

T.C.
MİLLÎ EĞİTİM BAKANLIĞI



MEGEP

(MESLEKİ EĞİTİM VE ÖĞRETİM SİSTEMİNİN
GÜÇLENDİRİLMESİ PROJESİ)

GIDA TEKNOLOJİSİ

GIDALARDA HAM PROTEİN TAYİNİ

ANKARA 2007

Milli Eğitim Bakanlığı tarafından geliştirilen modüller;

- Talim ve Terbiye Kurulu Başkanlığının 02.06.2006 tarih ve 269 sayılı Kararı ile onaylanan, Mesleki ve Teknik Eğitim Okul ve Kurumlarında kademeli olarak yaygınlaştırılan 42 alan ve 192 dala ait çerçeve öğretim programlarında amaçlanan mesleki yeterlikleri kazandırmaya yönelik geliştirilmiş öğretim materyalleridir (Ders Notlarıdır).
- Modüller, bireylere mesleki yeterlik kazandırmak ve bireysel öğrenmeye rehberlik etmek amacıyla öğrenme materyali olarak hazırlanmış, denenmek ve geliştirilmek üzere Mesleki ve Teknik Eğitim Okul ve Kurumlarında uygulanmaya başlanmıştır.
- Modüller teknolojik gelişmelere paralel olarak, amaçlanan yeterliği kazandırmak koşulu ile eğitim öğretim sırasında geliştirilebilir ve yapılması önerilen değişiklikler Bakanlıkta ilgili birime bildirilir.
- Örgün ve yaygın eğitim kurumları, işletmeler ve kendi kendine mesleki yeterlik kazanmak isteyen bireyler modüllere internet üzerinden ulaşılabilirler.
- Basılmış modüller, eğitim kurumlarında öğrencilere ücretsiz olarak dağıtılır.
- Modüller hiçbir şekilde ticari amaçla kullanılamaz ve ücret karşılığında satılamaz.

İÇİNDEKİLER

AÇIKLAMALAR	ii
GİRİŞ.....	1
ÖĞRENME FAALİYETİ-1	3
1. PROTEİN TAYİNİ	3
1.1. Genel Bilgi	3
1.2. Gıda Maddelerinde Protein Tayin Yöntemleri.....	5
1.2.1.Kantitatif Yöntemler	5
1.2.2. Gıda Maddesindeki Toplam Organik Azotun Tayin Edilmesine Dayalı Yöntemler	5
1.2.3.Kolorimetrik Esaslara Dayalı Yöntemler.....	6
1.2.4. Formol Titrasyonu Yöntemi	7
1.2.5. Direkt Destilasyon Yöntemi	8
1.2.6. Diğer Yöntemler	8
1.3. Kjeldahl Yöntemi İle Ham Protein Tayini.....	8
1.3.1. Kjeldahl Yöntemi İle Protein Tayininin İlkesi	8
1.3.2.Kjeldahl Yöntemi Uygulanmasında Dikkat Edilecek Noktalar;	12
1.3.3. Analiz İçin Gıda Maddelerini Hazırlama	13
1.3.4. Yaş Yakma = Digestion	14
UYGULAMA FAALİYETİ	18
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME.....	23
ÖĞRENME FAALİYETİ-2	27
2. KJEHDAHL YÖNTEMİNDEDESTİLASYON ve TİTRASYON	27
2.1. Destilasyon.....	27
2.1.1. Kullanılan araç-gereçler:.....	28
2.1.2. Kullanılan kimyasallar	28
2.1.3. İşlem Basamakları.....	28
2.2. Titrasyon	30
2.2.1. Kullanılan araç-gereçler:.....	31
2.2.2. Kullanılan kimyasallar	31
2.2.3. İşlem Basamakları.....	31
2.3. Protein Miktarını Hesaplama	31
2.3.1. % Ham Protein Formülü	32
2.3.2. Gıdalara Ait Protein Kat Sayıları (F)	32
2.3.3. Protein Miktarı İle İlgili Problemler Ve Çözümleri.....	33
UYGULAMA FAALİYETİ	34
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME.....	41
MODÜL DEĞERLENDİRME	45
CEVAP ANAHTARLARI	48
KAYNAKLAR	49

AÇIKLAMALAR

KOD	541GI0087
ALAN	Gıda Teknolojisi
DAL/MESLEK	Gıda Kontrol/ Gıda Laboratuvar Teknisyeni
MODÜLÜN ADI	Gıdalarda Ham Protein Tayini
MODÜLÜN TANIMI	Gıda Teknolojisi Gıda Kontrol dalında eğitim ve öğrenim gören öğrenciler için hazırlanmış, gıda maddelerinde protein tayin yöntemleri, Kjeldahl yöntemin ilkesi, örneğin analize hazırlanması, yakma, destilasyon ve titrasyon aşamalarının uygulanması ve protein miktarının hesaplanması ile ilgili bilgi ve becerilerinin işlendiği bir öğrenme materyalidir.
SÜRE	40/32
ÖN KOŞUL	“Analiz Öncesi Hazırlıklar”, “Çözelti Hazırlama” ve “Analiz Sonrası İşlemler” Modül’lerini başarmış olmak ön koşuldur.
YETERLİK	Protein oranını belirlemek.
MODÜLÜN AMACI	Genel Amaç: Bu modül ile öğrenci, uygun ortam sağlandığında analiz metoduna uygun olarak gıdalarda protein tayini yapabilecektir. Amaçlar: 1. Örneği analize hazırlayıp yakma işlemini yapabilecektir. 2. Distilasyon ve titrasyon yapabilecektir.
EĞİTİM ÖĞRETİM ORTAMLARI VE DONANIMLARI	Analitik terazi, öğretücü veya blendr, genel laboratuvar araç-gereçleri Kjeldahl yakma düzeneği veya protein tayin cihazı, damıtma düzeneği, genel laboratuvar araç-gereçleri, sınıf ortamı.
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	Bu modül içerisinde her öğrenme ve uygulama faaliyetinden sonra yapılan ölçme ve değerlendirmeler ile kendi kendinizi değerlendirebileceksiniz. Modül sonunda öğretmeniniz tarafından yapılan yazılı ve uygulamalı ölçme araçları ile kazandığınız bilgi ve beceriler değerlendirilecektir.

GİRİŞ

Sevgili Öğrenci;

Hayvansal ve bitkisel tüm canlı hücrelerinin, protoplazmasının yapısını oluştururlar. Metabolizmayı gerçekleştiren enzim ve hormonların bileşenleri de proteindir. Proteinsiz hayat olmaz. Karbohidratlar ve yağlar canlıların en önemli enerji kaynağıdır. Fakat bu besin öğeleri organizmada yeni dokuların yapılması ve onarımında proteinlerin yerini asla tutamazlar.

Kimyasal olarak 20 amino asitin birbirlerine peptid bağlarıyla bağlanması ve üç boyutlu yapı kazanması ile oluşan proteinlerin yapısında bulunan temel elementler karbon, hidrojen, oksijen, azot ve kükürttür. Gıdalarda toplam organik azot miktarı ya doğrudan doğruya azot olarak ya da protein olarak belirtilir.

Her gıdada farklı oranda protein bulunur. Gıdaların besin değerinin ve kalitesinin saptanmasında protein miktarının da belirlenmesi gerekir. Hayvansal ve bitkisel kaynaklı gıdalarda protein tayini için pek çok yöntem geliştirilmiştir. Protein tayini için işletmenin iş yükü ve işletmede bulunan enstrümanlar, örneğin özellikleri ve homojenliği, analiz sonucunda istenen duyarlılık derecesi gibi faktörler göz önünde bulundurularak bu yöntemlerden biri seçilir.

Protein tayininde en çok kullanılan yöntem Danimarkalı kimyacı Johan Kjeldahl'ın geliştirdiği Kjeldahl yöntemidir. Kjeldahl yönteminin temel amacı gıdalardaki serbest azotun amonyum iyonuna çevrilmesidir Kjeldahl yöntemi ile yalnız gıdalarda değil hayvan yemleri, gübre ve çöpler gibi pek çok farklı örnekte azot ve protein tayini yapılabilir.

Rutin analizlerde proteinler ve amino asitler ayrı ayrı değil toplam ham protein olarak tayin edilmekte ve gıdalarda bulunan proteinlerin içerdikleri azot miktarına göre saptanan belirli bir faktörle çarpılarak ham protein miktarını saptanmaktadır.

Gıda sektöründe kalite kontrol elemanı olarak görev alacak olan sizler “Gıdalarda Ham Protein Tayini ” Modül'ü ile analiz yöntemine uygun olarak örneği analize hazırlayabilecek ve protein tayini yapabileceksiniz.

Modülün içeriğini kavrayarak hatasız uygulayabilmeniz çok önemlidir. Verilen bilgi ve becerileri edinmenizde öğretmenleriniz size yardımcı olacaktır. Fakat öğrenme sorumluluğu size aittir.

Başarı dileklerimizle.

ÖĞRENME FAALİYETİ-1

AMAÇ

Bu faaliyet sonucunda aldığımız bilgilerle uygun ortam, araç-gereç ve ekipman sağlandığında analiz metoduna uygun olarak örneği analize hazırlayıp yakma işlemini yapabilecektir.

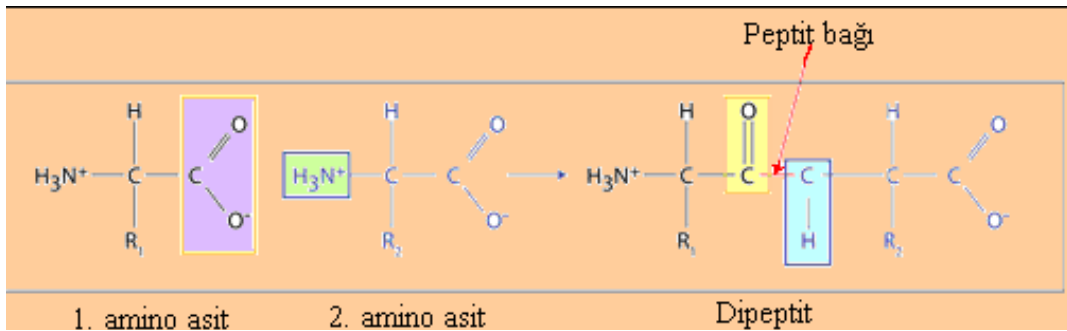
ARAŞTIRMA

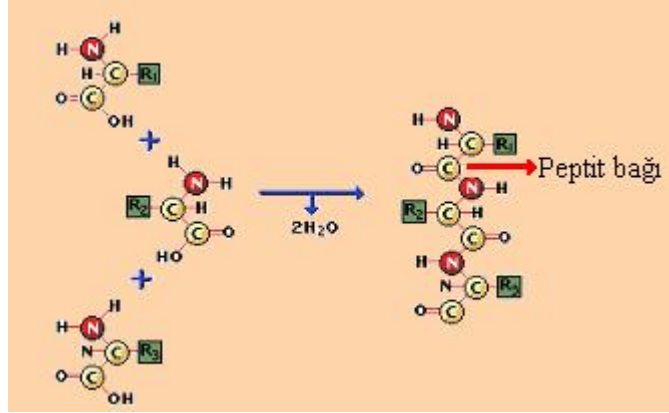
- Ø Çevrenizdeki gıda işletmeleri ve varsa araştırma laboratuvarlarına giderek protein tayininde hangi yöntemi kullandıklarını ve bunun nedenini araştırın.
- Ø Protein tayini için nasıl örnek aldıklarını ve örneklere hangi işlemleri uyguladıklarını inceleyin.
- Ø Araştırma ve incelemelerinizi rapor haline getirip, sınıfta arkadaşlarınızla paylaşınız.

