

**T.C.
MİLLÎ EĞİTİM BAKANLIĞI**

LABORATUVAR HİZMETLERİ

YEMLERDE PROTEİN ANALİZLERİ

Ankara, 2015

-
- Bu modül, mesleki ve teknik eğitim okul/kurumlarında uygulanan Çerçeve Öğretim Programlarında yer alan yeterlikleri kazandırmaya yönelik olarak öğrencilere rehberlik etmek amacıyla hazırlanmış bireysel öğrenme materyalidir.
 - Millî Eğitim Bakanlığınca ücretsiz olarak verilmiştir.
 - **PARA İLE SATILMAZ.**

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ	4
ÖĞRENME FAALİYETİ-1	6
1. YEMLERDE PROTEİN TAYİNİNDE YAŞ YAKMA	6
1.1. Yemlerde Protein Tayininin Önemi	6
1.2. Yemlerde Protein Tayini	6
1.3. Yaş Yakma	7
1.3.1. Kullanılan Araç Gereçler	7
1.3.2. Kullanılan Kimyasallar ve Çözeltiler	8
1.3.3. Yaş Yakma İşleminin Yapılışı	9
UYGULAMA FAALİYETİ	10
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	12
ÖĞRENME FAALİYETİ-2	13
2. YEMLERDE PROTEİN TAYİNİNDE DESTİLASYON VE TİTRASYON	13
2.1. Destilasyon	13
2.1.1. Kullanılan Araç Gereçler	13
2.1.2. Kullanılan Kimyasallar	13
2.1.3. Destilasyon İşleminin Yapılışı	14
2.2. Titrasyon	14
2.2.1. Kullanılan Araç Gereçler	15
2.2.2. Kullanılan Kimyasal ve Çözeltiler	15
2.2.3. Titrasyon İşleminin Yapılışı	15
2.3. Hesaplama	16
UYGULAMA FAALİYETİ	17
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	20
ÖĞRENME FAALİYETİ-3	21
3. YEMLERDE ÜRE TAYİNİ	21
3.1. Yemlerde Protein Olmayan Azotlu Bileşikler	21
3.2. Yemlerde Üre Tayini	21
3.2.1. Kullanılan Araç Gereçler	22
3.2.2. Kullanılan Kimyasallar ve Çözeltiler	22
3.2.3. Analizin Yapılışı	22
UYGULAMA FAALİYETİ	21
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	24
ÖĞRENME FAALİYETİ-4	25
4. YEMLERDE ÜREAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ	25
4.1. Yemlerde Üreaz Aktivitesi Tayinin Önemi	25
4.2. Yemlerde Üreaz Aktivitesi Tayini	25
4.2.1. Kullanılan Araç Gereçler	25
4.2.2. Kullanılan Kimyasallar ve Çözeltiler	26
4.2.3. Analizin Yapılışı	26
UYGULAMA FAALİYETİ	28
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	31
MODÜL DEĞERLENDİRME	32
CEVAP ANAHTARI	34
KAYNAKÇA	36

AÇIKLAMALAR

ALAN	Laboratuvar Hizmetleri
DAL	Gıda, Tarım ve Hayvan Sağlığı Laboratuvarı
MODÜLÜN ADI	Yemlerde Protein Analizleri
MODÜLÜN SÜRESİ	40/16
MODÜLÜN AMACI	Bireye / öğrenciye yemlerde standardına uygun olarak protein analizleri yapmaya yönelik bilgi ve becerileri kazandırmaktır.
MODÜLÜN ÖĞRENME KAZANIMLARI	<ol style="list-style-type: none">1. 27.12.2011 tarih ve 28155 sayılı Resmî Gazete’de yayınlanan Yem Mevzuatı kriterlerine uygun olarak yemlerde protein tayini için yaş yakma yapabileceksiniz2. 27.12.2011 tarih ve 28155 sayılı Resmî Gazete’de yayınlanan Yem Mevzuatı kriterlerine uygun olarak yemlerde protein tayini için destilasyon ve titrasyon yapabileceksiniz3. 27.12.2011 tarih ve 28155 sayılı Resmî Gazete’de yayınlanan Yem Mevzuatı kriterlerine uygun olarak yemlerde üre tayini yapabileceksiniz4. 21.01.1992 tarih ve 21118 sayılı Resmî Gazete’de yayınlanan Yem Mevzuatı kriterlerine uygun olarak yemlerde üreaz aktivitesi tayini yapabileceksiniz
EĞİTİM ÖĞRETİM ORTAMLARI VE DONANIMLARI	<p>Ortam: Laboratuvar ortamı, kütüphane, internet, bireysel öğrenme ortamları vb.</p> <p>Donanım: Hassas terazi, kjeldahl cihazı, spektrofotometre, su banyosu, çalkalayıcı, manyetik karıştırıcı, pH metre, spatül, tartım kayıkçığı, pipet, mezür, erlen, beher, büret, balonjoje, filtre kâğıdı, huni, deney tüpü, kjeldahl tüpü, katalizör tablet, sülfürik asit, sodyum hidroksit, hidroklorik asit, borik asit, tashiri indikatörü, carez I-II çözeltileri, aktif kömür, dimetilaminobenzaldehit, üre, fosfat tampon çözeltisi, metiloranj indikatörü, fosfat tampon çözeltisi, yem numunesi</p>
ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME	Modül içinde yer alan her öğrenme faaliyetinden sonra verilen ölçme araçları ile kendinizi değerlendireceksiniz.

GİRİŞ

Sevgili Öğrenci,

Hayvansal üretimde, kaliteli yem kullanılmasının önemi çok büyüktür. Özellikle karma yemler, bileşimi garanti edilmiş yemlerdir. Dolayısıyla belirli standartlara uygun olarak üretilmelidir. Yem üretim ve satış yerlerinin numune alınarak sürekli denetlenmesi, alınan numunelerle yemlerin kalite kontrolünün yapılması hileli yemlerin piyasaya sürülmesine engel olmak için zorunludur.

Yemlerin kalitesinin belirlenmesinde protein analizlerinin oldukça önemli bir yeri vardır. Hayvanlarda istenen gelişme ve verimin elde edilebilmesi için yedirilen karma yemlerin veya oluşturulan rasyonların protein içeriği bakımından yeterli olmasına mutlaka dikkat edilmelidir. Proteinler, dokularının büyümesi, gelişmesi ve onarımı için hayvanların yaşamları süresince devamlı olarak ihtiyaç duydukları besin maddeleridir. Hayvanların yaşamsal faaliyetlerinin devamı için gerekli olduğu kadar et, süt, yumurta vb verimleri için de hayvana verilmesi zorunludur.

Bu modülü tamamladığınızda yemlerde standardına uygun olarak ham protein tayini, üre tayini ve üreaz aktivitesi tayini yapabilme bilgi ve becerisine sahip olacaksınız.

ÖĞRENME FAALİYETİ-1

ÖĞRENME KAZANIMI

Gerekli ortam sağlandığında, 27.12.2011 tarih ve 28155 sayılı Resmî Gazete’de yayınlanan Yem Mevzuatı kriterlerine uygun olarak yemlerde ham protein tayini için yaş yakma yapabileceksiniz.

ARAŞTIRMA

- Yemlerde ham protein tayininin yapılışını araştırınız.
- Yemlerde ham protein tayininde kullanılan araç gereçleri araştırınız.

1.YEMLERDE PROTEİN TAYİNİNDE YAŞ YAKMA

1.1. Yemlerde Protein Tayininin Önemi

Yemlerin besin içeriklerini tespit etmek için en yaygın olarak kullanılan metod olan weende analiz metodunda yemin bileşimi 6 temel grup olarak değerlendirilmektedir. Bu gruplardan biri de proteinlerdir.

Proteinler, dokularının büyümesi, gelişmesi ve onarımı için hayvanların yaşamları süresince devamlı olarak ihtiyaç duydukları besin maddeleridir. Hayvanların yaşamsal faaliyetlerinin devamı için gerekli olduğu kadar et, süt, yumurta vb verimleri için de hayvana verilmesi zorunludur.

Hayvanların ihtiyaç duydukları protein miktarı onların türüne, yaşına, verim kabiliyetine göre değişmektedir. Hayvanlarda istenen gelişme ve verimin elde edilebilmesi için yedirilen karma yemlerin veya oluşturulan rasyonların protein içeriği bakımından yeterli olmasına mutlaka dikkat edilmelidir. Yem kanunu gereği üretimi yapılan karma yemlerin besin içeriklerinin standardında belirtilen oranlarda olup olmadığı yetkililerce rutin olarak kontrol edilmektedir.

