

VET 201
Biyokimya I Dersi
Uygulama Kitapçığı
2021

Öğrencinin;

Adı-Soyadı :

Numarası :

Uygulamanın adı	Biyogüvenlik ve Laboratuvar Malzemelerinin Tanıtımı
Yapılacağı hafta	1. hafta
Uygulamanın temel hedefi	Laboratuvarda kullanılacak malzemeleri tanıtmak ve uyulması gereken kuralları, alınacak güvenlik tedbirlerini hatırlatmak
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	Laboratuvar malzemeleri
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	Laboratuvar önlüğü

UYGULAMA BİLGİSİ

Laboratuvarda Çalışma Prensipleri

1-Laboratuvarda herhangi bir şey yenilip içilmemeli, çalışırken eller yüze sürülmemeli, ağza herhangi bir şey alınmamalıdır.

2-Çalışmalarda dikkat ve itina ön planda tutulmalıdır.

3-Katı haldeki maddeler şişelerden daima temiz bir spatül veya kaşıkla alınmalıdır. Aynı kaşık temizlenmeden başka bir madde içine sokulmamalıdır. Şişe kapakları hiçbir zaman alt tarafları ile masa üzerine konulmamalıdır. Aksi takdirde, kapak yabancı maddelerle kirleneceği için tekrar şişeye yerleştirilince bu yabancı maddeler şişe içindeki saf madde veya çözelti ile temas edip, onu bozabilir.

4-Şişelerden sıvı akıtılırken etiket tarafı yukarı gelecek şekilde tutulmalıdır. Şişenin ağzında kalan son damlaların da şişenin kendi kapağı ile silinmesi en uygun şekildir.

5-Kimyasal maddeler gelişigüzel birbirine karıştırılmamalıdır.

6-Şişelerin kapak veya tıpaları değiştirilmemelidir. Çözelti şişelere doldurulurken dörtte bir kadar kısım genişleme payı olarak bırakılmalıdır.

7-Zehirli ve yakıcı çözeltiler, pipetten ağız yolu ile çekilmemelidir. Bu işlem için vakum ya da puar kullanılmalıdır.

8-Genel olarak toksik olmadığı bilinen kimyasal maddeler dahi, ağza alınıp tadına bakılmamalıdır.

9-Tüm asitler ve alkaliler sulandırılırken daima suyun üzerine ve yavaş yavaş dökülmeli, asla tersi yapılmamalıdır.

10-Asit, baz gibi aşındırıcı yakıcı maddeler deriye damladığı veya sıçradığı hallerde derhal bol miktarda su ile yıkanmalıdır.

11-Etil alkol gibi yanıcı, tutuşucu maddeler Bunzen beki alevi çevresinden uzak tutulmalıdır.

Kullanılacak laboratuvar malzemelerinin listesi:

- | | |
|---------------------|-------------------|
| 1-Deney tüpü | 11-Tahta maşa |
| 2-Pipet | 12-Porttüp |
| 3-Beherglas | 13-Piset |
| 4-Erlenmayer | 14-Ayraç şişesi |
| 5-Balon joje | 15-Spatül |
| 6-Huni | 16-Ayrırma hunisi |
| 7-Dereceli silindir | 17-Havan |
| 8-Baget | 18-Desikatör |
| 9-Büret | 19-Puar |
| 10-Statif | 20-Bunzen beki |

Uygulamanın adı	Çözelti Hazırlama, Asit Baz Titrasyonu
Yapılacağı hafta	2. hafta
Uygulamanın temel hedefi	Katı ve sıvı kimyasallardan değişik çözeltiler hazırlamak ve asit baz titrasyonu ile bu çözeltileri kontrol etmek
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	Terazi, balon joje, beherglas, spatül, distile su, sülfürik asit, sodyum klorür, sodyum bikarbonat, metil oranj, sodyum hidroksit, okzalik asit, fenolfitaleyn, distile su
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	Laboratuvar önlüğü

UYGULAMA BİLGİSİ

Bir maddenin başka bir madde tanecikleri arasında, iyonlar ya da moleküller halinde, homojen olarak dağılmasına çözünme denir. Bağlı miktarları çözünürlük sınırına kadar değişebilen iki ya da daha çok maddeden oluşan homojen karışıma çözelti denir. Çözeltiler iki kısımdan oluşmaktadır. Çözeltide çok bulunan madde çözücü, az bulunan madde çözünendir.

Çözünen Madde Miktarına Göre

1. Doymuş Çözeltiler: Çözücünün çözebileceği maksimum maddeyi çözdüğü durumdur.
 2. Aşırı doymuş çözeltiler: Belirli bir sıcaklıkta çözücünün maksimum çözebileceği madde miktarından daha fazla madde çözmüş çözeltilerdir. Kararsızdırlar. Çözelti oda sıcaklığına geldiği zaman bir miktar çözünen madde çökerek doymuş çözelti haline gelirler.
 3. Doymamış çözeltiler: Bir çözücünün çözebileceği maksimum maddeden daha azını çözdüğü durumdur. Bu tip çözeltilere belli bir miktar daha çözünen atıldığı takdirde, çözücü eklenen çözüneni de çözebilme kapasitesine sahiptir.
 4. Seyreltik çözelti: Az miktarda çözünen içeren çözeltilere seyreltik çözelti denir. Birim hacme düşen çözünen madde miktarı ne kadar az ise, çözelti o kadar seyreltiktir.
 5. Derişik çözelti: Çok miktarda çözünen içeren çözeltilere derişik çözelti denir. Birim hacme düşen çözünen madde miktarı ne kadar fazla ise, çözelti o kadar derişiktir.
- Bir çözeltiye bir miktar çözücü ilave edildiğinde veya bir miktar çözücü buharlaştırıldığında, yüzde derişim değişir. Ancak çözünen madde miktarı değişmez.

Molar Çözeltiler: Litresinde 1 mol madde bulunduran çözeltiler molar çözeltiler olarak isimlendirilir.

Normal Çözeltiler: Litresinde 1 eşdeğer gr madde bulunan çözeltilerdir. Normalite (N), 1 litre çözeltide çözünmüş maddenin eşdeğer gram (equivalent gram) sayısını ifade eden bir kavramdır. Bir maddenin eşdeğer gram sayısı kütesinin eşdeğer ağırlığına oranıdır. Eşdeğer ağırlığı ise molekül ağırlığının tesir değerliğine bölünmesi ile elde edilir.

