

TORTULLARDAKİ TOPLAM ŞEKER MİKTARININ EMMERICH-A YÖNTEMİYLE TAYİNİ ve JEOLJİDEKİ ÖNEMİ

Gültekin KAVUŞAN¹, Ahmet ORHAN¹

ÖZET: Güncel çökel ortamlarında, organik materyalin ayrışmasıyla ortaya çıkan şekerlerin bir kısmı, diyajenez ile uzaklaştırılırken, bir kısmı da mono, di ve polisakkarit olarak kalır. Bu kalıntılar toplam şeker olarak, %0-0.025 arasında duyarlı olan Emmerich-A metoduyla invert şekerlere dönüştürülerek kromatografik esasa göre miktarı tayin edilebilir. Bu metotta, örnekte bulunan şekerler sıcak suda çözüldükten sonra, 3,6-dinitroftalik asit ve alkali çözeltileri ilave edilerek, azot gazı ortamında, portakal renkli azo bileşiklerine dönüştürülerek 450 nm’de fotometrik metotla invert şeker içeriği ppm olarak tayin esasına dayanır. Toplam şeker içeriği, jeolojik çalışmalarda önemli bir biyomarker olup, basenin diyajenetik özelliklerinin belirlenmesinde kullanılan bir parametredir. Örnek olarak incelenen 2 adet Karamık gölü taban çamuru (S1-4, S2-4) numunelerinin invert şeker içerikleri, sırasıyla 11,424 ve 7,038 ppm dir. Bu farklı invert şeker değerleri, gölün değişik yerlerinde mikroorganizma aktivitesinin farklı olduğunu göstermektedir. İvert şeker değeri yüksek olan lokasyonda mikroorganizmaların organik maddeyi parçalama aktivitesinin daha yüksek, invert şeker değeri düşük olan lokasyonda ise mikroorganizmaların organik maddeyi parçalama aktivitesinin daha az olduğu söylenebilir.

ANAHTAR KELİMELER: Emmerich-A Metodu, invert şeker, toplam şeker, sedimanlarda şeker, Karamık Gölü

DETERMINATION OF TOTAL SUGAR CONTENT IN SEDIMENTS BY EMMERICH-A METHOD AND ITS IMPORTANCE IN GEOLOGY

ABSTRACT: Some part of saccarites forming by decomposition of organic materials in the modern enviroments might be free through the diagenesis process, but the rest of them are remained as mono, di and polysaccharite. By coverting them to invert sugar by the Emmerich-A method, these relicts could be analyzed as total sugar by the chromatography technique with a detection limit of %0-0.025. In the first part of method, sugar is dissolved in hot water. By adding of 3,6-dinitroftalic acid and alkali solutions it is transformed to the orange colored azo-compounds in nitrogen medium Finally, invert sugar content is determined in 450 nm by the photometric method. The total sugar content is one of the important parameter as biomarker, which indicates the diagenetic evolution of basin, in geological researchs. As an example, the inverted sugar content of 2 bottom sediments (S1-4, S2-4) from Karamık Lake are 11,424 and 7,038 ppm, respectively. The variation of invert sugar values indicate that, the activities of microorganisms in diffent parts of the lake is variable. It can be concluded that, high activities of microorganisms resulted production of high amount of invert sugar due to the decaying processes of organic matter and vice versa.

KEYWORDS: Emmerich-A Method, invert sugar, total sugar, sugar in sediments, Karamık Lake

¹ Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Jeoloji Mühendisliği Bölümü, ANKARA

² Osmangazi Üniversitesi, Müh. Mim. Fak., Jeoloji Mühendisliği Bölümü, ESKİŞEHİR

I. GİRİŞ

Şekerler monosakkarit, disakkarit ve polisakkarit olarak gruplandırılmakta, di- ve polisakkaritler dehidratasyon ile monosakkaritlere dönüşebilmektedir. Şekerler, tüm canlı metabolizmalarında mono-,di- ve polisakkarit şeklinde canlılığın sürdüğü yaşam boyunca yer alan bir bileşiktir [5, 6, 7, 9]. Canlılığın sona ermesinden sonra ise metabolizmanın parçalanmasına bağlı olarak ayrılmakta ve suda kolay çözünen bir bileşik olması nedeniyle tortullardaki makro ve mikro gözeneklerde kalmaktadır [5, 10].