1. PROTEİN TAYİNİ

1.1. Genel Bilgi

Proteinler sadece hücredeki ribozomlarda amino asitlerden sentezlenen, ortalama % 50–55 karbon, % 6–7 hidrojen, % 20–23 oksijen, % 12–19 azot ve %0.2–3.0 kükürt içeren organik bileşiklerdir. Bazı proteinlerde bu temel elementlerden başka P, Fe, Zn, Cu gibi elementler de bulunabilmektedir. Proteinler 20 amino asitin birbirlerine peptid bağlarıyla bağlanması ve üç boyutlu yapı kazanmaları ile oluşmuştur. Her protein değişik sayı ve çeşitte aminoasit içerir. (Gıda Kimyası dersi-Proteinlerin Özellikleri Modül'ü)





Proteinler;

- Ø Yapı elemanlarıdır.
- Ø Yapıları hücrede buldukları yere ve fonksiyonlarına göre değişir.
- Ø Suda çözünürler, alkolde az çözünürler, organik çözücülerde ise çözünmezler.
- Ø Büyük molekülü, amfoter özellikli maddelerdir.
- Ø Değişik renk reaksiyonları vardır.
- Ø Asit veya enzim hidrolizi ile amino asitlerine ayrılırlar.
- Ø Ağır metallerle çökelek verirler.
- Ø Her proteinin belli bir absorbansı ve polarize ışığı kırma derecesi vardır.
- Ø Proteinlerin yapıları;
 - 50–60°C yüksek sıcaklıkta
 - Ph= 4'ün altında veya pH= 10'un üstünde,
 - Organik çözücülerle muamele edildiklerinde
 - X veya UV ışınları altında
 - Tekrar tekrar dondurulup çözündürüldüklerinde bozunur

Gıda maddesi	Protein %	Gıda maddesi	Protein %	Gıda maddesi	Protein %
Dondurma	4.5	Ekmek	9.1	Domates	1.1
Yoğurt (tam yağlı)	3.5	İrmik	11.4	Karnabahar	2.7
Beyaz peynir	15.4	Bisküvi	6.6	Ispanak	3.3
Süt (yağlı-inek)	3.3	Makarna	12.5	Mantar	2.7
Dana eti	19.1	Tarhana	12.2	Bezelye	6.3
Koyun eti	16.5	Ceviz	14.8	Havuç	1.1
Piliç eti	23.4	Fındık	12.6	Mısır	10.0
Alabalık	18.3	Nohut	20,5	Portakal	1.0
Palamut	24.0	Kuru fasulye	22.3	İncir	1.2
Sucuk	21.4	Mercimek	24.7	Kiraz	1.3
Pastırma	29.5	Barbunya	22.9	Üzüm	0.6
Salam	23.8	Soya fasülyesi	34.1	Elma	0.2
Yumurta	12.1	Tahin helvası	13.5		

Tablo 1. : Bazı gıdaların 100 g'ında bulunan protein miktarları

Gıdalarda toplam organik azot miktarı ya doğrudan doğruya azot olarak ya da protein olarak belirtilir. Gıdalarda toplam organik azotun büyük kısmı proteinlerden bir kısmı ise protein olmayan bileşiklerden gelir. Protein olmayan fakat yapısında azot bulunan bileşikler;

- Ø Nükleik asitler,
- Ø Azotlu karbohidratlar,
- Ø Alkoloidler,
- Ø Azotlu lipitler,
- Ø Porfirinler,
- Ø Azotlu pigmentlerdir.

1.2. Gıda Maddelerinde Protein Tayin Yöntemleri

Protein tayininde kullanılacak yöntemin seçiminde;

- Ø İşletmede bulunan enstrümanlar,
- Ø Protein tayini yapılacak örnek miktarı, sayısı,
- Ø Örneğin homojenliği,
- Ø Sonuçların bildirilme süresi,
- Ø Sonucun duyarlılık derecesi gibi faktörler etkilidir.

1.2.1. Kantitatif Yöntemler

Kantitatif olarak proteinlerin renk reaksiyonlarıyla belirlenir.

- Ø **Millon Testi;** proteinler derişik nitrik asit + civa II ile hazırlanan Milan ayırıcı ile ısıtılırsa kan kırmızı renk oluştururlar. Bu reaksiyon tirozin amino asitinden ileri gelir.
- Ø **Ninhidrin Reaksiyonu;** proteinler ninhidrin çözeltisi ile ısıtılırsa mavi-menekşe renk oluşur.
- Ø **Ksantoprotein Reaksiyonu;** proteinler derişik nitrik asit (HNO_3) ile şiddetli sarı renk verir. Ortama amonyak (NH_3) katılırsa renk turuncuya döner. Bu renk dönüşümlerinin nedeni tirozin ve triptofan amino asitleridir. Nitrik asit ellere bulaştığında ellerin sarı renk olması bu reaksiyondan ileri gelir.
- Ø **Diasetil Reaksiyonu;** arginin amino asiti için karakteristik bir reaksiyondur. Seyreltik bir protein çözeltisi % 10'luk KOH çözeltisi ile karıştırılır ve üzerine 1 damla % 1'lik diasetil çözeltisinden damlatılırsa yeşil fluoresanslı koyu pembe renk oluşur.
- Ø **Kurşun Sülfür Reaksiyonu;** proteinin alkali çözeltisi kurşun asetat çözeltisi ile kaynatılırsa kükürlü amino asitler siyah kurşun sülfür çözeltisi veya esmer bir renk verir.

1.2.2. Gıda Maddesindeki Toplam Organik Azotun Tayin Edilmesine Dayalı Yöntemler

Proteinler C, H, O, N, S, P'dan meydana gelmiştir. Protein molekülü içerisindeki azotun miktarı ortalama % 16 ise de bu oran değişik gıda maddelerinde farklıdır. Gıda maddesindeki toplam organik azotun tayin edilmesine dayalı yöntemlerde;

- Ø Önce gıdanın içindeki toplam organik azot miktarı tayin edilir.

- Ø Sonra tayin edilen toplam organik azot miktarı protein molekülü içindeki toplam organik azot oranına göre belirlenmiş bir faktörle çarpılarak gıdanın protein içeriği saptanır.

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

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

Gaz haline getirilmiş azot veya amonyum tuzlarını tayin esasına göre geliştirilmiş belli başlı üç yöntem vardır.

- Ø 1831'de Fransada geliştirilmiş Dumas yöntemi
 - Ø 1883'te danimarkada geliştirilmiş Kjeldahl yöntemi
 - Ø 1924'te Hollandada geliştirilmiş Ter Meulen yöntemi
- Daha sonraları bu yöntemler modifiye edilmiştir.

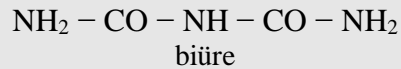
1.2.3.Kolorimetrik Esaslara Dayalı Yöntemler

Kolorimetrik analizler hem çok çabuk sonuç alınan hem de mikro düzeyde uygulanabilen analizlerdir. Kolorimetrik yöntemle yalnızca gıdadaki proteinler değil peptitler ve amino asitler de saptanabilir.

Kolorimetrik Yöntemle Protein Tayininin Esası; peptit bağları veya amino asit kalıntılarının uygun bir kimyasal kromofor grupları ile reaksiyonuna dayanır.

1.2.3.1. Biüre Yöntemi

Kuvvetli alkali ortamda gıda maddelerindeki proteinler bakır bileşikleriyle reaksiyona girerek kırmızı-menekşe veya erguvan rengi(mor) bir bileşik oluştururlar. Oluşan rengin yoğunluğu (intensitesi) ortamdaki protein miktarına bağlı olduğundan biüre reaksiyonlarına dayalı protein tayin yöntemleri geliştirilmiştir.



Biüre Yöntemi: Proteinlerdeki peptit bağlarının alkali ortamda bakır iyonları ile reaksiyonu sonucu oluşan mor rengin kolorimetrik olarak ölçümüne dayanmaktadır. Biüre reaksiyonlarında karakteristik rengin oluşabilmesi için en az bir veya birkaç peptit bağı bulunmalıdır. Ortamda proteinlerden başka herhangi bir organik bileşik kırmızı-menekşe rengi vermediğinden biüre reaksiyonu çok spesifikdir.

Alkali ortamda gıdalardaki glikoz gibi indirgen şekerler de ortamdaki Cu^{+2} iyonlarını Cu^{+1} iyonuna indirgediklerinden gıdalarda protein tayininde biüre yöntemi kullanıldığında rektiflere propan 2 ol katılmaktadır.

1.2.3.2. FCL (Folin-Ciocalteu-Lowry) Yöntemi

Bu yöntemde de Folin çözeltisi gıdadaki proteinlerle reaksiyona girip mavi renk oluşturur. Folin çözeltisi proteinlerle amino asitlerden daha fazla renk verir. FCL yönteminde reaksiyonlar iki aşamada gerçekleşir.

- Ø Biüre reaksiyonlarında olduğu gibi alkali ortamda proteinlerin bakır iyonları ile reaksiyonu.
- Ø Tyrosin veya triptofan kalıntıları içeren bakırla muamele edilmiş proteinlerin fosfomolibdik-fosfotungstik çözeltileri indirilmesi.

FCL yöntemi:

- Ø Tyrosin veya triptofanın 280 milimikron UV absorpsiyon ölçümünden 10–20 kez,
- Ø Biüre reaksiyonundan 100 kez
- Ø Ninhidrin reaksiyonundan birkaç kez daha duyarlı bir yöntemdir.

1.2.3.3. Boya Bağlama Yöntemleri

Proteinlerin renkli organik boyalarla bileşik oluşturma özelliğinden yararlanarak spektrofotometrik tayinleri yapılmaktadır. Önceleri kan ve serumda albümin tayinlerinde kullanılan bu yöntem gıdalara da uygulanabilmektedir.

Düşük pH derecelerinde protein moleküllerinde bulunan katyonik(+) polar gruplar boya molekülündeki anyonik(-) apolar gruplarla birleşirler ve suda çözünmeyen boya-protein kompleksi oluştururlar. Oluşan çökelek filtrasyon veya santrifüjleme ile ayrılır ve çözeltide kalan boya Spektrofotometrik olarak ölçülür. Boya bağlama yöntemi ile protein tayinlerinde Amido Black 10 B, Orange-G, Brom fenol blue, Azocarmin, Brom kresol gren gibi farklı renkli boyalar kullanılır.

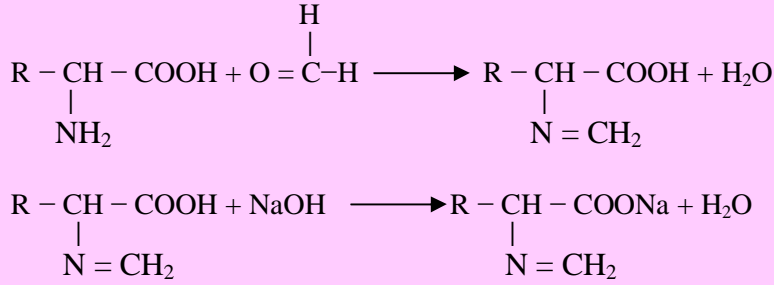
Maddede protein miktarı ne kadar fazla olursa bağladığı boya miktarı da o oranda artar.

Boya bağlama yöntemlerinde;

- Ø Biüre ve FCL yöntemlerinde olduğu gibi proteinlerin boya maddeleri ile reaksiyonu sonucu oluşan boya-protein kompleksinin rengi ölçülmez.
- Ø Aksine kullanılan boyanın bir kısmı proteinlere bağlandığından boya maddesinin konsantrasyonu azalır.
- Ø Bağlanamayan, serbest boyanın konsantrasyonu 470–475 milimikron dalga boyundaki spektrofotometre veya kolorimetrede ölçülür
- Ø Hazırlanmış tablolarla karşılaştırılarak protein miktarı bulunur.

1.2.4. Formol Titrasyonu Yöntemi

Süt ve bazı gıdaların sıvı ekstraktlarında protein, sütte kazein, dondurmada süt kuru maddesi ve bazı içeceklerde meyve suyu miktarının saptanmasında en hızlı sonuç alınan yöntemlerden biridir. Formol titrasyonu yönteminde proteinlerdeki amino asitlerin formaldehit ilavesiyle amin grubu (-NH₂) metilen imino grubuna (-N=CH₂) dönüştürülür. Serbest kalan COOH grubu ayarlı bazla titre edilerek sonuç hesaplanır.



Bu yöntemde titrasyonda harcanan baz miktarı protein miktarıyla doğru orantılıdır. Toplam protein yüzdesi hesaplanırken

- Ø Gıdada bulunan protein gruplarının çeşit ve oranına
- Ø Titrasyonda kullanılan baz ve normalitesine,
- Ø Seyreltme oranına göre saptanan bir faktör kullanılır.

1.2.5. Direkt Destilasyon Yöntemi

Daha çok hububat ve ürünlerinde kullanılır ve hızlı sonuç alınır. Gıdadaki amino asitler sodyum hidroksit ile kaynatılarak serbest hale geçen amonyak damıtılır ve saptanan amonyak miktarından protein miktarı hesaplanır.

1.2.6. Diğer Yöntemler

Kızıl ötesi, UV, refraktometre, türbidimetre, elektron spektroskopisi gibi enstrümanlarla protein tayini yapılabilmektedir. Bu enstrümanların pahalı olması tek dezavantajlarıdır.

