



**YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ**  
**MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK BÖLÜMÜ**  
**MBG3011- BİYOKİMYA 1 DERSİ**  
**2021-2022 GÜZ YARIYILI**

**MBG3011-BİYOKİMYA 1 DERSİ**  
**LABORATUVAR FÖYÜ**  
**2021-2022 GÜZ YARIYILI**

## LABORATUVARDA UYULMASI GEREKEN KURALLAR

Öğrenci laboratuvarında uyulması gereken kurallar, eleman ve ekipman güvenliği, zamanın önemi, çeşitli madde ve malzemelerin ekonomik kullanımı, güvenli sonuç eldesi ve verilerin doğru yorumlanmasını sağlamaya yönelik tedbirlerden oluşmaktadır.

### Genel Kurallar

- 1- Laboratuvarlarda mutlaka beyaz önlüklerle çalışılmalıdır.
- 2- Uzun saçlar toplanmalı;
- 3- Terlik, sandalet türü malzemeler yerine her tarafı kapalı ayakkabı giyilmeli;
- 4- Laboratuvar içinde sigara, yiyecek, meşrubat vb. kullanımına izin verilmemeli
- 5- Laboratuvardaki soğutucu, dondurucu ve diğer dolaplara gıda konulmamalı;
- 6- Şakalaşma, müzik dinleme ve benzeri amaç dışı hareketlerden kaçınılmalı;
- 7- Temizliğe ve laboratuvar düzenine riayet edilmelidir. Kullanılan malzeme tekrar yerli yerine yerleştirilmeli;
- 8- Hiçbir kimyasal maddeye elle dokunulmamalı ve koklanmamalı;
- 9- Reaktif kapları sürekli kapalı tutulmalı;
- 10- Yeni hazırlanan reaktiflerin üzerine etiketleme yaparak hazırlama tarihi, hazırlayanın adı/ soyadı ve biliniyorsa son kullanma tarihi yazılmalı;
- 11- Çalışma sırasında kirli ve temiz maddeler birbirine karıştırılmamalı;
- 12- Reaktifler ve kimyasal maddeler uygun şartlarda saklanmalı;
- 13- Bozulan ve tarihi geçen reaktifler kullanılmamalı;
- 14- Bütün çalışmalarda distile su kullanılmalı;
- 15- Her çalışmadan sonra eller sabunlu su ile yıkanmalı;
- 16- Yanıcı ve tahriş edici maddelerin cilt ile temasında gecikmeden bol su ile yıkanmalı ve görevlilere haber verilmeli;
- 17- Cihazları kullanmadan önce, sözlü veya yazılı uyarılar dikkate alınmalı;
- 18- Malzeme ve cihazları kullanırken son derece itina gösterilmeli her bir cihaz usulüne uygun tarzda dikkatlice kullanılmalı;
- 19- Elektrikli cihazlar nem, toz ve doğrudan güneş ışığından korunmalı, ayrıca cihazlara ait dengelerin bozulmamasına dikkat edilmeli;
- 20- Hijyen şartlarına azami dikkat gösterilmelidir. Özellikle rutin laboratuvarlarda kan ve kan ürünleri ile yapılan çalışmalarda enfeksiyon riskinin oldukça yüksek olduğu unutulmamalıdır. Derideki çok ufak çatlaklardan virütik veya bakteriyel enfeksiyon kapmak mümkündür. Bu yüzden rutin çalışmalarda devamlı eldivenle çalışılmalıdır. Kan ve kan ürünleri ile herhangi bir şekilde temas olursa eller antiseptik bir madde ile yıkandıktan sonra bol sabunlu su ve ardından çeşme suyu ile yıkanmalıdır. Yine kan örneklerinin işlendiği cam malzemelerin mümkünse steril edildikten sonra kullanılmalıdır.
- 21- Ağızla pipetleme yapılmamalı;
- 22- Kullanılmış pipet, baget, lam, lamel gibi eşyalar içinde örneğin %3 lizol gibi dezenfektan madde bulunan kaplara konmalı, masaların üzerinde kesinlikle bırakılmamalı;
- 23- İnfeksiyöz sıvılar, içinde dezenfektan bulunan kaplara dökülmeli, kesinlikle lavabolara dökülmemeli;
- 24- Yere ve masanın üzerine infeksiyöz madde döküldüğünde derhal laboratuvar sorumlusuna haber verilmelidir. Sorumlu kişi dökülen yerin üzerine de dezenfektan madde dökerek silinen dek bekletilmesini sağlayacaktır.
- 25- Yüze ve göze infeksiyöz madde sıçradığında veya mikroplu aletle yaralanma durumunda laboratuvar sorumlusuna haber verilmelidir. Bu bölgenin önce, zaman

yitirilmeden, bol su ve sabunla yıkanması, daha sonra buraya antiseptik bir madde sürülmesi gerekmektedir. Koruyucu antibiyotik kullanımı için hekime başvurulmalıdır.

- 26- Tüm laboratuvar çalışmalarında azami dikkat hassasiyet ve ciddiyet gösterilmelidir. Çalışma esnasında laubali hareketlerden gürültü ve şakalaşma gibi tavırlardan kaçınılmalıdır.

### **Laboratuvarda Düzen**

1. Gruplar kendi içinde görev dağılımı yaparlar;
2. Çalışma ortamı her ihtimale karşı deterjan ya da antiseptik madde ile temizlenir, kurulur;
3. Her öğrenci kendine düşen görevi yaparak deney ortamını hazırlar;
4. Deneylerde başarılı sonuç alınıncaya kadar tekrar edilir;
5. Uygulama sonunda eller dezenfeksiyon veya nötralizasyon amacıyla mutlaka yıkanır.

### **Laboratuvardan Ayrılış**

Deney çalışmaları tamamlandıktan sonra yapılacak başlıca işlemler aşağıdaki gibi sıralanır:

1. Deney bitiminde verilerin eksiksiz ve güvenli olarak alınıp alınmadığı kontrol edilmeli, rapor hazırlanıp laboratuvar sorumlusuna onaylatılmalı;
2. Çalışma ortamı, aynı çalışma aynı malzemelerle yeniden çalışma yapılabilecek şekilde terk edilmeli;
3. Laboratuvardan ayrılırken bireysel malzemeler bırakılmamalı;
4. Kit ve kimyasal maddeler kontrol edildikten sonra yerlerine yerleştirilmeli;
5. Birbirine karışmış içindeki madde bilinmeyen maddeler ve kırık ve çatlak malzemeler laboratuvar sorumlusuna bildirilerek kullanım dışı bırakılmasını sağlamak;
6. Elektrikli aletlerden sürekli çalışanlar dışındakilerin fiş-priz bağlantıları kesilmeli, bu araçlar temizlenmeli, üstleri kapatılmalı,
7. Laboratuvara girilince açılmış olan pencere vb havalandırma alanları, lamba, vantilatör ve musluk ve benzeri kapalı konumuna getirilmelidir.



**YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ**  
**MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK BÖLÜMÜ**  
**MBG3011- BİYOKİMYA 1 DERSİ**  
**2021-2022 GÜZ YARIYILI**

**DENEYLER VE SORUMLU ÖĞRETİM ELEMANLARI**  
**BİYOKİMYA DERSİ KOORDİNATÖRÜ**

<b>DENEY ADI</b>	<b>SORUMLU ÖĞRETİM ÜYESİ</b>	<b>SORUMLU ÖĞRETİM ELEMANLARI</b>
Laboratuvara giriş ve grupların oluşturulması	Doç. Dr. Banu Mansuroğlu-Dr. Öğr. Üyesi Emel Ordu	Arş. Gör. Fatma Şayan Poyraz Arş. Gör. Emre Aktaş
Çözelti Hazırlanması	Doç. Dr. Banu Mansuroğlu-Dr. Öğr. Üyesi Emel Ordu	Arş. Gör. Fatma Şayan Poyraz Arş. Gör. Emre Aktaş
pH Kavramı ve Tampon Çözeltisi	Doç. Dr. Banu Mansuroğlu-Dr. Öğr. Üyesi Emel Ordu	Arş. Gör. Fatma Şayan Poyraz Arş. Gör. Emre Aktaş
Spektrofotometre	Doç. Dr. Banu Mansuroğlu-Dr. Öğr. Üyesi Emel Ordu	Arş. Gör. Fatma Şayan Poyraz Arş. Gör. Emre Aktaş
Aminoasitlere özgü reaksiyonlar	Doç. Dr. Banu Mansuroğlu-Dr. Öğr. Üyesi Emel Ordu	Arş. Gör. Fatma Şayan Poyraz Arş. Gör. Emre Aktaş
Proteinlere özgü reaksiyonlar	Doç. Dr. Banu Mansuroğlu-Dr. Öğr. Üyesi Emel Ordu	Arş. Gör. Fatma Şayan Poyraz Arş. Gör. Emre Aktaş
Karbohidratlara özgü reaksiyonlar	Doç. Dr. Banu Mansuroğlu-Dr. Öğr. Üyesi Emel Ordu	Arş. Gör. Fatma Şayan Poyraz Arş. Gör. Emre Aktaş



**YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ**  
**MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK BÖLÜMÜ**  
**MBG3011-BİYOKİMYA 1 DERSİ**  
**2021-2022 GÜZ YARIYILI**

## Deney 1

### Çözelti Hazırlanması

**1.1 DENEYİN AMACI:** Çözelti hazırlama yöntemlerinin ve konsantrasyon birimlerinin öğretilmesi.

#### 1.2 TEORİK BİLGİ

İki veya daha fazla maddenin meydana getirdiği homojen karışımlara “**Çözelti**” denir. Çözeltilerdeki dağılma ortamına çözücü veya çözen, dağılan maddeye de çözünen adı verilir. Bir maddenin çözünürlüğü bir çözücü içerisinde belli sıcaklık ve basınçta çözünen maksimum miktarına göre belirlenir. Katı veya sıvı bir maddenin çözünürlüğü 100 gr çözücü içinde çözünen maddenin gram cinsinde ağırlığı cinsinden ifade edilir. Çözünen madde miktarı az ise çözelti seyreltik çözelti, çok ise konsantre (derişik) çözelti adını alır.

Çözücünün çözebileceğinden daha az madde içeren çözeltilere doymamış çözeltiler denir. Eğer madde çözünürlük sınırına kadar çözülmüş ise, böyle çözeltilere doymuş çözelti denir.

