

Elmanın Sakaroz ve Glukoz İçeriğinin Biyokimyasal Analizör Kullanılarak Bir Arada Belirlenmesi

Yasemin Gündüz¹, E. Aytunga Arık^{2*}, Ferhunde Us²

¹ Hacettepe Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü'nde çalışmıştır.

² Hacettepe Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Beytepe, Ankara

* aytunga@hacettepe.edu.tr

Özet

Bu çalışmada, elmanın glukoz ve sakaroz içeriklerinin biyokimyasal analizör kullanılarak belirlendiği bir yöntem önerilmiştir. Yöntemde glukoz içeriği doğrudan biyokimyasal analizör kullanılarak sakaroz içeriği ise, invertazın katalizlediği indirgenme reaksiyonu ile açığa çıkan glukoz miktarından yararlanılarak ölçülmüştür. Glukoz içeriğinin % (-0.37)-(-4.00) bağıl hata ile belirlenebileceği varyasyon katsayısının % 0.34-1.19, yönteme ait standart sapmanın ise 0.008 olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Glukoz, sakaroz, inversiyon, biyokimya analizörü, elma.

Giriş

Şeker tayininde en sık kullanılan yöntemler, Luff-Schroorl, Lane-Eynon, (1, 2) ve enzimatik yöntemlerdir (3). Luff-Schroorl ve Lane-Eynon Yöntemlerinde pahalı ve toksik kimyasallar kullanılmakta ve analiz uzun zaman almaktadır. Enzimatik yöntemler ise diğerleri ile karşılaştırıldığında, çok daha spesifik ancak pahalı yöntemler olarak değerlendirilmektedir.

Literatürde, gıdalardaki glukoz ve sakarozun tayininde biosensörlerin kullanıldığı pek çok çalışma mevcuttur (4). Biosensörler pek çok avantajları nedeniyle geleneksel yöntemlere tercih edilebilir. Ayrıca bu yöntemde örnek hazırlama daha az işlem basamağı içerdiği için daha kolaydır ve birkaç mililitre örnek, analiz için yeterli olmaktadır. Yöntem dispers parçacıkların varlığından veya renkten etkilenmediği için, santrifüjleme, saflaştırılma veya filtrasyon gerekmemekte, örnek doğrudan seyreltilerek analize alınabilmektedir. Bu kısa araştırmanın temel amacı, biyokimyasal analizör kullanılarak, elmalardaki glukoz ve sakaroz içeriğinin bir arada belirlenebildiği bir yöntem sunmaktır.

Materyal ve Yöntem

Çalışmada kullanılan tüm kimyasallar Merck, invertaz enzimi (Katalog no I-9253) Sigma Firmalarından sağlanmıştır. Asetat tamponu (pH 4,5), 0,04 M NaOH çözeltisine pH-metre (Jenway, 3010 pH Meter) kontrolünde 0,1 M CH₃COOH eklenerek hazırlanmıştır. Örneklerde glukoz miktar tayini doğrudan

Türkiye 9. Gıda Kongresi; 24-26 Mayıs 2006, Bolu

biyokimyasal analizör (YSI 2700S) kullanılarak yapılmıştır. Sakaroz miktarı, sakarozun glukozu inversiyonunun ardından belirlenmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Glukoz ölçümlerinin doğruluk ve kesinliği

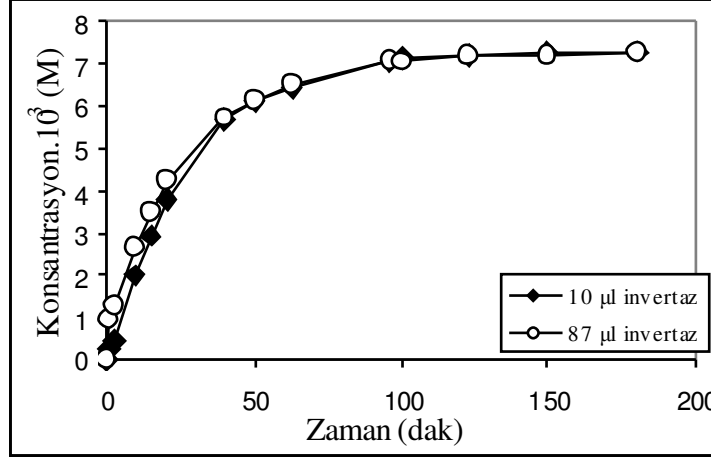
Yöntemin doğruluk ve kesinliğini belirlemek amacıyla, beş farklı derişimde glukoz çözeltileri ($1.049-2.981 \text{ g L}^{-1}$), asetat tamponu kullanılarak hazırlanmış ve önerilen yöntemle göre analiz yapılmıştır. Glukoz ölçümünde mutarotasyon gerekli olduğu için örnekler oda sıcaklığında bekletilmiştir. Her bir örnek için üç tekrar yapılmış ve ortalama % geri kazanım 98 ± 2 olarak bulunmuştur. Glukoz miktarının % $(-0.37)-(-4.00)$ bağıl hata ile belirlenebileceği, yöntemle ait varyasyon katsayısının % $0.34-1.19$ ve yöntemin standart sapmasının 0.008 olduğu bulunmuştur.