1.3. Kjeldahl Yöntemi İle Ham Protein Tayini

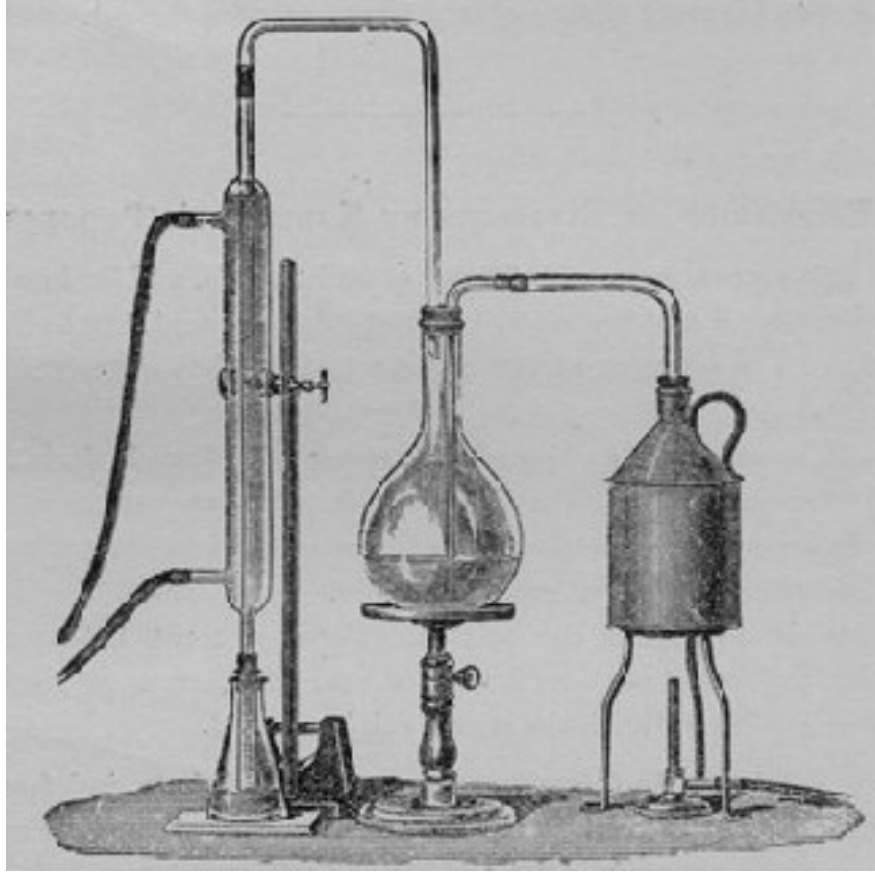
Protein tayininde en çok kullanılan yöntem Danimarkalı kimyacı Johan Kjeldahl'ın geliştirdiği Kjeldahl yöntemidir. Kjeldahl yöntemi ile yalnız gıdalarda değil hayvan yemleri, gübre ve çöpler gibi pek çok farklı örnekte azot ve protein tayini yapılabilir.

Kjeldahl yöntemi ile protein halinde bulunmayan amin, amid ve amonyum gibi azot içeren tüm bileşikler de protein gibi belirlendiğinden bu yönteme Ham Protein Tayini denilmektedir.

1.3.1. Kjeldahl Yöntemi İle Protein Tayininin İlkesi

Azot içeren örneğin belli bir miktarının H_2SO_4 ile yakılarak içindeki tüm azotun $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ a dönüştürülmesi, çözeltinin bazikleştirilmesi ve açığa çıkan NH_3 'ün damıtılıp belli standart bir asit çözeltisi içinde toplandıktan sonra nötrleşmeyen fazla asit miktarının titrasyonla saptanmasıdır.

Kısaca Kjeldahl yönteminin temel amacı gıdalardaki serbest azotun amonyum iyonuna çevrilmesidir.



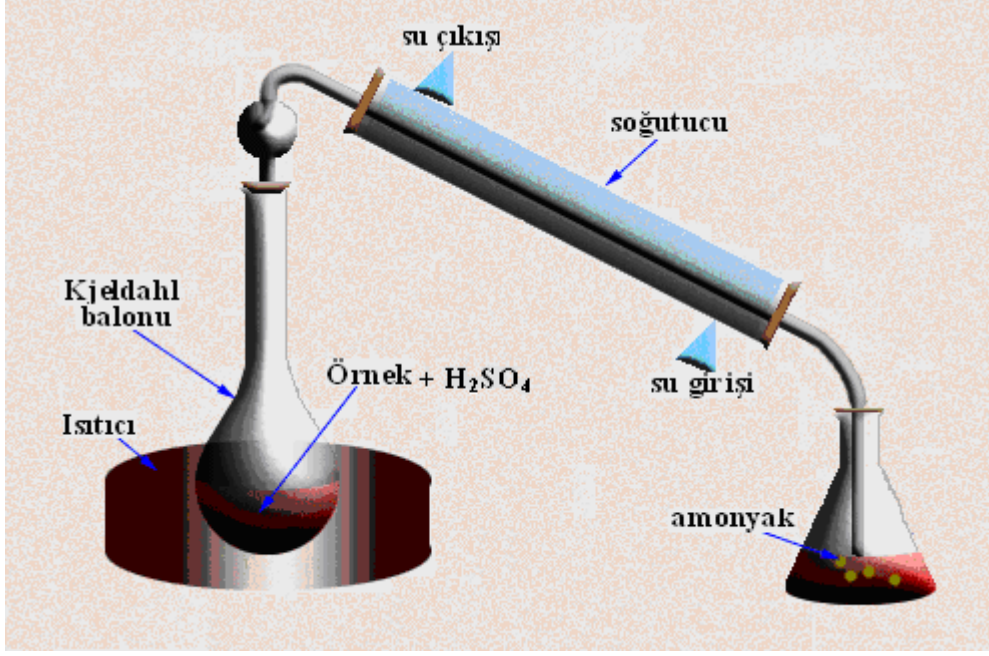
Resim 1. 1: Danimarkalı kimyacı Kjeldahl'ın 1883'te kurduğu protein tayin düzeneği

- Ø Bunun için örnek önce derişik sülfürik asit ile yüksek sıcaklıkta parçalanır. Karbonlu maddeler okside olarak karbondioksit, hidrojenler suya, hidrojene bağı azot amonyum sülfat haline dönüşür.
- Ø Elde edilen çözelti ağırlıkça % 33'lük sodyum hidroksit çözeltisi ile distile edilir. Serbest hale geçen amonyak bir asit ile çözeltiye bağlanır.
- Ø Zayıf baz olan amonyak miktarı ayarlı bir asit çözeltisi ile titre edilerek belirlenir.

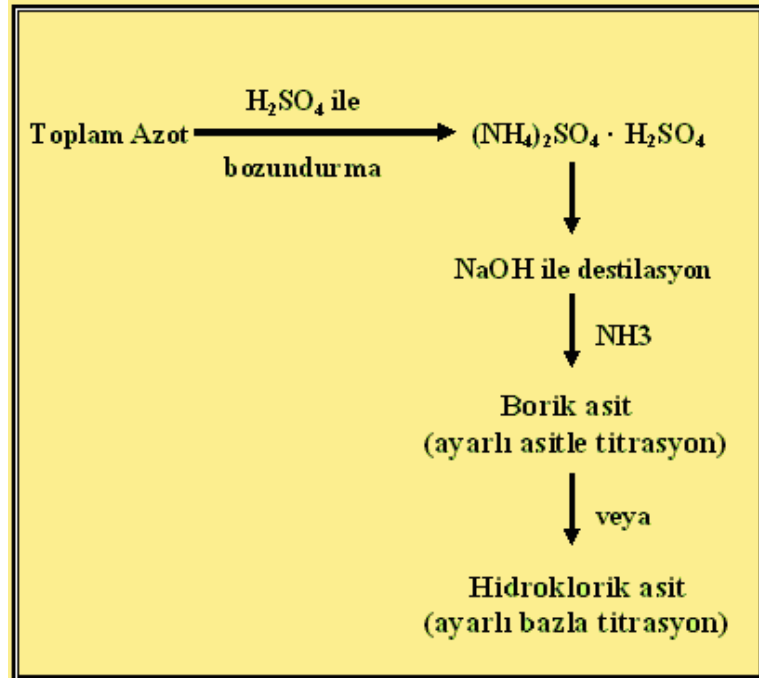
Kjeldahl yöntemi üç aşamada yapılır.

- Ø Örnekteki organik maddelerin yaş oksidasyonu (**yakma**).
- Ø 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**).

- Ø NH_3 tarafından nötrleştirilemeyen ayarlı asit çözeltisinin ayarlı bir bazla titre edilmesi ve toplam azotun hesaplanması (**titrasyon**).



Şekil 1. 1: Kjeldahl yöntemi ve aşamaları.



Şekil 1. 2: Kjeldahl yöntemi aşamaları ve kullanılan kimyasal maddeler.

1	<p>YAKMA:</p> $\text{Organik madde} + \text{H}_2\text{SO}_4 \xrightarrow[\text{Isı}]{\text{Katalizör}} \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{NH}_4^+ + \text{SO}_2$ $\text{NH}_4^+ + \text{SO}_4^{-2} \longrightarrow (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
2	<p>DAMITMA:</p> $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 + 2\text{NaOH} \longrightarrow \text{Na}_2\text{SO}_4 + 2\text{NH}_4\text{OH}$ $\text{NH}_4\text{OH} \longrightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{NH}_3$ $\text{NH}_3 + \text{H}_3\text{BO}_3 \longrightarrow \text{NH}_4\text{H}_2\text{BO}_3$
3	<p>TİTRASYON:</p> $\text{NH}_4\text{H}_2\text{BO}_3 + \text{HCl} \longrightarrow \text{NH}_4\text{Cl} + \text{H}_3\text{BO}_3$

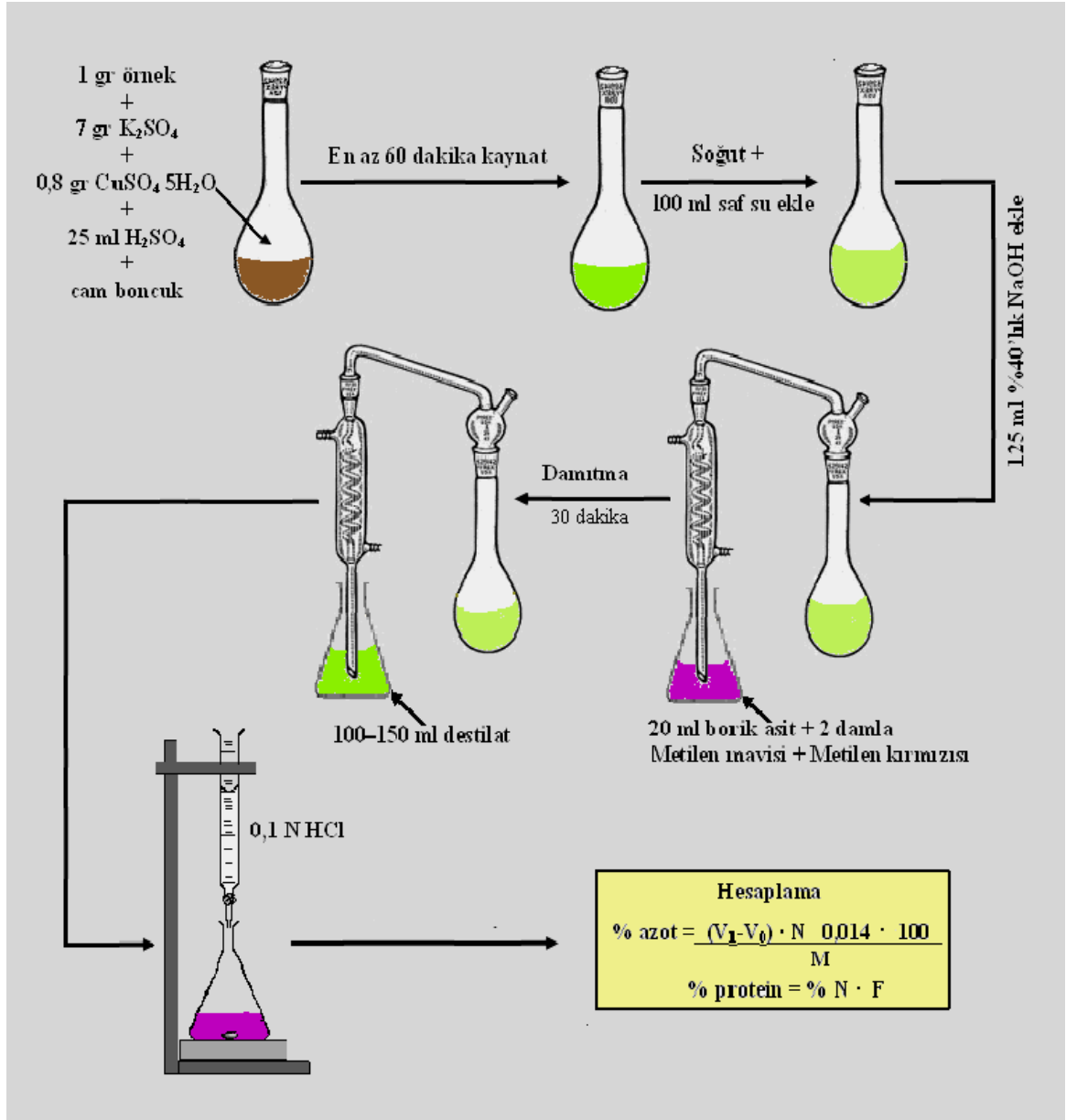
Şekil 1. 3: Kjeldahl yönteminde her aşamada organik maddelerdeki azotta oluşan kimyasal değişimler.

Kjeldahl yöntemi çok zaman alan bir yöntem olmasına rağmen doğru ve duyarlı sonuç veren bir yöntemdir. Günümüzde

- Ø Makro Kjeldahl yöntemi,
- Ø Semi(yarı)-mikro Kjeldahl yöntemi.
- Ø Mikro Kjeldahl yöntemi olmak üzere üç değişik tipte uygulamaktadır.