Çözücü ve çözünenine göre kimyada en çok kullanılan çözeltiler şunlardır:

- **Sıvı içinde sıvı:** Su-alkol çözeltisi
- **Sıvı içinde katı:** Tuzlu su çözeltisi
- **Sıvı içinde gaz:** Sulu amonyak çözeltisi

Herhangi bir çözelti için belirli miktar çözücüde çözülmüş madde miktarına -derişim (konsantrasyon) denir ve “C” ile gösterilir.

$$C = \frac{m_{\text{Çözünen}}}{V_{\text{Çözelti}}}$$

Burada;

C = Çözeltinin derişim

$m_{\text{Çözünen}}$  = Çözünen miktarı

$V_{\text{Çözelti}}$  = Çözünen + çözücü miktarıdır.

Derişim çeşitleri hacim, kütle ve mol bazında olmak üzere gruplandırılır.

#### **Hacim Bazındaki Derişimler:**

- Molarite (M),
- Normalite (N),
- Hacimce -kütlece yüzde

#### **Kütle Bazındaki Derişimler:**

- Kütlece yüzde

- Molalite (M),
- Milyonda ( ppm ),
- Milyarda ( ppb )

### **Mol Bazındaki Derişimler:**

- Yüzde mol
- Mol kesri (daha çok fizikokimyasal büyüklükler için kullanılır)

### **Molar Çözeltiler**

Litresinde 1 mol madde bulunan çözeltilere “**Molar çözeltiler**” denir.

Molarite, 1 litre (1000 cm<sup>3</sup>=1000ml) çözeltide çözünen maddenin mol sayısıdır. Molarite M; çözünenin mol sayısı n ve çözeltilerin hacmi V, olmak üzere,

$$M = \frac{\text{Çözünenin mol sayısı}}{\text{Çözeltilerin hacmi}} = \frac{n}{V (L)} \text{ şeklinde ifade edilir.}$$

**Örneğin;** 1 M (veya 1 molar) sodyum klorür çözeltisi demek, bir litre çözeltide 1 mol yani 58,44 g NaCl bulunuyor demektir. Söz konusu NaCl çözeltisinin derişimi, 1 M, mol/L veya 1 molar terimlerinden herhangi biri ile ifade edilir.

### **Molar (m) Çözeltiler**

1000 gram çözücüde, çözünmüş maddenin mol sayısına denir ve m ile gösterilir. Molariteden en önemli farkı, çözücü ve çözünen miktarlarının bilinmesi fakat çözeltilerin hacminin bilinmemesidir. Örneğin 3 molal NaOH çözeltisi, 1000 gram suda 3 mol (3x40=120 g) NaOH çözümlenmesiyle hazırlanmış çözeltidir.

$$m = \frac{\text{Çözünen maddenin miktarı (mol)}}{\text{çözücü miktarı (kg)}}$$

**Örnek:** 120 g suda (120 ml suda) 12 g NaOH çözülmüştür. Bu çözeltilerin molalitesi nedir?

$$12 \text{ g NaOH} = (12/40) = 0,3 \text{ mol NaOH}$$

$$m = \frac{\text{çözünen madde (mol)}}{\text{çözücü (kg)}}$$

$$120 \text{ ml su} = 120 \text{ g su} = 0,120 \text{ kg su}$$

$$m = \frac{0,3}{0,120} = 2,5 \text{ molal}$$

### **Normalite (N)**

1 litre çözeltideki çözünen maddenin eşdeğerlik sayısı cinsinden ifadesine denir ve N ile gösterilir. Bu tür çözeltilerin hazırlanmasında eşdeğer kütlelerin hesaplanması önemli kısmını oluşturur.

**Eşdeğer ağırlık** ise, molekül kütlelerinin tesir değerliğine (valans) bölünmesiyle hesaplanır.

$$\text{Eşdeğer gram sayısı} = \frac{(\text{Çözünen}) \text{ Maddenin Kütlesi (m)}}{\text{Eşdeğer ağırlık (Ekivalen gram)}}$$

$$\text{Eşdeğer ağırlık (Ekivalen gram)} = \frac{\text{Molekül Kütlesi (M}_A\text{)}}{\text{Tesir (Etki) Değerliği (Valans) (t)}}$$

**Tesir Değerliği (t):** Asitlerin ortama verdiği H<sup>+</sup> iyonu sayısı, bazların ortama verdiği OH<sup>-</sup> iyonu sayısına tesir değerliği denir.

**Örneğin,** HCl, HNO<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>COOH gibi tek H<sup>+</sup> iyonu içeren **asitlerle** NaOH, KOH gibi tek OH<sup>-</sup> iyonu içeren bazlarda, ekivalen ağırlık formül ağırlığına eşittir (etki değeri 1). H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ise iki H<sup>+</sup> iyonu içerdiğinden, ekivalen ağırlık formül ağırlığının yarısına eşittir (etki değeri 2).

Tuzlarda ise tesir değerliği ortama verilen ya da ortamdan alınan elektron sayısına eşittir. Örneğin NaCl, AgNO<sub>3</sub> gibi tuzlarda ekivalen ağırlık formül ağırlığına eşittir (etki değeri 1). BaCl<sub>2</sub>, MgSO<sub>4</sub> gibi tuzlarda ise, ekivalen ağırlık formül ağırlığının yarısına eşittir (etki değeri 2).

Örnek: 100 ml derişik H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (%98'lik, d=1,84) 500 ml'ye seyreltilmiştir. Bu çözeltinin normalitesi nedir?

Önce 100 ml derişik sülfürik asitte kaç gram saf H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> bulunduğunu hesaplanır ve 108,32 g olarak bulunur.

$$d = \frac{M}{V} \rightarrow M = d \cdot V$$

$$M = 1,84 \times 100 = 184 \text{ g}$$

$$\frac{100}{98} = \frac{184}{X} \Rightarrow X = 180,32 \text{ g saf H}_2\text{SO}_4$$

Sülfürik asit suya 2 hidrojen verir. Dolayısıyla etkin değerliği 2'dir. Mol kütlesi ise 98'dir. Buna sülfürik asidin eşdeğer kütlesi 98/2=49 g olur. Bu durumda çözünen maddelerin eşdeğerlik sayısı (180,32 / 49) = 3,68, normalitesi ise (3,68 / 0,5) = 7,36 N olur.

### Yüzde Derişim

Çözeltinin 100 biriminde çözünen madde miktarına denir ve % işareti ile gösterilir. Ağırlıkça yüzde hacimce yüzde ve hacim - ağırlıkça yüzde olmak üzere üç şekilde ifade edilebilir.

### Ağırlıkça yüzde

100 Ağırlık birimi (g, kg, mg, ton vb. olabilir) çözeltide kaç ağırlık birimi çözünen olduğunu gösterir. Aşağıdaki eşitlik ile,

$$\text{Ağırlık yüzdesi} = \frac{\text{Çözünenin ağırlığı}}{\text{Çözeltinin ağırlığı}} \times 100 \text{ şeklinde ifade edilir.}$$

Örneğin ağırlıkça % 20'lik sodyum klorür çözeltisi demek 100 gram sodyum klorür çözeltisinin içinde 20 g katı sodyum klorür var veya 100 kg NaCl çözeltisinin içinde 20 kg katı NaCl var demektir.

### Hacimce yüzde

100 Hacim birimi (mL, L, m<sup>3</sup>, vb. olabilir) çözeltide kaç hacim birimi çözünen olduğunu gösterir. Aşağıdaki eşitlik ile,

Hacim yüzdesi=  $\frac{\text{Çözünenin hacmi}}{\text{Çözeltinin hacmi}} \times 100$  şeklinde ifade edilir.

Örneğin hacimce % 40'lik alkol çözeltisi demek, 100 ml alkol çözeltisinin içinde 40 ml saf alkol var veya 100 L alkol çözeltisinin içinde 40 L saf alkol var demektir.

### Hacim - ağırlıkça yüzde

100 Hacim birimi çözeltide kaç ağırlık birimi çözünen olduğunu gösterir. Aşağıdaki eşitlik ile,

Ağırlık- Hacim yüzdesi=  $\frac{\text{Çözünenin ağırlığı}}{\text{Çözeltinin hacmi}} \times 100$  şeklinde ifade edilir.

Katı maddenin sudaki çözeltileri için bu derişim ifadesi kullanılır.

Örneğin hacim ağırlıkça %20'lik sodyum klorür çözeltisi demek 100 ml NaCl çözeltisinde 20 g NaCl var veya 100 litre NaCl çözeltisinde 20 kg NaCl var demektir. Burada çözeltinin miktarı hacim biriminden, çözünen maddenin miktarı ise ağırlık biriminden ifade edilmelidir.

### Mol Kesri

Çözeltideki bir bileşenin mol sayısının, toplam mol sayısına oranı, o bileşenin *mol kesri* olarak tanımlanır ve X ile gösterilir.

Örneğin A,B,C ... bileşenlerinden oluşan bir çözeltideki,

$$\text{A bileşeni için mol kesri, } X_A = \frac{n_A}{n_A + n_B + n_C + \dots}$$

$$\text{B bileşeni için mol kesri, } X_B = \frac{n_B}{n_A + n_B + n_C + \dots} \text{ şeklinde yazılır.}$$

Çözeltideki bileşenlerin **mol kesirleri toplamı birdir** ve  $X_A + X_B + X_C + \dots = 1$  olarak ifade edilebilir.

### PPM ve PPB Çözeltiler

Bazen çok hassas analizlerde derişimler o kadar küçük olur ki birim olarak “ppm” veya “ppb” kullanılır.

**Milyonda (ppm):** Milyonda parça anlamında (ppm, İngilizce part per million kelimelerinin kısaltılmış şekli) bir derişim birimidir.

$$\text{ppm} = \frac{\text{Çözünenin mg miktarı}}{\text{Çözelti kg miktarı}}$$

**Örneğin,** 2 ppm Hg<sup>+2</sup> (civa) çözeltisi denildiğinde; 1 kg su örneğinde 2 mg civa bulunduğu anlaşılır.

$$\frac{2 \text{ mg}}{1 \text{ kg}} = \frac{2 \text{ mg}}{10^6 \text{ mg}} = 2 \text{ ppm} \text{ şeklinde yazılır.}$$

Çok seyreltik çözeltilerde; 1 kg çözeltinin hacmi, (suyun yoğunluğu 1g/ml = 1 kg/litre olduğundan) bir litredir. Buna göre çözeltilerde bu birim,



$$ppm = \frac{\text{Çözünenin madde miktarı}}{\text{Çözeltinin madde miktarı}} \text{ şeklinde ifade edilir.}$$

**Örneğin**, 20 ppm Fe, 1 litre çözeltide 20 mg Fe<sup>+2</sup> bulunuyor anlamındadır.

**Milyarda ( ppb )**: çok küçük derişimler için kullanılan diğer bir derişim birimidir. **ppb**, (İngilizce parts per billion kelimelerinin kısaltılmışı) kullanılır. Milyarda parça anlamına gelen ppb; litre çözücüde çözünen miktarının mikrogram cinsinden ifadesidir.