Şekerlerin kayaçlar içerisinde tayini ile ilgili değişik yöntemler kullanılmaktadır. Yöntemlerin büyük çoğunluğu, çok yüksek orandaki şeker veya organik materyalin kayaçlarda varolmasını ve buradan kazanılan organik materyalin protein, karbonhidrat lipid ve diğer organik grupların eliminasyonuna dayanmaktadır [9]. Ancak, Emmerich-A metodu, tüm tortul örneğine fazla bir ön işlem yapmadan daha kolaylıkla ve doğrudan uygulanabilir olmasıyla pratik bir yöntemdir.

Pentoz ($C_5H_{10}O_5$), heksoz ($C_6H_{12}O_6$) ve heptoz ($C_7H_{14}O_7$) şeklinde bulunan monosakkaritler ve bunların değişik kombinasyonlarından oluşan di- ve polisakkaritler değişik kimyasal reaksiyonlar sonucunda invert şekere dönüştürülebilmektedir. Bilinen bir çözeltide bu şekilde invert şekere dönüşüm sonucunda ortaya çıkan bileşikler fotometrik yolla konsantrasyonlarının belirlenmesiyle şeker içeriği saptanabilmektedir.

II. EMMERICH-A METODUYLA TOPLAM ŞEKER MİKTARININ INVERT ŞEKER OLARAK TAYİNİNİN PRENSİPİ

Emmerich metodu, genel olarak herhangi bir bileşimde eser miktarda dahi bulunan şekerlerin invert edilerek spektrofotometrik yöntemle tayinini mümkün kılan bir metottur. Emmerich metodu, özellikle invert şeker içeriği %0-0.025 ve %0.025-0.15 düşük olan materyallerde A ve B metodu olmak üzere iki kademeli ve yaygın olarak uygulanabilmektedir. Güncel sedimanlar içerisinde organik maddece en zengin olan turbalarda bile şeker içeriğinin %0,025'i geçmediği gözlemlendiğinden, Emmerich-A metodu organik kökenli kayaçlar, güncel tortullar ve turbalara da uygulanabilen bir metottur [8].

Emmerich-A metodunun temel prensibi, kayaç örneği içinde bulunan şekerlerin suda çözüldükten sonra, 3,6-dinitrofütalik asit ve alkali çözeltileri ilave edilerek, azot gazı ortamında, portakal renkli azo bileşiklerine çevrilmesi esasına dayanır. Şekerler, 3,6-dinitrofütalik asit ilavesi ve azot gazı ile hidroksilamino türevlerine indirgenir, atmosferik oksijen ve alkali çözeltisindeki sodyum tiyosülfatın da bulunduğu bir ortamda, portakal renkli azo bileşiklerine dönüşür ve rengin koyuluğu, invert şeker miktarıyla doğru orantılıdır [2]. Emmerich-A metoduyla invert şeker tayini deneyi akış şeması şekil 1'de verilmiştir