Ayrıca;

- Ø Kjel-Foss Makro Otomatik sistemi Kjeldahl yönteminin uygulandığı tam otomatik bir tekniktir.
- Ø Tecator Kjeltec; elektrikle ısıtılan alüminyum bloklu bir enstrümanda tüpler içinde yakma işleminin yapıldığı, amonyağın da otomatik olarak damıtıldığı bir sistemdir.
- Ø Kjeldahl yönteminde organik maddenin yakılmasından sonra toplam amonyak kolorimetrik olarak ölçülebilir.
- Ø Kjeldahl yönteminde yaş yakma ile organik maddenin bozundurulmasından sonra elektrometrik olarak amonyak tayini yapılabilir.



Şekil 1. 4: Kjeldahl yöntemi ile protein tayini aşamaları ve oluşan renkler.

1.3.2.Kjeldahl Yöntemi Uygulanmasında Dikkat Edilecek Noktalar;

- Ø Gıda maddelerinin hemen hiç birisi NO_3 azotu içermediğinden Kjeldahl yöntemi başarı ile uygulanmaktadır. Kjeldahl yöntemi ile NO_3 azotunun tamamını $(NH_4)_2SO_4$ 'a dönüştürülemez. Tütsülenmiş et ve sucuk, sosis gibi et ürünlerinde NO_3 bulunmaktadır. Bu nedenle Kjeldahl yönteminde NO_3 'ı bağlamak için salisilik asit, salisilik asidi indirgemek için de sodyum tiyo sülfat veya çinko tozu kullanılır.

- Ø Cl^- iyonlarının NO_3^- iyonlarının 1/3'ünden fazla olan gıda örneklerinde HNO_3 veya HCl ile yakma işlemi yapıldığında uçucu bir bileşik olan nitrozil klorür($NOCl$) oluşur ve azot kaybı meydana gelir. Bu durumda indirgen demir veya indirgen krom yöntemi kullanılmalıdır.
- Ø Patates gibi protein olmayan azotlu bileşikleri fazla olan gıdalarda Kjeldahl yöntemi uygulanacak ise proteinler önce triklor asetik asit veya ısı ile çöktürülmeli ve yarıgeçirgen bir zardan dializ yoluyla ayrılmalı sonra yöntemin aşamaları gerçekleştirilmelidir.

1.3.3. Analiz İçin Gıda Maddelerini Hazırlama

- Ø **Kuru gıdalar;** değirmenden geçirilir veya havanda dövülerek toz haline getirilir ve 1 mm'lik elekten geçecek şekilde öğütülür.
- Ø **Etler;** soğuk iken ($0\text{ }^{\circ}C$ civarında) keskin bir bıçakla, bir kenarı yaklaşık 7–8 mm olacak şekilde, hacmi yaklaşık 0.5 cm^3 olan küçük küpler halinde kesilir veya hermetik olarak kapatılmış kaplarda veya vakumlu kapatılmış ısıya dayanıklı plastik torbalarda en az 30 dakika $70\text{ }^{\circ}C$ 'da ısıtılır ve soğutulduktan sonra kıyma makinesi veya blenderde homojen hale getirilir. Isıtma işlemi bağ dokuyu yumuşatır ve kıyma makinesi veya blenderde daha kolay homojenize edilmesini sağlar. Ancak jelâtin içeren akışkan kısım ayrılmaya başlayabilir. Bu nedenle örneği hazırlarken ve tartarken çok iyi karıştırmak gerekir. Özellikle yağ ve akışkan kısımların tam olarak dağıldığından emin olunmalıdır.
- Ø **Meyve sebzeler, peynir;** rendelenir veya blenderden geçirilir,
- Ø **Corn flakes gibi örnekler** önce havanda ezilir ve $105^{\circ}C$ 'da etüvde 2 saat kurutulur.





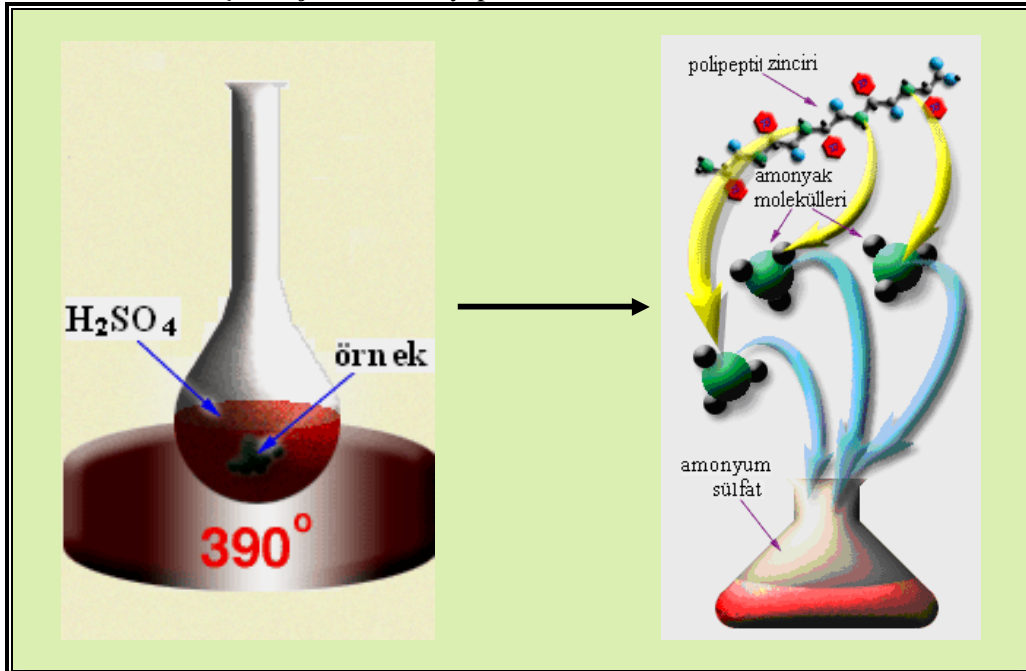
Resim 1. 2: Protein tayininde örneklerin hazırlanmasında kullanılan araçlar.

1.3.4. Yaş Yakma = Digestion

Yaş yakma, yakma düzeneklerinde yapılır. Kjeldahl yönteminde yakma işlemi azot içeren organik madde örneğinin belli bir miktarının derişik H_2SO_4 ile oksidasyonudur. Yakma işlemi yapılarak proteinlerin polipeptit zincirini oluşturan peptit bağlarındaki amino gruplarında bulunan azot amonyum iyonuna dönüştürülür ve amonyum sülfat halinde bağlanır. Yakma aşamasında;

Asitin kaynama noktasını yükseltmek, reaksiyonu hızlandırmak için potasyum sülfat gibi nötral madde ve katalizörler kullanılır.

- Ø Katalizör olarak selenyum kullanılmakla birlikte; civa, bakır içeren farklı yakma tuzları denenmiştir.
- Ø Yakma işlemi çeker ocakta yapılmalıdır.



Resim 1. 3: Kjeldahl yönteminde yakma aşaması ve azotta oluşan kimyasal değişimler.

1.3.4.1. Kullanılan araç-gereçler:

Analitik terazi, Kjeldahl balonu, cam boncuklar veya kaynama taşı, yakma düzeneği, erlen, pipet, blender, havan, kıyma makinesi, öğütücü.

1.3.4.2. Kullanılan kimyasallar

- Ø % 98'lik yoğunluğu $d=1.84 \text{ g/cm}^3$ olan H_2SO_4 ,
- Ø Yakma tuzu
 - (senyet tuzu)= 100 g azot içermeyen susuz K_2SO_4 + 10 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ + 1 g selenyum (Se),
 - 7 g azot içermeyen susuz K_2SO_4 + 0.8 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$,
 - 15 g susuz K_2SO_4 ve 0.5 g CuSO_4 ,
 - 500 g. Na_2SO_4 , 15 g. $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$. 5 g. Selen siyahı veya
 - 10 g K_2SO_4 + 07 g HgO karıştırılır.



Resim 1. 4: Klasik Kjeldahl yönteminde kullanılan yakma düzenekleri



Resim 1. 5: Makro Kjeldahl yönteminde kullanılan Kjeldahl yakma balonu

Resim 1. 6: Yakma balonlarına konan kaynama boncukları

Resim 1. 7: Mikro Kjeldahl yönteminde kullanılan Kjeldahl yakma tüpleri

1.3.4.3. İşlem basamakları:

- Ø Homojenize edilip hazırlanmış analiz örneğinden 1 g kadar tartılır ve tartım kaydedilir.
- Ø Tartılan örnek kuru Kjeldahl balonuna konur.
- Ø Üzerine 10 g yakma tuzu= katalizör eklenir.
- Ø Kjeldahl balonu veya yakma tüplerine 25 mL derişik H_2SO_4 yavaşça ilave edilir. H_2SO_4 ilave edilirken Kjeldahl balonu veya yakma tüpleri hafifçe eğik tutulup döndürülmelidir. Böylelikle balonun iç yüzeyine yapışan örnek ve katalizör parçacıkları dip kısımda toplanmış olur.
- Ø Kaynama taşı veya cam boncuk konularak hazırlanan Kjeldahl balonu yakma setine yerleştirilir.
- Ø Başka bir Kjeldahl balonuna 10 g yakma tuzu, 25 mL derişik H_2SO_4 ve cam boncuk konularak kör deneme hazırlanır ve yakma setine yerleştirilir.
- Ø Önce köpürme bitene kadar 200–250°C’de 15 dakika, daha sonra 350–400°C’de 45–60 dakika siyah nokta kalmayıncaya kadar yakılır. Başlangıçta siyah, koyu kahverengi olan renk yakma işlemi boyunca açılır.
- Ø Kör deneme ile örneklerin rengi açık mavi -yeşil veya sarımsı yeşil olduğunda yakma işlemine en az 20–30 dakika kadar devam edilir. Daha sonra yakma işlemine son verilir.
- Ø Yaş yakma tüpleri oda sıcaklığına kadar soğutulur.
- Ø Üzerine balon döndürülerek ve ince bir tabaka halinde akıtılarak 150–200 mL saf su, ilave edilir. Yakma balonu hafifçe çalkalanır ve bir süre daha soğumaya bırakılır.





Resim 1. 8: Klasik Makro Kjeldahl yönteminde kullanılan yakma düzeneği





Resim 1. 9: Mikro Kjeldahl yönteminde kullanılan yakma düzenekleri ve yakma bitiminde oluşan renkler.

UYGULAMA FAALİYETİ

Helva örneğinde Kjeldahl yöntemine uygun olarak yaş yakma işlemini yapmak.

İşlem Basamakları	Öneriler
<p>Ø Kjeldahl yakma düzeneğini çeker ocağa alınız eğer düzenek çeker ocakta ise baca bağlantısını kontrol ediniz.</p> 	<p>Ø Yakma sırasında oluşan kükürt oksit dumanlarını solumak tehlikelidir. Mutlaka baca bağlantısını kontrol etmeyi unutmayınız.</p> <p>Ø İş güvenliğine dikkat ediniz.</p> <p>Ø Soğukkanlı ve sabırlı olunuz.</p> <p>Ø Dikkatli çalışınız.</p>
<p>Ø Örneği değirmen ya da blenderden geçirip homojenize ediniz.</p> 	<p>Ø Analiz öncesi hazırlık işlemlerini yapınız.</p> <p>Ø Laboratuvar önlüğünüzü giyiniz.</p> <p>Ø Dikkatli ve titiz çalışınız.</p> <p>Ø Örneği homojenize edilmesinin gerekli ve çok önemli olduğunu biliniz.</p> <p>Ø Örnek ne kadar ince ve homojen olursa analiz sonucu o kadar duyarlı olur.</p>
<p>Ø Homojenize edilmiş örnekten 1 g tartınız.</p>	<p>Ø Hassas terazide tartımı doğru ve dikkatli yapınız.</p> <p>Ø Tartım için saat camı veya uygun bir kap kullanınız.</p> <p>Ø Tartımda kullandığınız kabı kefeye yerleştirdikten sonra kalibre ediniz</p>

	<p>veya darasını alınız.</p> <ul style="list-style-type: none"> Ø Tartığınız örnek miktarını kaydetmeyi unutmayınız. Ø Tartım bitince teraziyi kapatınız. Ø Dikkatli ve gözlemci olunuz.
<p>Ø Temiz ve kuru yakma tüplerini alınız.</p> 	<ul style="list-style-type: none"> Ø Islak ve kirli yakma tüpleri ile çalışmayınız. Eğer temiz değilse cam malzemelerde temizleme kurallarını hatırlayarak, temizleyiniz. Ø Hızlı kurutma için kurutma etüvlerini kullanabilirsiniz.
<p>Ø Örneği yakma tüplerine aktarınız, üzerine 10 gr yakma tuzu ve tüpleri yavaşça döndürerek 25 ml derişik H₂SO₄ ilave ediniz.</p>	<ul style="list-style-type: none"> Ø % 98'lik H₂SO₄ derişik asit olduğundan çok tehlikelidir. Asitlerle çalışma kurallarını hatırlayarak gözlük ve lastik eldiven kullanınız Ø Eğer H₂SO₄ cildinize değerse hemen önce bol soğuk su ile yıkayınız sonra sabunlayıp durulayınız. Ø Asidi daima su üzerine ekleyiniz asla asit üstüne su eklemeyiniz.
<p>Ø Kaynama taşı veya cam boncuk koyup Kjehdahl yakma düzeneğine yerleştiriniz.</p>	<ul style="list-style-type: none"> Ø Dikkatli olunuz. Ø Zamanı iyi kullanınız



- Ø
- Ø Kjedahl yakma düzeneğinin fişini prize .
takarak elektrik bağlantısını sağlayınız.