1.2. Yemlerde Protein Tayini

Yemlerde protein analizi genellikle **kjeldahl yöntemiyle** gerçekleştirilmektedir. Yönteminin temel amacı yemlerdeki serbest azotun amonyum iyonuna çevrilip miktarının belirlenmesidir.

Kjeldahl yöntemiyle ham proteinin bulunması üç aşamada gerçekleştirilir. Bunlar sırasıyla; yaş yakma, damıtma ve titrasyon aşamalarıdır. Bu yöneme göre yemler önce derişik sülfürik asit ile yaş yakmaya tabi tutulur ve yemdeki azotlu bileşikler amonyum sülfat

((NH₄)₂SO₄) halinde birleştirilir. Sonrasında numune sodyum hidroksit ile bazikleştirilerek bünyesindeki azot, amonyak (NH₃) halinde damıtılıp ayrılır. Ayrılan amonyak ayarlı bir asit çözeltisi içerisinde amonyum borat halinde tutulur. Elde edilen bu destilat titre edilip nötrleşmeyen fazla asit miktarı belirlenerek azot miktarı, bundan da protein miktarı hesaplanır. Yaş yakma ve damıtma esnasında protein halinde bulunmayan diğer (amonyumlar, amidler, aminler, betainler) azotlu bileşikler de protein gibi belirlendiğinden bu yöntem ham protein tayini olarak adlandırılır.

YAKMA	$\text{Yemdeki N} + \text{H}_2\text{SO}_4 \xrightarrow[\text{Katalizör}]{\text{Isı}} \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{NH}_4^+ + \text{SO}_2$ $\text{NH}_4^+ + \text{SO}_4^{2-} \longrightarrow (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
DAMITMA	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 + 2\text{NaOH} \longrightarrow \text{Na}_2\text{SO}_4 + 2\text{NH}_4\text{OH}$ $\text{NH}_4\text{OH} \longrightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{NH}_3$ $\text{NH}_3 + \text{H}_3\text{BO}_3 \longrightarrow \text{NH}_4\text{H}_2\text{BO}_3$
TİTRASYON	$\text{NH}_4\text{H}_2\text{BO}_3 + \text{HCl} \longrightarrow \text{NH}_4\text{Cl} + \text{H}_3\text{BO}_3$

Şekil 1. 1: Kjeldahl yönteminde azotta oluşan kimyasal değişimler

1.3. Yaş Yakma

Kjeldahl tüpüne aktarılan numunenin üzerine katalizör (sodyum sülfat + bakır sülfat) ve konsantre sülfürik asit ilave edilerek yakma bölümüne yerleştirilip yakıldığı aşamadır. Bu aşamada numunedeki azot, sülfürik asidin sülfat kökü ile bağlanarak amonyum sülfat kristalleri oluşur.

1.3.1. Kullanılan Araç Gereçler

Yemlerde ham protein tayininde yaş yakma yapılırken aşağıdaki araç gereçler kullanılmaktadır:

- Hassas terazi
- Tartım kayıkçığı
- Spatül
- Kjeldahl tüpü
- Pipet
- Puar
- Çeker ocak
- Kjeldahl cihazı

Kjeldahl cihazı: Numunede azotlu maddelerin ve sonrasında protein miktarını tespit etmek için kullanılır. Yaş yakma, damıtma ve titrasyon üniteleri olmak üzere üç kısımdan oluşur.

Yaş yakma ünitesi; bir ısıtıcı üzerine yerleştirilmiş kjeldahl tüpleri konulabilir hazneden oluşur. Yakma esnasında açığa çıkan asit buharlarının yoğunlaştırılıp dışarı atılacağı asit tahliyesi sistemine sahiptir. Her ne kadar asit tahliye sistemine sahip olsa da bir miktar asit buharı ortama yayılır. Bunları dışarı atabilmek için yakma ünitesi mutlaka çeker ocak içine konulmalıdır. Hatta yakma ünitesinin ayrı bir odada bulunmasında fayda vardır.

Damıtma ünitesi, yaş yakma sonunda sülfürik asitle amonyum sülfat durumuna geçmiş olan bütün nitrojen bileşiklerindeki azotu, amonyum formuna geçirip toplamaya yarar. Isıtma, soğutma ve toplama kısımlarından oluşur. Titrasyon ünitesi ise bir büret yardımı ile titrasyonun yapılp renk değişimine bağlı olarak azotlu maddelerin miktarını tespit etmeye yarar. Tam otomatik damıtma ünitelerinde damıtmayla beraber titrasyon işlemi de yapılmakta ve cihaz ham protein miktarını hesaplayıp direk sonucu verebilmektedir.



Resim 1.1: Kjeldahl cihazı yakma ünitesi ve damıtma ünitesi

1.3.2. Kullanılan Kimyasallar ve Çözeltiler

Ham protein tayini yapılırken aşağıdaki kimyasallar kullanılmaktadır:

- Katalizör tablet,
- Sülfürik asit (H_2SO_4),

1.3.3. Yaş Yakma İşleminin Yapılışı

1mm'lik elekten geçecek şekilde öğütülmüş yem numunesinden 1 g tartılarak kjeldahl tüpüne aktarılır. Üzerine 2 adet katalizör tablet konulur. Üzerine pipet veya büret yardımıyla 15 ml derişik sülfürik asit eklenir. Sülfürik asit eklenirken yakma tüpü hafif eğik tutulup yavaş yavaş döndürülerek tüpün iç yüzeyine yapışıp kalan numune parçaları asit yardımıyla yıkanarak dip kısma toplanmalıdır. Sülfürik asit ilave edildikten sonra tüp hafifçe çalkalanarak numunenin tamamının asitle ıslanması sağlanır.



Asit ilavesi tamamlandıktan sonra yakma tüpü kjeldahl yakma ünitesine yerleştirilir. Yakma esnasında açığa çıkan asit buharlarının yoğunlaştırılıp dışarı atılacağı asit tahliyesi sistemi ve çeker ocak çalıştırılır.



Köpürme ve taşma olmaması için öncelikle 200-250 °C'de 15-20 dakika ön yakma yapılır. Daha sonra sıcaklık artırılarak 420 °C sıcaklıkta 45-60 dakika esas yakma yapılır. Bu süreçte karışım önce siyah sonra kahverengiye döner. Yanma süresinin sonuna doğru karbonlu parçalar yanarak karışım berraklaşır ve sarı ile parlak yeşil arası bir renk alır. Parlak yeşil-sarı arası renk oluşması yanmanın tamamlandığı anlamına gelmez bu nedenle mutlaka süre tamamlanıncaya kadar beklenmelidir.

UYGULAMA FAALİYETİ

Aşağıdaki işlem basamaklarını ve önerileri dikkate alarak karma yemlerde ham protein tayini için yaş yakma işlemi yapınız.

Uygulamada kullanılan kimyasallar ve araç gereçler: Hassas terazi, spatül, tartım kayıkçığı, kjeldahl tüpü, pipet, kjeldahl cihazı, katalizör tablet, sülfürik asit, yem numunesi

İşlem Basamakları	Öneriler
<ul style="list-style-type: none">➤ Analiz öncesi hazırlıklarını yapınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Laboratuvar önlüğünüzü giyiniz.➤ Laboratuvar güvenlik kurallarına uyunuz.➤ Çalışma ortamınızı ve kullanacağınız araç gereçleri hazırlayınız.
<ul style="list-style-type: none">➤ Yem numunesini analize hazırlayınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Yem numunesini analize hazırlama kurallarına uyunuz.
<ul style="list-style-type: none">➤ Tartım kabına 1 g analiz numunesi tartınız. 	<ul style="list-style-type: none">➤ Tartım kurallarına uyunuz.
<ul style="list-style-type: none">➤ Tartılan numuneyi yakma tüpüne aktarınız. 	<ul style="list-style-type: none">➤ Numunenin tüpün dışına dökülmemesine dikkat ediniz.

<p>➤ Üzerine 2 adet katalizör tablet ve 15 ml derişik sülfürik asit ilave ediniz.</p> 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Pipet kullanınız ➤ Pipetlemeyi mutlaka puarla yapınız. ➤ Sülfürik asit eklerken yakma tüpünü hafif eğik tutup yavaş yavaş döndürerek tüpün iç yüzeyine yapışıp kalan numune parçalarını tüpün dip kısmına yıkamayı unutmayınız.
<p>➤ Tüpü yakma ünitesine yerleştiriniz.</p> 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Tüpün üzerine asit tahliye sistemini takmayı unutmayınız ➤ Su trompunu açmayı unutmayınız
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Yakma ünitesini çalıştırınız. ➤ Köpürme bitene kadar düşük sıcaklıkta daha sonra 420 °C' de yaklaşık 45–60 dakika yakma işlemine devam ediniz. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Çeker ocağı çalıştırmayı unutmayınız. ➤ Köpürme ve taşma olmaması için 200-250 °C' de 15-20 dakika ön yakma yapmayı unutmayınız.