Yüzde Çözeltiler:Yüzde konsantrasyon (%), 100 ml veya 100 gr çözeltide bulunan madde miktarını gösterir.

Osmolar Çözeltiler: Litresinde 1 osmol gram madde bulunan çözeltilere osmolar çözelti denir.

İzotonik Çözeltiler: Aynı osmotik basınca sahip olan yani birbirleriyle aynı sayıda osmotik bakımdan aktif partikül bulunduran çözeltilere izotonik çözelti denir.

Çözelti örnekleri:

* 500 ml %5 lik NaCl nasıl hazırlanır?

* 0.5 N 100 ml H₂SO₄ nasıl hazırlanır?

* 0.1 N 200 ml NaOH nasıl hazırlanır?

Asit-baz titrasyonunun yapılışı:

Hazırlanan 0.1 N'lik NaOH'ın normalitesi kontrol edilir ve faktör hesaplanıp düzeltme yapılır.

0,1 N NaOH'ın normalite kontrolü ve faktörün hesaplanması:

0,1 N Na OH bürete doldurulur. Erlene ise 0,1 N'lik okzalik asitten 10 ml ilave edilir ve 1-2 damla fenolftaleyn damlatılır. Sonra erlene büretten damla damla NaOH çözeltisi akıtılır. 15-20 saniye durabilen pembe renkte titrasyona son verilir ve faktör hesaplanır.

Faktör hesaplaması: Faktör(F); kesin normalitesi bilinen çözeltiden alınan miktarın, normalitesi kontrol edilmek istenen çözeltiden sarfedilen miktara bölünmesi ile hesaplanır. F değeri tam 1 olursa her iki çözelti aynı normalitededir. 1'den büyük olursa; kontrol edilen çözelti daha konsantredir ve seyreltilmesi gerekir. 1'den küçük olursa kontrol edilen çözelti daha seyreltiktir ve madde ilavesi gerekir.

Uygulamanın adı	Moore, Fehling, Benedict Deneyleri
Yapılacağı hafta	3. hafta
Uygulamanın temel hedefi	Karbonhidratlar üzerine alkalilerin etkisini ve karbonhidratların redüklenme özelliklerini göstermek
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	Cam malzeme, glikoz çözeltisi, NaOH çözeltisi, Fehling A, Fehling B çözeltileri, Benedict ayıracı
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	Laboratuvar önlüğü, laboratuvar gözlüğü, tahta maşa, eldiven

UYGULAMA BİLGİSİ

Seyreltik baz çözeltileri oda ısısında monosakkaritlerin anomerik karbon atomu ve ona komşu karbon atomu çevresinde yeni düzenlemelere sebep olurlar. Eenediol ara yapı oluşur.

Moore Deneyi

Deneyin Prensibi: Alkali ortamda ısı etkisiyle şekerin 1 ve 2 numaralı karbonları arasında yeniden tertiplenme ile sarı renkli dienol gruplarının oluşması esasına dayanır.

Deneyin Yapılışı:

Bir deney tüpüne alınan 2 ml glikoz çözeltisi 1 ml kadar %10'luk NaOH çözeltisi ile karıştırılır ve ısıtılırsa karışımın rengi sarı olur. Daha sonra kahverengine dönüşür ve karamel kokusu duyulur.

Fehling ve Benedict Deneylerinin ortak prensibi:

Serbest aldehit ya da keton grubuna sahip şekerler alkali ortamda ve ısı etkisiyle ağır metal hidratlarını (Cu, Ag gibi) redüklenme özelliği gösterirler. Deney sırasında şekerler oksitlenir ve şeker asitlerini verirler.

Fehling Deneyi

İki ayrı tüp alınır. Bir tüpe 1 ml Fehling A ve 1 ml Fehling B çözeltisinden konarak taze Fehling çözeltisi hazırlanır. Fehling çözeltisi üzerine eşit miktarda glikoz çözeltisi ilave edilir, kaynar su banyosuna bırakılır. Sarı ya da kırmızı (tuğla kırmızısı) renk meydana gelir.

Benedict Deneyi

Bir deney tüpüne 5 mL Benedict ayıracı konur ve bunun üzerine 0,5 ml glikoz çözeltisi eklenir. Tüp kaynar su banyosunda 1-2 dakika bekletilir; daha sonra oda sıcaklığında soğumaya bırakılır. Soğuyan tüpteki karışımda renk değişimi ve çökelti olup olmadığına bakılır. Sarı renkli bir tortu görülmesi şekerin redükleyici özllikte olduğunu gösterir.

Uygulamanın adı	Molish, Seliwanoff, Anilin Deneyleri
Yapılacağı hafta	4. hafta
Uygulamanın temel hedefi	Şekerlerin asit ortamdaki davranışlarını incelemek, ketoheksozları ve pentozları tanımak
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	Cam malzeme, fruktoz, sakkaroz, ksiloz ve glikoz çözeltileri, Molish Ayracı, yoğun sülfirik asit, anilin asetat çözeltisi
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	Laboratuvar önlüğü, laboratuvar gözlüğü, tahta maşa, eldiven

UYGULAMA BİLGİSİ

Kuvvetli mineral asitler şekerleri metil, etil ve hidroksi furfural derivelerine çevirir. Bu deriveler çeşitli polifenollerle birleşerek renkli ürünler verirler. Bunların renk ve spektroskopik özellikleri kullanılan polifenol ve şekerle ilgilidir. Bu nedenle reaksiyonlar (Molisch, Seliwanoff ve Anilin) değişik tür şekerlerin varlığını göstermeye hizmet ederler.

Molisch Deneyi

Deneyin prensibi: H_2SO_4 etkisiyle pentozlardan furfural heksozlardan 5-hidroksi metil furfural oluşması, furfural ve 5-hidroksi metil furfuralin α -naftol ile mor renkli trifenil metan oluşturması prensibine dayanır.

Molisch deneyi birkaç istisna (Amino şekerler, şeker alkoller ve karboksilik asitler) dışında şekerlerin genel tanınma deneyidir.

Deneyin yapılışı:

Bir deney tüpüne 2 ml glikoz çözeltisi, üzerine 6 damla molisch ayırıcı ilave edilir. Tüp çalkalandıktan sonra 45 derecelik eğimle tutularak yaklaşık 2 ml sülfirik asitle tabaka yaptırılır. Sıvıların temas yüzeyinde mor menekşe renk oluşması reaksiyonun pozitif olduğunu gösterir.

