

Ham Maddelerde Hızlı Protein Tayini

Murat BALKAN
Yüksek Kimyager
Kurt & Kurt A.Ş. - ANKARA

Besin ve yem maddelerinin PROTEİN tayininde, Kjeldahl metodu bütün dünyaca kabul edilen bir metod olagelmıştır.

Kjeldahl metodunun kullanımındaki başarısının ana etkeni, neticelerdeki doğruluk, tekrarlanabilirliği ve standart bir metod olarak kabul edilmesidir. Klasik Kjeldahl metodunun numune başına yüksek maliyeti, kapasite azlığı, zaman kaybı ve yer ihtiyacı gibi, dezavantajları «Kjeldahl'ın yeniden Doğusu» -KJELTEC SYSTEM'in geliştirilmesiyle bertaraf edilmiştir. Yeni sistem kullanışdaki kolaylığı, üstün tekrarlanabilirliği beraberinde getirmiş ve Klasik Kjeldahl'ın yönteminin dezavantajlarını ortadan kaldırmıştır.

Bununla beraber, hububat sınıflandırılması (= klasifikasyon) ve hergün büyük miktarlarda süt testleri gibi bazı uygulamalar için, çabuk netice veren metotlara duyulan ihtiyaç, yeni metodların bulunmasını zorunlu kılmış ve hızlandırmıştır.

Buna rağmen, yalnız birkaç metod, ekonomik ve bilimsel olarak kabul edilmiştir. Örneğin, hububatlarda protein kalitesi değişimi için, boya-bağlama metodu geniş bir uygulanabilirlik kazanmıştır. Bunda boya-bağlama metodunun doğruluğu, numune başına düşük maliyeti ve uygulanabilirliği ana rolü oynamıştır.

Sadece oldukça küçük miktarlardaki numunelere uygulanabilen otomatik DUMAS metodunda yanığı payı oldukça yüksek görülmüştür. Besin ve yem numunelerinde güvenilir bir analiz için örnek seçiminin ana baz olduğu gözden kaçırılmamalıdır.

Kırmızı - Ötesi (IR) metodu çok çabuk netice verir. Fakat numune hazırlanmasında gereken çok sayıdaki ön çalışmalardan dolayı, hububat için günümüze dek tatminkâr bir netice elde edilememiştir. Sık sık kalibrasyon ihtiyacı gösteren metod çeşitli zorlukları haizdir. maksatla çeşitli katkı maddeleri katılmaktadır.

Son zamanlarda geliştirilen «Doğrudan - Destilasyon» metodu bu alanda, tüm dikkatleri üzerine çekmektedir. İstenen sürat, Kjeldahl ile büyük uyum, numune başına düşük maliyet, makro numunelerle çalışma böylece numune hazırlanmasından doğabilecek hataların minimuma indirilmesi v.b. gibi ana istemler karşılanmıştır. Metod, Poméranz ve R.B. Moore tarafından Bakers Digest, Şubat 1975 ve John A. Ronalds tarafından Journal of Science and Food Agriculture, 1974 da açıklanmaktadır. Doğrudan - Destilasyon yöntemi numunelerin alkali solüsyonunda kaynatılması, açığa çıkan NH₃ in bağlanması ve miktarının tayini esasına dayanır.

Metod, Avustralya'da 8 milyon buğday ve 1 milyonu aşkın süt numunesine mukayeseli olarak uygulanmış ve Klasik Kjeldahl'la aynı neticeler elde edilmiştir.

Elde edilen bu başarı TECATOR'a çalışmalarını dahada ileriye götürme ve aşağıdaki üniteleri ihtiva eden bir sistemi kullanarak metodu hızlandırma konusunda itici bir rol oynamıştır.

DD Sisteminin ihtiva ettiği üniteler :

— 1003 Destilasyon ünitesi

— Cyclotec Numune Değirmeni

- Direkt - Destilasyon Aksesuar Kiti
- Küllendirme Sistemi DS 6

Bu sistem yem ve besin laboratuvarlarında hem ham maddelerin hızlı test edilmesini ve hemde karışık yemlerin ve diğer numunelerin günlük azot/protein tayinlerini mümkün kıldı.

Metodun Açıklanması :

Numune : Arpa, Buğday

Numune hazırlanması : Hububat Cyclotec numune değirmeninde öğütülür.

Numune miktarı : 5.000 gr.

Metod :

Numuneler tartılır ve özel destilasyon tüplerine transfer edilir. Silindirik ve normal Kjeldahl tüplerinden daha geniş olan tüplerin kuru olmasına dikkat edilmelidir. Tüplere yaklaşık 75 ml. deionize veya destile su ve daha sonra nişasta koagülasyonunu kontrol altında tutmak için 30 ml. BaCl₂ çözeltisi ilâve edilir. Sıvıların ilâvesi sırasında tüpler devamlı çalkalanmalı veya bir Vortex - Mixer ile karıştırılmalıdır. Bu işlem tüplerde köpürmeyi önleyecektir. Tüpler böylece 1003 Destilasyon Ünitesi üzerine takılır. Toplayıcı koni balondaki çözelti Kjeldahl tayinlerinde kullanılanın aynıdır. 25 ml. % 4 Boric Asit ve indiktor. 1003 Destilasyon Ünitesi «Ready/Start» düğmesine basıldığında buhar ve alkali vanalarını aynı anda açacak şekilde dizayn edilmiştir. 75 ml. % 40 w/w NaOH çözeltisi tüplere otomatik olarak verilir ve numuneler 6 dakika destilasyona tabi tutulur. 180-200 ml. destilasyon sıvısı toplanır. Titrasyon işlemi normal 0.1 N veya 0.2 N HCl ile yapılır.

Neticelerin Hesaplanması :

Nümunedeki % Azot aşağıda verilen formüle göre hesaplanır.

$$14.008 \times (M - \text{blank}) \times N$$

$$\% \text{ AZOT} = \frac{\text{g} \times 10}{\text{g} \times 10}$$

M : Titrasyonda kullanılan asit miktarı

N : Titrasyon asitinin konsantrasyonu

g : Numune miktarı

blank : Aynı hacimde H₂O ve BaCl₂ ihtiva eden çözeltinin titrasyonunda kullanılan HCl miktarı

% Protein miktarı ise aşağıdaki gibi hesaplanır.

$$\% \text{ Protein} = A \times \% N + B$$

A ve B bir seri Kjeldahl ve Direkt Destilasyon deneyleri sonucu elde edilen grafiklerden elde edilir.

Yöntemde tekrar üretilebilirlik ± 1 % den daha iyi ve Klasik Kjeldahl'la bağlantısı 0.0992-0.996 arasındadır.

Azot/Protein tayinlerinde :

- Kjeldahl metoduyla büyük uyum,
- Yüksek üretilebilirlik,
- 6-7 dakika alan analiz süresi,
- Hataları minimuma indiren, örnek numune miktarındaki artış,
- Numune hazırlanmasındaki kolaylık,
- Protein tayinlerini hem alkali destilasyon ve hemde klasik Kjeldahl metodlarına göre yapabilmek,
- Yüksek hız, ucuz kimyasal ve düşük maliyet,
- Tek üniteyle günde 100 numune, extra ile destilasyon ünitesiyle günde 250 numune kapasitesi,

TECATOR SYSTEM'le gerçekleşmiştir.