

D4a. Et ve Et Ürünlerinde Renk Ölçümü ve Kür Pigment (Nitrozomyoglobin) Miktarı Analizi

1. Genel Bilgi

Et ve et ürünlerinde renk ölçümü Hunter renk sistemini temel alan Minolta cihazı kullanılarak yapılabilir. Bu amaçla, düzgün bir kesit yüzeyi olacak şekilde hazırlanan et örneklerinin en az farklı 3 noktasından ölçüm yapılır. Elde edilen L^* değeri açıklık-koyuluk, a^* değeri kırmızılık ve b^* değeri ise sarılığın göstergesidir. Ette kürlenme prosesinin tam olarak anlaşılabilmesi için de, et pigmentlerinin ve kürlenme sırasında oluşan reaksiyonların bilinmesi gerekmektedir. En genel ifade ile, nitrosomyoglobin kürlenmiş et ürünlerinin renk pigmenti olup, nitrik oksit ile myoglobinin birleşmesi sonucu oluşur.

2. İlke

Nitrosomyoglobinin aseton-su karşımında çözündürülmesi ve renk yoğunluğunu spektrofotometrik olarak ölçülmesidir.

3. Kimyasal

Aseton

4. Gereçler

Kahverenkli cam şişe — Erlenmayer, 100 mL — Filtre kâğıdı — Huni — Spektrofotometre

5. İşlem

10 g et örneği tartılarak kahverenkli cam şişeye aktarılır. Üzerine 40 mL aseton ve 3 mL saf su ilave edilerek 5 dakika süre ile hızla çalkalanır ve sonrasında süzülür. Süzüntü 540 nm'de köre karşı (40 mL aseton ve 3 mL saf su içeren) okunur.

6. Hesaplama ve değerlendirme

Elde edilen absorbans değerleri 290 katsayısı ile çarpılarak nitrosomyoglobin miktarı ppm cinsinden hesaplanır.

Kaynak

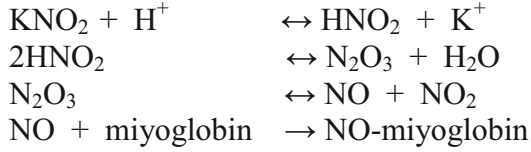
Vural H. ve Öztan A. 1996. Et ve et ürünleri kalite kontrol laboratuvarı uygulama kılavuzu. Hacettepe Üniv. Müh. Fak. Yayınları No: 36. Ankara.

D4b. Et Ürünlerinde Kalıntı Nitrit Analizi

1. Genel Bilgi

Et ürünlerinde kalıcı et renginin oluşturulabilmesi için kürlenme prosesinde nitrit ve nitratların sodyum ve potasyum tuzları kullanılır. Nitrat ürüne ilave edildikten sonra nitrat indirgeyen bakteriler tarafından nitrite indirgenir. Nitrit ise enzimatik ve kimyasal yolla parçalanarak et ürünlerinde arzu edilen rengin oluşmasını sağlar (Şekil 1).

Potasyum nitrat (KNO_3) → mikroorganizmalar tarafından indirgenme → nitrit (KNO_2)



Şekil 1. Kürlenmiş et ürünlerinde nitratın indirgenme mekanizması (Honikel 2008)

Nitrit insanlar tarafından tüketilmesine izin verilen tek toksik madde olduğu için kullanımı katı kurallara bağlanmıştır ve yasal düzenlemeler getirilmiştir. Yasal düzenlemeler kalıntı nitrit kavramını ortaya çıkarmıştır. Kalıntı nitrit ürüne fazla miktarda ilave edilen nitritin, enzimatik olarak parçalanmadan üründe kalan miktarı olarak tanımlanır.

2. İlke

Numune sıcak su ile ekstrakte edilir, proteinler çöktürülür ve süzülür. Örnekteki nitrit, süzüntüye ilave edilen sülfanilamid ve N-1 naftiletilediamin dihidroklorür ile kırmızı renk oluşturur ve bu rengin yoğunluğu 538 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür.