Seliwanoff Deneyi

Deneyin prensibi: Kaynatma ve asit etkisiyle pentozlardan furfural, heksozlardan 5-hidroksi metil furfural oluşması, furfuralin, rezorsin ile mavi-yeşil renkli bir kompleks oluşturması, 5-hidroksi metil furfuralin ise rezorsin ile kırmızı renkli bir kompleks oluşturması,

fruktoz gibi ketoheksozlarla koyu kırmızı renk

glikoz gibi aldoheksozlarla ise açık kırmızı renk oluşması prensibine dayanır.

Deneyin yapılışı:

Bir deney tüpüne 5 ml seliwanoff ayırıcı, üzerine 5-6 damla fruktoz çözeltisi ilave edildikten sonra kaynar su banyosunda kırmızı renk oluşuncaya kadar bekletilir. Deney sakaroz ve glikoz çözeltileriyle tekrar edilir. Sonuçlar kaydedilir.

Anilin Deneyi

Deneyin prensibi: H_2SO_4 etkisiyle pentozlardan furfural heksozlardan 5-hidroksi metil furfural oluşması, furfuralin, anilin asetat ile koyu kırmızı renk maddesi oluşturması, 5-hidroksi metil furfuralin ise anilin asetat ile koyu kırmızı renk maddesi oluşturmaması prensibine dayanır.

Deneyin yapılışı:

1 ml ksiloz çözeltisi üzerine 1 ml asetik asit ve 3 damla anilin ilave edilir. Birkaç dakika kaynatılır ve soğuması için 2 dakika bekletilir. Açık kırmızı bir renk oluşur.

Uygulamanın adı	Ozazon Deneyi
Yapılacağı hafta	5. hafta
Uygulamanın temel hedefi	Çeşitli şekerlerin fenilhidrazinle teşkil ettikleri sarı ozazon kristallerini mikroskopta incelemek, oluşan kristal yapılarından şekerin tipini anlamaya çalışmak
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	Cam malzeme, sülfirik asit, sodyum bikarbonat, metil oranj, sodyum hidroksit, okzalik asit, fenolfitaleyn, distile su
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	Laboratuvar önlüğü, laboratuvar gözlüğü, tahta maşa, eldiven

UYGULAMA BİLGİSİ

Ozazon deneyi:

Çeşitli şekerler fenilhidrazin ile sarı renkli ozazon kristalleri oluştururlar. Bu kristaller mikroskop altında incelenirse birçoğunun farklı şekilde oldukları görülür.

Bütün alfa-hidroksi karbonil bileşikleri ozazon teşkil etmek üzere fenilhidrazin ile reaksiyona girerler. Başlangıç reaksiyon karbonil grubunun fenilhidrazin ile birleşmesidir. Bunu takiben alfa-hidroksi grup bir karbonil gruba oksitlenir. Bu karbonil grup da daha sonra bir başka fenilhidrazin molekülü ile birleşir

Ozazon teşekkülü 1. ve 2. karbon atomlarındaki konfigürasyonu bozar. Bu nedenle yalnız 1. ve 2. karbon atomlarındaki konfigürasyonların farklı olmasıyla birbirinden ayrılan şekerler (örnek, glikoz, früktoz ve mannoz) aynı ozazonu verirler. Ayrıca, şekerlerin ozazon verme süreleride farklıdır. Bu nedenle ozazon kristallerinin teşekkülü için geçen sürenin saptanması bilhassa aynı ozazonu teşkil eden birbirine yakın yapıdaki şekerlerin tanınmasında önemlidir. Redükleyici şekerlerin hepsi fenilhidrazin ile ozazon teşkil ederler. O halde, sakkaroz ozazon vermez. Glikoz, fenilhidrazin klorhidrat ile ısıtmakla ozazon vermez, reaksiyon ancak asetik asit varlığında gerçekleşir.

Deneyinin Yapılışı:

Dört deney tüpüne sırasıyla glikoz, früktoz, maltoz ve laktozun % 0.2'lik çözeltilerinden 3'er ml. alınır. Her birine 3'er ml. taze hazırlanmış ayıraç (fenilhidrazin klorhidrat + sodyum asetat + asetik asit karışımı) eklenir. Tüpler karıştırılır ve kaynamakta olan su banyosuna bırakılır. Çok sayıda sarı kristaller görülünceye kadar bu şekilde bekletilir. Kristalleşme görülen tüp su banyosundan alınır ve bir tüp taşıyıcısında soğumaya bırakılır (musluk suyu altında değil).

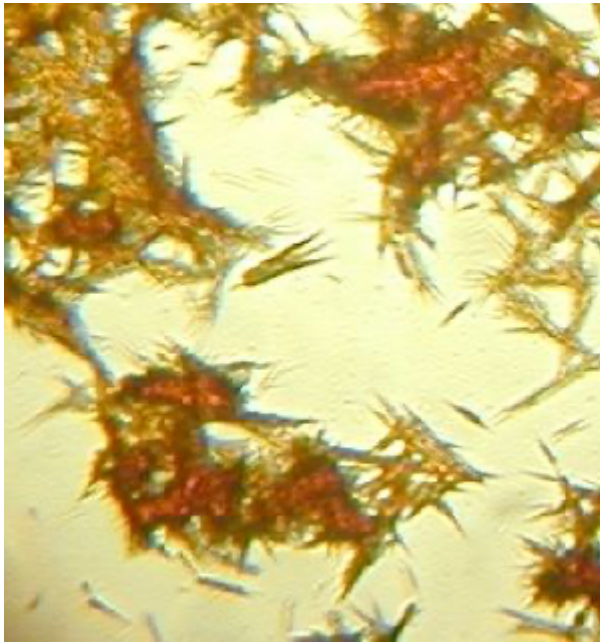
Bu arada, her şeker için kristalleşme süresi de kaydedilir. Soğudukça kristaller yoğunlaşır (ozazon). Bir pipet yardımıyla mikroskop lamı üzerine bu kristallerden bir miktar alınır ve mikroskopta incelenir. Kristallerin şekilleri çizilir. Glikoz ve früktoz çabuk kristal verirler ve oluşan kristallerin şekli aynı olup ekin demetleri şeklindedir. Laktoz ve maltoz çok daha uzun sürede (yaklaşık 30 dakika içinde) ozazon kristalleri verirler. Laktozazon 100 santigrat derecede oluşan düzensiz ince iğnecikler şeklinde kristalleşir (atkestanesi). Maltozazon ise 206 santigrat derecede oluşan geniş tabletler şeklinde kristalleşir (ayçiçeği)



