

D2a. Soğuk Ekstraksiyonla Yağ Eldesi

1. Genel Bilgi

Yağlar organizmada depo yağlar, hücre içi yağlar ve hücre dışı yağlar olmak üzere üç şekilde bulunur. Et yağı doğada bulunan sert yağlardan sayılmakta ve balık veya bitkisel yağlara göre daha fazla doymuş yağ asidi içermektedir. Vücut yağı, hayvanın cinsine ve karkas bölgesine göre farklılık göstermektedir.

2. İlke

Et ve et ürünündeki yağın organik asit kullanılarak ekstrakte edilmesidir.

3. Kimyasallar

Kloroform/metanol (2/1) — Susuz sodyum sülfat (NaSO₄)

4. Gereçler

Rotary evaporatörü — Ayırma hunisi — Erlenmayer, 500 mL — Huni ve kaba filtre kağıdı — Waring blender ya da Ultraturax — Rotary balonu

5. İşlem

Homojen et örneğinden 100 g behere tartılır, üzerine 1 spatül susuz sodyum sülfat, 100 mL kloroform ve 50 mL metanol ilave edilerek 2 dakika süre ile homojenize edilir. İçerik erlenmayer içerisine filtre edilir. Süzülme tamamlandıktan sonra filtre kağıdında kalan kalıntı tekrar behere aktarılır ve aynı işlem 2 kere daha uygulanır. İşlem sonunda filtrat ayırma hunisine alınır.

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. Rotary evaporatörde kloroform uçurularak toplayıcı toplanır ve Rotary balonu içerisinde kalan yağ, kahverenkli bir şişeye aktarılarak analizlerde kullanılmak üzere dondurulur.

Elde edilen bu yağdan serbest yağ asitliği, kolesterol ve peroksit analizi yapılabildiği gibi, yağ esterleştirilerek yağ asitleri dağılımı da incelenebilir.

D2b. Serbest Yağ Asitliği Analizi

1. Genel Bilgi

Yağlarda bulunan serbest yağ asitleri, asit sayısı olarak belirtildiği gibi yağın tipine göre oleik asit, palmitik asit, laurik asit miktarı olarak da verilebilmektedir.

2. İlke

Numunenin nötralize etil alkol ile muamelesi ve sonrasında fenol fitalein indikatörü eşliğinde NaOH ile titrasyonu esasına dayanır.

3. Kimyasallar

0,25 N ayarlı sodyum hidroksit (NaOH) çözeltisi — Nötralize etil alkol çözeltisi — Fenol fitalein indikatörü, %1'lik

4. Gereçler

Erlenmayer, 250 mL — Büret, 50 mL — Mezür, 100 mL

5. İşlem

7,5 g yağ örneği erlene aktarılır, karıştırılır, ılıtılır ve sıvı formda tutulur. Üzerine 75 mL nötralize edilmiş etil alkol katılır. Fenol fitalein indikatörü eşliğinde 0,25 N NaOH ile pembe renk görülene kadar titrasyona tabi tutulur. Titrasyon sırasında içerik şiddetle çalkalanmalıdır.

6. Hesaplama ve Değerlendirme

$$\% \text{ SYA (Oleik asit)} = \frac{V \times N \times 28,2}{M}$$

V : Harcanan sodyum hidroksit miktarı (mL)

N : Sodyum hidroksitin normalitesi

M : Yağ miktarı (g)

28,2 : Oleik asitin miliekivalan ağırlığı

Kaynaklar

AOAC. 2000. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.

Vural H. ve Öztan A. 1996. Et ve et ürünleri kalite kontrol laboratuvarı uygulama kılavuzu. Hacettepe Üniv. Müh. Fak. Yayınları No: 36. Ankara, 236 s.