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki soruları dikkatlice okuyarak doğru seçeneği işaretleyiniz.

1. Yemlerde ham protein tayininde yaş yakma esnasında kullanılan kimyasal maddeler aşağıdaki seçeneklerin hangisinde doğru verilmiştir?
A) Katalizör tablet - Sülfürik asit
B) Katalizör tablet - Hidroklorik asit
C) Sodyum hidroksit - Sülfürik asit
D) Sodyum hidroksit - Borik asit
2. Yemlerde ham protein tayininde yaş yakma işleminde esas yakma sıcaklığı ve süresi aşağıdaki seçeneklerin hangisinde doğru verilmiştir?
A) 220 °C de 15-20 dakika
B) 220 °C de 45-60 dakika
C) 420 °C de 15-20 dakika
D) 420 °C de 45-60 dakika

Aşağıdaki cümleleri dikkatlice okuyarak boş bırakılan yerlere doğru sözcüğü yazınız.

3. Yemlerde ham protein analizi yöntemiyle gerçekleştirilmektedir.
4. Yaş yakma işleminde yemdeki azotlu bileşikler halinde birleştirilir.
5. Yakma ünitesi, yakma esnasında açığa çıkan asit buharlarının yoğunlaştırılıp dışarı atılacağı sistemine sahiptir.

Aşağıdaki cümlelerin başında boş bırakılan parantezlere, cümlelerde verilen bilgiler doğru ise D, yanlış ise Y yazınız.

6. Yaş yakma işleminde sülfürik asit ilave edildikten sonra tüp hafifçe çalkalanarak numunenin tamamının asitle ıslanması sağlanır.()
7. Yaş yakma işleminde parlak yeşil-sarı arası renk oluştuğu anda işlem sonlandırılır.()

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise bir sonraki öğrenme faaliyetine geçiniz.

ÖĞRENME FAALİYETİ-2

ÖĞRENME KAZANIMI

Gerekli ortam sağlandığında, 27.12.2011 tarih ve 28155 sayılı Resmî Gazete’de yayınlanan Yem Mevzuatı kriterlerine uygun olarak yemlerde ham protein tayininde destilasyon ve titrasyon işlemlerini yapabileceksiniz.

ARAŞTIRMA

- Yemlerde ham protein tayininde kullanılan tam otomatik destilasyon cihazlarını araştırınız.
- Çevrenizde bulunan yem analiz laboratuvarlarını ziyaret ederek yemlerde ham protein tayininde destilasyon ve titrasyon işlemlerinin yapılışını gözlemleyiniz.

2. YEMLERDE PROTEİN TAYİNİNDE DESTİLASYON VE TİTRASYON

2.1. Destilasyon

Yaş yakma işlemi tamamlanan numunenin damıtma ünitesinde sodyum hidroksit ilave edilip kaynatıldığı aşamadır. Bu aşamada yakma sırasında oluşan amonyum sülfat sodyum hidroksit ile reaksiyona girerek sodyum sülfat ve amonyum hidroksit oluşur. Amonyum hidroksitte parçalanarak amonyak ve su oluşur. Oluşan amonyak miktarı numunedeki azot miktarı ile orantılıdır. Gaz haline gelmiş amonyak geri soğutucu yardımı ile yoğunlaştırılır ve geri soğutucunun uç kısmına konan erlendeki ayarlı borik asit içinde tutulur.

2.1.1. Kullanılan Araç Gereçler

Yemlerde ham protein tayininde destilasyon işlemi yapılırken aşağıdaki araç gereçler kullanılmaktadır:

- Kjeldahl tüpü
- Mezür
- Erlen
- Pipet
- Kjeldahl cihazı (Destilasyon ünitesi)

2.1.2. Kullanılan Kimyasallar

Ham protein tayininde destilasyon işlemi yapılırken aşağıdaki kimyasal ve çözeltiler kullanılmaktadır:

- **% 33'lük Sodyum hidroksit çözeltisi:** Litrelık bir erlene 330 g sodyum hidroksit (NaOH) tartılır. Üzerine yeterince saf su eklenip çalkalanarak çözünmesi sağlanır. Bu esnada aşırı ısınma olacağından dikkatli olunmalı gerekirse çeşme suyu altında soğutulmalıdır. Çözündürme işlemi tamamlandıktan sonra çözelti litrelık bir balon jøjeye aktarılıp hacim, saf su ile çizgisine tamamlanır.
- **% 4'lük Borik asit çözeltisi:** 40 g borik asit (H_3BO_3), 1 litrelık balon jøjede saf su ile çözündürülür ve saf su ile hacim çizgisine tamamlanır. Çözünme biraz zor olacağı için sıcak su banyosunda çözünene kadar bekletilir.
- **Tashiri indikatörü:** 0,5 g metilen kırmızısı 250 ml etil alkolde (% 95'lik) çözündürülür ve 0,25 g metilen mavisi 250 ml etil alkolde (% 95'lik) çözündürülür. Hazırlanan çözeltiler kullanılacağı zaman eşit hacimlerde alınarak karıştırılır ve kullanılır. Çözelti, karanlıkta kahverengi şişede saklanmalıdır.

2.1.3. Destilasyon İşleminin Yapılışı

Damıtmaya geçilmeden önce öncelikle sisteme buhar sağlayan balondaki su miktarı kontrol edilir eksiğe tamamlanır. Daha sonra damıtma cihazı çalıştırılıp, sisteme buhar sağlayan balondaki suyun kaynaması sağlanır. Sistemin soğutma suyu açılır. Boş bir yakma tüpüne saf su konulup cihaza takılarak bir süre çalıştırılıp damıtma sistemi temizlenir.

Yaş yakma işlemi tamamlandıktan sonra tüpler yakma setinden alınır ve yaklaşık 40-50 °C'ye kadar soğuması beklenir. Birden fazla tüp varsa ilk tüpün damıtma ve titrasyon işlemleri bitinceye kadar diğer tüplerin çok soğuyup içeriğın kristalleşmemesine dikkat edilmelidir. Yeterince soğuduktan sonra tüp hafif eğik tutularak üzerine yavaş yavaş ve çalkalayarak 75 ml saf su eklenir. Bu esnada tüp döndürülerek iç yüzeyin yıkanması sağlanır. Tekrar ısınan tüp, çeşme suyu altında soğutulur.

Yaş yakma tüpü destilasyon cihazındaki yerine yerleştirilir. Üzerine cihaz yardımıyla yavaş yavaş 100 ml %33'lük NaOH ilave edilir. 250 ml'lik bir erlene 25 ml %4'lük borik asit çözeltisi konulur. Üzerine 2-3 damla tashiri indikatörü damlatılır. Erlen, hortumun ucu borik asit çözeltisinin içinde olacak şekilde yoğunlaştırıcının altına yerleştirilir ve destilasyon işlemine başlanır. Yaklaşık 150 ml destilat birikince destilasyon tamamlanır. Bu esnada damıtma sırasında açığa çıkan amonyak, borik asit ile birleşerek amonyum borat oluşturur ve menekşe renk yeşile döner.

2.2. Titrasyon

Damıtma işlemi sonrasında elde edilen damıtığın standart bir asit çözeltisi ile titre edildiği aşamadır. Bu aşamada amonyum borat iyonları asit çözeltisi ile reaksiyona girerek yeniden borik aside dönüşür. Titrasyonda hidroklorik asit veya sülfürik asit çözeltileri kullanılır. Damıtma sonucunda oluşmuş olan yeşil renk titrasyon sonucunda tekrar başlangıçtaki menekşe rengine döner.

2.2.1. Kullanılan Araç Gereçler

Yemlerde ham protein tayininde titrasyon işlemi yapılırken aşağıdaki araç gereçler kullanılmaktadır:

- Erlen
- Büret

2.2.2. Kullanılan Kimyasal ve Çözeltiler

Ham protein tayininde destilasyon işlemi yapılırken aşağıdaki kimyasal ve çözeltiler kullanılmaktadır:

- **0,1 N Hidroklorik asit çözeltisi:** 500 ml'lik balon jöjeye önce bir miktar saf su konur ve üzerine 4,14 ml HCl (% 37'lik 1,19 d) eklenir, saf su ile hacim çizgisine tamamlanır.

2.2.3. Titrasyon İşleminin Yapılışı

Elde edilen destilat, 0,1 N HCl çözeltisi ile ilk indikatör eklendiği andaki menekşe renk gözlenene kadar titre edilir ve harcanan miktar kaydedilir (V_N). Bu esnada borat iyonları asit çözeltisi ile titrasyon sonucu tekrar borik aside dönüşür ve renk tekrar menekşe rengine döner.