Glucosazone (x 250)



Maltosazone (x 250)



Galactosazone (x 160)



Lactosazone (x 250)

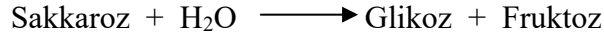
Uygulamanın adı	Sakkarozun Hidrolizi Deneyi
Yapılacağı hafta	6. hafta
Uygulamanın temel hedefi	Sakkarozun asit ve maya ile hidrolizini gerçekleştirerek glikoz ve früktoza parçalandığını göstermek
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	Cam malzeme, sakkaroz çözeltisi, yoğun sülfirik asit, %5'lik sodyum hidroksit çözeltisi, Fehling A çözeltisi, Fehling B çözeltisi, ekmek mayası çözeltisi
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	Laboratuvar önlüğü, laboratuvar gözlüğü, tahta maşa, eldiven

UYGULAMA BİLGİSİ

Hidroliz, bir molekülün su alarak kendini kuran alt moleküllere parçalanması olayıdır. Hidroliz kimyasal olarak (asitle kaynatarak), yada enzimatik olarak (ekmek mayası, şarap mayası veya bira mayası gibi) gerçekleştirilir.

Sakkarozun asitle hidrolizi:

Yaklaşık 5 ml. sakkaroz eriyiği, 2.5 ml. su ve 0.5 ml. konsantre HCl ile karıştırılıp su banyosunda 10 dakika ısıtıldıktan sonra soğutulur ve NaOH ile nötralize edildikten sonra Fehling deneyini müsbet verdiği görülür. Asitle ısıtma sırasında sakkaroz glikoz ve früktoz moleküllerine parçalandığından (Hidroliz) redükleyici özellik kazanır.



Sakkarozun maya ile hidrolizi:

Sakkaroz asitle hidrolize edildiği gibi maya ile de hidroliz edilebilir. Birkaç ml. sakkaroz eriyiği üzerine 1 ml. ekmek mayası çözeltisi ilave edilerek bir müddet 37 santigrat derecede (su banyosunda) ısıtılır. Bu esnada enzimin etkisiyle sakkaroz glikoz ve fruktoza parçalanır ve indirgeme deneylerini (Fehling) pozitif verir.

Uygulamanın adı	Nişastanın Hidrolizi Deneyi
Yapılacağı hafta	7. hafta
Uygulamanın temel hedefi	Nişastanın asitle ve tükürükle hidrolizini gerçekleştirmek, hidroliz basamaklarını izlemek ve nişastanın glikoza kadar parçalandığını göstermek
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	Cam malzeme, nişasta çözeltisi, yoğun sülfirik asit, %5 lik sodyum hidroksit çözeltisi, seyreltik lügol çözeltisi, Fehling A çözeltisi, Fehling B çözeltisi
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	Laboratuvar önlüğü, laboratuvar gözlüğü, tahta maşa, eldiven

UYGULAMA BİLGİSİ

Nişastanın hidrolizi:

Polisakkaritler iyotu, moleküllerinin büyüklüğüne göre, farklı şekilde adsorbe ederler ve renkli bir kompleks verirler. Kompleks ısıda yıkılır ve soğutma sırasında tekrar şekillenir. Nişastanın iyot ile mavi renk vermesi onun tanınmasında kullanılır. Yine mineral bir asitle (HCl) nişasta hidroliz edilir ve hidroliz safhaları iyot ile verdiği değişik renklerden izlenir. Sırasıyla amilodekstrin (menekşe), eritrodekstrin (kırmızı) ve akrodekstrin (renksiz, sadece iyotun kendi rengi hakim) safhalarından (kısmi hidroliz) sonra Fehling deneyinin müsbet vermesi ile hidrolizin tamamlandığı (tam hidroliz) anlaşılır.

Yaklaşık 2 g nişasta bir deney tüpüne konur, üzerine 10-15 ml. soğuk distile su ilave edilir ve iyice karıştırılarak bir süspansiyon teşkil edilir. Bu süspansiyon bir beherglasta kaynamakta olan 100 ml. suya devamlı karıştırmak suretiyle ilave edilir. Bu nişasta süspansiyon ile aşağıdaki uygulamalar yapılır.

Nişastanın-iyot kompleksinin oluşumu:

Nişasta süspansiyonundan bir deney tübüne yaklaşık 1 ml. alınır ve tüp musluk altında tutularak su ile soğutulur, üzerine 1 damla iyot veya dilüe lügol eriyiği ilave edilir (dilüe iyot çözeltisinin fazlasından sakınmak gerekir. Aksi halde, onun esmer rengi kompleksin rengisi maskeler). Teşekkül eden mavi renkli çözelti kaynayınca kadar ısıtılır ve tekrar soğutulur. Burada, nişasta-iyot kompleksinin ısı etkisiyle yıkılması dolayısıyla rengin kaybolması söz konusudur.

Nişastanın redükte özelliğinin incelenmesi

Nişasta süspansiyonundan yaklaşık 2 ml. alınır, üzerine yaklaşık 2 ml. Fehling A ve Fehling B karışımı ilave edilir ve ısıtılır.

Bazık ortamın nişasta polimeri üzerine etkisinin incelenmesi

Nişasta süspansiyonundan bir deney tübüne 5 ml. konur, üzerine 2 ml. % 5'lik NaOH ilave edilir. Kaynayınca kadar ısıtılır ve bundan sonra ısıtmaya daha 2 dakika devam edilir. Sonra soğutulur ve üzerine 1 damla yoğun HCl ilave ederek nötralize edilir ve bu karışımla Fehling deneyi yapılır.