Buna göre;

$$ppm = \frac{\text{Çözünenin mg miktarı}}{\text{Çözeltinin ton miktarı}}$$

Veya

$$ppm = \frac{\text{Çözünenin ml miktarı}}{\text{Çözeltinin m}^3 \text{ miktarı}}$$

### Çözeltilerin Seyreltilmesi

Çözeltiler genellikle derişimi bilinen **stok** çözeltilerinden hazırlanır. Bunun için stok çözeltiden hesaplanarak alınan çözelti, istenen hacme göre seçilmiş balon jøjeye alınır ve üzerine hacmi belirten çizgiye kadar çözücü eklenir. Bu şekilde başlangıçtaki derişimden daha seyreltik çözelti hazırlanmış olur.

Seyreltme hesapları, stok çözeltiden alınan çözünen mol sayısı ile seyreltik çözeltideki çözünenin mol sayısının aynı olması esasına dayanır ve (stok derişimi) x (stok hacmi) = (istenen derişim) x (istenen hacim) şeklinde ifade edilir. Burada eşitliğin her iki tarafında derişim ve hacim birimlerinin aynı olmasına dikkat edilmelidir. Çoğu derişimler molarite ve normalite ile ifade edildiğinden,

Kısaca  $M_1V_1 = M_2V_2$  veya  $N_1V_1 = N_2V_2$  şeklinde yazılabilir.

$N_1, M_1, V_1$  normalite, molarite ve hacmin **ilk** değerleri,  $N_2, M_2, V_2$  ise normalite, molarite ve hacmin **son** değerleridir.

### 1.3 MATERYAL VE METOD:

**Deneyde Kullanılacak Malzemeler:** Hassas terazi, Spatül, Distile su, Tartım kabı, Piset, Mezür, 100 ml'lik erlen, 100 ml'lik çözelti şişesi, Manyetik karıştırıcı

#### Deneyin Yapılışı:

##### Hacimce %70'lik 50 ml alkol çözeltisi hazırlanması:

1. Çözünen madde miktarını uygun eşitlikleri kullanarak bulunuz.
2. Hesapladığımız miktar kadar alkolü mezür ile ölçünüz.
3. Pisetle bir miktar saf su ekleyip alkolün çözüncesini sağlayınız
4. Alkol tamamen çözündükten sonra piset yardımıyla toplam hacmi 50 ml'ye tamamlayınız

### **50 ml 2M NaOH çözeltisinin hazırlanması:**

1. Çözünen madde miktarını uygun eşitlikleri kullanarak bulunuz.
2. Hesapladığınız miktar kadar NaOH'i hassas terazide tartınız
3. NaOH'i erlene aktarınız.
4. Üzerine 50 ml su ilave ediniz.
5. Manyetik karıştırıcı homojen hale gelene kadar karıştırınız.
6. Çözeltinizi temiz ve kuru olan uygun çözelti şişesine aktarınız.

### **50 ml 1 M HCl çözeltisinin hazırlanması:**

1. Hesaplanan miktarda asit çözeltisi 50 ml su üzerine ilave edilir.
2. Homojen hale gelene kadar karıştırılır.
3. Çözelti temiz ve kuru olan uygun çözelti şişesine aktarılır.

### **Kaynaklar**

- Gökdemir, M.A.,Çözelti Hazırlama, pH ve Tampon Çözeltiler, 09.09.2017, Academia, <http://www.academia.edu.tr>
- Karadeniz Teknik Üniversitesi Deney Föyü, Çözelti Hazırlama, 09.09.2017, <http://www.ktu.edu.tr>
- Petrucci, Harwood, Herring, Çeviri : Tahsin Uyar,Serpil Aksoy, Çözeltiler , Cilt I-II, Palme Yayıncılık, Ankara.

# **RAPOR**

**Laboratuvar Sorumlusu İmza :**

## Deney 2

### pH Kavramı ve Tampon Çözeltiler

**2.1 DENEYİN AMACI:** pH ve tampon çözelti kavramlarının anlaşılması ve tampon çözelti hazırlanmasının öğrenilmesi.

#### 2.2 TEORİK BİLGİ

pH ilk kez 1909 da Sorensen tarafından hidrojen iyonu molar konsantrasyonunun negatif logaritması olarak tanımlandı.

$$pH = \log [H^+]$$

veya

$$[H^+ = 10^{-pH}]$$

25° C da saf su için

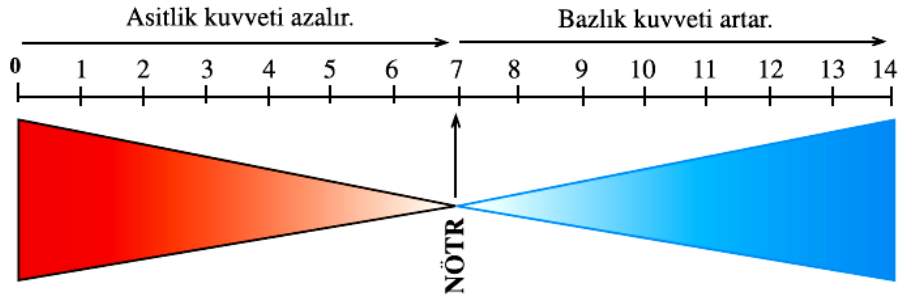
$$pH = -\log [H^+] = -\log 10^{-7} = -(-7) = 7 \text{ 'dir.}$$

pH değeri düştükçe  $[H^+]$  artar, pH değeri arttıkça  $[H^+]$  düşer. Asitler proton verici, bazlar proton alıcıdır. Kuvvetli asitler (HCl, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) çözeltilerinde tamamen iyonlaşmış durumdadırlar. Zayıf asitler ise çözeltilerinde kısmen iyonlaşmış durumdadırlar. Aynı durum bazlar için de geçerlidir. Vücut sıvılarının çoğu zayıf asittir.

##### 2.2.1 pH Metre:

Asit ya da bazların kuvveti pH değerleriyle tanımlanabilir. Maddelerin asitliğini ya da bazlığını gösteren ölçüğe pH metre denir. pH metre 0'dan 14'e kadar değer alır.

Buna göre çözeltiler pH metrede aşağıdaki gibi sınıflandırılabilir.



Aşağıdaki tabloda bazı maddelerin pH değerleri verilmiştir.

MADDE	pH
1M HNO <sub>3</sub>	0
Mide suyu	1,0-3,0
Limon suyu	2,4
Sirke	3,0
Portakal suyu	3,5
Domates	4,0- 4,4
İdrar	5,0-7,0

Tükürük	7,0-7,5
Hava ile temas etmemiş saf su	7
Kan	7,35 - 7,45
Gözyaşı	7,4
Deniz suyu	8,5- 10,0
Ev temizliği için kullanılan amonyak	11,5
1 M NaOH çözeltisi	14

### 2.2.2 Asit ve Bazların Kuvveti

Asitlerin kuvveti iyonlaşma yüzdelere bağlıdır. İyonlaşma yüzdesi arttıkça asitlik kuvveti artar. Bir asidin iyonlaşma yüzdesi, asitlik hidrojeninin moleküle bağlanma kuvveti ile ilişkilidir. Asitlik hidrojeninin moleküle bağlanma kuvveti ne kadar zayıf ise, molekülden o kadar kolay ayrılabilir (iyonlaşabilir). Suda çözüldüklerinde %100 ya da %100'e yakın iyonlaşabilen asitlere kuvvetli asit denir. Suda çözüldüklerinde çok az iyonlaşabilen asitlere zayıf asitler denir. Kuvvetli bir asit olan HCl, çözeltisinde tamamen iyonlaştığı için H<sup>+</sup> molar konsantrasyonu HCl molar konsantrasyonuna eşittir. Kuvvetli bir baz olan KOH çözeltisinde de OH<sup>-</sup> molar konsantrasyonu KOH molar konsantrasyonuna eşittir.

Asit ve bazın tepkimesi sonucunda ortamın nötr, asidik ya da bazik olduğunu anlamak için indikatör denen maddeler kullanılır. İndikatörler ortamın asidik ya da bazik oluşuna göre renk değiştirebilen maddelere denir. İndikatörler farklı pH değerlerinde çözeltiye farklı renkler verirler. Örneğin; pH'sı 6,6 - 8,2 olan bir çözeltiye fenol kırmızısı ilâve edilirse, çözelti portakal rengini alır. Çözeltinin pH'sı 6,6'dan küçük ise çözelti sarıya dönüşür.

Aşağıdaki tabloda bazı asit baz belirteçleri ve etkili olduğu pH aralıkları verilmiştir.

Belirteç (indikatör)	Renk		pH aralıkları
	Asitte	Bazda	
Timol mavisi	Kırmızı	Sarı	1,2 - 2,8
Metil oranj	Oranj	Sarı	3,1 - 4,4
Metil kırmızısı	Kırmızı	Sarı	4,2 - 6,3
Bromtimol mavisi	Sarı	Mavi	6,0 - 7,6
Kresol kırmızısı	Sarı	Kırmızı	7,2 - 8,8
Fenolftalein	Renksiz	Pembe kırmızı	8,3 - 10,0

### 2.2.3 Asit-Baz Titrasyonları, Nötrleşme

#### Nötrleşme

Asit ve bazların tepkimeye girerek tuz ve su oluşturmaları olayına nötrleşme denildiğini

Nötrleşmenin temelinde asitten gelen H<sup>+</sup> iyonu ile bazdan gelen OH<sup>-</sup> iyonunun birbirlerinin etkilerini yok ederek H<sub>2</sub>O'yu oluşturmaları yatar.



Asitlik      Bazlık      Nötr

Yukarıdaki denklemden de anladığımız gibi 1 mol H<sup>+</sup> iyonu 1 mol OH<sup>-</sup> iyonu ile tamamen birleşerek 1 mol su oluşturur. Bu durumda karıştırılan çözeltilerden gelen H<sup>+</sup> iyonu ile OH<sup>-</sup> iyonu sayısı, ortamın asitliği ya da bazlığını belirtir.

