

DİASTAZ SAYISI TAYİNİ

Prensip:

Belli miktarda bala, konsantrasyonu belli nişasta çözeltisi karıştırılarak sabit sıcaklıkta tutulur. Baldaki diastaz enzimi ile nişasta hidroliz olur. Şartları ve süresi deneyde belirtilen hidroliz olayından geriye kalan hidroliz olmamış nişasta iyot çözeltisi ile renkli bir komplekse dönüştürülür.

Farklı hacimlerde nişasta çözeltileri aynı işleme tabi tutularak, 1g balın tamamen hidroliz edilebildiği nişasta çözeltisi hacmi hesaplanır.

Diasta, hidrolaz grubu enzimlerden olup, α ve β amilazların karışımıdır.

Diastaz enziminin optimum çalışma koşulları; pH 5.2 ve sıcaklık 47°C'dir.

Gerekli Çözeltiler:

-İyot Çözeltisi (0.1 N): 18 g KI, bir miktar saf suda çözüldükten sonra bunun içinde 12.7 g I₂ çözülür.. Hacim saf su ile 1 lt'ye tamamlanır.

-Fosfat-Sitrat Tamponu (pH 5.2): Yeni hazırlanan çözelti pH'sı 5.2'den fazla ise 0.5 N HCl veya 0.5 N NaOH kullanılarak pH 5.2'ye ayarlanmalıdır Çözelti en fazla iki hafta kullanılabilir.

-NaCl Çözeltisi (0.1 N): 2.93 g NaCl az miktar suda çözülerek hacim saf su ile 500 ml'ye tamamlanır.

-Nişasta Çözeltisi: Suda çözünebilir nişastadan 1 g tartılarak, erlende 60 ml saf su ile karıştırılır. Karışım hızla kaynama noktasına kadar ısıtılır. Isıtma sırasında erlen hızla çalkalanır. Isıtma hızı düşürülerek, 3 dakika süre ile kaynatılır. Erlenin ağzı kapatılarak oda sıcaklığında soğutulur ve hacim saf su ile 100 ml'ye tamamlanır.

-Nişasta+Tampon Karışımı: Fosfat-Sitrat tampon çözeltisinin 40 ml'si bir erlende 100 ml nişasta çözeltisi ve 20 ml 0.1 N NaCl çözeltisi ile karıştırılır. Karışım siyah bant süzgeç kağıdından süzülür. Süzüntü, temiz, kuru ve kapaklı bir şişede saklanır. Bu çözelti en fazla iki gün kullanılabilir.

-Bal Çözeltisinin Hazırlanması: Ön ısıtma işlemine tabi tutulmamış 10 g bal, uygun bir beherde 40-50 ml kadar saf suda çözülür ve karışım 100 ml'ye tamamlanır.

İşlem:

Seri halinde dizilmiş deney tüplerine çizelgede verilen miktarlarda bal çözeltisi saf su ve nişasta + tampon karışım konarak bütün tüplerdeki karışım hacimleri 18 ml ' ye tamamlanır. Tüpler karıştırılarak önceden 47 °C' ye ayarlanmış su banyosunda 1 saat bekletilir.

1 saatlik sürenin sonunda, deney tüpleri su banyosundan çıkarılır ve su altında soğutulur. Her bir tüpe 1'er damla 0,1 N iyot çözeltisi damlatılarak karıştırılır.

Tüpler incelenerek mavilik gözlenen ilk tüp sınır olarak alınır. Bundan bir önceki tüpteki nişastanın tamamı iyot ile hiç renk vermeyecek şekilde hidroliz olmuş demektir. Çizelgeden bu tüpe ait diastaz sayısı doğrudan okunur.

Tüp no	Bal çözeltisi (ml)	Saf su (ml)	Nişasta + tampon çöz. (ml)	Toplam hacim (ml)	Diastaz sayısı
1	10,0	0,0	8,0	18,0	5,0
2	7,7	2,3	8,0	18,0	6,5
3	6,0	4,0	8,0	18,0	8,3
4	4,6	5,4	8,0	18,0	10,9
5	3,6	6,6	8,0	18,0	13,9
6	2,8	7,2	8,0	18,0	17,9
7	2,1	7,9	8,0	18,0	23,0
8	1,7	8,3	8,0	18,0	29,4
9	1,3	8,7	8,0	18,0	38,5
10	1,0	9,0	8,0	18,0	50,0

NOT: Diastaz sayısını hassas olarak tayin etmek için tüp sayısı artırılabilir. Bu durumda Çizelgede belirtilen bal ve saf su hacimlerini araya alacak şekilde uygun standartlar hazırlanmalıdır. Bu standartların diastaz sayısı (DS) aşağıdaki formülle hesaplanır:

$$DS = 50/V$$

V: Bal çözeltisinin hacmi (ml)