Resim 2.1: Titrasyon işlemi

Şahit deneme için yaş yakma, damıtma ve titrasyon işlemleri aynı şartlarda numune konulmadan tekrarlanarak titrasyonda harcanan miktar kaydedilir (V_S).

2.3. Hesaplama

Şahit ve numunelerin titrasyon işlemleri tamamlandıktan sonra aşağıdaki formül yardımıyla önce numunenin azot miktarı hesaplanır. Daha sonra bulunan azot miktarı çevirme faktörü ile çarpılarak ham protein miktarı hesaplanır.

$$\% \text{ Azot} = \frac{0,014 \times N \times (V_N - V_S)}{m} \times 100$$

V_N = Titrasyonda harcanan HCl asit çözeltisinin hacmi (ml)

V_S = Şahit deneyde titrasyonda harcanan HCl asit çözeltisinin hacmi (ml)

N = Hidroklorik asit çözeltisinin normalitesi

m = Numune miktarı (g)

$$\% \text{ Ham Protein} = \% N \times \text{ÇF}$$

Çevirme faktörü; karma yemler, arpa ve mısırdaki 6.25, buğdayda 5.70, yulafta 5.83, pirinçte 5.95, kepekte 6.31 olarak alınır.

➤ Tam otomatik damıtma ünitelerinde damıtma ve titrasyon:

Tam otomatik damıtma ünitelerinde damıtmayla beraber titrasyon işlemi de yapılmakta ve cihaz ham protein miktarını hesaplayıp direk sonucu verebilmektedir. Bu cihazlarda cihazın su bağlantısı yapıp çözelti haznelere metoda belirtilen çözeltiler konulduktan sonra cihaz çalıştırılır.



Tüp yerine yerleştirildikten sonra uygulanacak metod cihazın hafızasından seçilir veya boş bir metoda istenen veriler girilerek işlem başlatılır. Öncelikle cihaz otomatik kontrol işlemlerini yapar. Su bağlantısı, çözeltilerin bulunup bulunmadığı, indikatörlü borik asit çözeltisinin rengi cihaz tarafından kontrol edilir ve bir problem tespit edilmezse damıtma işlemine geçer. Çok kısa süre içerisinde (yaklaşık 3 dakika) damıtma işlemi tamamlayıp, titrasyonu yaparak hem % azot, hem de % ham protein olarak sonucu verir.



Bu cihazlarda mutlaka her analizden sonra boş bir tüp konularak yıkama işlemi yapılarak cihaz temizlenmelidir. Cihazın sürekli kullanılmadığı durumlarda da en az ayda bir defa boş bir tüp konularak yıkama işlemi yaptırılmalıdır.

Resim 2.2: Tam otomatik damıtma ünitesi

UYGULAMA FAALİYETİ-1

Aşağıdaki işlem basamaklarını ve önerileri dikkate alarak karma yemlerde ham protein tayininde destilasyon işlemi yapınız.

Uygulamada kullanılan kimyasallar ve araç gereçler: Kjeldahl cihazı, kjeldahl tüpü, mezür, erlen, pipet, damlalık, % 33'lük sodyum hidroksit çözeltisi, % 4'lük borik asit çözeltisi, tashiri indikatörü, yaş yakma sonucu elde edilmiş numune çözeltisi

İşlem Basamakları	Öneriler
<ul style="list-style-type: none">➤ Analiz öncesi hazırlıklarını yapınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Laboratuvar önlüğünüzü giyiniz.➤ Laboratuvar güvenlik kurallarına uyunuz.➤ Çalışma ortamınızı ve kullanacağınız araç gereçleri hazırlayınız.
<ul style="list-style-type: none">➤ Yem numunesine protein tayini için yaş yakma işlemi uygulayınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Yakma işleminin uygun sıcaklıkta ve yeterli süre olmasına dikkat ediniz.
<ul style="list-style-type: none">➤ Tüpü 40-50 °C sıcaklığa kadar soğutunuz.	<ul style="list-style-type: none">➤ Aşırı soğumanın kristalleşmeye sebep olacağını unutmayınız.
<ul style="list-style-type: none">➤ Tüpe 75 ml saf su ilave ederek bir müddet soğumaya bırakınız. 	<ul style="list-style-type: none">➤ Su ilave ederken tüpü hafif eğik tutup döndürerek iç yüzeyin yıkanmasını sağlayınız.
<ul style="list-style-type: none">➤ Tüpü destilasyon cihazına yerleştiriniz. 	<ul style="list-style-type: none">➤ Tüpün yerine iyice oturduğundan emin olunuz.

- Numunenin üzerine 100 ml %33'lük sodyum hidroksit ekleyiniz.



- Cihaz yardımıyla ekleyiniz.
- Tek seferde değil de birkaç aşamada ekleyiniz.

- 250 ml'lik erlene 25 ml %4'lük borik asit çözeltisi koyarak üzerine 2 damla tashiri indikatörü ekleyiniz.
- Erlenı geri soğutucunun altına yerleştiriniz.



- Hortumun ucunun borik asidin içerisinde olmasına dikkat ediniz.

- Damıtma düzeneğini çalıştırıp destilasyonu başlatınız.
- 150 ml destilat toplandığında damıtma işlemini sonlandırınız.



- Sisteme buhar sağlayan balondaki su miktarı kontrol etmeyi unutmayınız, eksikse tamamlayınız.
- Sistemin soğutma suyunu açmayı unutmayınız.
- Erlenideki menekşe rengin yeşile döndüğünü gözlemleyiniz.

UYGULAMA FAALİYETİ-2

Aşağıdaki işlem basamaklarını ve önerileri dikkate alarak karma yemlerde ham protein tayininde titrasyon işlemi yapınız.

Uygulamada kullanılan kimyasallar ve araç gereçler: Büret, erlen, 0,1 N hidroklorik asit çözeltisi, destilasyon işlemi sonucu elde edilen numuneye ait destilat

İşlem Basamakları	Öneriler
<ul style="list-style-type: none">➤ Analiz öncesi hazırlıklarını yapınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Laboratuvar önlüğünüzü giyiniz.➤ Laboratuvar güvenlik kurallarına uyunuz.➤ Çalışma ortamınızı ve kullanacağınız araç gereçleri hazırlayınız.
<ul style="list-style-type: none">➤ Yem numunesine protein tayini için yağ yakma ve destilasyon işlemlerini uygulayınız	<ul style="list-style-type: none">➤ Yakma ve damıtma işlemlerini kurallarına uygun olarak yapınız.
<ul style="list-style-type: none">➤ Erlendeki destilatı menekşe-mor renk oluşana kadar 0,1 N hidroklorik asit çözeltisi ile titre ediniz. 	<ul style="list-style-type: none">➤ Titrasyon kurallarına uyunuz.
<ul style="list-style-type: none">➤ Titrasyonda harcanan hidroklorik asit miktarını belirleyiniz.	<ul style="list-style-type: none">➤ Büret okumasını göz hizasında yapınız.➤ Harcanan miktarı kaydetmeyi unutmayınız.

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki soruları dikkatlice okuyarak doğru seçeneği işaretleyiniz.

1. Yemlerde ham protein tayininde damıtma esnasında kullanılan kimyasal maddeler aşağıdaki seçeneklerin hangisinde doğru verilmiştir?
A) Katalizör tablet - Sülfürik asit
B) Katalizör tablet - Hidroklorik asit
C) Sodyum hidroksit - Sülfürik asit
D) Sodyum hidroksit - Borik asit
2. Yapılan ham protein analizinde 1 gram karma yem numunesi kullanılmış, numunenin titrasyonunda 10,8 ml şahit denemenin titrasyonunda ise 0,8 ml 0,1 normal HCl harcanmıştır. Bu numunenin ham protein miktarı aşağıdakilerden hangisidir.
A) 8,25
B) 8,75
C) 9,25
D) 9,75

Aşağıdaki cümleleri dikkatlice okuyarak boş bırakılan yerlere doğru sözcüğü yazınız.

3. Damıtma aşaması, yaş yakma işlemi tamamlanan numunenin damıtma ünitesinde ilave edilip kaynatıldığı aşamadır.
4. Damıtma aşamasında numunedeki azot, halinde damıtılıp ayrılır.
5. Ham protein tayininde damıtma işleminin sonunda erlende biriken destilat renk alır.

Aşağıdaki cümlelerin başında boş bırakılan parantezlere, cümlelerde verilen bilgiler doğru ise D, yanlış ise Y yazınız.