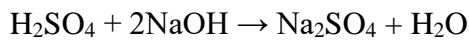
$n_{H^+} = n_{OH^-} \Rightarrow$  Çözelti nötrdür.  $pH = pOH = 7$

$n_{H^+} > n_{OH^-} \Rightarrow$  Çözelti asidiktir.  $pH < 7 < pOH$

$n_{H^+} < n_{OH^-} \Rightarrow$  Çözelti baziktir.  $pH > 7 > pOH$

**Örnek:** 0,5 M 400 mL NaOH çözeltisini tamamen nötrleştirebilecek 500 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltisinin molar derişimi kaçtır?

**Çözüm:** Önce H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ile NaOH arasındaki nötrleşme tepkimesini yazalım.



Denkleme göre, 1 mol H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2 mol NaOH ile tamamen nötrleşir. Elimizdeki NaOH'ın mol sayısı

$$n_{NaOH} = M_{NaOH} V_{NaOH} \Rightarrow n = 0,5 \times 0,4 = 0,2 \text{ mol'dür.}$$

1 mol H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	2 mol NaOH ile nötrleşirse
x	0,2

---

$x = 0,1$  mol H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ile nötrleşir.

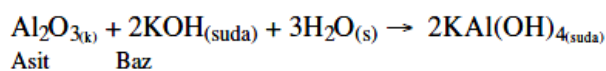
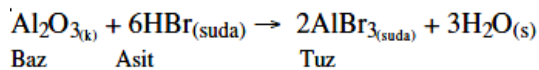
$$V_{H_2SO_4} = 500 \text{ mL} \quad n_{H_2SO_4} = M_{H_2SO_4} V_{H_2SO_4}$$

$$M_{H_2SO_4} = \frac{0,1}{0,5} = 0,2 \text{ mol/L}$$

## 2.2.4 Amfoterlik

Asitler karşısında baz, bazlar karşısında asit gibi davranabilen maddelere amfoter madde denir. Amfoter oksitler hem asidik hem de bazik özellik gösterebilen oksit bileşikleridir. Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, ZnO, BeO ve Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub> amfoter özellik gösterir.

Aşağıda Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Alüminyum oksit)in asit ve baz karşısındaki davranışı verilmiştir.

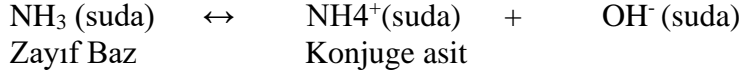
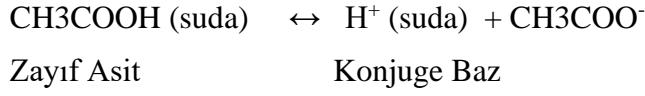


## 2.2.5 Tampon Çözeltiler

Tampon çözeltiler pH'sı belli olan seyrelmeyle veya az miktarda kuvvetli asit veya baz ilavesi ile pH sı değişmeyen çözeltilere denir. Bu nedenle biyokimyasal reaksiyonlarda hayati bir önem taşırlar. Organizmalarda pH değerinin çok az değişmesi bile hayatı tehdit eder. Dolayısıyla bütün organizmalar uygun bir metabolizma sağlamak için doğal olarak tamponlanmışlardır.

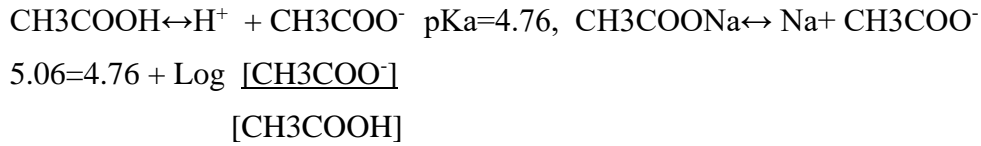
Tampon çözeltiler zayıf bir asit ile bu asidin kuvvetli bazdan oluşmuş tuzunu ya da zayıf bir baz ile bu bazın kuvvetli asitten oluşmuş tuzunu bir arada bulunduran çözeltilerdir.

### Örnek:



$$\text{pH} = \text{pKa} + \text{Log} \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]} \quad (\text{Handerson-Hasselbach Eşitliği})$$

**Örnek:** pH sı 5.06 olan 0.15 M Sodyum Asetat (CH<sub>3</sub>COONa) tampon çözeltisinin kompozisyonu nedir?



$$0.3 = \text{Log} \frac{[\text{CH}_3\text{COO}^-]}{[\text{CH}_3\text{COOH}]}$$

$$2 = \frac{[\text{CH}_3\text{COO}^-]}{[\text{CH}_3\text{COOH}]}$$

$$[\text{CH}_3\text{COO}^-] + [\text{CH}_3\text{COOH}] = 0.15 \text{ M} \rightarrow 0.1 \text{ M CH}_3\text{COONa} + 0.05 \text{ M CH}_3\text{COOH}$$

Sonuç olarak 0.5 litre 0.1 M CH<sub>3</sub>COONa ve 0.5 litre 0.05 M Asetik Asit karıştırılırsa 1 litre 0.15 M pH 5.06 Asetat tampon çözeltisi elde edilir.

### Tampon Kapasitesi

Bir tampon çözeltinin, pH'ında fazla değişme olmadan nötralleşebildiği H<sup>+</sup> yada OH<sup>-</sup> iyonları derişimine denir. Tampon kapasitesi "β" ile gösterilir. Bir tamponun kapasitesi yalnız konjuge asit-baz çiftinin toplam konsantrasyonuna değıldir. Konsantrasyonları oranı 1'den büyük veya küçük değırlere gittikçe tampon kapasitesindeki düşme artmaktadır. İyi bir tampon ;

-toksik olmamalı ,

-UV bölgede absorbsiyon vermemeli ,

-Biyolojik ve kimyasal olarak inaktif olmalı ,

-pKa değıeri sıcaklıkla ve iyon şiddetiyle minimum düzeyde değışmelidir.

Hazırlanan tampon çözeltinin eklenen asit ya da baza karşı tamponlama yaparak pH değışimine karşı koyabileceğı pH aralığı aşığıdaki şekilde hesaplanır.

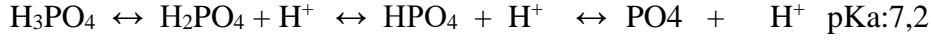
$$\text{pH kapasitesi} = \text{pKa} \pm 1$$

## 2.3 MATERYAL VE METOD

**Kullanılacak Malzemeler:** Distile su, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, NaCl, hassas terazi, spatül, tartım kabı, mezür, erlen, çözelti şişesi, beher, manyetik karıştırıcı, pH metre.

### **Deneyin Yapılışı:**

#### **100 ml 0,01M pH 7,4 Fosfat Tamponu Hazırlanması**



1. H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> kaynağı için NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, HPO<sub>4</sub> kaynağı için ise Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> kullanılacaktır.
2. 0,01 M olacak şekilde NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> ve NaCl değerleri hesaplanır, hassas terazide tartılır.
3. Tartılan maddeler erlene aktarılır ve üzerine 100 ml distile su eklenerek manyetik karıştırıcıda karıştırılır.
4. Maddeler tamamen çözünüp, homojen çözelti elde edildikten sonra pH 7,4'e ayarlanır.

### **Kaynaklar**

-Analitik Kimya, Doç. Dr. İnci Biryol, Ankara, 1987

-R.H.Petrucci,W.S. Harwood., "Genel Kimya Laboratuvar Kitabı", Palme Yayıncılık



# **RAPOR**

**Laboratuvar Sorumlusu İmza :**

## Deney 3 Spektrofotometre

**3.1 DENEYİN AMACI:** Bir çözelti içerisinde miktarı bilinmeyen bir örneğin UV-görünür bölge soğurma davranışından faydalanarak nicel analizini yapmak ve miktarını belirlemek.

### 3.2 TEORİK BİLGİ

Spektroskopi; en basit şekilde, ışık(bazı sistemlerde ses veya elektron) ve madde arasındaki etkileşimin dalga boyunun veya frekansın bir fonksiyonu olarak incelenmesidir. Diğer bir tanımla bir örnekteki atom, molekül veya iyonların bir enerji düzeyinden diğerine geçişleri sırasında absorplanan veya yayılan elektromanyetik ışımının, ölçülmesi ve yorumlanmasına **spektroskopi** denir. Atom, molekül veya iyonun elektromanyetik ışımaya ile etkileşimi sonucu dönme, titreşim ve elektronik enerji seviyelerinde değişiklikler spektroskopinin temelini oluşturur. Elektromanyetik ışımının organik moleküller tarafından soğurulması, moleküldeki atomların türüne, düzenlenmesine, moleküllerin şekline, büyüklüğüne vb. özelliklere bağlı olduğundan, spektroskopik yöntemlerle bu moleküllerin yapıları aydınlatılabilir.

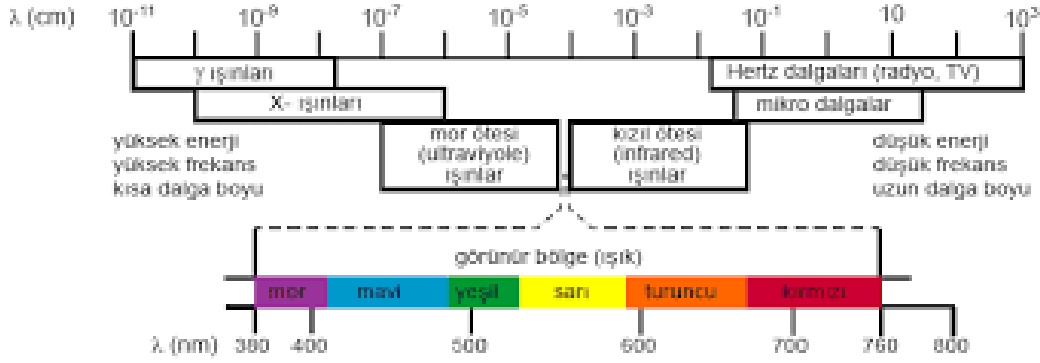
Değişik dalga boylarındaki ışıkla etkileşimi sonucunda maddenin farklı özellikleri hakkında bilgi edinilmektedir. Bu sebeple günümüzde birçok farklı spektroskopi yöntemi kullanılmaktadır. Kullanılan spektroskopik yöntemler şunlardır:

- Ultraviyole-görünür bölge absorpsiyon spektroskopisi
- Floresans ve fosforesans spektroskopisi
- Atomik absorpsiyon spektroskopisi
- Atomik emisyon ve atomik floresans spektroskopisi
- İnfrared (IR) spektroskopisi
- Nükleer manyetik rezonans (NMR) spektroskopisi
- Kütle spektrometrisi

Çözelti içindeki madde miktarını çözülden geçen veya çözeltinin tuttuğu ışık miktarından faydalanarak ölçme işlemine fotometri, analiz edilen örnek üzerine ışık demetinin bir kısmını filtreler kullanarak ayıran ve gönderen aletler kolorimetre veya fotometre olarak adlandırılırken, yarıklar ya da prizmalar aracılığı ile bu seçiciliği yapan aletler spektrofotometre olarak adlandırılırlar. Maddenin ışığı absorplamasını incelemek için kullanılan düzeneğe absorpsiyon spektrometresi veya absorpsiyon spektrofotometresi adı verilir.