Nişastanın asitle hidrolizi:

Beherglasta kalan nişasta süspansiyonu üzerine 5 ml. yoğun HCl ilave edildikten sonra bunun 15 ml. kısmını bir deney tüpüne alıp bir beherglasta kaynamakta olan suya daldır ve burada 15-20 dakika bırakılır. Bu suretle nişasta su alarak hidrolize olur. Hidrolizin başlangıç safhasında küçük bir numune alınıp iyot eriyiğı veya lügol eriyiğı ilave edilirse mavimsi kırmızı renk verir. Bu, amilodekstrin teşekkül ettiğini gösterir. Daha bir müddet geçtikten sonra tekrar küçük bir numune alınıp iyot eriyiğı veya lügol eriyiğı ile kontrol edilirse kırmızı renk verir. Bu da eritrodekstrin teşekkülünü gösterir. Tekrar bir müddet geçtikten sonra yine küçük bir numune alınıp iyot eriyiğı veya lügol eriyiğı ile muamele edilirse renk teşekkül etmez. Bu da akrodekstrin teşekkülünü gösterir. Bundan sonra daha bir müddet ısıtmaya devam edilip sonra Fehling deneyleri uygulanırsa deneyin müspet olduğı görülür ki bu da nişastanın maltoza ve nihayet glikoza hidroliz olduğunu gösterir.

Nişastanın tükürük (amilaz) ile hidrolizi:

a) Bir deney tüpüne 5 ml. kadar nişasta süspansiyonu alınır. Üzerine 1 damla iyot çözeltisi veya dilüe lügol) eklenerek mavi rengin oluşması sağlanır. Daha sonra bu karışım ikinci bir tüpte toplanmış olan tükürük üzerine eklenip karıştırılır ve 37 santigrat derecelik bir su banyosunda kendi haline bırakılır. Rengin hızla açıldığı gözlenir. Tükürükteki amilaz etkisiyle nişasta molekülünün parçalanmaya başlaması iyot ile olan bağının çözülmesine ve rengin açılmasına neden olur. Daha ileri derecede bir hidrolizde mavi renk tamamen kaybolur.

b) Yaklaşık 2 ml. tükürük 8 ml. kadar su ile karıştırılır. Bu karışım numaralanmış 4 tüpe eşit olarak paylaştırılır. Tüplerden herbirine 2 ml. kadar % 0.5'lik nişasta süspansiyonundan eklenir ve çalkalandıktan hemen sonra birinci tüp kaynatılır. Daha sonra tüpler 37 santigrat derecedeki ısıdaki bir su banyosuna bırakılır ve yaklaşık 2 dakika sonra 2. tüpten, 5 dakika sonra 3. tüpten ve 10 dakika sonra 4. tüpten örnekler alarak iyot testi uygulanarak kısmi hidroliz ürünleri olan dekstrinlerin oluşumu izlenir. Bu sürenin sonunda tüplerin her birine Fehling deneyi uygulanarak hidrolizin tamamlanıp tamamlanmadığı kontrol edilir.

Tükürükteki amilaz aktivitesinin bireysel farklılığı, ısının iyi ayarlanamaması gibi nedenlerle deney sürelerinin değişebileceğı unutulmamalı ve bu yüzden de herkesin kendi bulgularını dikkate alması ve kaydetmesi daha doğru olacaktır.

Uygulamanın adı	Akrolein Deneyi, Emülsiyon Oluşumu Deneyi, KMnO_4 ile Doyurma Deneyi, Sütün Yağının Alınması Deneyi
Yapılacağı hafta	8. hafta
Uygulamanın temel hedefi	Akrolein deneyi yağların genel tanınma deneyidir. KMnO_4 'ın oksijeni çift bağa girerek bağı açmasını, yağ asitlerinin doymuş şeklini göstermek
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	KHSO_4 , Gliserin, Na_2CO_3 , Yağ, KMnO_4 , Yağlı Süt, NaOH, Eter, Kurutma kâğıdı
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	Laboratuvar önlüğü, laboratuvar gözlüğü, tahta maşa, eldiven

UYGULAMA BİLGİSİ

Akrolein Deneyi

Gliserin potasyum hidrojen sülfat ile muamele edilirse ısınmada etkisiyle 2 mol su kaybederek doymamış bir aldehit olan akroleine dönüşür. Akrolein iğneleyici karakteristik bir kokuya sahiptir. Bu deney yağların genel tanınma deneyidir.

Deneyin Yapılışı:

Bir deney tüpüne 1-2 spatül ucu KHSO_4 konulur. Üzerine 1 damla gliserin damlatılır ve tüp ısıtılır. Isıtıldıktan sonra akroleinin iğneleyici karakteristik kokusu duyulur. Yağların genel tanınma deneyidir.

Emülsiyon Oluşumu

Saf yağların oluşturdukları emülsiyonlar dayanıklı değildir. Misel oluşturarak sudan uzaklaşırlar. Ancak sabun, deterjan, protein, safra vb. emülgatörler varlığında elde edilen yağ su emülsiyonu emülsiyon yapıcı madde miktarına bağlı olarak oldukça dayanıklıdır.

Deneyin Yapılışı:

2 deney tüpü alınarak birisine 5 ml su diğerine 4 ml seyreltik Na_2CO_3 çözeltisi ilave edilir. Daha sonra her iki tüpe de ikişer damla yağ damlatılır ve tüpler emülsiyon oluşumu yönünden incelenir.

KMnO_4 ile Doyurma Deneyi

KMnO_4 'ın oksijeni çift bağa girerek bağı açar, yağ asitlerinin doymuş şekli oluşur. Yani oleik asitten dihidroksik stearik asit oluşur.

Deneyin Yapılışı:

Bir deney tüpü içerisine birkaç damla ay çiçek yağı ve bir spatül ucu Na_2CO_3 konup ısıtılır sonra üzerine damla damla sulandırılmış KMnO_4 eklenirse permanganatın rengi kaybolur. Damlatmaya renk kaybolmayıncaya kadar devam edilir.

Oleik asitteki çift bağıın İyot (Hübl Waller eriğı) ile gösterilmesi

Deneyin Prensibi: Doymamış yağ asitlerindeki çift bağların halojenlerden iyot ile doyurulması esasına dayanır.

Deneyin Yapılışı:

Bir deney tüpü içerisine birkaç damla kloroformda eritilmiş oleik asit, bunun üzerine birkaç damla Hübl Waller I (Alkolde hazırlanmış iyot çözeltisi) ve birkaç damla Hübl Waller II (alkolik süblime) çözeltisi (katalizör) konursa kahve rengi kaybolur. İlave edilen iyot burada çift bağa girer ve renk kaybolur.

Sütün Yağıının Alınması Deneyi

Uygulamanın Prensibi: Yağların organik çözücüler kullanılarak çözüldüğünü göstermektir.