Ø Kjedahl yakma düzeneğinin çalıştırarak 200–250 °C’de 15 dakika daha sonra 350–380 °C’de en az 60 dakika siyah nokta kalmayıncaya kadar yakınız.



Ø Yakma işlemini mutlaka paralel olarak ve kör deneme ile birlikte yapınız.

Ø Açık mavi -yeşil veya sarımsı yeşil renk oluştuğundan sonra 30 dakika daha yaş yakma işlemine devam ediniz.

	
<p>Ø Renk açık mavi -yeşil veya sarımsı yeşil olduğunda yaş yakma işlemini bitiriniz tüpleri oda sıcaklığına kadar soğutunuz.</p>	<p>Ø Yakma tüplerini önce açıkta bekleterek sonra buz banyosunda oda sıcaklığına kadar soğutabilirsiniz. Ø Asla doğrudan buz banyosunda soğutma yapmayınız.</p>
<p>Ø Oda sıcaklığına kadar soğumuş tüplere 100 mL saf su ilave ederek bir müddet daha soğumaya bırakınız.</p> 	<p>Ø Su eklerken yakma tüpleri mutlaka soğutulmuş olmalıdır. Ø Yakma tüpleri soğutulmadan su eklenirse oluşan reaksiyon sonucu tüplerden asit sıçrayabilir. Ø Suyu yavaş yavaş ekleyiniz ve dikkatli olunuz. Ø Su eklerken tüpü kendinize doğru tutmayınız.</p>

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Bu faaliyet kapsamında hangi bilgiler kazandığınızı aşağıdaki soruları cevaplandırarak belirleyiniz.

A- OBJEKTİF TESTLER (ÖLÇME SORULARI)

Çoktan Seçmeli Sorular

1. Kuvvetli alkali ortamda bakır iyonları ile reaksiyonu sonucu oluşan hangi renk ortamda protein bulunduğunu gösterir?
A) Sarı B) Koyu pembe C) Esmer D) Mor E) Kırmızı
2. Peptit bağlarındaki amino gruplarının azotu yakma aşamasında aşağıdaki bileşiklerden hangisine dönüştürülür?
A.) NH_4OH B) NH_4Cl C) NH_4OH
D) $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ E) $\text{NO}_3 - \text{NO}_2$
3. Proteinler aşağıdaki kimyasal maddelerden hangisi ile reaksiyona girdiğinde sarı turuncu renk oluşur?
A.) Ninhidrin çözeltisi D) Nitrik asit çözeltisi
B) Kurşun asetat çözeltisi E) Potasyum hidroksit çözeltisi
C) Civa II çözeltisi
4. Kjeldahl yöntemi ile protein tayini aşağıdaki ilkelerden hangisine dayanmaktadır?
A) Peptit bağları veya amino asit kalıntılarının kimyasal kromofor grupları ile reaksiyonuna.
B) Proteinlerin peptit bağlarının alkali ortamda bakır iyonları ile reaksiyonundan oluşan mor rengin kolorimetrik olarak ölçümüne.
C) Gıdada doğal formda bulunan azotun amonyum tuzları haline çevrilmesine.
D) Proteinlerdeki amino asitlerin formaldehit ilavesiyle amin grubunun metilen imino grubuna dönüştürülmesine.
E) Proteinlerin çeşitli kimyasal maddelerle verdiği renk reaksiyonlarına.
5. Kjeldahl yöntemi ile protein tayininde yaş yakma yapılırken her 1 gr kuru madde için ne kadar H_2SO_4 kullanılmalıdır?
A) 1–2 mL B) 10–15 mL C) 150–200 mL D) 20–25 mL E) 4–5 mL
6. Kjeldahl yöntemi ile protein tayininde proteinlerdeki azotta oluşan kimyasal değişimler hangi seçenekte doğru sıralanmıştır?
A.) $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 - \text{NH}_4\text{OH} - \text{NH}_4\text{Cl}$ D) $\text{NH}_4\text{Cl} - (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 - \text{NH}_4\text{OH}$
B) $\text{NH}_4\text{Cl} - \text{NO}_3 - \text{NO}_2$ E) $\text{NO}_3 - (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 - \text{NH}_4\text{Cl}$
C) $\text{NH}_4\text{OH} - (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 - \text{NO}_3$

7. 1-Mavi -yeşil 2- Mor - eflatun 3- Sarı turuncu 4- Sarımsı yeşil
Kjeldahl yöntemi ile protein tayininde tüplerde hangi renk oluştuğunda yaş yakma işlemine son verilir?
A) Yalnız 1 B)Yalnız 3 C) 1 ve 2 D) 2 ve 3 E)_1 ve 4
8. Aşağıdaki protein tayin yöntemlerinden hangisi peptit bağları veya amino asit kalıntılarının uygun bir kimyasal kromofor grupları ile reaksiyonuna dayanır?
A) Formol Titrasyonu Yöntemi D) Kolorimetrik Yöntem
B) Kjeldahl Yöntemi E) Kantitatif Yöntemler
C) Biüre Yöntemi
9. Kjeldahl yöntemi ile protein tayininde yakma işlemi yapılırken katalizör niçin kullanılır?
A) Suda çözünmeyen boya-protein kompleksi oluşturmak için
B) H₂SO₄'in kaynama noktasını yükseltmek, reaksiyonu hızlandırmak için
C) Proteinlerin ortamdaki kimyasal maddelerle renkli bileşik oluşturmaları için
D) Proteinlerdeki azotun elemental azot haline çevrilmesi için
E) Proteinlerdeki amino asitlerin farklı amin grublarına dönüştürülmesi için.
10. 1-Yapısında NO₃ azotu bulunmayan gıdalar
2-Yapısında NO₃⁻ iyonlarının 1/3'ünden fazla Cl⁻ iyonları bulunan gıdalar
3-Protein olmayan azotlu bileşikleri fazla olan gıdalar
4-Yapısında NO₃ azotu bulunan gıdalar
Kjeldahl yöntemi ile protein tayini yapılırken sonucun duyarlı olması için yukarıdaki gıdaların hangisi ya da hangilerinde farklı işlemler uygulanır?
A) 1, 2 ve 3 B) 2, 3 ve 4 C) 2 ve 3 D) Yalnız 4 E)
Yalnız 1
11. Aşağıdaki bileşiklerden hangisi azot içermediğinden ham protein tayininde etkili değildir?
A) Nükleik asitler B) Azotlu karbohidratlar C) Porfirinler
D) Alkoloitler E) Gliko lipitler
12. 1-Titrasyon 2-Damıtma 3-Yakma
Kjeldahl yöntemi ile protein tayini aşamaları hangi seçenekte doğru sıralanmıştır?
A) 1-2-3 B) 3-2-1 C) 1-3-2 D) 2-3-1 E) 2-1-3
13. Kjeldahl yöntemi ile protein tayininde yakma işlemi kaç °C'ta yapılır?
A) 100-150°C B) 600-850°C C) 350-400°C
D) 500-550°C E) 1000-1200°C

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarı ile karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt yaşadığımız sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrar inceleyiniz.

B- UYGULAMALI TEST

Kjehdahl yöntemi ile protein tayini için soya fasülyesinde yaş yakma işlemini yapınız. Yaptığınız uygulamayı kontrol listesine göre değerlendirerek, eksik veya hatalı gördüğünüz davranışları tamamlama yoluna gidiniz.

Değerlendirme Ölçütleri	Evet	Hayır
1. Analiz föyünüzü dikkatlice okudunuz mu?		
2. Laboratuvar kıyafetlerinizi giydiniz mi?		
3. Analiz araç-gereçlerinizi hazırladınız mı?		
4. Kullanacağınız H ₂ SO ₄ ve yakma tuzunu hazırladınız mı?		
5. Kjehdahl tüpleri kuru ve temiz mi?		
6. Kjehdahl yakma düzeneğini çeker ocağa alıp fişini prize takarak elektrik bağlantısı olup olmadığını kontrol ettiniz mi?		
7. Soya fasülyelerini değirmende 1 mm'lik elekten geçecek şekilde öğüttünüz mü?		
8. Homojenize ettiğiniz kuru fasulye örneğinden 1 g kadar tartıp tartım miktarını kaydettiniz mi?		
9. Örneği Kjehdahl balonuna kayıpsız aktardınız mı?		
10. Üzerine 10 g katalizör eklediniz mi?		
11. Kjehdahl balonunu döndürerek çok dikkatli şekilde % 98'lik derişik H ₂ SO ₄ 'ten 25 mL yavaşça ilave ettiniz mi?		
12. Kjehdahl balonuna iç yüzeyine yapışan örnek ve katalizör parçacıkları kalmamasına dikkat ettiniz mi?		
13. Kjehdahl balonuna 3–5 cam boncuk koyup yakma setine yerleştirdiniz mi?		
14. Kör deneme için 10 g yakma tuzu, 25 mL derişik H ₂ SO ₄ ve 3–5 cam boncuk koyarak hazırladığınız başka bir Kjehdahl balonunu da yakma setine yerleştirdiniz mi?		
15. Kjehdahl yakma düzeneğinin sıcaklığını 200–250 °C'ye ayarlayıp çalıştırdınız mı?		
16. Yakma sırasında çeker ocağın aspiratörünü çalıştırdınız mı?		
17. Köpürme bitene kadar 200–250 °C'de 15 dakika yakma işlemi yaptınız mı?		
18. Sıcaklığı 350–380 °C'ye çıkartıp en az 60 dakika daha yakma işlemi yaptınız mı?		
19. Yakma süresince Kjehdahl balonlarının renginde açılma gözlemlediniz mi?		
20. Kör deneme ile örneklerin rengi sarımsı yeşil oldu mu?		
21. Renk yeşil, sarımsı yeşil olduktan sonra da en az 20–30 dakika yakma işlemine devam ettiniz mi?		
22. Yakma düzeneğini kapattınız mı?		
23. Yakma balonlarını oda sıcaklığına kadar soğuttunuz mu?		
24. Çeker ocağın aspiratörünü kapattınız mı?		

25. Soğumuş Kjedahl balonlarını döndürerek yavaş yavaş 150–200 mL saf su eklediniz mi?		
26. Kjedahl balonlarını hafifçe çalkalayıp bir süre daha soğumaya bıraktınız mı?		
27. Kullandığınız araçları temizleyip yerine kaldırdınız mı?		
28. Laboratuvarın son kontrollerini yaptınız mı?		

DEĞERLENDİRME

Yaptığınız değerlendirme sonunda **HAYIR** şeklindeki cevaplarınızı bir daha gözden geçiriniz. Cevaplarınızda tereddütleriniz varsa öğrenme faaliyetini tekrar ediniz. Cevaplarınızın tamamı **EVET** ise bir sonraki faaliyete geçiniz.

ÖĞRENME FAALİYETİ-2

AMAÇ

Bu faaliyet sonucunda uygun laboratuvar ortamı sağlandığında analiz yöntemine uygun olarak damıtma ve titrasyon yapabilecektir.

ARAŞTIRMA

- Ø Çevrenizdeki gıda işletmeleri, yem fabrikaları varsa araştırma laboratuvarlarına giderek protein tayininde damıtma ve titrasyonu nasıl yaptıklarını gözlemleyiniz.
- Ø Kjehdahl protein tayin yönteminde damıtma ve titrasyonun amacını araştırınız.
- Ø Araştırma ve gözlemlerinizi rapor haline getirip, sınıfta arkadaşlarınızla paylaşınız.

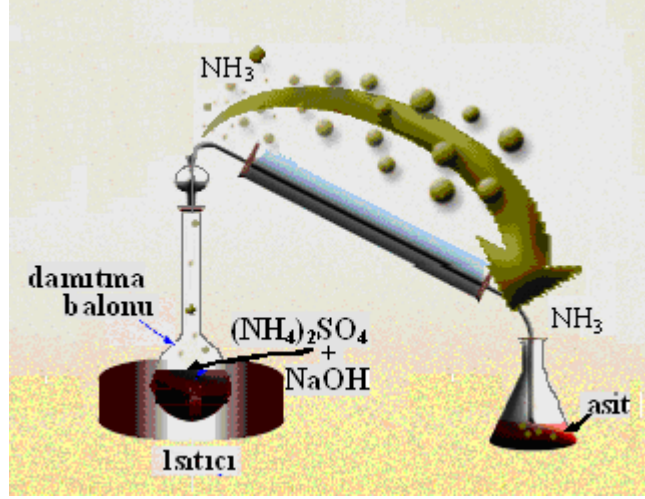
2. KJEHDAHL YÖNTEMİNDE DESTİLASYON VE TİTRASYON

2.1. Destilasyon

Maddelerin kaynama sıcaklıklarının birbirinden farklı olmasından yararlanılarak yapılan ayırma ve saflaştırma işlemine “**damıtma**” denir. Damıtma sıvıların ısı yardımıyla buhar haline getirilmesi ve oluşan buharların tekrar yoğunlaştırılarak sıvı haline dönüştürülmesi esasına dayanır.