III. ŞEKER MİKTARININ TAYİNİNİN YAPILIŞI

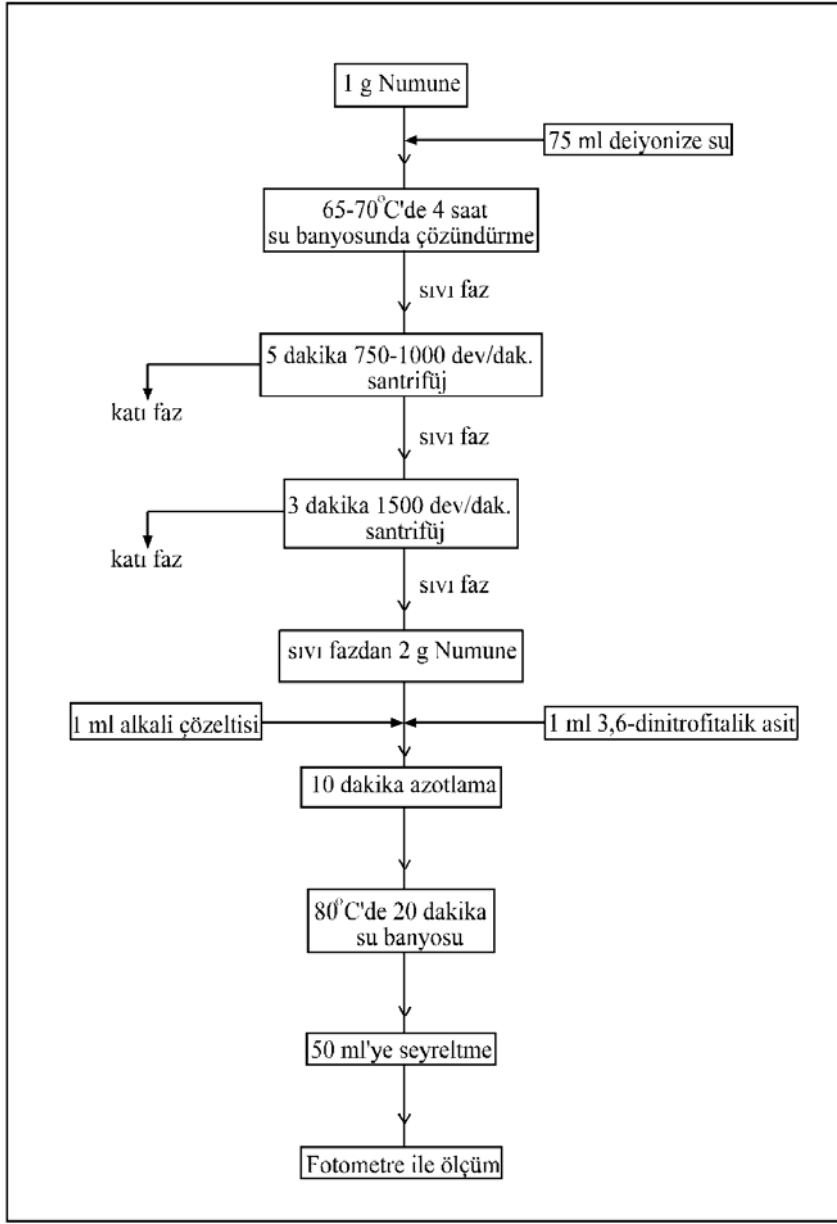
III.1. DENEYDE KULLANILACAK ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI

Deney esnasında kullanılacak olan stok 3,6-dinitrofütalik asit, alkali stok çözeltisi ve standart invert şeker çözeltileri aşağıdaki şekilde hazırlanır.

3,6 dinitrofütalik asit çözeltisi, 1.00 g 3,6-dinitrofütalik asit ve 0.50 g susuz sodyum karbonat ayrı ayrı saf suda çözülüp, 500 ml'lik bir balona alınıp işaret çizgisine kadar saf su ile tamamlanarak elde edilir.

Alkali çözeltisi, 100 g susuz sodyum karbonat (Na_2CO_3) ve 25 g sodyum tiosülfat pentahidrat ($\text{Na}_2\text{SO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)'ın saf suda ayrı ayrı çözüldükten sonra, 20°C de bir başka balonda 500 ml saf su ile tamamlanmasıyla elde edilir.

Kalibrasyon için kullanılan standart invert şeker çözeltisi, 23,750 g saf şeker yaklaşık 120 ml saf suda çözülür, üzerine 9 ml derişik hidroklorik asit (1,15 g/ml veya 32 g HCl/100 g H_2O) ilave edilir ve dikkatlice karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında 8 gün bekletilir. Bu süre sonunda çözelti 250 ml'ye tamamlanır. 100 ml sinde 10 g invert şeker içeren bu çözeltden 200 ml alınıp 2 lt'ye seyreltildiğinde, HCl cinsinden yaklaşık 0,001 N asiditedeki çözeltdiye eşdeğer bir çözelti elde edilmiş olur. Bu çözeltdiye 71,5 ml NaOH ilave edilerek karıştırılır.



Şekil 1. Emmerich-A metoduyla invert şeker tayini akış şeması.

III.2. DENEYİN YAPILIŞI

Emmerich-A metoduyla invert şeker miktarı tayini için, şeker içeren örnekten 1 gr veya katları kadar alınarak üzerine 75 ml deiyonize su ilave edilir, sıcak su banyosunda (65-70°C) 4 saat süreyle şekerlerin çözeltiye geçmesi sağlanır. Daha sonra çözelti 5 dakika süre ile 750-1000 dev/dak'da santrifüj edilerek katı faz uzaklaştırıldıktan sonra tekrar 3 dakika süreyle 1500 dev/dak'da tekrar santrifüj edilerek sıvı faz şeker tayini için kullanılmak üzere başka behere alınır.