Deneyin Yapılışı:

Bir deney tüpüne 5 ml yağlı süt konulur üzerine 2 ml NaOH çözeltisi ve 4 ml eter eklenir karıştırılır daha sonra bir süre beklenir. Üst faz dikkatli bir şekilde behere aktarılır ve küçük bir kağıt daldırılır. Eter kağıtta yükselir ancak sonra kurur sonunda kağıt eter fazında bulunan yağdan dolayı saydam hale gelir.

Uygulamanın adı	Ester Oluşumu Deneyi, Salkowski Deneyi,
Yapılacağı hafta	9. hafta
Uygulamanın temel hedefi	Ester oluşumu deneyi, yağ asitlerinin esterleşme özelliklerini gösteren bir deneydir. Salkowski deneyi, kolesterolün 3. C atomuna bağlı OH grubu ile sülfürik asit arasında ester bağı oluşması esasına dayanır.
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	Etil alkol, Asetik asit, Sülfürik asit, Kloroformda kolesterol çözeltisi
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	Laboratuvar önlüğü, laboratuvar gözlüğü, tahta maşa, eldiven

UYGULAMA BİLGİSİ

Ester Oluşumu Deneyi

Deneyin Prensibi: Yağ asitlerinin esterleşme özelliklerini gösteren bir deneydir. Bir katalizör varlığında asitler alkollerle birleşerek ester oluştururlar.

Deneyin Yapılışı:

Bir deney tüpüne 1 ml etil alkol, 1 ml asetik asit ve 1 ml yoğun sülfürik asit konulur ve birkaç dakika beklenir. Karışım içerisinde su bulunan behere dökülürse asetik asit ile etil alkol arasında ester bağı oluşması nedeniyle asetik asidin iğneleyici kokusu yerine etil esterinin hoş meyve esansı kokusu hissedilir.

Salkowski Deneyi

Deneyin Prensibi: Kolesterolün 3. C atomuna bağlı OH grubu ile sülfürik asit arasında ester bağı oluşması esasına dayanır.

Deneyin Yapılışı:

Kloroformda hazırlanan kolesterol çözeltisinden 1 ml bir deney tüpüne alınır üzerine 1 ml yoğun sülfürik asit ilave edilir ve kloroform kırmızıya boyanır asit ise sarı-yeşil floresans gösterir.

Uygulamanın adı	Gmelin Deneyi, Fouchet Deneyi, Rosin Deneyi, Pettenkofer Deneyi
Yapılacağı hafta	10. hafta
Uygulamanın temel hedefi	Safra renkli maddeleri göstermek
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	Nitrik asit, Tüten nitrik asit, Safra, İdrar, Baryum klorür, Süzgeç kağıdı, Fouchet ayracı, İyot, Fizyolojik tuzlu su, Sülfürik asit, Sakkaroz çözeltisi
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	Laboratuvar önlüğü, laboratuvar gözlüğü, tahta maşa, eldiven

UYGULAMA BİLGİSİ

Gmelin Deneyi

Deneyin Prensibi: Bilirubin nitrik asit tarafından oksitlenmesi ile renkli halkalar oluşur.

Deneyin Yapılışı:

Bir deney tüpüne 1-2 ml nitrik asit ile 2-3 damla tüten nitrik asit ilave edilir. Tüp eğri tutulmak suretiyle sulandırılmış safra ilave edilirse yeşil, mavi, menekşe, kırmızı renkli halkalar oluşur.

Fouchet Deneyi

Deneyin Prensibi: İdrarda bulunan sülfatlar baryum klorür ile baryum sülfat şeklinde bir bulanıklık verirler. Baryum Sülfat adsorban özelliktedir. İdrardaki bilirubini tutar ve süzgeç kağıdından geçemezler. Daha sonra beyaz bir zemin üzerine açılan süzgeç kağıdına fouchet ayracı damlatılırsa bilirubin bu ayraktaki demir klorür ile biliverdine ve bilipurpurine oksitlenir. Buda yeşil sarı mavi renkli halkaların oluşumuyla kontrol edilir.

Deneyin Yapılışı:

Bir deney tüpüne 5 ml idrar üzerine 1 ml baryum klorür çözeltisinden konular karıştırılır ve süzgeç kağıdından süzülür. Süzgeç kağıdı beyaz bir zemin üzerine yayılır ve üzerine bir damla fouchet ayracı damlatılır. Yeşil mavi rengin oluşumu bilirubin varlığını gösterir.

Rosin Deneyi

Deneyin Prensibi: Bilirubin oksitlenerek biliverdine dönüşmesi esasına dayanır.

Deneyin Yapılışı:

Çok sulandırılmış safradan bir deney tüpüne 2 ml konular üzerine % 1'lik (alkol ile hazırlanmış) iyot eriyiği ile tabaka yapılırsa bir dakika içerisinde temas yüzeyinde safra renkli maddesinin oksidasyonu dolayısıyla yeşil renkte bir halka oluşur.

Pettenkofer Deneyi

Deneyin Prensibi: Yoğun sülfürik asit etkisiyle sakarozdan oluşan furfural yine sülfürik asit karşısında safra asitleriyle reaksiyona girerek renkli bir madde oluşturur.

Deneyin Yapılışı:

Bir deney tüpüne fizyolojik tuzlu su ile sulandırılmış safradan 2 ml konulur üzerine 4 ml yoğun sülfürik asit ilave edilir. Tüp musluk altında soğutulur ve sonra birkaç damla % 10'luk sakaroz eriyiğinden damlatılıp hafifçe ısıtılırsa koyu kiraz rengi oluşur.

Uygulamanın adı	Katalaz Deneyi, Üreaz Deneyi,
Yapılacağı hafta	11. hafta
Uygulamanın temel hedefi	Organik materyallerde enzimlerin varlığını göstermek
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	Kan, Hidrojen peroksit, Karaciğer, Üre, Fenolftaleyn, Üreaz, İdrar, HgCl ₂ , Amonyum sülfat, Sodyum nitroprussit, Amonyak
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	Laboratuvar önlüğü, laboratuvar gözlüğü, tahta maşa, eldiven

UYGULAMA BİLGİSİ

Katalaz Deneyi

Deneyin Prensibi: Katalaz Hidrojen peroksitin su ve moleküler oksijene parçalanmasını katalize eder. Organik katalizördür.

