metotlar

1. Direkt spektrofotometrik absorbanans metodu
2. Nefelometrik- Türbidimetrik metot
3. IR (Infrared) analizleri
4. NMR (Nükleer Magnetik Rezonans)
5. Flüorometrik metotlar
6. Özgül ağırlık yöntemi
7. Elektrikli iletkenlik metodu
8. Polarizasyon

Proteinlerde Bulunan Toplam Azotun Dikkate Alındığı Metotlar

1. Kjeldahl metodu
2. Dumas Metodu
3. Meulen Metodu

Proteinlerde Bulunan Toplam Azotun Dikkate Alındığı Metotlar

Bu metotların esası, gıda maddesindeki azotun büyük bir çoğunluğunun proteinlerde bulunduğu noktasından hareket edilerek, bu azot miktarının hesaplanması esasına dayanır.

Yapılan çalışmalar, gıda içinde bulunan toplam azotun % 99'unun proteinlerden kaynaklandığını ortaya koymuştur.

Proteinlerin yaklaşık % 16'sının N, geri kalan bölümünün ise C, H ve O atomlarından oluşmaktadır.

Protein tayininde önce N miktarı bulunur ve bu değer bir faktör ile çarpılarak protein miktarı hesaplanır.

Ancak gıda maddelerinin N oranı değişebildiği gibi, gıda içerisinde bulunan diğer bazı azotlu maddelerin oranı da farklı olabilir.

Her bir gıda maddesi için belirli katsayılar belirlenmiştir.

	<u>Katsayı</u>
-et, yumurta, fasulye, balık vb gıdalar	6,25
-Süt ve mamulleri	6,38
-Arpa, çavdar, yulaf	5,83
-Buğday, un vb.	5,70
-Jelatin	5,30
-Kabuklu yemişler	5,30

Bazı gıdalar için belirlenen bu oranların farklı olmasının en önemli nedenleri şunlardır:

1. Gıda içindeki azotun tamamı protein kaynaklı olmayabilir.
2. Protein tabiatında olmayan azotlu bileşiklerin oranları farklı olabilir.
3. Bir gıdada değişik yapıdaki proteinlerin oranları farklıdır.
4. Her proteinin aminoasit oranları, dolayısıyla azot miktarları farklıdır.

Gıda maddesindeki toplam organik azotun tayin edilmesine dayalı yöntemler iki gruba ayrılır.

1. Gıda maddesi içindeki, doğal formda bulunan azotun elemental azot haline çevrilmesine dayalı yöntemler,
2. Gıda maddesi içindeki, doğal formda bulunan azotun amonyum tuzları haline çevrilmesine dayalı yöntemler.

Dumas Yöntemi

Bu metodun temel prensibi,

- a. Gıda maddesi bir fırın içinde yakılarak gıda içindeki tüm azot formlarının azot oksit gazlarına dönüştürülmekte
- b. Daha sonra bu gazlar, elemental azota indirgenmekte
- c. Termal iletkenlik yöntemleri ile bu azotun miktarının belirlenmesi esasına dayanmaktadır.

Dumas metodunun kjeldahl yöntemine kıyasla pek çok avantajı bulunmaktadır.

1. Ağır kimyasal maddelerle çalışmaya ihtiyaç duyulmaması
2. Sıvı, katı veya yarı katı haldeki her türlü gıda maddesinde kolaylıkla uygulanabilmesi
3. Çok kısa bir süre içinde sonuç alınabilmesi (yaklaşık 6 dakika)

Dumas metodunun kjeldahl yöntemine kıyasla bazı dezavantajları ise;

1. Dumas metodunda kullanılan örnek miktarının az olması (20-300 mg). Bu nedenle örnek hazırlama işleminde çok dikkatli olunması gerekmektedir.
2. Dumas metodunun gıda içindeki proteinlerin dışındaki diğer tüm N formlarına da duyarlı olması
3. Fazla yağlı gıdalarda yakma güçlüklerinin olması

Kjeldahl Yöntemi

Proteinlerin içindeki azotu esas alarak tayin işlemi gerçekleştiren en önemli ve en sağlıklı toplam azot veya ham protein tayin metodudur.

Kjeldahl yönteminin iki ana formu mevcuttur.