1. Öğrenme faaliyetinde öğrendiğiniz gibi yakma aşamasında azot içeren organik maddeler oksitlenerek $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 'a dönüştürülürler.

- Ø Kjehdahl protein tayin yönteminin damıtma(destilasyon) aşamasında yakma sırasında oluşan amonyum sülfat- $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, % 40'lık sodyum hidroksit ile reaksiyona girerek sodyum sülfat ve amonyum hidroksit oluşur. Amonyum hidroksitte parçalanarak amonyak ve su oluşur.
- Ø NaOH yakma karışımının pH'ını yükseltir. Bu da $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 'taki NH_4^+ iyonlarının NH_3 gazına dönüşmesini kolaylaştırır ve NH_3 serbest hale getirilir Oluşan amonyak miktarı örnekteki azot miktarı ile orantılıdır
- Ø Kaynama noktası sıcaklığına kadar yükseltilmiş ve gaz haline gelmiş amonyak geri soğutucu yardımı ile yoğunlaştırılır ve geri soğutucunun uç kısmına konan erlendeki belli miktar ayarlı borik asit içinde tutulur.



Resim 2. 1: Kjeldahl yönteminde damıtma aşaması ve azotta oluşan kimyasal değişimler.

2.1.1. Kullanılan araç-gereçler:

Erlen, büret, pipet, silifli damıtma balonu, geri soğutucu, damıtma düzeneği, turnusol kâğıdı.

2.1.2. Kullanılan kimyasallar

- Ø % 40'lık (yaklaşık 10 N) NaOH çözeltisi: 40 g NaOH 1 L saf suda çözündürülür.
- Ø % 4'lük Borik asit çözeltisi: (40 g borik asit 1L saf suda çözünür. Çözünme biraz zor olacağı için sıcak su banyosunda çözünene kadar bekletilir)
- Ø İndikatör
 - Metilen mavisi-metilen kırmızısı belirteç çözeltisi: 100 mL % 95–96'lık etil alkolde çözündürülmüş 0.3 g metilen kırmızısı ile 100 mL % 95–96'lık etil alkolde çözündürülmüş 0.1 g metilen mavisi eşit oranda karıştırılır.
 - Borik asit indikatör çözeltisi; 0.2 g metil kırmızısı + 0.1 g bromkresol yeşili, 100 mL % 95'lik etil alkol içinde çözündürülür. Piyasada da miksindikatör olarak satılmaktadır.

2.1.3. İşlem Basamakları

1. Yakma işlemi yapılmış ve soğutulmuş Kjeldahl balonlarına çok yavaş bir şekilde 125 ml % 40'lık NaOH ilave edilir. Damıtma sırasında patlamaları önlemek için 1–2 parça çinko (Zn) granülü konulur.
2. Kjeldahl balonları destilasyon cihazına yerleştirilir
3. Bir erlene 50 mL borik asit çözeltisi ve 5–6 damla indikatör çözeltisi konur.
4. Hazırlanan erlen geri soğutucunun ucu erlendeki borik asit ve indikatör çözeltisinin içine girecek şekilde yerleştirilir.
5. Destilasyon başlatılır.

6. En az 30 dakika 100–150 mL destilat elde edilinceye kadar destilasyona devam edilir.
7. Destilasyon işleminin tamamlanıp tamamlanmadığı saf su ile ıslatılmış kırmızı turnusol kâğıdı ile kontrol edilir. Kırmızı turnusol kâğıdı soğutucunun ucuna değiştirildiğinde renk değişmiyorsa NH_3 kalmamış demektir. Aksi takdirde destilasyon işlemine devam edilmelidir.
8. Kırmızı turnusol kâğıdı geri soğutucudan damlayan destilata değiştirildiğinde rengi değişmiyorsa destilasyona son verilir. destilasyona sonunda erlenin başlangıçtaki menekşe-mor rengi mavi-yeşil renge dönüşür.
9. Soğutucunun ucu saf su ile yıkanır.



Resim 2. 2: Klasik Makro Kjeldahl yönteminde kullanılan damıtma düzeneğinin hazırlanması.



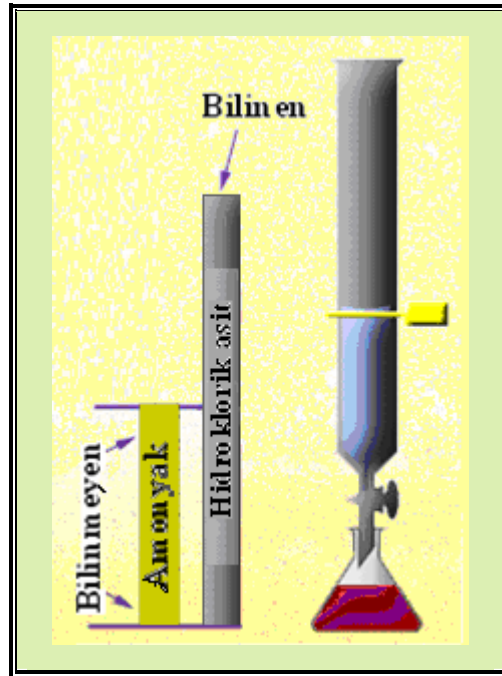
Resim 2. 3: Mikro Kjeldahl yönteminde kullanılan damıtma düzenekleri ve damıtma bitiminde oluşan renkler.

Not: Yakmada her bir gr kuru madde için 10–15 mL H₂SO₄, damıtmada ise her 1 mL H₂SO₄ için 4–5 ml % 40'lık NaOH önerilir.

2.2. Titrasyon

Yukarıda öğrendiğiniz gibi Kjeldahl protein tayin yönteminin damıtma (destilasyon) aşamasında oluşan serbest NH₃ gazı belli miktar ayarlı borik asit içinde amonyum borat halinde tutulur.

- Ø Borik asit çözeltisinde tutulan ve amonyak miktarının belirlenmesi için titrasyon işlemi yapılır.
- Ø Bilindiği gibi titrasyon konsantrasyonu bilinen bir çözelti ve bir indikatör yardımı ile örnekteki konsantrasyonu bilinmeyen madde miktarını bulma işlemidir. Kjeldahl protein tayin yönteminin titrasyon aşamasında;
 - Konsantrasyonu bilinen bir çözelti 0.1 N HCl veya 0.1 N H₂SO₄ çözeltileri
 - Örnekteki konsantrasyonu bilinmeyen madde ise damıtma sırasında oluşan amonyum borat miktarıdır.
- Ø Titrasyon sonunda zayıf bir baz olan amonyak, konsantrasyonu belli bir asit ile nötralize edilir.
 - Amonyum borat hidroklorik asitle reaksiyona girdiğinde amonyum klorür ve tekrar borik asite dönüştüğünden erlendeki mavi-yeşil renk damıtmanın başlangıcındaki menekşe-mor renge dönüşür ve
 - Harcanan asit miktarından formülle toplam azot hesaplanır.



Resim 2. 4: Kjeldahl yönteminde titrasyon aşaması

2.2.1. Kullanılan araç-gereçler:

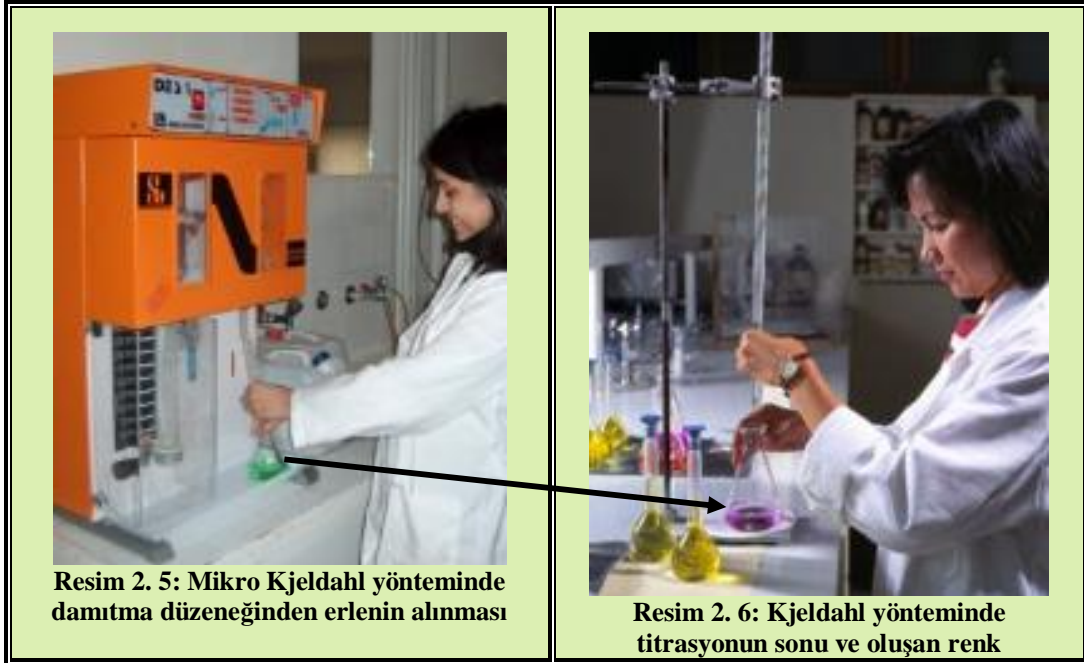
Erlen, büret, spor, manyetik karıştırıcı

2.2.2. Kullanılan kimyasallar

- Ø **0.1 N HCl çözeltisi:** % 37'lik HCl'den. 2,025 mL alınır saf su ile 250 mL'ye tamamlanır.
- Ø **0.1 N H₂SO₄ çözeltisi:** yoğunluğu 1.84 g/cm³ olan % 98'lik H₂SO₄'ten 2.7 mL alınır saf su ile L'ye tamamlanır.

2.2.3. İşlem Basamakları

1. Bürete 0.1 N HCl veya 0.1 N H₂SO₄ doldurulur.
2. Damıtma aşamasında içinde amonyağın tutulduğu borik asit çözeltisi bulunan erlen büretteki asit çözeltisi ile menekşe-mor renk oluşuncaya kadar titre edilir.
3. Aynı titrasyon işlemi kör deneme için de yapılır.
4. Her iki titrasyonda harcanan asit miktarları kaydedilir.



2.3. Protein Miktarını Hesaplama

Gıdalardaki ham protein miktarı % protein olarak ifade edilir ve sonuç 100 g örnekteki protein kütlesi olarak verilir. Protein miktarını bulmak için aşağıdaki formüllerden faydalanır.

2.3.1. % Ham Protein Formülü

$$\% \text{Azot} = \frac{(V_1 - V_0) \times N \times 0.014}{m} \times 100 = \dots \text{gr}/100\text{gr}$$

$$\% \text{Protein} = \% \text{Azot} \times F$$

Burada;

V_1 = Titrasyonda harcanan H_2SO_4 çözeltisi veya HCl çözeltisi miktarı (mL)

V_0 = Kör deneme titrasyonunda harcanan H_2SO_4 çözeltisi veya HCl çözeltisi miktarı (mL)

N = Titrasyonda kullanılan H_2SO_4 çözeltisi veya HCl çözeltisinin normalitesi (0.1 N)

0,014 = Azotun mili ekivalen ağırlığı

m : Alınan gıda örneği miktarı(g veya mL)

2.3.2. Gıdalara Ait Protein Kat Sayıları (F)

Gıda maddesindeki toplam organik azotun tayin edilmesine dayalı yöntemlerde belirtildiği gibi toplam azot değeri gıdalarda bulunan proteinlerin içerdikleri azot miktarına göre saptanan belirli bir faktörle çarpılarak ham protein miktarını saptanmaktadır. Örneğin genel olarak kullanılan **6,25 faktörü** % 16 azot içeren proteine sahip gıdalar için kullanılmaktadır. Bu aktör;

$F = 100/16 = 6.25$ den bulunur.

Aşağıdaki tabloda bazı gıdalara ait protein kat sayıları(F) verilmiştir.

Gıda maddesi	Faktör
Et, yumurta, fasülye, bezelye ve mısırdaki	6.25
Buğday, makarna ve unda	5.70
Arpa, çavdar, yulaf ve darıda	5.83
Süt ve ürünlerinde	6.38
Kabuklu yemişlerde	5.30
Jelâtinde	5.55
Not: 6.25 aynı zamanda genel faktör olarak kullanılır.	

Tablo: Değişik gıdalardaki proteinler için % azot içeriğine göre kullanılan faktörler.