Genel olarak moleküllerin uyarılmasıyla moleküler geçişler ve moleküllerdeki elektronların uyarılmasıyla da elektronik geçişler olur. **UV-görünür bölge ve mor ötesi (UV-VIS)**

**spektroskopisi** moleküllerdeki elektronik geçişlerin verdiği spektrumları konu alır ve elektronik spektroskopi olarak adlandırılırlar. 100-700 nm aralığı elektronik spektrum, 100-200 nm aralığı vakum UV, 200-400 nm aralığı UV ve 400-700 nm aralığı ise görünür bölgedir(Şekil 3.1). Görünür bölgede absorpsiyon yapan bileşik absorbladığı rengin tamamlayıcı renginde görünür.



Şekil 3. 1 Görünür bölge dalga boyları

Mor ötesi ve görünür bölge spektrofotometrelerinde cam veya kuvars prizma bulunur ve kullanırken ışığın herhangi bir frekanslı UV veya görünür bölgesi seçilir (otomatik spektrofotometreler, frekansı düzgün olarak değiştirir). Işık örnekten (veya örnek çözeltisinden) geçtikten sonraki absorpsiyon veya geçirgenlik okunur. UV-görünür bölgede döteryum (D<sub>2</sub>), tungsten (W), hidrojen (H<sub>2</sub>), ksenon (Xe), civa buhar lambası gibi sürekli ışık kaynakları kullanılır. En uygun ışık kaynağı hidrojen deşarj tüpü ve görünür bölgede tungsten lambasıdır.

Spektrofotometreler tek ve çift ışık yollu olarak ikiye ayrılırlar. Tek ışık yollu spektrofotometrelerde, bileşenlerin tümü aynı ışık yoluna yerleştirilmiştir. Bu aletin başlıca üç ayar düğmesi bulunur. Birincisi alette kullanılan optik ağ veya prizmayı mekanik olarak döndürmeyi sağlayan düğme, ikincisi ışık yolunu tamamen kapatarak galvanometre “sıfır” geçirgenlik ayarını yapan düğme, üçüncüsü ise ışığın geçtiği aralığın enini değiştiren düğmedir.

Çift ışık yollu spektrofotometrelerde ise monokromatörden çıkan ışık, eşit şiddette iki demete bölünür ve biri örneğe diğeri ise sadece çözücünün bulunduğu kaba gönderilir. İkiye ayrılan ışık, iki ayrı dedektörle algılanır ve dedektörlerde oluşan sinyallerin oranı ölçülür. Böylece örnekteki geçirgenlik değeri sürekli olarak çözücününki ile karşılaştırılmış olur. Burada iki dedektörün tam uyumlu olması ölçüm için oldukça önemlidir.

Çift ışık yollu spektrofotometrelerde, tek dedektör kullanılarak da ölçüm yapmak mümkündür. Bu durumda örnekten ve çözücünden geçen ışık demetleri dedektör üzerine art arda gelir ve alternatif türden sinyal oluştururlar. Işık şiddetleri eşit ise dedektörde herhangi bir sinyal oluşmaz; örnek bölmesinden gelen ışığın şiddeti absorpsiyon nedeniyle azaldığı zaman dedektöre gelen sinyal alternatif sinyal olarak algılanır.

Çift ışık yollu spektrofotometrelerin bir başka türü ise çift dalga boyulu spektrofotometrelerdir. Bu spektrofotometrelerde iki farklı monokromatör vardır; iki farklı dalga boyundaki ışık, dönen bir ışık bölücü yardımıyla örnekle art arda etkileştirilir. Bulanık çözeltilerde dalga boylarından biri çözeltideki maddenin absorplayacağı, diğeri ise absorplamayacağı değerlere ayarlanır. Bulanıklıktan dolayı her iki dalga boyunda aynı miktarda ışık kaybı olacağından iki dalga boyunda yapılan ölçümlerin farkı, sadece örneğin absorbansı ile ilişkili olur.

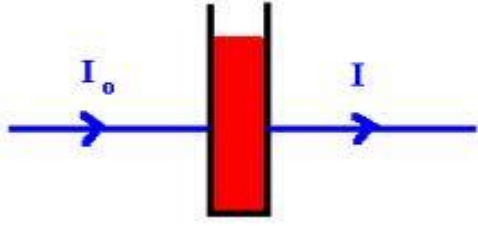


Şekil 3.2 Genel spektrofotometre düzeneği

Spektrofotometrik cihazların çoğunda absorpsiyon ölçümü yapılırken ışık sadece hedef moleküllerle değil aynı zamanda çözelti ile de etkileşime girer. Dolayısıyla cihaz hedef molekülün absorpsiyon spektrumunu değil, çözeltinin spektrumunu verir. Bu nedenle hedef molekül türünün absorpsiyonunu öğrenmek için kör (blank) alınır. Çift ışık yollu spektroskopilerde bir hücreye numune diğerine çözücü konulurken tek ışık yollu spektroskopilerde ilk önce çözücü kuvarz küvete konularak blank, daha sonra ölçüm alınır.

Biyolojik moleküllerin UV absorplama özellikleri; çözeltilerindeki konsantrasyonun ve saflığın tayininde kullanılmaktadır. Bu absorpsiyon daha çok moleküllerdeki bağ elektronlarının uyarılmasından kaynaklanır. Bunun sonucu olarak UV-Vis Spektroskopisi bir moleküldeki fonksiyonel grupların tanımlanmasında ve aynı zamanda fonksiyonel grupları taşıyan bileşiklerin nicel tayininde kullanılır.

**Lambert-Beer kanunu:** Bir çözeltiden geçen ışık miktarı, ışığın çözelti içinde kat ettiği yol ve çözelti konsantrasyonu ile logaritmik olarak ters orantılı, emilen ışık miktarı ise doğru orantılıdır.



$$\text{Transmittans}(T)=I/I_0$$

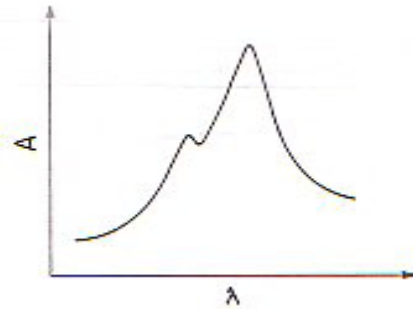
$$\text{Absorbans (optik dansite, O.D.)}=-\log_{10}T$$

$$\text{Absorbans}(A)=\epsilon.c.l$$

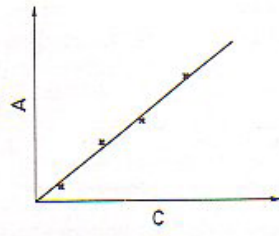
$c$  → çözelti konsantrasyonu (mol/L)

$l$  → ışığın çözelti içinde kattığı yol (cm)

$\epsilon$  → molar absorpsiyon katsayısı(L/mol/cm)



Spektrofotometre ile bir maddenin nicel analizinin yapılacağı dalga boyunu kararlaştırmak için, örneğin absorpsiyon spektrumunu bilmek gerekir. Bunun için, maddenin 1 molar çözeltisinin çeşitli dalga boylarındaki absorbans değerleri ölçülür. Çözücünün ve çözeltide bulunan başka türlerin ışığı absorplamadığı, Lambert-Beer eşitliğine uyulduğu ve nicel analiz en duyarlı bir biçimde yapılabileceği dalga boyu değeri saptandıktan sonra analizi yapılacak maddeyi içeren ve derişimleri bilinen bir dizi standart çözelti ile bu dalga boyundaki absorbans (A) değerleri ölçülür. A değerleri, standart çözeltilerin bilinen derişimlerine karşı grafiğe geçirilir.



Standart çözeltilerin bilinen derişimlerine karşı A değerlerini grafiğe geçirmek suretiyle elde edilen doğruya **kalibrasyon doğrusu** denir. Nicel analiz, kalibrasyon doğrusunun doğrusal olduğu bölgede yapılır. Derişimi bilinmeyen örneğin A değeri ölçülür ve kalibrasyon doğrusunda bu değere karşılık gelen derişim saptanır.

### 1.3 MATERYAL VE METOD:

#### Materyal

BSA, Distile su, eppendorf tüp, otomatik pipet, pipet uçları, vorteks, kuvartz küvet, spektrofotometre cihazı.

### **Yöntem**

1. Stok BSA çözeltisi hazırlanır.
2. Stok çözeltiden farklı konsantrasyonlarda seyreltme yapıp 280 nm'de ölçüm yapıp kaydedilir.
3. Kaydedilen absorbans değerleri grafiğe aktarılarak standart eğri oluşturulur.

### **Kaynaklar**

1. Letchford, K. and H. Burt, A review of the formation and classification of amphiphilic block copolymer nanoparticulate structures: micelles, nanospheres, nanocapsules and polymersomes. *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics*, 2007. **65**(3): p. 259-269.
2. Usta, M., Biokütle Destekli Nanopartiküllerin Sentezi ve Karakterizasyonu, Kimya A.B.D. 2012, Yıldız Teknik Üniversitesi.
3. Yelkenci, G., Juglon Yüklü Nanopartiküllerin Üretimi Ve Karakterizasyonu, Moleküler Biyoloji ve Genetik. 2015, Yıldız Teknik Üniversitesi.