6. Yaş yakma işlemi tamamlanan tüplerin çok soğuyup içeriğin kristalleşmemesine dikkat edilmelidir. ()
7. Damıtma esnasında destilatın damladığı hortumun ucu mutlaka sodyum hidroksit çözeltisinin içinde olmalıdır. ()

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise bir sonraki öğrenme faaliyetine geçiniz.

ÖĞRENME FAALİYETİ-3

ÖĞRENME KAZANIMI

Gerekli ortam sağlandığında, 27.12.2011 tarih ve 28155 sayılı Resmî Gazete’de yayınlanan Yem Mevzuatı kriterlerine uygun olarak yemlerde üre tayini yapabileceksiniz.

ARAŞTIRMA

- Yemlerde üre tayininin yapılışını araştırınız.
- Yemlerde üre tayininde kullanılan araç gereçleri araştırınız.
- Çevrenizde bulunan yem analiz laboratuvarlarını ziyaret ederek yemlerde üre tayininin yapılışını gözlemleyiniz.

3. YEMLERDE ÜRE TAYİNİ

3.1. Yemlerde Protein Olmayan Azotlu Bileşikler

Bazı hayvanların beslenmesinde rasyonlarda protein kaynağı olarak protein yapısında olmayan çeşitli nitrojenli maddeler (NPN) kullanılabilir. Bunlar aminler, amidler, nitratlar, üre vb azotlu bileşikler. Bu maddelerden en yaygın olarak kullanılanı üredir. Fiyatının ucuz olması ve 100 g ürenin yaklaşık 290 g proteine eşdeğer azot içermesi nedeniyle ruminantlar için üretilen karma yemlere ilave edilebilir. Bunlar geviş getiren hayvanlar dışında çok fazla değerlendirilemezler.

Ürenin ruminant beslenmesinde kullanımında belirli kurallara uyulma zorunluluğu vardır. Bu kurallara uyulmadığı takdirde hayvanlarda ciddi metabolik rahatsızlıklar ve hatta ölümler görülebilir. Özellikle üre zehirlenmesine sebep olmamak için rasyona katılacak üre miktarının rasyon azot düzeyinin 1/3'ünden fazla olmamasına ve üreli yemin hayvanlara her öğünde az miktarda verilerek gün içerisinde 3-4 öğün yemleme yapılmasına özen göstermek gerekir.

3.2. Yemlerde Üre Tayini

Yemlerde üre varlığı var-yok testiyle kalitatif olarak belirlenebilir yada kantitatif olarak miktarı bulunabilir. Burada kantitatif üre tayini anlatılacaktır.

Kantitatif üre tayininde numune berraklaştırıcı maddelerle ve su ile çalkalanarak süspansiyon haline getirilir ve süzülür. Elde edilen süzüntüye dimetilaminobenzaldehit (DMAB) ilave edilerek spektrofotometrede 420 nm dalga boyunda absorbans değeri ölçülüp üre miktarı belirlenir.

3.2.1. Kullanılan Araç Gereçler

Yemlerde üre tayini yapılırken aşağıdaki araç gereçler kullanılmaktadır:

- | | |
|--------------------|--------------------|
| ➤ Hassas terazi | ➤ Spatül |
| ➤ Spektrofotometre | ➤ Tartım kayıkçığı |
| ➤ Çalkalayıcı | ➤ Mezür |
| ➤ Balonjoje | ➤ Filtre kâğıdı |
| ➤ Deney tüpü | ➤ Huni |
| ➤ Pipet | ➤ Erlen |

3.2.2. Kullanılan Kimyasallar ve Çözeltiler

Yemlerde üre tayini yapılırken aşağıdaki kimyasal ve çözeltiler kullanılmaktadır:

- **Carez I:** 21,9 g çinko asetat ($Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$) bir miktar saf su ile çözündürülür ve üzerine 3 ml buzlu asetik asit (CH_3COOH) ilave edilip saf su ile 100 ml'ye tamamlanır.
- **Carez II:** 10,6 g potasyumferrosiyandır ($K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$) saf su ile çözündürülüp 100 ml'ye tamamlanır.
- **Aktif kömür:** Üre absorbe etmeyen
- **Dimetil amino benzaldehit çözeltisi (DMAB):** 1,6 g 4-dimetil amino benzaldehit 100 ml % 96'lık etil alkol ile çözündürülüp üzerine 10 ml derişik HCl eklenir.
- **Fosfat tampon çözeltisi (pH 7,0):** Potasyum dihidrojen fosfat ve dipotasyum hidrojen fosfat çözeltilerinden 100'er ml alınarak 1000 ml'lik ölçülü balona aktarılır, çizgisine saf su ile tamamlanır. Hazırlanan bu çözeltinin pH'ı 7,00'm altında ise dipotasyum hidrojen fosfat çözeltisi, pH 7,00'm üstünde ise potasyum dihidrojen fosfat çözeltisi ile pH 7,00'a ayarlanır.
 - **Potasyum dihidrojen fosfat çözeltisi:** 3,403 g potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4) 100 ml'lik balonjojeye aktarılıp saf su ile çözündürülerek çizgisine tamamlanır.
 - **Dipotasyum hidrojen fosfat çözeltisi** 4,355 g dipotasyum hidrojen fosfat (K_2HPO_4) 100 ml'lik balonjojeye aktarılıp saf su ile çözündürülerek çizgisine tamamlanır.
- **Stok üre çözeltisi (5mg/ml):** 5 g üre saf su ile çözündürülüp 1000 ml'ye tamamlanır. Hazırlanan bu çözeltinin her 1 ml'si 5 mg üre içerir.

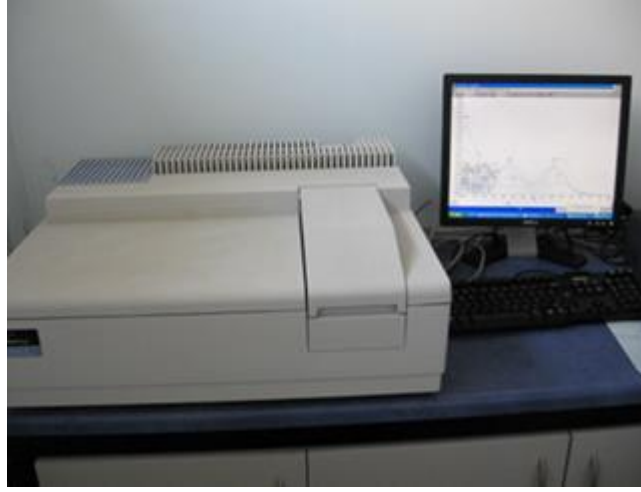
3.2.3. Analizin Yapılışı

Öğütülmüş yem numunesinden 1 g tartılır ve 500 ml'lik bir balonjojeye aktarılır. 1 g aktif kömür tartılarak balonjojeye eklenir. Üzerine yaklaşık 250 ml saf su konulduktan sonra, 5 ml Carez I ve 5 ml Carez II çözeltisi eklenir. Balonjoje çalkalayıcıya yerleştirilip 30 dakika süreyle çalkanır. Balonjoje çalkalayıcıdan alınıp saf su ile çizgisine tamamlanarak alt üst edilerek karıştırılır. Tortu çöküp berrak bir çözelti elde edilene dek beklenir. Berrak kısım filtre kâğıdından süzülür.

Numune konulmadan 1 g aktif kömür tartılıp 500 ml'lik balonjojeye aktarılarak numunede yapılan işlemler aynen uygulanıp şahit çözelti hazırlanır.

Daha sonra standart üre çözeltisi serisi hazırlanır. (Stok üre çözeltisinden sırasıyla 0,8, 2, 4, 6 ve 8 ml alınarak üzeri yazılı 100 ml'lik balonjölere aktarılır. Balonjöleler hacim çizgisine kadar fosfat tampon çözeltisi ile tamamlanır. Hazırlanan bu çözeltiler sırasıyla 40, 100, 200,300 ve 400 mg/litre üre içerir.)

Numune çözeltisi, şahit çözelti ve standart üre çözeltisi serisi hazırlandıktan sonra yeterli sayıda deney tüpü alınıp birincisine 5 ml numune çözeltisi, ikincisine 5 ml kör çözelti diğerlerine de sırasıyla 5'er ml standart çözelti serisinden konulur ve her deney tüpünün üzeri yazılır. Daha sonra her bir deney tüpüne 5'er ml dimetilaminobenzaldehit çözeltisi eklenir. Kör çözelti için ise deney tüpüne pipet yardımıyla 5 ml fosfat tampon çözeltisi konulur ve üzerine 5 ml DMAB çözeltisi ilave edilir. Tüpler iyice karıştırılır ve 25°C'deki su banyosunda 10 dakika bekletildikten sonra spektrofotometrede ölçüm yapılır.