Problem: Faktörü 5.55 olan jelâtin proteininin azot oranı % de kaçtır?

$$\frac{100}{x} = 5.55 \quad x = \frac{100}{5.55} = 18 \text{ yani jelâtin \% 18 oranında azot içeren proteindir.}$$

Problem: % 17 azot içeren proteinin faktörü kaç olur?

$$F = \frac{100}{17} = 5.88$$

2.3.3. Protein Miktarı İle İlgili Problemler Ve Çözümleri

Örnek: 1.08 g homojenize peynir örneği, Kjeldahl analiz yöntemine uygun olarak yakılıp damıtılmıştır. Titrasyonda 0,1 N H₂SO₄ çözeltisinden 20.2 mL harcanmıştır. Kör denemede 0.1N H₂SO₄ çözeltisinden 0.3 mL harcanmıştır. Peynirdeki % azot ve protein oranını hesaplayın.

$$\% \text{ Azot} = \frac{(V_1 - V_0) \times N \times 0.014 \times 100}{m} \text{ den}$$

$$V_1 = 20.2 \text{ mL} \quad V_0 = 0.3 \text{ mL} \quad N = 0.1 \quad M = 1.08$$

$$\% \text{ Azot} = \frac{(20.2 - 0.3) \times 0.1 \times 0.014 \times 100}{1.08} = \frac{(19.9)(0.14)}{1.08} = \frac{2.786}{1.08} = 2.58 \text{ g} / 100 \text{ g peynir}$$

$$\% \text{ Protein} = \% \text{ Azot} \times F \text{ den}$$

$$\% \text{ Protein} = 2.58 \times 6.38 = 16.46$$

Sonuç: % protein = **16.46** g / 100 g peynir

Ø Aynı değerler fındık analizinde olsa idi F=5.30 olacağından;


$$\% \text{ Protein} = \% \text{ Azot} \times F \text{ den}$$

$$\% \text{ Protein} = 2.58 \times 5.30 = 13.67$$

Sonuç: % protein = **13.67** g / 100 g fındık

UYGULAMA FAALİYETİ

Aşağıdaki işlem basamaklarına göre laboratuvara gelen peynir numunesinde protein miktarını bulma.

İşlem Basamakları	Öneriler
<p>Ø Kjedahl balonları destilasyon cihazına yerleştiriniz.</p> 	<p>Ø Sorumluluk sahibi ve titiz olunuz.</p> <p>Ø Detaylara özen gösteriniz.</p>
<p>Ø Soğutulmuş Kjedahl balonlarına 125 ml NaOH ve 1–2 parça çinko granülü ekleyiniz</p>	<p>Ø NaOH çözeltisi hazırlarken daima katı NaOH'i balon jojedeki su üzerine ekleyiniz.</p> <p>Ø Konsantre NaOH körlüğe neden olabilir çok dikkatli olunuz.</p> <p>Ø Eğer konsantre NaOH derinize değerse veya gözlerinize sıçarsa hemen önce bol soğuk su ile yıkayınız.</p> <p>Ø Derinizde kızarıklık oluşmuşsa sağlık merkezine gidiniz.</p> <p>Ø Kjedahl balonlarına NaOH'i balonları döndürerek ve çok yavaş bir şekilde ekleyiniz.</p>



- Ø Çinko parçacıkları kaynama sırasında patlamaları önler.
- Ø Kjeldahl balonlarının dibi çatlayabilir, NaOH'i eklerken balonlar destilasyon cihazında olmalıdır.
- Ø NaOH'i eklerken balonları kendinize ya da başkasına doğru tutmayınız.
- Ø NaOH'i ekledikten sonra iki ayrı faz oluşacaktır, balonları hafifçe çalkalayınız, NaOH ve yakılmış örneğin karışmasını sağlayınız.






Ø Bir erlene 50 mL borik asit çözeltisi ve 5-6 damla indikatör çözeltisi koyunuz.






Ø Erlen geri soğutucunun ucu erlendeki borik asit ve indikatör çözeltisinin içine girecek şekilde yerleştiriniz.

Ø Borik asit ve indikatör koyduğunuz erlen 250- 300 mL'lik olmalıdır.

Ø Geri soğutucunun ucu erlendeki borik asit çözeltisinin içine girmezse amonyum sülfattan

 	<p>oluşan amonyak uçucu olduğundan azot kaybı olur ve sonuç yanlış bulunur.</p>
<p>Ø Damıtma düzeneğini çalıştırıp destilasyonu başlatınız.</p> 	<p>Ø Damıtmaya başlamadan önce soğutucularda su devri olup olmadığını kontrol ediniz.</p> <p>Ø Dikkatli ve titiz olunuz, seri davranınız</p> <p>Ø Balonlarda patlamalar duyulması damıtmanın sonuna yaklaşıldığını gösterir.</p> <p>Ø Damıtma düzeneğini kapattıktan sonra soğutucudaki damıtığın erlene süzülmesi için bir süre bekleyiniz, hemen titrasyona geçmeyiniz.</p>

	
<p>Ø 100–150 mL destilat topladığınızda kırmızı turnusol kâğıdını geri soğutucudan damlayan destilata değdiriniz. Kırmızı turnusol kâğıdını rengi değişmediğinde damıtma düzeneğini kapatınız.</p>	<p>Ø Kırmızı turnusol kâğıdını geri soğutucudan damlayan destilata değdirdiğinizde rengin mavi olması balondaki yakılmış örnekte daha amonyak olduğunu gösterir.</p> <p>Ø Kırmızı turnusol kâğıdının rengi geri soğutucudan damlayan destilata değdirinizde değişmiyorsa örnekte amonyak kalmamış demektir ve damıtma düzeneğini kapatabilirsiniz.</p>
<p>Ø Büreti spora tespit edip titrasyon düzeneği hazırlayıp bürete 0,1 N HCl çözeltisi doldurunuz.</p>	<p>Ø Büreti spora tespit edip titrasyon düzeneğini hazırlayınız.</p> <p>Ø Büret temiz olmalıdır.</p> <p>Ø Büretin musluğu çok sıkı ya da gevşek olmamalıdır.</p> <p>Ø Bürete 0.1 N HCl çözeltisi doldururken huni kullanabilirsiniz</p> <p>Ø Dikkatli ve titiz olunuz.</p> <p>Ø Bürete 0.1 N HCl çözeltisi doldurduktan sonra bir süre</p>

	<p>bekleyip çözeltinin süzülmesini bekleyiniz, hemen titrasyona başlamayınız Büreti 0'a ayarlamadıysanız göz hizasında ve kavisin altından seviyeyi okuyup, kaydediniz</p>
<p>Ø Damıtma düzeneğinde geri soğutucunun altındaki erleni alınız manyetik karıştırıcıya koyunuz.</p> 	
<p>Ø Menekşe-mor renk sabit kalana kadar 0.1 N HCl çözeltisi ile titre ediniz.</p> 	<p>Ø Sol elinizin baş, işaret ve orta parmakları ile bületin musluğunu, sağ elinizle erleni kullanınız.</p> <p>Ø Titrasyonu önce hızlı, sonra yavaş damlalar halinde çalkalayarak yapınız.</p> <p>Ø Menekşe-mor renk oluştuğunda bületin musluğunu kapatarak titrasyonu bitiriniz.</p> <p>Ø Damıtma ve titrasyon işlemlerini de yakmada olduğu gibi mutlaka paralel olarak ve kör deneme ile birlikte yapınız.</p>
<p>Ø Harcanan 0.1 N HCl çözeltisi miktarını kaydediniz ve % Ham protein formülü yazıp sonucu hesaplayınız.</p>	<p>Ø Formüle yerleştirdiğiniz bilgilerin doğruluğunu kontrol edip hesaplamanızı yapınız.</p> <p>Ø Rapora yazdığınız gerekli tüm</p>

$$\% \text{ Azot} = \frac{(V_1 - V_0) \times N \times 0.014 \times 100}{m} = \dots \text{gr} / 100\text{gr}$$

$$\% \text{ Protein} = \% \text{ Azot} \times F$$

bilgileri okunaklı bir şekilde yazmaya özen gösteriniz.

- Ø Hesaplamayı dikkatli ve doğru yapınız.
- Ø Hesaplama hatasının yanlış sonuç olduğunu unutmayınız.
- Ø Kullandığınız araç ve gereçleri ve çalışma ortamını temizleyiniz.
- Ø Laboratuvar son kontrollerinizi yapınız.
- Ø Laboratuvar önlüğünüzü çıkarıp asınız.

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Bu faaliyet kapsamında hangi bilgiler kazandığınızı aşağıdaki soruları cevaplandırarak belirleyiniz.

A- OBJEKTİF TESTLER (ÖLÇME SORULARI)

Çoktan Seçmeli Sorular

- Faktörü 6.38 olan süt ve ürünlerinde bulunan proteinlerin azot oranı % de kaçtır?
A) % 18 B) % 15.6 C) % 16.5 D) % 20 E) % 18.2
- Kjeldahl yöntemi ile protein tayininde aşağıdakilerden hangisi görüldüğünde damıtma işlemine son verilir?
A) Erlende menekşe-mor renk oluştuğunda
B) Kırmızı turnusol kâğıdı destilata değdirildiğinde renk kırmızı kaldığında
C) Erlende 50–100 mL destilat toplandığında
D) Kırmızı turnusol kâğıdı destilata değdirildiğinde renk mavi olduğunda
E) Erlende mavi-yeşil renk oluştuğunda
- 1- NaOH çözeltisi 2- H_3BO_3 çözeltisi 3- Metil kırmızısı
4- Selenyum 5- $CuSO_4$
Yukarıdakilerden hangisi ya da hangileri protein tayininde indikatör olarak kullanılır?
A) Yalnız 1 B) 2 ve 4 C) 1 ve 5
D) Yalnız 3 E) 3 ve 5
- Ham protein (% azot) oranı % 2,2 bulunan makarnanın protein oranı % kaçtır?
(F=5.70)
A) % 2.2 B) % 6.5 C) % 12.5 D) % 5.7 E) % 15.8
- Kjeldahl yöntemi ile protein miktarı hesaplanırken kullanılan faktör aşağıdakilerden hangisine göre saptanmıştır?
A) Gıdadaki proteinlerin kalitesine
B) Gıda proteinlerinin yapısındaki amino asit çeşidine
C) Gıdadaki protein olmayan fakat yapısında azot bulunan bileşiklere
D) Gıda proteinlerinin yapısındaki azot miktarına
E) Gıda proteinlerinin yapısındaki amino asitlerin karboksil grubu sayısına
- Kjeldahl yöntemi ile protein tayininde damıtma aşamasında oluşan amonyak aşağıdaki çözeltilerden hangisinde tutulur?
A) H_3BO_3 çözeltisi B) H_2SO_4 çözeltisi C) NaOH çözeltisi
D) HCl çözeltisi E) indikatör çözeltisi
- Buğdayda Kjeldahl yöntemi ile protein miktarı hesaplanırken aşağıdaki faktörlerden hangisi kullanılmalıdır?
A) 5.55 B) 6.38 C) 5.30 D) 6.25 E) 5.70

8. Kjeldahl yöntemi ile protein tayininde her aşama sonunda oluşan renkler hangi seçenekte doğru sıralanmıştır?
A) Siyah- koyu kahverengi – mavimsi-sarımsı yeşil – menekşe-mor
B) Mavimsi-sarımsı yeşil – menekşe-mor – siyah- koyu kahverengi
C) Mavimsi-sarımsı yeşil – mavimsi-sarımsı yeşil – menekşe-mor
D) Menekşe-mor – koyu kahverengi – menekşe-mor
E) Menekşe-mor – mavimsi-sarımsı yeşil – mavimsi-sarımsı yeşil
9. 1-NaOH çözeltisi 2- H₃BO₃ çözeltisi 3- H₂SO₄ çözeltisi
4- HCl çözeltisi 5- metil kırmızısı + bromkresol yeşili çözeltisi
Kjeldahl yöntemi ile protein tayininde titrasyonda yukarıdaki çözeltilerden hangisi ya da hangileri ile yapılır?
A) Yalnız 1 B) Yalnız 3 C) 1 ve 5
D) 2 ve 4 E) 3 ve 4
10. Protein oranı % 34 olan soya fasülyesinde % azot(Ham protein) oranı % kaçtır?
A) % 34 B) % 17 C) % 43 D) % 5.44 E) % 15.8
11. 1.75 g homojenize gıda örneği, Kjeldahl analiz yöntemine uygun olarak yakılıp damıtılmıştır. Titrasyonda 0.1 N H₂SO₄ çözeltisinden 32.4 mL harcanmıştır. Bu gıdaki % azot oranı aşağıdakilerden hangisidir?
A) % 17.5 B) % 5.29 C) % 6.5 D) % 13.7 E) % 2.59
12. Kjeldahl yöntemi ile protein tayininde yaş yakma yapılırken 50 mL H₂SO₄ kullanılmışsa damıtma aşamasında ne kadar NaOH kullanılmalıdır?
A) 1–2 mL B) 4–5 mL C) 50–100 mL D) 100–150 mL E) 200–250 mL
13. Aşağıdakilerden hangisi Kjeldahl yöntemi ile protein tayini yapılırken damıtma aşamasında NaOH kullanıma nedenini açıklar?
A) Renk değişiminin belirgin olmasını sağlamak.
B) NH₄⁺ iyonlarının NH₃ gazına dönüşmesini kolaylaştırmak
C) Azot içeren bileşikler dışındaki bileşiklerin yanmasını sağlamak
D) Organik maddeleri oksitleyerek (NH₄)₂SO₄' dönüştürmek
E) Amonyum klorür oluşmasını sağlamak

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarı ile karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt yaşadığınız sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrar inceleyiniz.