# **RAPOR**

**Laboratuvar Sorumlusu İmza :**

## Deney 4

### Aminoasitlere Özgü Reaksiyonlar

**4.1 DENEYİN AMACI:** Serum sıvısında aromatik amino asit bulunup bulunmadığının tespit edilmesi.

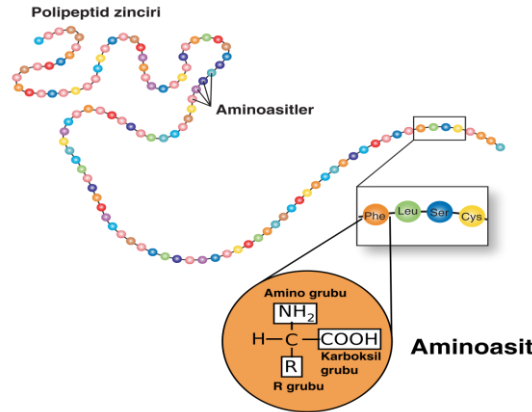
#### 4.2 TEORİK BİLGİ

Amino asitler, yapılarında hem amino grubu ( $-NH_2$ ) hem de karboksil grubu ( $-COOH$ ) içeren bileşiklerdir. Doğada 300 kadar farklı amino asit bulunmaktadır. Amino asitlerin standart amino asitler diye bilinen 20 tanesi, karakteristik sayı ve diziliş sırasında bir düz zincirde birbirlerine kovalent olarak bağlanarak proteinleri oluştururlar. Standart amino asitler, DNA tarafından kodlanan ve proteinleri oluşturan birimlerdir.

Bir standart amino asit polipeptit zinciri yapısına girdikten sonra bir modifikasyona uğrarsa Nonstandart amino asitler diye bilinen bazı amino asitler oluşabilir. Örneğin prolin, kollajen içerisinde hidroksiprolin okside olur.

Proteinlerin yapısında bulunmayan fakat hücrede çok değişik biyolojik fonksiyonlara sahip amino asitler de vardır.

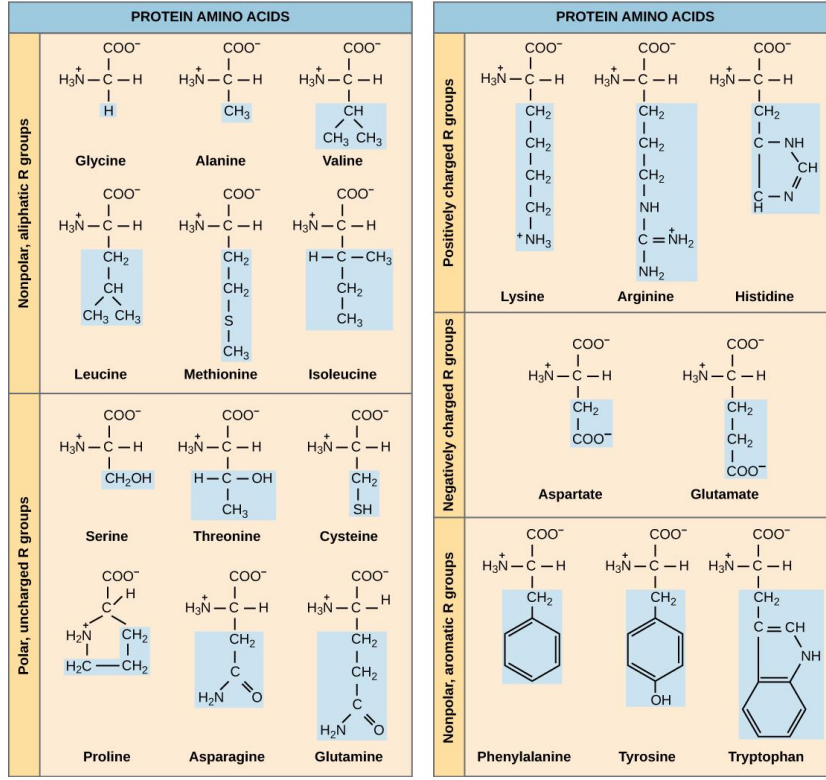
Standart amino asitler, karbon atomuna bağlanmış bir amino grubu ve bir karboksil grubu içerirler. Fizyolojik pH'da, amino grubu proton taşır ve pozitif yüklüdür; karboksil grubundan ise proton ayrılmıştır ve negatif yüklüdür: Standart amino asitlerde amino ve karboksil gruplarının bağlı olduğu karbon atomu  $\alpha$ -karbon atomu diye anılır. R grubu bir zincirde ek karbonlar içeriyorsa bu karbonlar  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$  gibi harflerle belirtilirler.



Şekil 4.1 Aminoasitlerin genel yapısı

Standart amino asitler, üç harfli kısaltmalar ve tek harfli sembollerle gösterilirler. Standart amino asitler birbirlerinden yan zincirlerindeki yani R gruplarındaki yapı, büyüklük, elektrik yükü, amino asidin sudaki çözünürlüğüne etkisi bakımından farklıdır. Bazı amino asitler, fizyolojik pH'da, amino grubundaki pozitif yüke ve karboksil grubundaki negatif yüke ek olarak yan zincirde de bir yük taşımaktadırlar. Bazı yan gruplar polar iken bazı yan gruplar nonpolarlardır. Amino asitlerin fonksiyonları ve protein yapısındaki rolleri, yan zincirlerinin kimyasal özellikleri ile bağlantılıdır. Standart amino asitler, kimyasal özelliklerinin kolay anlaşılması için, R yan gruplarının özellikle polarite veya biyolojik pH'da su ile etkileşmeye eğilim özelliklerine göre de beş sınıfa ayrılırlar.





Şekil 4.2 Aminoasitlerin Sınıflandırılması

Amino asitler ve yapılarında amino asit bulunan proteinler belirli kimyasal maddelerle renk reaksiyonları verirler. Bu reaksiyonlardan faydalanılarak amino asit ve proteinlerin kantitatif tayinleri yapılır.

### 4.3 MATERYAL VE METOD

#### 4.3.1 Ksantoprotein (Becher) Deneyi

Proteinlerin asit, ısı ve alkali ile işlem gördüklerinde sırasıyla beyaz, sarı ve portakal renk vermeleri esasına dayanan kalitatif ( nitel ) bir yöntemdir. Ksantoprotein ( Becher ) reaksiyonu, serumdaki aromatik amino asitlerin tanımlanmasına yönelik bir testtir.

Normal durumda çözelti açık arı bir renk alır. Patolojik durumlarda ise çok koyu sarı renk alır, portakal rengi hatta kahverengiye çalan renkler görülebilir.

Ortaya çıkan rengin normal ya da patolojik olduğuna kolayca karar vermek için, sabit bir renk veren potasyum kromatin ile yapılan seyreltilmelerinde ortaya çıkan renkler, reaksiyonda oluşan renklerle kıyaslanır. Hangi renk ile uyuyorsa, anlamı hizasında yazılı durumu gösterir.

#### Çözeltinin sarı renk almasının sebebi ;

Proteinler  $\text{HNO}_3$  ile muamele edildiklerinde sarı bir renk oluşturarak ksantoprotein reaksiyonu verirler. Sarı renk oluşmasının sebebi  $\text{HNO}_3$  ile kaynatılmayı takiben aromatik çekirdeğe nitro grubunun ( benzen çekirdeğinin nitasyonu ) girmesidir.

Asidik ortamda hafif tonda olan sarı rengin, ısı ve alkali ilavesiyle şiddetlenmesi sağlanır.

Sağlıklı bireylerde gözlenen açık sarı renk, serumda az miktarda bulunan tirozin, fenil alanin ve bir ölçüye kadar triptofan gibi halkalı amino asitlerden ileri gelir. Fenolle zehirlenme vakalarında ksantoprotein reaksiyonu yüksek bulunur.

Tirozin, fenil alanin ve bir ölçüde triptofan proteinlerde bulunan ve bu reaksiyondan sorumlu amino asitlerdir.

#### Çözeltiler

Derişik  $\text{HNO}_3$

% 20 TCA ( Trikloroasetikasit )

% 33 NaOH ( Sodyum Hidroksit )

% 0,038 g.lık  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  ( Potasyum dikromat )

Serum

## Yöntem

1. 2-3 ml serum aynı hacim % 20 trikloroasetikasit damlatılarak çalkalanır.
2. 10 dk beklenir.
3. Filtre kağıdından süzülür.
4. Elde edilen proteinden yoksun süzüntüden 2 ml bir tüpe konur.
5. Tüpteki sıvı üzerine 0,5 ml derişik HNO<sub>3</sub> ilave edilir. Çalkalanır.
6. 30 sn açık alev üzerinde tutulup ısıtılır.
7. Isıtılan tüp musluk suyu altında soğutulur.
8. Soğutulan çözeltiye % 33 NaOH çözeltisinden 1,5 ml konur.

### 4.3.2 Hopkins – Cole Deneyi

Proteinlerde triptofan bulunmasına dayalı bir reaksiyondur. Triptofan ve indol halkası içeren başka kuvvetli asitlerle ( glikoksilik asit ve sülfirik asit ile ) işlem gördüklerinde çeşitli aldehitlerle yoğunlaşması sonucu mor renkli bileşiklerin oluşması reaksiyonun pozitif olduğunun göstergesidir.

#### Çözeltiler

Protein çözeltisi ( Triptofan )

Glyoksilik Asit

Konsantre sülfirik asit

#### Yöntem

1. 2 ml protein çözeltisine 2 ml glikoksilik ( % 99,9 ) asit ilave edilir.
2. Hazırlanan çözelti karıştırılır.
3. Tüp hafifçe eğilir. Çözelti içerisine damla damla tüpün yüzeyinden sızdırarak 2 ml sülfirik asit ilave edilir. İki sıvının yüzeyinde mor renkli bir halkanın oluşumu reaksiyonun pozitif olduğunu gösterir.

#### Kaynaklar

1. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları
2. Altınışık, M., Aminoasitler 09.09.2017 <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/89-1-06.pdf>
3. Harvey, R.A., Ferrier, D.R., Lippincot Biyokimya, Aminoasitler, 5. Baskı, Nobel Kitapevi
4. Hopkins, F. Gowland, and Sydney W. Cole. "On the proteid reaction of Adamkiewicz, with contributions to the chemistry of glyoxylic acid." *Proceedings of the Royal Society of London* 68.442-450 (1901): 21-33.
5. Openstax, The Genetic Code, 09.09.2017, <https://cnx.org/contents/QEibhJMi@6/The-Genetic-Code>

# RAPOR

**Laboratuvar Sorumlusu İmza :**

## DENEY 5

### PROTEİNLERE ÖZGÜ REAKSİYONLAR I

**5.1 DENEYİN AMACI:** Belli hacimde bir çözeltideki toplam protein miktarının belirlenmesi

#### 5.2 TEORİK BİLGİ

Proteinler doğadaki en büyük makromolekül gruplarından biridir. Amino asitlerin oluşturduğu bir veya daha fazla polipeptit zincirinden oluşmaktadırlar. Hücrede birçok işlev proteinler tarafından yürütülmektedir. Örneğin metabolik reaksiyonların katalizlenmesi; DNA replikasyonu; uyarana karşı cevap verme ve diğer moleküllerin taşınması gibi işlevleri vardır. Bu büyük çeşitliliğe ve farklı işlevlere karşın temelde oldukça benzer yapıları olan bu moleküllerin, üstlendikleri önemli görevler nedeniyle yapılarının aydınlatılması, sentezlerinin, işlevlerinin ve regülasyonlarının ortaya konulması çok büyük önem taşır.