İnversiyon zamanının ve invertaz konsantrasyonunu etkisi

İnversiyon süresini ve invertaz konsantrasyonunun reaksiyonun ilerlemesi üzerindeki etkilerini incelemek amacıyla, iki farklı enzim konsantrasyonunda çalışılmıştır. Bu amaçla asetat tamponu kullanılarak standart sakaroz çözeltisi (2.53 g L^{-1}) hazırlanmıştır. Bu çözeltiden 5 mL alınarak üzerine $10 \mu\text{L}$ (0.8 g mL^{-1}) invertaz eklenmiştir. Aynı işlem $87 \mu\text{L}$ invertaz ile de tekrarlanmıştır. Örnekler oda sıcaklığında tutulmuş ve çözeltinin glukoz konsantrasyonundaki değişim zamanın fonksiyonu olarak izlenmiştir (Şekil 1). 180 dakika sonunda sakarozun glukozu dönüşümü her iki enzim konsantrasyonunda da % 98.4 olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak düşük enzim konsantrasyonunun ($10 \mu\text{L}$) analizlerde kullanılmasına ve 180 dakikalık sürenin mutarotasyon analiz için yeterli süre olduğuna karar verilmiştir.

Sakaroz içeren örneklerdeki glukoz varlığının inversiyona etkisi de araştırılmıştır. Bu amaçla 1.42 g L^{-1} glukoz ve 2.06 g L^{-1} sakaroz içeren bir çözelti hazırlanmıştır. İlk önce örnekteki glukoz miktarı ölçülmüş ve ardından bu çözeltiden 5 mL alınarak üzerine invertaz eklenmiştir.

Bu şekilde hazırlanan altı adet örnekte $30-180$ dakikalık süre boyunca, sakaroz miktarı belirlenmiştir. 180 dakika sonunda ulaşılan % dönüşüm değeri 98.1 olarak ölçülmüştür. Bu dönüşüm değeri sadece sakaroz içeren örneklerde ölçülen değere oldukça yakındır. Ulaşılan bu sonuç ise başlangıçta glukoz içeren çözeltilerde mevcut sakarozun aynı anda ölçülebilirliğini göstermektedir.



Şekil1. Glukoz konsantrasyonunun zamanla değişimi

Elma örneklerinde yapılan ölçümler

Ağırlığı belirlenen elmalar (m ; g), parçalandıktan sonra süzülüş ve süzüntünün hacmi ölçülmüştür (V_1). 4 mL süzüntü 100 mL lik bir balonjojeye aktarılmış ve asetat tamponu ile seyreltilmiştir. Daha sonra, glukoz konsantrasyonu (C_1) ölçülmüş ve süzüntünün glukoz konsantrasyonu (GCE; mg mL^{-1}) aşağıdaki gibi hesaplanmıştır:

$$\text{GCE} = 25 \cdot C_1 \quad (1)$$

Sakaroz içeriğini belirlemek amacıyla 1 mL süzüntü alarak, 100 mL ye seyreltilmiş ve 5 mL seyreltik çözeltinin üzerine invertaz eklenmiştir. 180 dakikalık bekleme süresinin ardından toplam glukoz içeriği ölçülmüş (C_2) ve süzüntünün sakaroz içeriği (SCE; mg mL^{-1}) aşağıdaki gibi hesaplanmıştır:

$$\text{SCE} = \frac{342}{180} 25(4C_2 - C_1) \quad (2)$$

Elmaların glukoz ve sakaroz içerikleri ise aşağıdaki şekilde hesaplanmış ve elde edilen sonuçlar Çizelge 1 de sunulmuştur.

$$\% \text{ glukoz} = \frac{\text{GCE} \cdot V_1 \cdot 10^{-3}}{m} 100 \quad (3)$$

$$\% \text{ sakaroz} = \frac{\text{SCE} \cdot V_1 \cdot 10^{-3}}{m} 100 \quad (4)$$

Çizelge 1. Elma ve süzüntülerin glukoz ve sakaroz içerikleri

Elma		Süzüntü	
Glukoz (g/100 g)	Sakaroz (g/100 g)	Glukoz (g L ⁻¹)	Sakaroz (g L ⁻¹)
1.38	1.76	27	34
1.30	1.60	21	26
1.37	1.57	22	25
0.38	1.78	22	29
1.21	1.73	22	31

Sonuç

Yapılan bu çalışma ile elmalardaki glukoz ve sakaroz içeriğinin bir arada belirlenebildiği bir yöntem sunulmuştur. Önerilen yöntemin en önemli avantajları, kesinliği ve tekrar edilebilirliğinin yüksek, örnek hazırlama basamaklarının kısa ve kimyasal madde kullanımının çok az olması şeklinde sıralanabilir. Yapılan çalışmada sunulan yöntem, elma dışında çeşitli meyvelerde de glukoz ve sakaroz miktarının aynı anda belirlenmesi amacıyla kullanılabilir özelliktedir.

Kaynaklar

1. Cemeroglu, B. 1992. *Meyve ve Sebze İşleme Endüstrisinde Temel Analiz Metodları*. Biltav Yayınları, Ankara.
2. Acar, J. 1987. *Meyve ve Sebze Suyu Üretim Teknolojisi*. Hacettepe Üniversitesi Yayınları, 602s, Ankara.
3. Uzman, D. 2003. *Elmanın glukoz, fruktoz, sakaroz çözeltilerinde ve mısır şurubunda ozmotik kurutulması*, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, 174s, Ankara.
4. Jawaheer, S, White, SF, Rughooputh, SDDV, Cullen DC. 2003. Development of a common biosensor format for an enzyme based biosensor array to monitor fruit quality. *Biosensors and Bioelectronics*, 18: 1429-1437.