B. UYGULAMALI TEST

1. Öğrenme faaliyetinin uygulamalı testinde yakma işlemi yaptığınız soya fasülyesi örneğinde damıtma ve titrasyon işlemlerini uygulayarak % ham protein ve protein miktarını bulunuz.

Yaptığınız uygulamayı kontrol listesine göre değerlendirerek, eksik veya hatalı gördüğünüz davranışları tamamlama yoluna gidiniz.

Değerlendirme Ölçütleri	Evet	Hayır
1. Bilgi sayfalarını dikkatlice çalıştınız mı?		
2. Laboratuvar kıyafetlerinizi giydiniz mi?		
3. Laboratuvar araçlarını kontrol edip, hazırladınız mı?		
4. Damıtma düzeneğinin fişini prize takarak elektrik bağlantısı olup olmadığını kontrol ettiniz mi?		
5. Damıtma düzeneğinin hortum bağlantılarını kontrol ettiniz mi?		
6. Damıtma düzeneğinde hortum bağlantısı su girişi alttan su çıkışı üstten mi?		
7. Kullanacağınız % 40'lık NaOH, % 4'lük Borik asit ve indikatör çözeltilerini hazırladınız mı?		
8. Soğutulmuş Kjehdahl balonlarını döndürerek çok yavaş bir şekilde 125 mL NaOH ilave ettiniz mi?		
9. Kjehdahl balonlarına 1–2 parça çinko granülü eklediniz mi?		
10. Kjehdahl balonları destilasyon cihazına yerleştirdiniz mi?		
11. 250- 300 mL'lik bir erlene 50 mL borik asit çözeltisi ve 5–6 damla indikatör çözeltisi koydunuz mu?		
12. Hazırladığınız erlen geri soğutucunun ucu erlendeki borik asit ve indikatör çözeltisinin içine girecek şekilde yerleştirdiniz mi?		
13. Damıtma düzeneğini çalıştırıp destilasyonu başlattınız mı?		
14. Damıtma süresince erlendeki renkte değişme gözlemlediniz mi?		
15. 100–150 mL destilat toplandı mı?		
16. Saf su ile ıslatılmış kırmızı turnusol kâğıdını soğutucunun ucuna değdirerek damıtma işleminin tamamlanıp tamamlanmadığı kontrol ettiniz mi?		
17. Kırmızı turnusol kâğıdını geri soğutucudan damlayan destilata değdirdiğinizde rengi değişmediğinde damıtma düzeneğini kapattınız mı?		
18. Kör deneme ile örnek erlenlerinin rengi mavimsi-sarımsı yeşil oldu mu?		
19. Büreti spora tespit edip titrasyon düzeneğini hazırladınız mı?		
20. Yeterli 0.1 N HCl çözeltiniz ve indikatörünüz var mı?		
21. 0.1 N HCl çözeltisi dikkatlice bürete doldurdunuz mu?		
22. Bir süre bekleyip büret seviyesini kavisin altından okuyup not ettiniz mi?		

23. Damıtma düzeneğininde geri soğutucunun altındaki erleni aldınız mı?		
24. Bir elinizle büretin çeşmesini kontrol edip, diğer elinizle erleni çalkalayarak önce yavaş sonra daha hızlı damlalar halinde titrasyon yaptınız mı?		
25. Menekşe-mor renk oluştuğunda büretin çeşmesini kapattınız mı?		
26. Büretin seviyesini titrasyon öncesindeki gibi okuyup not ettiniz mi?		
27. Aynı titrasyon işlemini kör deneme için de yaptınız mı?		
28. Büretin seviyesini titrasyon öncesindeki gibi okuyup not ettiniz mi?		
29. Her iki titrasyonda da harcanan HCl miktarını hesapladınız mı?		
30. % ham protein formülü yazıp bulduğunuz verileri yerleştirdiniz mi?		
31. Sonucu doğru olarak hesapladınız mı?		
32. % azot miktarından % protein miktarını hesaplariken kullandığınız faktör soya fasülyesi için geçerli mi?		
33. Analiz sonucunun raporunu yazdınız mı?		
34. Kullandığınız araçları temizleyip yerine kaldırdınız mı?		
35. Laboratuvarın son kontrollerini yaptınız mı?		

DEĞERLENDİRME

Yaptığınız değerlendirme sonunda **hayır** şeklindeki cevaplarınızı bir daha gözden geçiriniz. Cevaplarınızda tereddütleriniz varsa öğrenme faaliyetini tekrar ediniz. Cevaplarınızın tamamı **evet** ise bir sonraki faaliyete geçiniz.

MODÜL DEĞERLENDİRME

PERFORMANS TESTİ (YETERLİK ÖLÇME)

Bir peynir örneğinde Kjeldahl yöntemi ile protein tayini yapınız. Modül ile kazandığınız yeterliği aşağıdaki kriterlere göre ölçünüz.

Değerlendirme Ölçütleri	Evet	Hayır
Yakma aşaması ile ilgili yeterlilikler.		
1. Bilgi sayfalarımı dikkatlice çalıştınız mı?		
2. Laboratuvar kıyafetlerinizi giydiniz mi?		
3. Laboratuvar araçlarını kontrol edip hazırladınız mı?		
4. Kullanacağınız H ₂ SO ₄ ve yakma tuzunu hazırladınız mı?		
5. Kjeldahl tüpleri kuru ve temiz mi?		
6. Kjeldahl yakma düzeneğini çeker ocağa alıp fişini prize takarak elektrik bağlantısı olup olmadığını kontrol ettiniz mi?		
7. Peyniri blenderden geçirip homojenize ettiniz mi?		
8. Homojenize ettiğiniz peynir örneğinden 1 g kadar tartıp tartım miktarını kaydettiniz mi?		
9. Örneği Kjeldahl balonuna kayıpsız aktardınız mı?		
10. Üzerine 10 gr katalizör eklediniz mi?		
11. Kjeldahl balonunu döndürerek çok dikkatli şekilde yavaşça % 98'lik derişik H ₂ SO ₄ 'ten 25 mL ilave ettiniz mi?		
12. Kjeldahl balonuna iç yüzeyine yapışan örnek ve katalizör parçacıkları kalmamasına dikkat ettiniz mi?		
13. Kjeldahl balonuna 3-5 cam boncuk koyup yakma setine yerleştirdiniz mi?		
14. Kör deneme için 10 g yakma tuzu, 25 mL derişik H ₂ SO ₄ ve 3-5 cam boncuk koyarak hazırladığınız başka bir Kjeldahl balonunu da yakma setine yerleştirdiniz mi?		
15. Kjeldahl yakma düzeneğinin sıcaklığını 200-250 °C'ye ayarlayıp çalıştırdınız mı?		
16. Yakma sırasında çeker ocağın aspiratörünü çalıştırdınız mı?		
17. Köpürme bitene kadar 200-250 °C'de 15 dakika yakma işlemi yaptınız mı?		
18. Sıcaklığı 350-380 °C'ye çıkartıp en az 60 dakika daha yakma işlemi yaptınız mı?		
19. Yakma süresince Kjeldahl balonlarının renginde açılma gözlemlediniz mi?		
20. Kör deneme ile örneklerin rengi sarımsı yeşil oldu mu?		
21. Renk yeşil, sarımsı yeşil olduktan sonra da en az 20-30 dakika		

yakma işlemine devam ettiniz mi?		
22. Yakma düzeneğini kapattınız mı?		
23. Yakma balonlarını oda sıcaklığına kadar soğuttunuz mu?		
24. Çeker ocağın aspiratörünü kapattınız mı?		
25. Soğumuş Kjedahl balonlarını döndürerek yavaş yavaş 150–200 mL saf su eklediniz mi?		
26. Kjedahl balonlarını hafifçe çalkalayıp bir süre daha soğumaya bıraktınız mı?		
Damıtma aşaması ile ilgili yeterlilikler.		
1. Damıtma düzeneğinin fişini prize takarak elektrik bağlantısı olup olmadığını kontrol ettiniz mi?		
2. Damıtma düzeneğinin hortum bağlantılarını kontrol ettiniz mi?		
3. Damıtma düzeneğinde hortum bağlantısı su girişi alttan su çıkışı üstten mi?		
4. Kullanacağınız % 40'lık NaOH, % 4'lük Borik asit ve indikatör çözeltilerini hazırladınız mı?		
5. Soğutulmuş Kjedahl balonlarını döndürerek çok yavaş bir şekilde 125 mL NaOH ilave ettiniz mi?		
6. Kjedahl balonlarına 1–2 parça çinko granülü eklediniz mi?		
7. Kjedahl balonlarını destilasyon cihazına yerleştirdiniz mi?		
8. 250- 300 ml'lik bir erlene 50 mL borik asit çözeltisi ve 5–6 damla indikatör çözeltisi koydunuz mu?		
9. Hazırladığınız erleni geri soğutucunun ucu erlendeki borik asit ve indikatör çözeltisinin içine girecek şekilde yerleştirdiniz mi?		
10. Damıtma düzeneğini çalıştırıp destilasyonu başlattınız mı?		
11. Damıtma süresince erlendeki renkte değişme gözlemlediniz mi?		
12. 100–150 mL destilat toplandı mı?		
13. Saf su ile ıslatılmış kırmızı turnusol kâğıdını soğutucunun ucuna değdirerek damıtma işleminin tamamlanıp tamamlanmadığı kontrol ettiniz mi?		
14. Kırmızı turnusol kâğıdını geri soğutucudan damlayan destilata değdirdiğinizde rengi değişmediğinde damıtma düzeneğini kapattınız mı?		
15. Kör deneme ile örnek erlenlerin rengi mavimsi-sarımsı yeşil oldu mu?		
Titrasyon aşaması ile ilgili yeterlilikler		
1. Büreti spora tespit edip titrasyon düzeneğini hazırladınız mı?		
2. Yeterli 0.1 N HCl çözeltiniz var mı?		
3. 0.1 N HCl çözeltisi dikkatlice bürete doldurdunuz mu?		
4. Bir süre bekleyip büret seviyesini kavisin altından okuyup not ettiniz mi?		

5. Damıtma düzeneğininde geri soğutucunun altındaki erleni aldınız mı?		
6. Bir elinizle büretin çeşmesini kontrol edip, diğer elinizle erleni çalkalayarak önce yavaş sonra daha hızlı damlalar halinde titrasyon yaptınız mı?		
7. Menekşe-mor renk oluştuğunda büretin çeşmesini kapattınız mı?		
8. Büretin seviyesini titrasyon öncesindeki gibi okuyup not ettiniz mi?		
9. Aynı titrasyon işlemi kör deneme için de yaptınız mı?		
10. Büretin seviyesini titrasyon öncesindeki gibi okuyup not ettiniz mi?		
11. Her iki titrasyonda da harcanan HCl miktarını hesapladınız mı?		
12. % ham protein formülü yazıp bulduğunuz verileri yerleştirdiniz mi?		
13. Sonucu doğru olarak hesapladınız mı?		
14. % azot miktarından % protein miktarını hesaplarken kullandığınız faktör peynir için geçerli mi?		
15. Analiz sonuçunun raporunu yazdınız mı?		
16. Kullandığınız araçları temizleyip yerine kaldırdınız mı?		
17. Laboratuvarın son kontrollerini yaptınız mı?		

DEĞERLENDİRME

- Ø Yapılan değerlendirme sonunda **hayır** cevaplarınızı bir daha gözden geçiriniz. Kendinizi yeterli görmüyorsanız modülü tekrar ediniz.
- Ø Bütün cevaplarınız **evet** ise modülü tamamladınız, tebrik ederiz. Öğretmeniniz size çeşitli ölçme araçları uygulayacaktır. Öğretmeninizle iletişime geçiniz.

CEVAP ANAHTARI

ÖĞRENME FAALİYETİ -1 CEVAP ANAHTARI

1	D
2	D
3	D
4	C
5	B
6	A
7	E
8	D
9	B
10	B
11	E
12	B
13	C

ÖĞRENME FAALİYETİ -2 CEVAP ANAHTARI

1	B
2	B
3	D
4	C
5	D
6	A
7	E
8	C
9	E
10	D
11	E
12	E
13	B

KAYNAKLAR

- Ø DOKUZLU Canan, **Gıda Analizleri**, Marmara Kitabevi, Bursa 2004.
- Ø GÖNÜL Meral, Tomris Altuğ, Dilek Boyacıoğlu, Ülker Noka, **Gıda Analizleri**, Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliđi Bölümü Çođaltma Yayınları No:84,Bornava 1996.
- Ø KILIÇ Ođuz, Ö.Utku Çopur, Şeküre Görtay, **Meyve Ve Sebze İşleme Teknolojisi Uygulama Kılavuzu**, Uludađ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Notları no:7,Bursa 1991.
- Ø ÖZKAYA Hazım, **Analitik Gıda Kalite Kontrolü**, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 1086, Ankara 1998.
- Ø UYLAŞER Vildan, Fikri Başoğlu, **Gıda Analizleri 1–2 Uygulama Kılavuzu**, Uludađ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Uygulama Kılavuzu No:9, Bursa 2000.
- Ø Science@a Distance
- Ø www.fao.org/