Resim 3.1: Spektrofotometre

Çözeltiler hazırlanırken spektrofotometre de çalıştırılarak 15-20 dakika ısınması beklenir. Dalga boyu üre ölçümü için 420 nm'ye ayarlanır. Kör çözelti ile spektrofotometrenin sıfır ayarı yapılır. Daha sonra standart üre çözeltisi serilerinin, numune çözeltisinin ve şahit çözeltinin okuması yapılır. Kalibrasyon eğrisi oluşturulur. Numunede okunan absorbanstan şahit çözeltide okunan absorban çıkarılıp kalibrasyon eğrisinden yararlanarak numune çözeltisinin üre konsantrasyonu belirlenir.

Numune çözeltisinin üre konsantrasyonu belirlendikten sonra formül yardımıyla numunenin % üre miktarı hesaplanır.

$$\text{Üre (\%)} = C \times \frac{SK}{m \times 1000}$$

C = Numune çözeltisinin üre konsantrasyonu,



m = Numune miktarı,



SK = Seyreltme katsayısı (500)

UYGULAMA FAALİYETİ

Aşağıdaki işlem basamaklarını ve önerileri dikkate alarak karma yemlerde üre tayini yapınız.

Uygulamada kullanılan kimyasallar ve araç gereçler: Spektrofotometre, hassas terazi, su banyosu, spatül, tartım kayıkçığı, balonjoje, mezür, pipet, çalkalayıcı, erlen, filtre kâğıdı, huni, deney tüpü, carez I-II çözeltileri, aktif kömür, dimetilaminobenzaldehit, fosfat tampon çözeltisi, üre çözeltisi, yem numunesi

İşlem Basamakları	Öneriler
<ul style="list-style-type: none">➤ Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Laboratuvar önlüğünüzü giyiniz.➤ Laboratuvar güvenlik kurallarına uyunuz.➤ Çalışma ortamınızı ve kullanacağınız araç gereçleri hazırlayınız.
<ul style="list-style-type: none">➤ Yem numunesini analize hazırlayınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Yem numunesini analize hazırlama kurallarına uyunuz.
<ul style="list-style-type: none">➤ 1 g analiz numunesi tartınız➤ Numuneyi 500 ml'lik balonjojeye aktarınız➤ 1 g aktif kömür tartıp balonjojeye aktarınız 	<ul style="list-style-type: none">➤ Tartım kabı kullanınız.
<ul style="list-style-type: none">➤ Üzerine 250 ml saf su, 5 ml Carez I ve 5 ml Carez II çözeltisi ekleyiniz	<ul style="list-style-type: none">➤ Suyun bir kısmı ile numune ve kömür tozunu ıslattıktan sonra tamamını aktarınız.
<ul style="list-style-type: none">➤ Karışımı yarım saat çalkalayınız 	<ul style="list-style-type: none">➤ Balon jojeyi çalkalayıcıya devrilmeyecek şekilde tutturunuz.

<ul style="list-style-type: none"> ➤ Karışımı saf su ile çizgisine tamamlayınız ➤ Kapağını kapatıp balonjojeyi alt üst ederek karışmasını sağlayınız 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Hacim çizgisini geçirmemeye dikkat ediniz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Tortu çöküp berrak kısım elde edilinceye kadar bekletiniz ➤ Berrak kısmı filtre kâğıdından süzünüz 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Çözeltinin filtre kâğıdından taşmamasına dikkat ediniz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Numune kullanmadan aynı işlemleri tekrarlayarak şahit çözelti hazırlayınız 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Numune çözeltisinde uygulanan işlem basamaklarını takip ediniz.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Standart üre çözeltisi serileri hazırlayınız 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Metotta belirtilen konsantrasyonlarda çözelti serisi hazırlayınız.
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Numune çözeltisinden, şahit çözeltiden, fosfat tampon çözeltisinden (kör çözelti) ve standart çözeltilerden 5'er ml alıp deney tüplerine aktarınız 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Deney tüplerinin üzerini yazmayı unutmayınız.

<p>➤ Her bir deney tüpüne 5'er ml 4-di metil amino benzaldehit çözeltisi ekleyip karıştırınız</p> 	<p>➤ Seri bir şekilde çalışarak bütün tüpleri en kısa süre içerisinde tamamlayınız. Dimetil amino benzaldehit çözeltisi eklendikten sonra geçen sürenin sonucu etkileyeceğini unutmayınız.</p>
<p>➤ Deney tüplerini 25°C sıcaklıktaki su banyosunda 10 dakika bekletiniz</p>	<p>➤ Sıcaklığı ve süreyi tam uygulayınız</p>
<p>➤ Spektrofotometrede 420 nm dalga boyunda ölçüm yapınız</p> 	<p>➤ Spektrofotometre çalışma kurallarına uyunuz ➤ Spektrofotometrenin sıfır ayarını fosfat tampon çözeltisi ile hazırladığınız kör çözelti ile yapınız</p>
<p>➤ Kalibrasyon eğrisini oluşturunuz ➤ Numune çözeltisinin üre konsantrasyonunu tespit ediniz.</p>	<p>➤ Kalibrasyon eğrisi çizme ve kalibrasyon eğrisini kullanma kurallarına uyunuz.</p>
<p>➤ Numunenin % üre miktarını hesaplayınız.</p>	<p>➤ % Üre formülünü kullanınız</p>

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki soruları dikkatlice okuyarak doğru seçeneği işaretleyiniz.

1. Aşağıdakilerden hangisi yemlerde üre tayininde kullanılan araç gereçlerden değildir?
A) pH metre
B) Hassas terazi
C) Spektrofotometre
D) Çalkalayıcı
2. Aşağıdakilerden hangisi yemlerde üre tayininde kullanılan çözeltilerden değildir?
A) Fosfat tampon çözeltisi
B) Stok üre çözeltisi
C) Vanadyum molibdat çözeltisi
D) Carrez-I ve Carrez-II çözeltileri

Aşağıdaki cümleleri dikkatlice okuyarak boş bırakılan yerlere doğru sözcüğü yazınız.

3. Yemlerde üre tayininde renk oluşumu için deney tüplerine en son 5 ml
..... çözeltisi ilave edilir.
4. 100 g üre yaklaşık g proteine eşdeğer azot içermektedir.
5. Yemlerde üre tayininde çözeltiler hazırlanıp spektrofotometre cihazında nm dalga boyunda ölçümleri yapılır.

Aşağıdaki cümlelerin başında boş bırakılan parantezlere, cümlelerde verilen bilgiler doğru ise D, yanlış ise Y yazınız.

6. Yemlerde üre tayininde numune çözeltisi hazırlandıktan sonra iyice çalkalanıp filtre kâğıdından süzülür. ()
7. Yemlerde üre tayininde hazırlanan çözeltiler 25°C'deki su banyosunda 10 dakika bekletildikten sonra spektrofotometrede ölçüm yapılır. ()

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise bir sonraki öğrenme faaliyetine geçiniz.

ÖĞRENME FAALİYETİ-4

ÖĞRENME KAZANIMI

Gerekli ortam sağlandığında, 21.01.1992 tarih ve 21118 sayılı Resmî Gazete’de yayınlanan Yem Mevzuatı kriterlerine uygun olarak yemlerde üreaz aktivitesi tayini yapabileceksiniz.

ARAŞTIRMA

- Yemlerde üreaz aktivitesi tayininin yapılışını araştırınız.
- Yemlerde üreaz aktivitesi tayininde kullanılan araç gereçleri araştırınız.
- Çevrenizde bulunan yem analiz laboratuvarlarını ziyaret ederek yemlerde üreaz aktivitesi tayininin yapılışını gözlemleyiniz.

4. YEMLERDE ÜREAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ

4.1. Yemlerde Üreaz Aktivitesi Tayinin Önemi

Yemlerin bünyesinde bulunan üreaz aktivitesinin saptanması hayvan besleme açısından oldukça önemlidir. Üreaz aktivitesi yüksek olan yemlerin tüketilmesi hayvanların proteinden yararlanmasını düşürmektedir. Ülkemizde özellikle soya kullanılan karma yemlerde üreaz aktivitesi analizleri sıklıkla yapılmaktadır.

4.2. Yemlerde Üreaz Aktivitesi Tayini

Yemlerde üreaz aktivitesi var-yok testiyle kalitatif olarak belirlenir yada kantitatif olarak miktarı bulunabilir. Burada kantitatif üreaz aktivitesi tayini anlatılacaktır.

Kantitatif üreaz aktivitesi tayini, numunede bulunan üreaz enziminin tamponlu üre çözeltilisinden serbest hale getirdiği amonyağın titrasyonla saptanması ve böylece üreaz aktivitesinin belirlenmesi esasına dayanır.