Deneyin Yapılışı:

- Kan ile: Bir deney tüpüne 1-2 damla kan alınır ve 2-3 ml su ile sulandırılır sonra karışım iki tüpe bölünür. Birinci tüp bir süre ısıtılır sonra soğutulur ve her iki tüpe de birkaç damla % 3'lük hidrojen peroksit ilave edilir ve moleküler oksijenden ileri gelen köpürme yönünden deney tüpleri kontrol edilir.
- Karaciğer ile: Bir deney tüpüne 0,5 gr karaciğer konulur ve 10 ml su ilave edilir karıştırılır sonra iki deney tüpüne ayrılır. Birinci tüp kaynatılır daha sonra her iki tüpe de birkaç damla % 3'lük hidrojen peroksit ilave edilir ve moleküler oksijenden ileri gelen köpürme yönünden deney tüpleri kontrol edilir.

Üreaz Deneyi

Deneyin Prensibi: Üreaz sebzelerin tohumlarında bol miktarda bulunmaktadır. 4500 aminoasit içerir. Üreaz üreyi amonyak ve karbondioksit parçalar. Oluşan amonyak ve karbondioksit çözelti içerisinde amonyum karbonat oluşturur.

Deneyin Yapılışı:

Bir deney tüpüne 3 ml üre eriyiği konulur üzerine 3 damla fenolftaleyn ilave edilir. Karıştırılır ve üzerine 3 ml üreaz çözeltisi eklenir, önce renksiz olan karışım birkaç dakika sonra üreazın etkisiyle parçalanarak üreden oluşan amonyaktan dolayı kırmızı renk oluşur. Aynı deney kaynatılmış üreaz, üre yerine idrar ve HgCl₂ çözeltisi ilavesiyle 3 ayrı şekilde de tekrarlanır pozitiflik kontrol edilir.

Ortamın pH'sının enzim aktivitesi üzerine etkisi

Deneyin Prensibi: Enzimle katalizlenen reaksiyonlar ortamın pH'sı, sıcaklığı, aktivatör veya inhibitör varlığından etkilenirler. Farklı pH'lara sahip tampon solüsyonları ile seyreltilen tükürük çözeltisinin nişastayı hidrolizleme hızının iyot çözeltisi ile takip edilmesi.

Deneyin Yapılışı:

Bir deney tüpüne 5 ml. kadar nişasta süspansiyonu alınır. Üzerine 1 damla iyot çözeltisi veya dilüe lügol) eklenerek mavi rengin oluşması sağlanır. Daha sonra bu karışım ikinci bir tüpte toplanmış ve farklı pH'lara tampon çözeltileri kullanılarak seyreltilen tükürük üzerine eklenip karıştırılır ve 37 santigrat derecelik bir su banyosunda kendi haline bırakılır. Nişasta hidrolizi ile mavi rengin kaybolma süreleri uygulanan her pH için kaydedilir. Böylece enzimin optimum çalıştığı pH aralığı belirlenmiş olur.

Uygulamanın adı	Biüret Deneyi, Ksantoprotein Deneyi, Ninhidrin Deneyi
Yapılacağı hafta	12. hafta
Uygulamanın temel hedefi	Proteinleri ve aminoasitler varlıklarını göstermek
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	Protein Çözeltisi, NaOH, CuSO ₄ , Üre, Kırmızı turnusol kağıdı, Nitrik asit, Amonyak, % 0,1'lik ninhidrin eriyiği
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	Laboratuvar önlüğü, laboratuvar gözlüğü, tahta maşa, eldiven

UYGULAMA BİLGİSİ

Biüret Deneyi

Deneyin Prensibi: Proteinler ve aminoasitler varlıklarının gösterilmesinde ve incelenmesinde çok kullanılan renk reaksiyonlarını verirler. Biüret deneyi peptit bağlarının varlığının gösterilmesinde kullanılır. Bakır Sülfat 2 yada daha fazla peptit bağı taşıyan maddelerle alkali ortamda reaksiyona girerek menekşe renkli kompleks oluştururlar. Bu kompleksin adı biürettir ve deney aynı isimle anılır. En az iki peptit bağının bulunması gerekli olduğundan serin, treonin ve histidin dışındaki aminoasitler ile dipeptitler bu reaksiyonu vermezler. Serum gibi biyolojik sıvılarda kantitatif protein tayininde kullanılır.

Deneyin Yapılışı:

Protein çözeltisi ile: Bir deney tüpüne 1 ml protein çözeltisi 1 ml % 10'luk NaOH konup karıştırılır. Üzerine birkaç damla % 0,1'lik CuSO₄ çözeltisi eklenirse menekşe renk oluşur.

Üre ile: Üre distile suda çözülerek deney gerçekleştirilir ve sonuç kaydedilir.

Bir deney tüpüne bir spatül ucu üre konulur ve tüp ısıtılarak üre eritilir. Isıtmaya devam edilerek tekrar katılaşması sağlanır. Isıtma sırasında ıslatılmış kırmızı turnusol kağıdı tüpün ağzına tutulacak olursa çıkan amonyak buharı nedeniyle maviye döner. Tüp kendi haline bırakılarak soğutulur. Üzerine 5 ml distile su ilave edilir ve çalkalanarak eritilir. Başka bir deney tüpüne bu çözeltiden 1 ml alınır üzerine 1 ml % 10'luk NaOH çözeltisi ilave edilir ve çalkalanarak birkaç damla %0,1'lik CuSO₄ çözeltisi eklenirse menekşe renk görülür.

Ksantoprotein Deneyi

Deneyin Prensibi: Aromatik halka taşıyan bileşikler Nitrik asit ile sarı renkli nitro veya nitrozo bileşikleri oluştururlar. Bu sarı renk alkali ortamda daha da koyulaşır. Tirozin, triptofan, fenilalanin, histidin ve yapılarına girdikleri proteinler bu reaksiyonu pozitif verirler.

Deneyin Yapılışı:

Bir deney tüpüne 1 ml protein çözeltisi ve üzerine 1 ml nitrik asit konulur. Beyaz bir çökelek oluşur. Tüp ısıtılırsa renk sararır. Tüp soğutulduktan sonra 2 ml amonyak ilave edilir ve portakal sarısı renk oluşur.