1. Makro kjeldahl
2. Mikro kjeldahl

Her iki yönteminde temel prensibi arasında bir fark yoktur.

Tek fark mikro kjeldahlda örnek miktarı az ve buna karşılık kullanılan kimyasal madde miktarı çok daha düşüktür.

Kjeldahl metodunun uygulanmasında 3 temel bölüm vardır.

1. Örnekteki organik maddelerin yaş oksidasyonu (**yakma**).
2. Organik maddelerin yaş oksidasyonu sonucu oluşan NH_3 'ün NaOH kullanılarak serbest hale getirildikten sonra damıtılması ve belli miktar ayarlı bir asit içinde tutulması (**damıtma**).
3. NH_3 tarafından nötrleştirilemeyen ayarlı asit çözeltisinin ayarlı bir bazla titre edilmesi ve toplam azotun hesaplanması (**titrasyon**).

1- YAKMA:

Organik madde + H₂SO₄

NH₄⁺ + SO₄⁻²

Katalizör-Isı



CO₂ + H₂O + NH₄⁺ + SO₂

(NH₄)₂SO₄

2- DAMITMA:

(NH₄)₂SO₄ + 2NaOH

NH₄OH

NH₃ + H₃BO₃



Na₂SO₄ + 2NH₄OH

H₂O + NH₃

NH₄H₂BO₃

3- TİTRASYON:

NH₄H₂BO₃ + HCl



NH₄Cl + H₃BO₃

1. Örnek içindeki organik maddelerin oksidasyonu ve azotun amonyum sülfat haline dönüştürülmesi(yakma)

Bu reaksiyonun kolaylıkla oluşabilmesi için Cu, Hg, Fe, S, Se veya K tuzları kullanılır.

Katalizörler yakma işlemi sırasında arzu edilen kimyasal reaksiyonları hızlandırır.

Katalizörler ayrıca H_2SO_4 'ün kaynama noktasını yükseltirler dolayısıyla yüksek sıcaklıklara ulaşılır ve kısa sürede reaksiyon gerçekleştirilir.

Yakma işlemine Açık mavi -yeşil veya sarımsı yeşil renk oluşuncaya kadar devam edilir.

2. Amonyumsülfatın, su ve NaOH ile ayrıştırılarak önce NH_4OH ve daha sonra NH_3 haline dönüştürülerek bir zayıf asitle tutulması (damıtma)

Kjeldahl yakma ünitesinde yanma işlemi ile tüm organik maddeler uzaklaştırıldıktan sonra örnek mavimsi yeşil bir renk alır ve hiç siyahlık kalmaz.

Balon ateşten indirilir ve soğutulur.

Üzerine 400 mL saf su ve 80-100 mL doymuş NaOH ilave edilir.

Üzerine bir miktar kaynama taşı ve Zn granülü ilave edilerek destile edilir.

Burada amonyak gazı uçar ve destilasyon düzeneğinde yoğunlaşarak bir zayıf asit üzerinde tutulur.

3. Amonyak çözeltilisinde nötürleşmeden arta kalan asit veya asit üzerinde tutunan bazın titre edilerek toplam azot miktarının tayin edilmesi (titrasyon)

Burada zayıf asit tarafından tutulan amonyağın titrasyonu amacıyla 0.1 N HCL veya NaOH kullanılır.

Kjeldahl metodunda bulunan % N miktarı, örneğin azot/protein faktörü ile çarpılarak % ham protein miktarı bulunur.

Kjeldahl yönteminin avantajları:

1. Güvenilir bir metottur, doğru ve hassas sonuçlar verir.
2. Çok fazla protein içeren gıdalarda kolorimetrik metotlarla protein tayini çok zordur veya yapılamaz, bu durumlarda kjeldahl metodu kullanılır.

Kjeldahl yönteminin dezavantajları:

1. Numunedeki protein oranı az ise hassasiyet düşer.
2. Konsantre asit ve baz kullanımı olduğu için dikkatli olunmalıdır.
3. Çevre kirliliği oluşturma problemi vardır.
4. İşlemleri uzun zaman alır.

KAYNAKLAR

Yetim, H. 2001. Gıda Analizleri (Ders Notu), Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Tesisi, Erzurum, 161 s.