

AMİLOZ ANALİZİ

ARAÇ VE GEREÇLER

- Beher
- Cam yazar
- Balon joje
- Otomatik pipet
- silindir tüp
- sıcak su banyosu, fritöz yada hot plate
- plastik kap
- küçük huni
- spektrofotometre
- spektro küveti

KİMYASAL ÇÖZELTİLER

- NaOH (Sodyum Hidroksit)
- Asetik Asit
- İyot
- Potasyum İyodür
- Etanol
- Amiloz standardı

KİMYASALLARIN HAZIRLANMASI

1N Sodyum Hidroksit

40.005 g sodyum hidroksit tartılır, saf suda çözdürülür ve 1000 ml ye tamamlanır.

Normalite:1 lt' de maddenin ekivalant cinsinden içeren çözelti (g). Ek (g)= mol.ağır/tesir değeri

1 N Asetik Asit

57.14 ml asetik asit 1000 ml ye tamamlanır.

İyot Çözeltisi

0.2 g iyot ve 2 g potasyum iyodür 100 ml'ye saf su ile tamamlanır.

%95 lik Etanol

Etanol saf olarak kullanılır.

NOTLAR

- 1) Analiz sırasında çift destile su kullanılır.
- 2) Çözeltiler okunmadan önce kör numune ile sıfırlanmalıdır.

KÖR NUMUNE HAZIRLANMASI

1	Öğütülmüş örnek olmadan sadece kimyasallar ile hazırlanır.
2	tüpe 1ml etil alkol 9 ml 1N NaOH ilave edilir 10 dk su banyosunda kaynamaya koyulur. soğuduktan sonra balona alınır. saf su ile 100 ml ye tamamlanır.
3	Bu çözeltiden 5 ml alınıp üzerine 1 ml 1 N asetik asit 2ml iyot çözeltisi ilave edilip saf su ile 100 ml ye tamamlanır, 20 dk bekletilir.
4	Hem örnek okumadan hem de standart numunelerin okunmasından önce spektrofotometre kör numune ile sıfırlanır.

STANDART KURVENİN HAZIRLANMASI

1	40 mg (0,0400 gr) amiloz standartı tartılır ve tüpe aktarılır.
2	1 ml etil alkol ve 9 ml 1 N NaOH ilave edilir.kaynar su banyosunda 10 dk bekletilir ve soğumaya bırakılır.
3	100 ml balon jojeye aktarılır ve saf su ile 100 ml ye kadar tamamlanır. Behere yada karton bardağa aktarılır.
4	Bu çözeltiden pipet ile 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ve 10 ml ayrı ayrı 100 lük balonlara aktarılır.
5	Üzerlerine sırasıyla 0ml 0,2ml- 0,4ml- 0,6ml- 0,8ml- 1ml -1,2ml – 1,4ml- 1,6ml -1,8ml -2,0ml olmak üzere 1 N asetik asit koyulur ve her birine 2ml iyot çözeltisi ilave edilip 100 ml ye tamamlanır ve çalkalanır. 20 dakika bekletilir.
6	Spektro okuma yapmadan 20 dakika önce çalıştırılmalıdır.
7	Aletin hafızasındaki veriler silinir (clear all data), set kısmından dalga boyu 620 nm ye ayarlanır.
8	Örnek spektro küvetine konulur ve dökülür (küvet yıkaması örnekle gerçekleşir) ve tekrar örnek konulur,
9	Küvetlerin kenarları peçete ile kurulanır
10	Küvetlerin düz yüzeylerinden tutulmamasına dikkat edilir
11	Küvetin düz yüzeyinin ışının geldiği tarafta olmasına dikkat edilir.
12	Bu işlemlerden önce aletin kör numune ile sıfırlanması (zero) gereklidir
13	Spektroda 2' şer kere okuma yapılır ve kaydedilir, bunların ortalaması kullanılır
14	Çıkan sonuçlar ile grafik çizilip, eğrinin formülü bulunur.

KURVENİN GRAFIĞİ ÇİZİMİ

1	Bir Excel dosyası açılır ve 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36 ve 40 ppm alt alta yazılır. Karşısına spektrofotometre de okunan değerlerin ortalaması yazılır ve xy dağılımı grafiği seçiler çizilir. Çıkan noktalar üzerine sağ tuş ile eğim çizgisi ekle seçeneği ile grafik denklemini çıkartılır.
2	$Y=a\pm b \cdot X$ şeklindeki formülde, Y (spektroda okunan absorpsiyon değeri) yazılarak X yalnız bırakılır, değer hesaplanır.
3	Çıkarılan bu formüle örnek absorpsiyon değerleri yazılıp, seyreltme yapıldığı için 2 çarpılarak % amiloza ulaşılır.

ANALİZİN YAPILIŞ AŞAMASI

1	0.1 g öğütülmüş (100 mesh lik elekten geçirilmiş) örnek tartılır
2	100 ml' lik tüplere (veya 50 ml erlenlere) tartılan örnekler konur.
3	Üzerine 1 ml % 95 ' lik etanol ve 9 ml 1 N NaOH ilave edilir ve üzeri folyo ile kapatılır.
4	Nişastanın jelatizasyonu için kaynar su banyosunda (fritöz de olur) 10 dk bekletilir.
5	Örneklerin taşmamasına özen gösterilir. Tüplerde taşma olmaması için içerisine cam bilye atılabilir.
6	10 dk sonra soğuk su dolu bir kabın içerisine örnekler soğutulması için konur, sonra folyolar açılır .
7	Soğuyan örnekler 100 ml lik ölçü balonuna huni yardımıyla alınır saf su ile 100 ml ye tamamlanır. Aktarılan tüp ve huni saf su ile yıkanarak 100 ml te tamamlanmasına dikkat edilir .
8	Balon iyice çalkalanır. Behere yada karton bardaklara dökülür.
9	Soğuyan çözeltilerden 5 ml alınıp 100 ml lik ölçü balonuna alınır üzerine 1 ml 1 N asetik asit ve 2 ml iyot çözeltisi ilave edilerek çizgiye saf su ile tamamlanır
10	Balon çalkalanır ve 20 dk bekletilir.
11	Spektro kuvvetlerine önce örnek konup dökülür (yani yıkama yapılır) sonra tekrar örnek konur. Ölçüm öncesi kör numüne ile sıfırlama yapılır 620 nm dalga boyunda spektrometrede okuma yapılır.
12	Çözelti kuvvetlere koyulmadan önce peçete ile taşan kısımları silinmelidir ve kuvvetlerin çizgili tarafından tutulmalıdır. Kuvvetin düz kısmı ışın geldiği yönde olmalıdır. Kuvetteki ok hep aynı tarafta olacak şekilde okuma yapılmalıdır.

NOT: Standartlar çalışma uzun sürüyor ise her gün yeniden hazırlanır.