D2c. Et ve Et Ürünlerinde Tiyobarbiturik Asit (TBARS) Sayısı Analizi

1. Genel Bilgi

Tiyobarbiturik asit (TBA) sayısı, et ve et ürünlerindeki yağlarda otooksidasyon sonucu oluşan acılaştırmanın belirlenmesinde kullanılan bir kriterdir. Et ve et ürünlerinin bileşiminde bulunan yağlar soğukta muhafaza ya da donmuş depolama esnasında oksidatif reaksiyonlara maruz kalmaktadırlar. Oksidatif reaksiyonlarda başlıca substrat doymamış yağ asitleri ve oksijendir. Oksidasyon reaksiyonları başlıca üç aşamada gerçekleşmekte ve bu reaksiyonlarla hidroperoksitler, peroksitler, aldehytler ve ketonlar gibi oksidasyon ürünleri oluşmaktadır. Lipidoksidasyonu sonucu meydana gelen aldehytlerden biri malonaldehit (MA)'tir. MA'in üründe birikmesi, oksidasyon düzeyini belirlemede önemli bir kriterdir. Et ve et ürünlerinde lipit oksidasyonunun düzeyini belirlemede en yaygın kullanılan yöntem, MA miktarının belirlenmesine dayanan TBA sayısı analizidir. TBA analizi ile miktarı belirlenen MA, üç karbonlu bir aldehyt türevi olup, bu bileşiğin ortamda bulunma düzeyi etin oksidasyon düzeyi ile doğru orantılıdır.

2. İlke

Yöntem, örnekte bulunan malonaldehitin %7,5'lük TCA çözeltisi ile ayrılması, TBA ayırıcı ile reaksiyona sokularak inkübasyona bırakılması ve oluşan rengin yoğunluğunun spektrofotometrede ölçülmesi esasına dayanır.

3. Kimyasallar

%7,5'lük TCA çözeltisi — 0,02 mol/L TBA çözeltisi — 0,1 N HCl çözeltisi

%7,5'lük TCA çözeltisi: 75 g TCA tartılır, 500 ml saf su içerisinde çözündürülür ve çözelti 1000 ml'lik balon jöjeye aktarılarak seviyesine tamamlanır.

0,02 mol/L TBA (2-thiobarbituric acid) çözeltisi: 1,4414 g TBA 250 ml 0,1 N HCl içerisinde çözündürülür ve çözelti 500 ml'lik balon jöjeye aktarılarak seviyesine 0,1 N HCl ile tamamlanır.

0,1 N HCl çözeltisi: 8,29 ml %37'lik HCl'den pipetle alınır, 1000 ml'lik balon jöjeye aktarılır ve seviyesine saf su ile tamamlanır.

4. Gereçler

Whatman No:40 filtre kâğıdı — Beher, 100 mL — Vidalı kapaklı cam test tüpü

5. İşlem

- 10 g et örneği 30 ml %7,5'lük triklor asetik asit (TCA) çözeltisinde homojenize edilir.
- Whatman No:40 kullanılarak homojenizat süzülür. Süzme işlemini kolaylaştırmak için homojenizat 10000 rpm'de 5 dak boyunca santrifüj edilebilir.
- Süzüntüden 5 ml vidalı kapaklı cam test tüplerine alınır. Üzerine 5 ml 0,02 mol/L derişimindeki TBA çözeltisinden ilave edilir. Kör olarak 5 ml saf su ve 5 ml TBA çözeltisi kullanılır.
- Karışım vortexlenir ve 35 dak boyunca 100 C'deki su banyosunda bekletilir.

- Süre sonunda tüpler soğuk su banyosunda hızla soğutulur ve 532 nm’de köre karşı okuma yapılır.

6. Hesaplama ve değerlendirme

Spektrofotometreden okunan absorbans değeri, 1,3,3-tetraethoxypropane (TEP) ayıracı kullanılarak çizilen kurve yardımı ile belirlenen formülde yerine konularak, et örneğindeki malonaldehit miktarı mg malondialdehyde (MA)/kg örnek olarak hesaplanır. Bu değer TBA sayısı olarak ifade edilmektedir.

$$C = (ABS - 0,007) / 0,702$$

$$TBARS \text{ (mg MA/kg et)} = (60 * C) / M$$

Abs: spektrodan elde edilen absorbans değeri

60: Seyreltme faktörü

C: TEP kurvesinden bulunan MA miktarı ($\mu\text{g/ml}$)

M: Analize alınan örnek miktarı

Kaynak

Mielnik M.B., Olsen E., Vogt G., Adeline D. and Skrede G. 2006. Grape seed extract as antioxidant in cooked cold stored turkey meat. LWT, Food Science and Technology, 39; 191-198.