Behere alınmış olan numunenin sıvı fazından 2 g tartılarak üzerine 1 ml 3,6-dinitrofitalik asit ve 1 ml alkali çözeltisi ilave edilir. Çözelti, hava kabarcığı kalarak ortamın oksidasyon özelliğini önlemek ve azot ortamı yaratarak azo bileşiğe dönüşümü sağlamak için 10 dakika süre ile azot gazından geçirilir. Azotlama işleminden sonra çözelti 20 dakika 80°C'lik su banyosunda ısıtılır, oda sıcaklığına kadar soğutulup saf su ile 50 ml'ye tamamlanır. Böylece 1/25 v/v'lik tayin için spektrofotometrede ölçülmeye hazır numune çözeltisi elde edilir (şekil 1).

III.3. KOLORİMETRENİN AYARLANMASI VE ÖLÇÜM

Kolorimetre cihazı, 450 nm dalga boyunda ışık geçirgenliği %100 ve absorbanı %0.0 olacak şekilde ayarlanmak suretiyle kalibre edilir. Standart çözeltiden uygun miktarlarda alınıp, 25 mg/100 ml konsantrasyonunda seyreltik standart invert şeker çözeltisi elde edilir. Bu standart seyreltik invert şeker çözeltisinden değişik oranlarda alınarak gerekli konsantrasyonlarda seyreltmeler yapılarak absorban ölçümü için gerekli olan standart örnekler hazırlanır. Hazırlanan bu standart çözeltiler kolorimetrik ölçümleri yapılarak konsantrasyon ışık yoğunluğu (intensite) doğrusu elde edilir. 1 gr alınan örneklerde bu grafik doğrudan doğruya kullanılabilir fakat katlı örneklerde bu değerlerin eşdeğeri olan kat oranları konsantrasyon ekseninde orantılanmalıdır.

Kolorimetre duraylı değerler vermeye başladığı zaman standart numuneler ve örneklerin ölçümleri yapılır. Çok fazla örnek ölçüleceği durumlarda gereken sık

aralıklarda standart numuneler tekrar ölçülerek, aletin çalışmasına bağlı olan sapmaların önüne geçilir.

III.4. TOPLAM ŞEKER İÇERİĞİNİN HESAPLANMASI

Örneklerin invert şeker miktarları, 450 nm dalga boyunda standart seyreltik invert şeker çözeltilerine karşılık absorbands değerleri spektrofotometre skalasından okunur. Standart numunelerin okunan absorbands değerlerinden yararlanılarak konsantrasyon-ışık yoğunluğu eğrileri çizilir. 1 gr numune alınmış ise değer doğrudan doğruya, katları kadar alınmış ise kat oranına göre orantılanarak konsantrasyon-ışık geçirgenliği grafiği çizilmelidir. Örneklerin absorbands değerleri, hazırlanan grafik yardımıyla doğrudan doğruya okunabilir.

İstenildiğinde ise eğri çizilmeden doğrudan doğruya aşağıdaki formülle ppm cinsinden

$$\text{İnvert şeker içeriği (ppm)} = \frac{(\% \text{Absorbans değeri} + 1.43 \times 10^{-4})}{27.2} \times 10^4 \quad (1)$$

invert şeker olarak hesaplanır [1].

Bu formül 1 gr alınan örneklerde doğrudan değer verir. Seyreltik örneklerde ise bulunan değer seyreltme oranına bölünmek suretiyle, 1 gr örneğe karşılık gelen değer hesaplanmalıdır, örneğin 10 gr örnek alınarak deney yapılmış ve 250 ppm invert şeker bulunmuş ise 1 gr örneğin invert şeker miktarı (250ppm/10gr) yani 25 ppm olacaktır.