Belli hacimde bir çözeltideki toplam protein miktarının belirlenmesi, ayırma ve saflaştırma işlemlerinin seçiminde ve belli aşamalarda protein veriminin ve saflığının kontrolünde önemli bir yer tutar. Özellikle elektroforetik ve kromatografik ayırmalarda deneylerin optimizasyonu için miktar tayinine gereksinim duyulmaktadır.

Son yıllarda yararlanılan teknikler, protein çözeltisinin UV absorpsiyonunun ölçülmesi veya bir belirteç ile reaksiyonu sonucu oluşan renkli bir bileşiğin (kromofor) görünür alanda spektral olarak belirlenmesi temeline dayanır.

Yöntem	Hassasiyet	Zaman	Prensip	Özellikler
<i>Biüret</i>	Düşük 1-6 mg	20-30 dk	Peptid bağlarının alkali bakır ile mor kompleks oluşturması (550 nm)	+ Hızlı, az girişim yapar - Hassasiyeti düşük.
<i>Basit absorban UV</i>	Orta 0.05-2 mg	5-10 dk	280 nmdeki ışığın tirozin triptofan tarafından absorblanması (280 nm)	+Hızlı, ucuz, protein geri kazanılabilir -Girişim fazla, hassasiyet orta, Tyr ve Trp içeriğine bağlı
<i>Basit Absorbans Uzak UV</i>	Yüksek 0.01-0.05 mg	5-10 dk	190-205 nmdeki ışığın peptid bağları tarafından absorblanması (190 nm)	+ Hassas, protein geri kazanılabilir -Uygulanabilirliği düşük, girişim fazla, Tyr ve Trp içeriğine bağlı
<i>Lowry</i>	Yüksek 0.01-1 mg	40-60 dk	Biüret reaksiyonu ve fosfomolibdotungstatın Tyr ve Trp tarafından indirgenmesi (550 nm)	+ Hassas - Zaman alıcı, girişim yüksek, orta seviyede Tyr ve Trp içeriğine bağlı
<i>Bradford</i>	Yüksek 0.001mg	15-20 dk	CBB G250 boyar maddesinin proteine kovalent olmayan bağlanması (595 nm)	+ Hassas, girişim düşük, ucuz - Arg ve Lys içeriğine bağlı,
<i>BCA (Bişinkoninik asit)</i>	Yüksek 0.0005 mg	60-80 dk	Biüret reaksiyonu ve BCA'nın bakır ile kompleks oluşturması (562 nm)	+ Hassas, proteinden proteine değişiklik göstermez, girişim düşük -
<i>Gümüş /Altın Bağlama</i>	Çok yüksek 0.000125 mg	10 dk	Kolloidal altın ve gümüşün proteine bağlanması (dansitometrik ölçüm)	+ Çok hassas, girişim düşük - Proteinden proteine değişiklik gösterir
<i>Nitrik Asit</i>	Yüksek 0.005 mg	120-140 dk	Proteinlerin nitrik asit ile reaksiyon vermesi (358 nm)	+ Hassas, girişim düşük, ucuz - Zaman alıcı,

#### 5.3 MATERYAL VE METOD

##### 5.3.1 Bradford (Boya Bağlama) Yöntemi

Bu yöntem, Comassie brilliant blue (Comassie parlak mavisi) G-250 boyasının farklı konsantrasyonlardaki protein çözeltilerinde değişik şiddette mavi renk ortaya koymasından yararlanılarak geliştirilmiştir. Boyanın özellikle arginin gibi bazik amino asitlere ve bazı

aromatik amino asitlere bağlanma eğiliminde olduğu gösterilmiştir. Dolayısıyla bu yöntemde proteinin yapısının önemi vardır.

Bu yöntem Lowry yöntemine göre daha hızlı, daha ucuz, daha kolay ve daha hassastır. 0.001 mg/mL protein ölçülebilir.

### Belirteçin hazırlanması

25 mg Comassie brilliant blue G-250'nin 12.5 ml % 95 etanolde çözündürülüp, 25 ml % 85 H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> ( Fosforik asit ) eklendikten sonra, 250 ml'ye tamamlanmasıyla hazırlanan derişik boya çözeltisi, kullanılacağı zaman 5 kere sulandırılır. Whatman no.1 filtreden geçirilir ve bir cam şişede, oda sıcaklığında saklanır.

### Yöntem

Bileşikler	Tüpler				
	1(K)	2(S)	3(S)	4(S)	5(S)
1mg/mlBSA (µl)	-	25	50	75	100
dH <sub>2</sub> O(µl)	100	75	50	25	0
%0,9 NaCl (ml)	5,9	5,9	5,9	5,9	5,9
Bradfordçözeltisi (ml)	1	1	1	1	1
Toplam Hacim ml	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0

1. Kör ( Blank ) örnek, standartlar ve bilinmeyen protein örnekleri tabloda verilen değerlere göre hazırlanır ve hızlı bir şekilde vortekslenir.
2. En az 5 dakika bekledikten sonra 595 nm'deki absorpsiyon değerleri okunur.
3. Standart eğri grafiği hazırlanarak örnekteki protein derişimi bulunur.

### 5.4 KAYNAKLAR

-Harvey, R.A., Ferrier, D.R., Lippincot Biyokimya, Proteinler, 5. Baskı, Nobel Kitapevi  
-Lodish H, Berk A, Matsudaira P, Kaiser CA, Krieger M, Scott MP, Zipurksy SL, Darnell J (2004). *Molecular Cell Biology* (5th ed.). New York, New York: WH Freeman and Company.

# **RAPOR**

**Laboratuvar Sorumlusu İmza :**

## DENEY 6

### PROTEİNLERE ÖZGÜ REAKSİYONLAR II

**6.1 DENEYİN AMACI:** Belli hacimde bir çözeltideki toplam protein miktarının belirlenmesi

#### 6.2 Modifiye Lowry Metodu

Bu yöntem, fosfomolibdotungstik asit çözeltisinin (Folin-Ciocalteu belirteci) tirozin bakiyeleri ile reaksiyona girerek mavi bir renk oluşturması esasına dayanır. Reaksiyon, bakır ile protein arasında kompleks oluşumu ile başlar; alkali çözeltide, oda sıcaklığında 5-10 dakika içinde tamamlanır. Bakırın varlığı yöntemin duyarlılığını 3-15 kat arttırmaktadır, çünkü Cu ile yapılan kompleks, Folin belirtecindeki molibden ve tungsten ile birleşerek yeni kompleks ortaya koyar. Ancak analiz edilen örnekteki fenolik maddeler hatalara yol açabilir.

#### Çözeltiler

**A)** 0.1 N NaOH içinde %2 (w/v) Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>

**B)** %1 (w/v) Na- veya K- tartarat içinde %0.5 (w/v) CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O

**C)** 50 ml A belirteci ile 1 ml B belirteci karışımından oluşur (Taze hazırlanır).

**D)** 1 hacim Folin belirteci: 2 hacim sudan oluşan karışımdır (Taze hazırlanır ve ışıktan korunur; Folin toksik olduğundan mikropipet kullanılır.)

#### Yöntem

**1)** Çalışma aralığına uygun konsantrasyonunda 0.5'er ml standartlar (örneğin, 20, 80, 140, 200, 280, 340, 400 µg/ml), kör örnek ve protein örnekleri, 5'er ml C belirteci ile karıştırılır.

**2)** Oda sıcaklığında 10 dakika bekletilir.

**3)** 0.5 ml D belirteci eklenir ve vorteksle karıştırılır. (D çözeltisi eklendikten 2-3 saniye içinde homojen bir şekilde karışım sağlanmalıdır.)

**4)** 30 dakika karanlıkta bekletilir.

**5)** 660 nm'de absorbans ölçülür.

**6)** Standart eğri grafiği hazırlanarak örnekteki protein derişimi bulunur.

#### KAYNAK

-Temizkan G, Arda N, 2008, Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler, Üçüncü Baskı, İstanbul Üniversitesi Biyoteknoloji ve Genetik Mühendisliği Araştırma ve Uygulama

# **RAPOR**

**Laboratuvar Sorumlusu İmza :**



## Deney 7

### Karbonhidratlar Özgü Reaksiyonlar I

**6.1 DENEYİN AMACI:** İdrarda şeker aranması için kullanılır. Şekerlerin yapısında bulunan serbest aldehit ya da keton gruplarının indirgeyici özelliğine dayalı deneylerdir.

#### 6.2 TEORİK BİLGİ

##### *Karbonhidratlar*

Vücutta enerji sağlayan bileşiklerden biri olan karbonhidratlar, organizmada serbest ve başka maddelerle birleşmiş halde bulunur.

##### 1- Serbest halde bulunanlar

Kan glikozu, sütte laktoz, seminal sıvıda fruktoz, karaciğer ve kas hücrelerinde karbonhidrat deposu olarak bulunan glikojen ve glikoz, fruktoz, riboz, ksiloz, gliseraldehit, dihidroksi aseton gibi maddeler serbest halde bulunan karbonhidratlara örnek olarak gösterilebilir.

##### 2- Bileşik halde bulunanlar

Nükleik asit ve nükleoproteinlerin yapısına giren riboz ve deoksiriboz; glikoproteinlerde prostetik grup olarak bulunan galaktoz, mannoz ve serebrozidlerin yapısında bulunan galaktoz; heteropolisakkaritlerin yapısına giren glikozamin, galaktozamin, ve glukoranik asit gibi türev monosakkaritler, bileşik karbonhidratlara verilebilecek örneklerdir.

Karbonhidratlar yapılarında potansiyel olarak aktif aldehit ya da keton gruplarını içeren polihidroksi alkoller ya da hidroliz edildiklerinde bu ürünleri veren maddeler olarak tanımlanırlar.