4.2.1. Kullanılan Araç Gereçler

Yemlerde üreaz aktivitesi tayini yapılırken aşağıdaki araç gereçler kullanılmaktadır:

- | | |
|------------------------|--------------|
| ➤ Hassas terazi | ➤ Deney tüpü |
| ➤ Manyetik karıştırıcı | ➤ Beher |
| ➤ pH metre | ➤ Büret |
| ➤ Su banyosu | ➤ Pipet |
| ➤ Tartım kayıkçığı | |

4.2.2. Kullanılan Kimyasallar ve Çözeltiler

Üreaz aktivitesi tayininde aşağıdaki kimyasal ve çözeltiler kullanılmaktadır:

- **0,1 N Hidroklorik asit çözeltisi:** Litrelük balon jöjeye bir miktar saf su konup üzerine 8,29 ml HCl (% 37'lik 1,19 d) eklenir ve saf su ile çizgisine tamamlanır.
- **0,1 N Sodyum hidroksit çözeltisi:** Bir erlende 4 g NaOH saf su ile çözümlürölüp litrelük balonjöjeye aktarılarak saf su ile çizgisine tamamlanır.
- **%0.1'lik Metil oranj indikatörü:** 0,1g metil oranj 100 ml saf suda çözümlürölür.
- **0.05 N Fosfat tampon çözeltisi:** 8.95g disodyum hidrojen fosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) ve 6.80 g potasyum hidrojen fosfat (KH_2PO_4) bir miktar saf su ile çözümlürölüp son hacim 1 litreye tamamlanır.
- **Tamponlu üre çözeltisi:** 30 g üre, 1 litre 0.05 N fosfat tamponu içerisinde çözümlürölür.

4.2.3. Analizin Yapılışı

Öncelikle 100 g yem numunesi 1 mm'lik elekten geçecek şekilde öğütülür. Öğütülen bu numuneden 10 g alınarak kahve değirmeni ile tekrar 0.2 mm'ye kadar öğütülür.

0.2 mm'ye öğütölmüş numuneden 0.05 g tartılarak ağız tıraşlı deney tüpüne aktarılır. Üzerine 10 ml tamponlu üre çözeltisi konulur. Tüpün ağızı kapatılarak kuvvetlice çalkalanır. Çalkalama işlemi sonrası tüp 30°C'ye ayarlanmış su banyosuna yerleştirilip 30 dakika bekletilir. Bu süre sonunda su banyosundan alınan tüpe 10 ml 0.1 N HCl çözeltisi eklenir. Bekletilmeden çeşme suyu altında hızlı bir şekilde oda sıcaklığına kadar soğutulur. Soğuyan karışım behere aktarılır. Deney tüpü 2 kere 5'er ml saf su ile yıkanarak behere eklenir. Beherin içerisine balık atılıp manyetik karıştırıcının üzerine yerleştirilir. Karışıma 2-3 damla metil oranj indikatörü eklenir. pH metre elektrodu karışımın içerisine daldırılır ve pH 4.7 oluncaya kadar 0.1 N NaOH çözeltisi ile titre edilir. Harcanan NaOH çözeltisi miktarı kaydedilir (V_1)



Resim 4.1: Titrasyon düzeneğı

Şahit deneme için deney tüpüne 10 ml tamponlu üre çözeltisi ve 10 ml 0.1 N HCl çözeltisi eklenir. Üzerine 0.05 g ince öğütülmüş soya veya soya küspesi ilave edilerek kapağı kapatılıp alt üst edilerek iyice karıştırılır. Tüp bu sefer yarım saat buzlu suda bekletilir. Bu sürenin sonunda karışım behere aktarılır. Deney tüpü 2 kere 5'er ml saf su ile yıkanarak behere eklenir. Karışım numunede olduğu gibi titre edilerek harcanan NaOH çözeltisi miktarı kaydedilir (V₂).

Harcanan her 1 ml 0.1 N NaOH 1.4 mg N'a eşdeğerdir.

Aşağıdaki formül yardımıyla üreaz aktivitesi hesaplanır ve mg N/g/dakika 30° C olarak ifade edilir.

$$\text{Üreaz Aktivitesi} = \frac{1.4 \times (V_2 - V_1)}{m \times 30}$$

V₁ = Örnek için harcanan ayarlı NaOH çözeltisinin hacmi, ml



V₂ = Şahit deneme için harcanan ayarlı NaOH çözeltisinin hacmi, ml



m = Alınan numune miktarı g



UYGULAMA FAALİYETİ

Aşağıdaki işlem basamaklarını ve önerileri dikkate alarak karma yemlerde üreaz aktivitesi tayini yapınız.

Uygulamada kullanılan kimyasallar ve araç gereçler: Hassas terazi, manyetik karıştırıcı, pH metre, su banyosu, deney tüpü, beher, büret, pipet, tartım kayıkçığı, hidroklorik asit, sodyum hidroksit, metil oranj indikatörü, fosfat tampon çözeltisi, tamponlu üre çözeltisi, yem numunesi

İşlem Basamakları	Öneriler
<ul style="list-style-type: none">➤ Analiz öncesi hazırlıkları yapınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Laboratuvar önlüğünüzü giyiniz.➤ Laboratuvar güvenlik kurallarına uyunuz.➤ Çalışma ortamınızı ve kullanacağınız araç gereçleri hazırlayınız.
<ul style="list-style-type: none">➤ Yem numunesini analize hazırlayınız.	<ul style="list-style-type: none">➤ Yem numunesini analize hazırlama kurallarına uyunuz.
<ul style="list-style-type: none">➤ 0,05 g analiz numunesi tartınız➤ Numuneyi deney tüpüne aktarınız 	<ul style="list-style-type: none">➤ Tartım kabı kullanınız.➤ Ağız tıraşlı deney tüpü kullanınız
<ul style="list-style-type: none">➤ Üzerine 10 ml tamponlu üre çözeltisi ekleyiniz	<ul style="list-style-type: none">➤ Pipet kullanınız
<ul style="list-style-type: none">➤ Tüpün ağzını kapatarak kuvvetlice çalkalayınız 	<ul style="list-style-type: none">➤ Tıpanın sızdırmayacak şekilde kapandığından emin olunuz.

<p>➤ Deney tüpünü 30°C'deki su banyosuna yerleştirip 30 dakika bekletiniz</p> 	<p>➤ Sıcaklık ve süre ayarlarının doğruluğundan emin olunuz.</p>
<p>➤ Tüpü su banyosundan alıp üzerine 10 ml 0,1 N HCl ilave ediniz.</p>	<p>➤ Pipet kullanınız</p>
<p>➤ Deney tüpünü hemen çeşme suyu altında oda sıcaklığına kadar soğutunuz</p> 	<p>➤ Soğutma işlemini geciktirmeden hemen yapmaya özen gösteriniz</p>
<p>➤ Karışımı behere aktarınız ➤ Deney tüpünü 2 kere 5're ml saf su ile yıkayarak behere aktarınız ➤ Karışıma 2-3 damla metil oranj indikatörü damlatınız</p>	<p>➤ 100-150 ml'lik beher kullanınız. ➤ Deney tüpünün iyice yıkanmasına özen gösteriniz</p>
<p>➤ Beheri manyetik karıştırıcıya yerleştirip içine balık atınız ➤ pH metreyi çalıştırıp, elektrodunu karışımın içerisine daldırınız ➤ pH 4.7 oluncaya kadar 0.1 N NaOH çözeltisi ile titre ediniz ➤ Titrasyonda harcanan NaOH miktarını kaydediniz.</p>	<p>➤ pH tam 4,7 olunca titrasyonu sonlandırmayı unutmayınız ➤ Titrasyon kurallarına dikkat ediniz</p>

<ul style="list-style-type: none"> ➤ Şahit deneme için deney tüpüne 10 ml tamponlu üre çözeltisi koyunuz ➤ Üzerine 10 ml 0.1 N HCl çözeltisi ilave ediniz 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Ağzı tıraşlı deney tüpü kullanınız ➤ Pipet kullanınız
<ul style="list-style-type: none"> ➤ 0.05 g öğütülmüş soya küspesi tartıp deney tüpüne aktarınız 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Tartım kabı kullanınız ➤ Deney tüpünü alt üst edip iyice karışmasını sağlamayı unutmayınız
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Tüpü yarım saat buzlu suda bekletiniz 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Yeterli süre bekletmeye özen gösteriniz
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Karışımı behere aktarınız ➤ Deney tüpünü 2 kere 5'er ml saf su ile yıkayarak behere aktarınız 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ 100-150 ml'lik beher kullanınız. ➤ Deney tüpünün iyice yıkanmasına özen gösteriniz
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Karışımı numunede olduğu gibi titre ediniz 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Titrasyon kurallarına dikkat ediniz
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Üreaz aktivitesini hesaplayınız 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Formül kullanınız

ÖLÇME VE DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki soruları dikkatlice okuyarak doğru seçeneği işaretleyiniz.