IV. JEOLJİDEKİ ÖNEMİ ve KARAMIK GÖLÜ ÖRNEĞİ

Güncel ve yaşlı sedimanlarda diyajenetik gelişimin belirlenmesinde şekerler oldukça önemlidir. Günümüzde organik jeokimya, paleontoloji gibi canlıların etkilerinin araştırıldığı bilim dallarında, canlı organizmanın güncel çamur içerisinde ayrışması ve bu esnada oluşan ara reaksiyonlar, erken diyajenez evresinin açıklanmasında önemlidir [3, 8, 9, 11]. Organik jeokimya çalışmalarında, sakkaritlerin izledikleri yol, tabakalara basende etki eden basınç ve dehidratasyonun yönünün belirlenmesinde kullanılmaktadır. Şekerlerin tortul içerisindeki oranları, aynı zamanda sayısal olduklarından elde edilen sonuçlar, özellikle diyajenezin sayısallaştırılmasında uygulanabilmekte, matematik işlemlere uygulanarak değişik formüllerin türetilmesinde ve bilgisayar simülasyonlarında kullanılabilir.

Şekerlerin iyi bir besin kaynağı (nutrient) olmaları nedeniyle, oransal artışları güncel taban çamurlarındaki mikroorganizma faaliyetlerinin yoğunluğunun belirlenmesinde biomarker rolü oynamaktadır [4, 9, 11]. Karbonhidrat biomarkerlerin çökel ortamındaki ısı ile ayrışma derecesi arasında ilişkinin olmaması nedeniyle, çökellerin coğrafi konumlarından kaynaklanan hata olmayacağından, şeker analizleriyle elde edilen veriler her formasyon ve çökel için mutlak değer verecektir [10, 13].

Güncel tortulların mikro gözeneklerindeki disakkarit ve polisakkaritler, gözenek sularını alarak monosakkaritlere dönüşmekte ve böylelikle değişik amaçlı jeolojik yorumların yapılması için araştırmacılara ipucu vermektedir [4, 12].

Bu yöntemle yapılmış bir örnek çalışmada, Karamık bataklığından alınan bazı sondaj karotlarının deneyde kullanılan örnek miktarları ve bunların absorpsiyon değerleri çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Karamık bataklığı sondaj örneklerinin absorbans değerleri.

Numune No	Örnek miktarı (g)	Absorbans değeri (%)
S1-4	1,501	0,0465
S2-4	0,953	0,0181

Çizelgede belirtilen absorbans değerleri (1) nolu formülde yerine konulduğunda, S1-

$$S1 - 4 \text{ Örneği İvert şeker içeriği (ppm)} = \frac{(0,0465 + 1.43 \times 10^{-4})}{27.2} \times 10^4$$

4 ve S2-4 örneği için:

invert şeker içerikleri ppm olarak:

$$S1 - 4 = \frac{0,046643}{27,2} * 10^4 = 0,0017148 * 10^4 = 17,148$$
$$S2 - 4 \text{ Örneği İvert şeker içeriği (ppm)} = \frac{(0,0181 + 1.43 \times 10^{-4})}{27.2} \times 10^4$$

ve

$$S2 - 4 = \frac{0,018243}{27,2} * 10^4 = 0,00067069 * 10^4 = 6,7069$$

olacaktır. Bu değerler S1-4=1,501 g ve S2-4=0,953 g örnekler için olduğundan her 1 gram örnek için orantı kurularak ppm cinsinden değerler hesaplanır (çizelge 2).

Çizelge 2. Karamık bataklığı sondaj örneklerinin invert şeker değerleri.

Numune No	1 g Numunenin invert şeker içeriği (ppm)
S1-4	11,424
S2-4	7,038

Bu değerler, bir biyomarker olarak ortamdaki organik maddenin dönüşüm sürecinde mikroorganizma faaliyetlerinin hem sayısal değer olarak gösterilmesini, hem de birbirleriyle göreceli karşılaştırılmasını sağlamaktadır [3, 8]. Örneğin, S1-4 noktasındaki mikroorganizma faaliyeti, S2-4 örnek noktasına göre, S1-4/S2-4 ilişkisinden dolayı $11,424/7,038=1,62$ oranında fazlalığını, basenin bu kısmına giren organik maddenin mikrobiyal ayrışmasının yüksek olduğunu ortaya koymaktadır.

Ayrıca bu dönüşüm değeri (1:1.62), genel olarak karbonhidrat olarak değerlendirilen toplam şeker değerinin, yaz, kış veya diğer iklim kuşaklarındaki, örneğin Baltık ülkeleri gibi daha soğuk veya ekvator yöresindeki diğer ortamlardaki değerler ile mutlak ve sayısal olarak karşılaştırılabilir [4, 5, 13].