Karbonhidratlar başlıca dört grupta sınıflandırılabilirler;

##### **a) Monosakkaritler**

En basit ve hidroliz edilemeyen şekerlerdir. Karbon sayılarına ve içerdikleri fonksiyonel gruba (aldehit ya da keton ) göre isimlendirilirler.

##### **b) Disakkaritler**

İki monosakkarit biriminin birbirine ve farklı fonksiyonlarda glikozidik bağlarla bağlanması ile oluşan klinik yönden önemli şekerlerdir. Hidroliz edildiklerinde kendilerini oluşturan monosakkaritlere ayrılırlar.

Maltoz = Glukoz + Glukoz ( $\alpha 1 \rightarrow 4$ )

Laktoz = Galaktoz + Glukoz ( $\beta 1 \rightarrow 4$ )

Sakkaroz = Glukoz + Fruktoz ( $\alpha 1 \rightarrow 2$ )

Sellobioz = Glukoz + Glukoz ( $\beta 1 \rightarrow 4$ )

İzomaltoz = Glukoz + Glukoz ( $\alpha 1 \rightarrow 6$ )

##### **c) Oligosakkaritler**

3-10 monosakkarit biriminden oluşurlar.

##### **d) Polisakkaritler**

n sayıda monosakkaritten oluşan karbonhidratlardır. Yapısında tek tip monosakkarit bulunduranlara homopolisakkaritler ( glikojen, nişasta, seluloz, insülin ) birden fazla monosakkarit ve türevi bulunduranlara ise heteropolisakkaritler ( heparin, hyaluronik asit, kondroitin sülfat ) adı verilir. Hidroliz edildiklerinde kendilerini oluşturan monosakkarit birimlerine ayrılırlar.

Bu deneylerin amacı ; İdrarda şeker aranması için kullanılır. Şekerlerin yapısında bulunan serbest aldehit ya da keton gruplarının indirgeyici özelliğine dayalı deneylerdir.

Alkali ortamda, ısı etkisiyle ile bu gruplar, ortamda bulunan ağır metal iyonlarını (  $\text{Cu}^{++}$ ,  $\text{Bi}^{++}$ , vb. ) indirgerler. Bu indirgeme olayı, renk değişikliği ile beraberdir. Şekerlerin serbest aldehit ya da keton grupları ise karboksilik asit gruplarına oksitlenerek şeker asitlerinin oluşmasına olanak sağlar.

Monosakkaritlerin tamamı, disakkaritlerde ki serbest aldehit ya da keton grubuna sahip olanlar ( Maltoz, Laktoz ) bu tür reaksiyonlarla pozitif sonuç verirler. Sukroz ve polisakkaritlerle indirgeme olayı gerçekleşmez.

## **6.3 MATERYAL VE METOD**

### **6.3.1 Fehling Deneyi**

**Fehling testi** ; İndirgeyici özellik gösteren bileşiklerin tespit edilmesinde kullanılan bir yöntemdir.

Serbest aldehit ve keton grubu içeren karbonhidratlar, alkali çözeltilerde indirgeyici özellik gösterirler. Bunun yanı sıra monosakkaritler zayıf asit çözeltilerinde de indirgeyici madde olarak rol oynar.

#### **Belirteçlerin hazırlanması**

##### **Fehling 1 çözeltisi :**

% 7  $\text{CuSO}_4$  (34,6 kristal bakır sülfat) 300 ml distile suda hafifçe ısıtılarak çözülen bileşik daha sonra distile su ile 500 ml ye tamamlanır.

##### **Fehling 2 çözeltisi :**

35 gr Na-K tartarat 10 gr NaOH bir miktar distile su ile çözülen karışım distile su ile 100 ml ye tamamlanır.

Deneyde Kullanılacak Cihazlar ve Gereçler ;Bek

Deneyde Kullanılacak Sarf Malzemeler ,Filtre Kağıdı, Deney tüpü, Pipet, Maşa

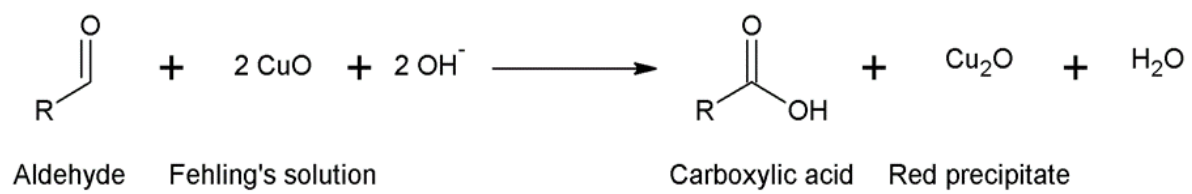
#### **Yöntem**

##### **I.Yol**

1. Bir deney tüpün eşit miktarlarda Fehling I ve Fehling II çözeltisi konur .
2. Karışım çalkalanır. Koyu mavi renkli bir çözelti ortaya çıkar. Bu iki çözelti karışımı “ Fehling ayıracağı “adını alır.
3. Hazırlanan bu karışım açık alevde kaynatılır. Rengi değişmez ise ayıracağı temizdir. İçinde indirgen maddeler bulunmuyor demektir.
4. Bu kontrol yapıldıktan sonra üzerine damla damla idrar ilave edilerek kaynatma sürdürülür. İdrarda fazla şeker var ise sarı bulanıklık ya da çökelti görülür.
5. Şeker az miktarda ise, Fehling ayıracağının hacmine eşit olacak miktarda idrar ilave edilir. Sarı ya da kırmızı bir çökelti meydana gelirse şeker vardır. Eğer çökelti oluşmazsa incelenen idrarda şeker olmadığı anlaşılır.

##### **II.Yol**

1. Fehling I ve Fehling II ayıracağı eşit hacimde alınan idrar ayrı ayrı kaynatılır.
2. Kaynama işlemi gerçekleştikten sonra iki sıvı birbiriyle karıştırılır. İdrarda yeterli miktarda şeker varsa pozitif sonuç alınır.



# RAPOR

**Laboratuvar Sorumlusu İmza :**

## Deney 8

### Karbonhidratlar Özgü Reaksiyonlar II

**8.1 DENEYİN AMACI:** İdrarda şeker aranması için kullanılır. Şekerlerin yapısında bulunan serbest aldehit ya da keton gruplarının indirgeyici özelliğine dayalı deneylerdir.

#### 8.2 Benedict Metodu

Bu test ile özellikle glikoz, laktoz, maltoz, früktoz, galaktoz ve pentozlar gibi karbonhidrat yapısındaki indirgen maddelerin idrarda bulunup bulunmadığının belirlenmesi hedeflenir. Reaksiyon süreci fehling deneyindeki gibidir. Benedict deneyinde farklı olarak, meydana gelen çökeleğin renginden idrardaki şeker miktarını kabaca belirtme olanağı vermesidir. Şekerin serbest aldehit ya da keton grubunun alkali ortamda ısı etkisiyle karboksilik asit gruplarına oksitlenirken, ortamda bulunan mavi renkli  $\text{Cu}^{++} \rightarrow \text{CuSO}_4$  iyonlarını tuğla kırmızısı renginde bir çökelti oluşturan  $\text{Cu}^+ \rightarrow \text{Cu}_2\text{O}$  şekline dönüştürmesi esasına dayanır. Arada oluşan  $\text{CuO}$  (bakır hidroksit) 'in çökmesinin önlenmesi için sitrat ile kompleks teşkil ettirilmesi gerekir.

İdrarda şeker yoksa çözelti berrak ve mavi renkli olarak kalır. İdrarda şeker yok ise çözeltinin mavi rengi değişmez. Glikoz miktarının çok düşük olması halinde yine çökelek meydana gelir. Pozitif deneylerde idrardaki şeker miktarı hakkında kabaca bilgi edinilebilir. Sıvı yeşil bir renk almış ise eser miktar, sarı renk almış ise az miktar, kırmızı renk almış ise çok miktarda şeker var demektir. Bu deneyde az miktarda idrar kullanmak ve ısıtma işlemini doğru bir şekilde uygulamak esastır. Fazla idrar kullanılmasının sakıncası, çöken fosfatların çökeleğin rengini örterek sonucu şüpheli hale getirmesidir. Şeker miktarının az olduğu durumlarda çökeleğin iyice dibe çökmesi için 10 – 15 dakika beklemek gereklidir. Benedict ayırıcı, idrarın öbür indirgen maddeleri olan ürik asit ve kreatinin ile Fehling ayırıcı kadar aldatici pozitif sonuç vermez.

#### Çözeltiler

Kalitatif Benedict Çözeltisi

I.  $\text{CuSO}_4$  (Bakır Sülfat)

II.  $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ . (Sodyum Sitrat)

III.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ( Sodyum Karbonat)

Deneyde Kullanılacak Cihazlar ve Gereçler ; Bek

Deneyde Kullanılacak Sarf Malzemeler ; Deney tüpü, Pipet, Maşa

#### Yöntem

1. Bir deney tüpüne 5 ml kalitatif Benedict ayırıcı konur.
2. Üzerine 8 – 10 damla incelenecek idrar damlatılır.
3. Karışım çalkalanır.
4. Çalkalanan karışım 1-2 dakika iyice kaynatılır. Şeker varsa, bulunan miktar ile orantılı olarak mavi rengin yeşil, sarı ya da kırmızıya değiştiği görülür.
5. Karışım kaynatma işleminden sonra soğumaya bırakılır; sarı ya da tuğla kırmızısı bir çökelti dibe çöker.



Renk ve çökeleğe göre idrarda glikoz miktarı	
Presipitasyon olmadan mavimsi ve yeşile kadar görünüş	% 0-0,4 gr
A z miktarda sarı granüler presipitasyon ile müterafık yeşil renk	% 0,5 gr
Zeytuni yeşil renk	% 1 gr
Sarıdan portakala kadar renk	% 1,5 gr.
Tuğla kırmızısı renk	% 2 gr veya daha fazla

#### KAYNAKLAR

- Biyokimya Laboratuvarı,Karbonhidratların Tespiti, 09.09.2017 ,  
<https://koubiyokimyalab.wordpress.com/tag/karbohidratlar/>  
-Nelson, D.L, Cox, M.M., Lehninger Biyokimyanın İlkeleri, Karbonhidratlar ve Glikobiyoloji , Palme Yayınevi, Ankara.

## **RAPOR**

**Laboratuvar Sorumlusu İmza :**