3. Kimyasallar

Ayıraç I: Bir miktar suda 106 g potasyum ferrosiyaniür trihidrat ($K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$) çözündürülür ve su ile 1 L'ye tamamlanır.

Ayıraç II: Bir miktar suda 220 g çinko asetat dihidrat ($Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$) 30 mL glasiyel asetik asitle çözündürülür ve su ile 1 L'ye tamamlanır.

Doymuş boraks çözeltisi: Disodyum tetraborat dekahidrat ($Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$)'tan 50 g tartılır ve 1 L ılık su içerisinde çözündürülür, oda sıcaklığına soğutulur.

Sodyum nitrit standart çözeltileri

Stok 1: Sodyum nitrit ($NaNO_2$)'ten 1 g tartılarak 100 mL'lik ölçü balonuna aktarılır. Yeteri kadar su ile çözündürülür ve çizgisine tamamlanır.

Stok 2: Stok 1 çözeltisinden 5 mL alınır ve 1 L'lik ölçü balonuna aktarılır, su ile çizgisine tamamlanır.

Stok 2 çözeltisinden pipetle alınan 1 mL, 2 mL, 5 mL, 10 mL ve 20 mL'lik kısımlar 100 mL'lik ölçü balonlarına aktarılır ve su ile çizgisine tamamlanır. Bu standart çözeltiler mL'de sırasıyla 0,5 µg, 1 µg, 2,5 µg, 5,0 µg ve 10,0 µg sodyum nitrit içerir. Standart çözeltiler ve bunların hazırlanmasında kullanılan stok sodyum nitrit çözeltisi (0,05 g/l) kullanılacakları günde taze olarak hazırlanmalıdır.

Renk oluşumu için gerekli kimyasallar

Çözelti I: Sulfanilamid ($\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_2\text{NH}_2$)'den 2 g tartılır ve 800 mL suda su banyosunda ısıtılarak çözülür, soğutulur. Gerekirse süzülür, üzerine 100 mL hidroklorik asit (HCl, $d_{20}=1,19$) ilave edilir ve su ile 1 L'ye tamamlanır.

Çözelti II: N-1-naftiletilediamin dihidroklorür ($\text{C}_{10}\text{H}_7\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2\text{HCl}$)'den 0,25 g tartılır ve 250 mL'lik ölçü balonuna aktarılır. Su ile çözündürülerek çizgisine tamamlanır. Çözelti ağzı sıkıca kapatılabilen koyu renkli bir şişede saklanır. Bu çözelti buzdolabında en çok bir hafta depolanabilir.

Çözelti III: Derişik hidroklorik asit (HCl, $d_{20}=1,19$)'ten 445 mL alınır ve su ile 1 L'ye tamamlanır.

4. Gereçler

Kıyma makinesi veya robot — Analitik terazi — *Ölçü balonları*, 100 mL, 200 mL ve 1000 mL'lik — Spektrofotometre — *Pipetler* — Kaynar su banyosu — *Kaba filtre kağıdı* (nitrit içermeyen) — Erlen, 300 mL'lik

5. İşlem

5.1. Örnek hazırlama

Yaklaşık 200 g örnek homojen hale getirilir ve bekletilmeden analize alınır. Hazırlanan örnekten 0,001 g duyarlılıkta 10 g tartılır ve 300 mL'lik erlene aktarılır.

5.2. Proteinlerin uzaklaştırılması

- Erlene alınan örnek üzerine sırasıyla 5 mL doymuş boraks çözeltisi ve 100 mL sıcak su (sıcaklığı en az 70 °C) katılır.
- Erlen kaynar su banyosu üzerinde belirli aralıklarla çalkalanarak 15 dakika ısıtılır.
- Erlen ve içeriği kendi halinde bırakılarak oda sıcaklığına soğutulur ve üzerine sırasıyla 2 mL Ayıraç I ve 2 mL Ayıraç II katılır. Her ayıraç katılmasından sonra çözelti iyice karıştırılır.
- Erlen ve içeriği 200 mL'lik ölçü balonuna aktarılır. Su ile çizgisine tamamlanır. Oda sıcaklığında 30 dakika bekletilir. Ölçü balonunun üst kısmında kalan sıvı fazı dikkatle filtre kağıdından süzerek berrak bir çözelti elde edilir.