Bu iki örnekten yola çıkılarak Karamık Gölünün ortalama invert şeker içeriği 9,231 ppm olduğu görülür ve bu değer Karamık Gölünün invert şeker içeriği bir biyomarker olarak gelecekteki gölün yaşamı boyunca ortaya çıkacak değişimlerin gözlenmesine olanak verecektir.

TEŞEKKÜR

Yazarlar, bu makalenin hazırlanması sırasında deney metodunun geliştirilmesinde ve jeolojide uygulanabilirliğinin sağlanması için laboratuvarlarında çalışmamıza izin veren Türkiye Şeker Fabrikaları Etimesgut Şeker Fabrikası Kimya Laboratuvarı personeline, Etimesgut Şeker Fabrikası yöneticilerine teşekkür etmeyi bir borç bilirlir.

KAYNAKLAR

- [1] S. Akođlu, “17-20 Mayıs 1982 Laboratuvar Őefleri simpozyumunda iŐlenen konular ve alınan kararlarla ilgili analiz f6yleri”, T6rkiye Şeker Fabrikaları A.Ő. Şeker Enstit6s6, Ankara, 1982.
- [2] S. Akođlu, “Şeker fabrikasyonu kimyasal kontrol6- Şeker dıŐı maddeler- İvert Şeker”, T6rkiye Şeker Fabrikaları A.Ő. Şeker Enstit6s6, 29 s, Ankara, 1985.
- [3] S. Bourdon, F. Laggoun-Defarge, J. R. Disnar, O. Maman, B. Guillet, S. Derenne, C. Largeau, “Organic matter sources and early diagenetic degradation in a tropical peaty marsh (Tritrivakely, Madagascar). Implications for environmental reconstruction during the Sub-Atlantic”, *Organic Geochemistry*, Vol. 31, pp. 421-438, Elsevier, 2000.
- [4] D. J. Burdige, “Dissolved organic matter in Chesapeake Bay sediment pore waters”, *Organic Geochemistry*, Vol. 32 , pp. 487-505, Elsevier, 2001.
- [5] D. J. Cram, G. S. Hammond, “Carbonhydrates and phenolic plant products” *Organic Geochemistry*, 846 p, New York, 1964.
- [6] E. T. Degens, “*Geochemie der Sedimente*”, Friedrich Enke Verlag, ss. 180-189, Stuttgart, 1968.
- [7] H. Hart, R .D. Schuetz, “*Organic Chemistry*”, Michigan State Universty, 500 p, Michigan, 1972.
- [8] G. Kavuşan, “*K6m6rlerin jeokimyasal 6zellikleri ve organik maddenin k6m6rleŐme s6recindeki d6n6Ő6m6*”, Edit6r: O. Kural, *K6m6r, 6zellikleri, teknolojisi ve 6evre iliŐkileri*, ss. 87-113, 6zg6n Ofset ve Matbaacılık A.Ő. İstanbul, 1998.
- [9] S. D. Killops, V. J. Killops, “*An introduction to organic geochemistry*”, Longman Publications, 265 p, England, 1993.
- [10] M. E. C. Moers, J. W. De Leeuw, M. Baas “Origin and diagenesis of carbohydrates in ancient sediments”, *Organic Geochemistry*, Vol. 21, pp. 1093-1106, Elsevier, 1994.
- [11] S. Opsahl, R. Benner “Characterization of carbohydrates during early diagenesis of five vascular plant tissues”, *Organic Geochemistry*, Vol. 30, pp. 83-94, Elsevier, 1999.
- [12] A. Orhan, “Afyon-Karamık ve Bolu-Yeniçađa turbalarında Şeker i6eriklerinin incelenmesi”, Y6ks. Lisans Tezi, 77 s, Ankara 6niv, Fen Bil. Enstit6s6, Ankara, 1998.

- [13] J. S. Sinninghe-Damste, B. E. van Dongen, W. I. C Rijkstra, S. Schouten, J. K. Volkman, J. A. J. Geenevasen, "Novel intact glycolipids in sediments from an Antarctic lake (Ace Lake)", *Organic Geochemistry*, Vol. 32, pp. 321-332, Elsevier, 2001.