1. Aşağıdakilerden hangisi yemlerde üreaz aktivitesi tayininde kullanılan araç gereçlerden değildir?
A) Su banyosu
B) Bunzen beki
C) Manyetik karıştırıcı
D) pH metre
2. Aşağıdakilerden hangisi yemlerde üreaz aktivitesi tayininde kullanılan çözeltilerden değildir?
A) Carrez-I ve Carrez-II çözeltileri
B) Hidroklorik asit çözeltisi
C) Fosfat tampon çözeltisi
D) Tamponlu üre çözeltisi,

Aşağıdaki cümleleri dikkatlice okuyarak boş bırakılan yerlere doğru sözcüğü yazınız.

3. Yemlerde üreaz aktivitesi tayininde titrasyonda 0.1 normal çözeltisi ile titre edilir.
4. Yemlerde üreaz aktivitesi tayininde indikatör olarak kullanılır.
5. Yemlerde üreaz aktivitesi tayininde pH olunca titrasyon sonlandırılır.

Aşağıdaki cümlelerin başında boş bırakılan parantezlere, cümlelerde verilen bilgiler doğru ise D, yanlış ise Y yazınız.

6. Üreaz aktivitesi yüksek olan yemlerin tüketilmesi hayvanların proteinden yararlanmasını düşürmektedir. ()
7. Üreaz aktivitesi tayininde numunenin analizinde deney tüpü 30°C'ye ayarlanmış su banyosunda 10 dakika bekletilir. ()

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise “Modül Değerlendirme”ye geçiniz.

MODÜL DEĞERLENDİRME

Aşağıdaki soruları dikkatlice okuyarak doğru seçeneği işaretleyiniz.

1. Yemlerde ham protein tayininde yağ yakma işleminde ön yakma sıcaklığı ve süresi aşağıdaki seçeneklerin hangisinde doğru verilmiştir?
A) 220 °C de 15-20 dakika
B) 220 °C de 45-60 dakika
C) 420 °C de 15-20 dakika
D) 420 °C de 45-60 dakika
2. Yemlerde ham protein tayininde yağ yakma esnasında köpürme olmaması için aşağıdakilerden hangisi yapılmalıdır?
A) Katalizör tablet kullanılmalı
B) Ön yakma yapılmalı
C) Cihaza konulmadan önce tüp iyice çalkalanmalı
D) Asit tahliye sistemi takılmalı
3. Yemlerde ham protein tayininde azot, sırasıyla hangi bileşiklere dönüşür?
A) Amonyumsülfat-Amonyumborat-Amonyak
B) Amonyak-Amonyumsülfat-Amonyumborat
C) Amonyumsülfat-Amonyak-Amonyumborat
D) Amonyumborat-Amonyumsülfat-Amonyak
4. Ham protein tayininde damıtmada işleminde açığa çıkan amonyak hangi çözelti içerisinde biriktirilir?
A) Sodyum hidroksit çözeltisi
B) Sülfürik asit çözeltisi
C) Hidroklorik asit çözeltisi
D) Borik asit çözeltisi
5. Yemlerde ham protein tayininde destilat aşağıdaki çözeltilerden hangisi ile titre edilir?
A) 0,1 N Sodyum hidroksit
B) 0,1 N Hidroklorik asit
C) 0,1 N Borik asit
D) 0,5 N Sodyum hidroksit
6. Yemlerde ham protein tayininde kullanılan indikatör hangisidir?
A) Tashiri indikatörü
B) Fenolftalein
C) Potasyum kromat
D) Metil oranj

Aşağıdaki cümleleri dikkatlice okuyarak boş bırakılan yerlere doğru sözcüğü yazınız.

7. Kjeldahl yöntemiyle ham protein tayininin temel amacı yemlerdeki serbest azotun iyonuna çevrilip miktarının belirlenmesidir.
8. Kjeldahl yöntemiyle ham protein tayininde numune öncelikle derişik sülfürik asit ile işlemine tabi tutulur
9. Kjeldahl yöntemiyle protein tayininde, protein halinde bulunmayan diğer azotlu bileşikler de protein gibi belirlendiğinden bu yöntem protein tayini olarak adlandırılır.
10. Damıtma aşamasında ayrılan amonyak ayarlı bir asit çözeltisi içerisinde halinde tutulur.
11. Destilasyon işleminde yaklaşık ml destilat birikince işlem tamamlanır.
12. Ham protein tayininde destilat, renk oluşana kadar titre edilir.
13. Yemlerde üreaz aktivitesi tayininde şahit denemede deney tüpü içerisinde 30 dakika bekletilir.

Aşağıdaki cümlelerin başında boş bırakılan parantezlere, cümlelerde verilen bilgiler doğru ise D, yanlış ise Y yazınız.

14. ()Kjeldahl damıtma ünitesi mutlaka çeker ocak içinde çalıştırılmalıdır.
15. ()Yaş yakma işleminde sülfürik asit eklenirken tüpün iç yüzeyine yapışıp kalan numune parçalarının yıkanması için numune iyice çalkalanmalıdır.
16. ()Yaş yakma işleminde karışım önce siyah sonra kahverengiye döner sonuna ise sarı ile parlak yeşil arası bir renk alır.
17. ()Ham protein tayininde titrasyon aşamasında destilat titre edilip nötrleşmeyen fazla asit miktarı belirlenerek azot miktarı, bundan da protein miktarı hesaplanır.
18. ()Üreaz aktivitesi tayininde hidroklorik asit çözeltisi eklenen numune bekletilmeden çeşme suyu altında hızlı bir şekilde oda sıcaklığına kadar soğutulur.

DEĞERLENDİRME

Cevaplarınızı cevap anahtarıyla karşılaştırınız. Yanlış cevap verdiğiniz ya da cevap verirken tereddüt ettiğiniz sorularla ilgili konuları faaliyete geri dönerek tekrarlayınız. Cevaplarınızın tümü doğru ise bir sonraki modüle geçmek için öğretmeninize başvurunuz.

CEVAP ANAHTARLARI

ÖĞRENME FAALİYETİ-1'İN CEVAP ANAHTARI

1.	A
2.	D
3.	Kjeldahl
4.	Amonyum sülfat
5.	Asit tahliyesi
6.	D
7.	Y

ÖĞRENME FAALİYETİ-2'NİN CEVAP ANAHTARI

1.	D
2.	B
3.	Sodyum hidroksit
4.	Amonyak
5.	Yeşil
6.	D
7.	Y

ÖĞRENME FAALİYETİ-3'ÜN CEVAP ANAHTARI

1.	A
2.	C
3.	Dimetil amino benzaldehit
4.	290
5.	420
6.	Y
7.	D

ÖĞRENME FAALİYETİ-4'ÜN CEVAP ANAHTARI

1.	B
2.	A
3.	Sodyum hidroksit
4.	Metil oranj
5.	4,7
6.	D
7.	Y

MODÜL DEĞERLENDİRMEİNİN CEVAP ANAHTARI

1.	A
2.	B
3.	C
4.	D
5.	B
6.	A
7.	Amonyum
8.	Yaş yakma
9.	Ham
10.	Amonyum borat
11.	150
12.	Menekşe
13.	Buzlu su
14.	Y
15.	Y
16.	D
17.	D
18.	D

KAYNAKÇA

- AKSOY Ayhan, Sümer HAŞİMOĞLU, Ahmet ÇAKIR, Nihat ÖZEN, **Yemler Bilgisi ve Yem Teknolojisi**, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Erzurum, 1999.
- AKYILDIZ Remzi, **Yemler Bilgisi Laboratuvar Kılavuzu**, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Ankara, 1984.
- BULGURLU Şükrü, **Yem Analiz ve Muayene Metodları**, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi, İzmir, 1967.
- KARABULUT Ali, Önder CANBOLAT, **Yem Değerlendirme ve Analiz Yöntemleri**, Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bursa, 2005.
- SARIÇİÇEK Zehra, **Yemler Bilgisi Laboratuvar Kılavuzu**, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Samsun, 2000.
- KUTLU Hasan Rüştü, Murat GÖRGÜLÜ, Ladine Baykal ÇELİK, **Genel Hayvan Besleme Ders Notu**, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Adana, 2005.
- TÜRKMEN İ. İsmet, **Temel Yem Bilgisi ve Hayvan Besleme**, Anadolu Üniversitesi, Eskişehir, 2011.
- **Yem Kanunu**, 7/6/1973 tarih ve 14557 sayılı Resmî Gazete.
- www.kimyaevi.org