Ninhidrin Deneyi

Deneyin Prensibi: Bir alfa aminoasit güçlü bir oksitleyici olan ninhidrin ile kaynatılırsa menekşe rengi görülür. Bu şartlar altında proteinlerle polipeptidler pozitif reaksiyon verirler. Aminoasitler ninhidrin ile kaynatıldıklarında aminoasidin oksidatif dezaminasyonu ve dekarboksilasyonu meydana gelir. Reaksiyonda bir C atomu eksik aldehit ile CO₂ ve NH₃

oluşur. Diğer taraftan ninhidin eşdeğer miktarda hidrindantine indirgenir. İkinci bir aşamada ise bir molekül ninhidrin 1 molekül hidrindantin ve 1 molekül amonyak reaksiyona girerek mavi renkli bileşik oluştururlar. Reaksiyonda oluşan CO_2 ve NH_3 miktarı ölçülerek aminoasit miktarı tayin edilebilir.

Deneyin Yapılışı:

Bir deney tüpüne 1 ml protein çözeltisi alınır ve üzerine 5 damla % 0,1'lik ninhidrin eriyiğı ilave edilir. Karışım ısıtılır ve musluk altında soğutulur ve menekşe rengi görülürse reaksiyonun pozitif olduğunu gösterir.

Uygulamanın adı	Aminoasit Kükürdünün Gösterilmesi, SH Gruplarının Varlığının Gösterilmesi
Yapılacağı hafta	13. hafta
Uygulamanın temel hedefi	Amino asitlerde S ve SH gruplarının varlığının göstermek
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	Protein çözeltisi, NaOH, Kurşun Asetat, Asetik asit, Çinko tozu, Süzgeç kağıdı, Amonyak, Sodyum Nitroprussit
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	Laboratuvar önlüğü, laboratuvar gözlüğü, tahta maşa, eldiven

UYGULAMA BİLGİSİ

Aminoasit Kükürdünün Gösterilmesi

Deneyin Prensibi: Sistin, Sistein ve Metiyonin gibi S içeren aminoasitler veya bunların bulundukları proteinler kuvvetli bazik bazik çözeltiler içinde ısıtılırsa moleküldeki kükürt reaksiyona girerek sülfid oluşturur. Bundan sonra kurşun asetat eklenirse kurşun sülfid oluşur.

Deneyin Yapılışı:

Bir deney tüpüne 3 ml protein çözeltisi üzerine 1 ml % 40'lık NaOH ve 1-2 damla % 5'lik kurşun asetat eklenir. 3 dakika kaynar su banyosunda ısıtılırsa kahverengi siyah tortunun oluştuğu gözlenir.

SH gruplarının Varlığının Gösterilmesi

Deneyin Prensibi: Reaksiyon sistinin indirgenmesiyle oluşan serbest sülfidril gruplarının varlığının gösterilmesini sağlar. Glutasyonda pozitif sonuç verir.

Deneyin Yapılışı:

Bir deney tüpüne 2-3 ml protein çözeltisi üzerine 1 ml asetik asit konur. Bir spatül ucu çinko tozu ilave edilir. Sonra süzülür. Üzerine 0,5 ml amonyak ve 0,5 ml sodyum nitroprussit ilave edilir. Kirlili sarı rengin oluşması deneyin pozitif olduğunu gösterir.

Uygulamanın adı	Van Slayke Deneyi, Protein Çöktürme Deneyleri
Yapılacağı hafta	14. hafta
Uygulamanın temel hedefi	Amino asitlerde dezaminasyon reaksiyonunu ve proteinlerin çökmesini göstermek
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	NaNO ₂ , Asetik Asit, Glisin, Protein çözeltisi, Etil alkol, Sülfosalisilik asit, Nitrik asit, Esbach ayracı
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	Laboratuvar önlüğü, laboratuvar gözlüğü, tahta maşa, eldiven

UYGULAMA BİLGİSİ

Van Slayke Deneyi

Deneyin Prensibi: Aminoasitlerden amino grubunun uzaklaştırılmasına dezaminasyon adı verilir. Deneyde NaNO₂ ile glisinden amino grubunun ayrılması ile bir oksit NaOH ve N gazı oluşur.

Deneyin Yapılışı:

Bir deney tüpüne 3 ml NaNO₂ üzerine 3 ml asetik asit ilave edilir karıştırılır ve 2 ml % 1,5'luk glisin çözeltisi eklenip lastik tıpa ile kapatılır karıştırılırsa gaz olduğu gözlenir.

Protein Çöktürme Deneyleri

Deneyin Prensibi: Proteinler suda çözünmüş şekilde bulunması su moleküllerinin dipol karakteri ile ilgili olup su molekülleri proteinlerin veya aminoasitlerin etrafını kuşatarak onları çözünmüş formda tutarlar. Böyle bir çözeltiye ısı uygulanırsa ısının vereceği enerji ile proteinleri kuşatan su molekülleri ve protein arasında şekillenen zayıf bağlar ortadan kalkar ve çözeltide bulanıklaşma görülür. Buna pıhtılaşma adı verilir. Burada proteinler sol halinden jel haline geçmiş olur. Koagule olan bu proteinler beklemekle tüpün dibine çökerler.

Deneyin Yapılışı:

-Isı ile çöktürme: Bir deney tüpüne 1 ml protein çözelti konup ısıtılır. Denaturasyon sonucu proteinlerin çöktüğü gözlenir.

- Etil alkol ile: Bir deney tüpüne 1 ml protein çözeltisi üzerine 2 ml etil alkol konulursa proteinlerin kısmen çöktüğü gözlenir. Bu karışımın yarısı bir tüpe alınıp hemen su ilave edilirse tortunun eridiği görülür. Diğer yarısı bir süre geçtikten sonra su ilave edilirse denatüre olmuş proteinin erimeyeceği gözlenir.

-Sülfosalisilik asit ile: Bir deney tüpüne 1 ml protein çözeltisi üzerine % 10'luk sülfosalisilik asit çözeltisi ilave edilirse beyaz bir tortu oluşur.

-Nitrik asit ile: Bir deney tüpüne 1 ml protein çözeltisi üzerine tabaka yaptırılarak 1 ml nitrik asit ilave edilirse beyaz bir halka oluşur (Heller halkası).

- Esbach ayracı ile: deney tüpüne 1 ml protein çözeltisi üzerine 1ml esbach ayracı ilave edilir ve karıştırılır. Sarı bir tortu oluşur.

Uygulamanın adı	Uygulama Sınavı
Yapılacağı hafta	15. hafta
Uygulamanın temel hedefi	
Kullanılacak materyal ve malzeme adı	
Gerekli olan güvenlik uygulamaları	

UYGULAMA BİLGİSİ

NOTLAR / SORULAR

NOTLAR / SORULAR

NOTLAR / SORULAR