5.3. Spektrofotometrik ölçüm

- Süzüntüden 10 mL pipetle alınır (25 mL'den çok olmamalıdır) ve 100 mL'lik ölçü balonuna aktarılır. Yaklaşık 60 mL hacim elde etmek üzere su katılır.
- Üzerine sırasıyla 10 mL Çözelti I ve yaklaşık 6 mL Çözelti III katılır ve karıştırılır. Karışım karanlık bir yerde ve oda sıcaklığında 5 dakika kendi halinde bekletilir.
- 2 mL çözelti II katılır, karıştırılır ve karanlıkta, oda sıcaklığında 3-10 dakika bekletilir. Sonra su ile çizgisine seyreltilir.
- Çözeltinin optik yoğunluğu, 1 cm optik yollu spektro küveti kullanılarak 538 nm'ye ayarlı spektrofotometrede ölçülür.

Not: Deney örneğinden elde edilen çözeltinin absorbansı, en yüksek konsantrasyona sahip standart çözeltinin absorbansından yüksek ise, pipetle alınan süzüntü hacmi azaltılarak işlem tekrar edilmelidir.

5.4 Standart kurvenin hazırlanması

- Altı adet 100 mL'lik ölçü balonuna pipetle 10'ar mL su ve beş ayrı standart sodyum nitrit çözeltisinden (mL'de 0 µg, 0,5 µg, 1 µg, 2,5 µg, 5µg ve 10 µg nitrit içeren) 10'ar mL konur.
- Ölçü balonlarına yaklaşık 60 mL su ilave edilir ve renk ölçümü aşamasındaki 1, 2 ve 3 nolu işlemler sırasıyla uygulanır. Bu standart çözeltiler mL'de sırasıyla 0 µg, 0,05 µg, 0,1 µg, 0,25 µg, 0,5 µg ve 1 µg nitrit içerir.
- Okuma değerleri ve konsantrasyonlar grafiğe aktarılarak standart kurve çizilir.

6. Hesaplama ve Değerlendirme

Numunedeki nitrit miktarı (B), kilogramda mg sodyum nitrit olarak aşağıdaki formülle hesaplanır.

$$B = [(c \times 20000) / (m \times V)]$$

B: Numunedeki nitrit miktarı (mg/kg)

m: Deney numunesi miktarı (g)

V: Spektrofotometrik ölçüm için alınan örnek süzüntü hacmi (mL)

c: Deney numunesinden hazırlanan çözeltinin absorbans değerini karşılayan ve kalibrasyon eğrisinden bulunan sodyum nitrit miktarı (µg/mL olarak)

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.

Honikel, K.O. 2008. The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. Meat Science, 78, 68-76.

Gökalp, H., Kaya, M., Zorba, Ö. 1994. Et Ürünleri İşleme Mühendisliği. Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Ofset Tesisi, Erzurum, 560 s.

Öztaş, A. 2005. Et Bilimi ve Teknolojisi. TMMOB Gıda Mühendisleri Odası Kitaplar Serisi. No:1. Ankara, 495 s.

Sağlam, Ö.F. 2000. Türk Gıda Mevzuatı. Çevre ve Sağlık Hizmetleri Sanayi ve Ticaret Ltd. Şti., Ankara, 716 s.

Vural H., Öztaş A. 1996. Et ve Ürünleri Kalite Kontrol Laboratuvarı Uygulama Kılavuzu. Hacettepe Üniv. Müh. Fak. Yayınları. No: 36. Ankara, 236 s.