MUĞLA ÜNİVERSİTESİ
S.H.M.Y.O
GENEL BİYOKİMYA II DENEYLERİ

HAZIRLAYAN
Doç. Dr. SİBEL AVUNDUK

İÇİNDEKİLER

1.LABORATUARDA UYULMASI GEREKEN KURALLAR 4
2. ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI 5
KATI MADDELERİN % ÇÖZELTİLERİ (%w/v çözeltiler) 5
SIVI MADDELERİN % ÇÖZELTİLERİ (%v/v çözeltiler) 6
Molar çözeltiler 6
Molar çözeltilerin hazırlanması 6
Normal çözeltiler 8
Çözeltilerin seyreltilmeleri ve çözelti karışımları 10
3. KARBOHİDRAT DENEYLERİ 12
3.1ŞEKERLERİN ASİTLERLE REAKSİYONLARI 12
DENEY 1. MOLISCH DENEYİ 12
DENEY 2. ANTHRON DENEYİ 12
DENEY 3. SELIWANOFF DENEYİ 12
DENEY 4 MOORE DENEYİ 13
DENEY 5 TROMMER DENEYİ 13
DENEY 6 BENEDICT'S DENEYİ 14
DENEY 7 BARFOED DENEYİ 14
DENEY 8 TOLLENS DENEYİ 15
DENEY 9 NYLANDER DENEYİ 15
DENEY 10 MÜSİK ASİT DENEYİ 16
3.2 FENİL HİDRAZİN İLE VERDİĞİ REAKSİYON 16
DENEY 11 OSAZON DENEYİ 16
3.3 DİSAKKARİTLERİN REAKSİYONLARI 17
DENEY 12. LAKTOZ VE SAKKAROZUN NİTEL TAYİNİ 17
DENEY 13 SAKKAROZUN HİDROLİZİ 17
3.4 POLİSAKKARİTLERİN REAKSİYONLARI 18
DENEY 14. NİŞASTANIN NİTEL TAYİNİ VE HİDROLİZİ 18
DENEY 15 STRİPLE İDRARDA GLUKOZ MİKTARI TAYİNİ 18
3.6 KAN ŞEKERİ MİKTAR TAYİNİ 19
DENEY 16. FOLİN-WU DENEYİ 19
3.7 İDARDA KETON CİSİMLERİNİN ARANMASI 19
DENEY 17.LANGE TESTİ İLE ASETONUN ARANMASI 19
DENEY 18. GERHARL DENEYİ 20
4. PROTEİN DENEYLERİ 20
4.1 PROTEİNLERİN RENK REAKSİYONLARI 20
DENEY 19. KSANTOPROTEİN DENEYİ 20
DENEY 20. BİÜRE DENEYİ 20
DENEY 21. NİNHİDRİN DENEYİ 21
DENEY 22. PROTEİNLERİN HİDROLİTİK PARÇALANMASI 22
DENEY 23. SPEKTROFOTOMETRİK YÖNTEMLE PROTEİN MİKTARI TAYİNİ 23
4.4 AMİNO ASİTLERİN REAKSİYONLARI 24
DENEY 24. AZOT DENEYİ 24
DENEY 25. KÜKÜRT DENEYİ 24
DENEY 26. İNCE TABAKA KROMATOGRAFİSİ İLE AMİNO ASİTLERİN AYRIMI 24
4.5 PROTEİNLERİN ÇÖKTÜRME DENEYLERİ 25

DENEY 27. TUZLARLA ÇÖKTÜRME 25
DENEY 28. ISI İLE ÇÖKTÜRME 25
DENEY 29. ASİTLERLE ÇÖKTÜRME 26
DENEY 30. AĞIR METAL TUZLARI İLE 26
DENEY 31. ALKOLLER İLE 27
DENEY 32. TCA İLE İDRARDA PROTEİN MİKTARI TAYİNİ 27
DENEY 33. PURDY YÖNTEMİ İLE İDRARDA PROTEİN MİKTARI TAYİNİ.....27
5. LİPİD DENEYLERİ.....28
DENEY 34. KANDA TOTAL LİPİD MİKTARI TAYİNİ 28
5.2 KOLESTEROLÜN RENK REAKSİYONU 29
DENEY 35. SALKOWSKY DENEYİ.....29
5.3 SERUMDA TOTAL KOLESTEROL MİKTAR TAYİNİ.....29
DENEY 36. KUNKEL METODU 29
5.4 DENEY 37 HDL KOLESTEROL ÖLÇÜMÜ 30
5.5 DENEY 38 TRİGLİSERİT ÖLÇÜMÜ 31
6. ENZİM DENEYLERİ 32
DENEY 39. SERUMDA AMİLAZ TAYİNİ 32
DENEY 40. AMİLAZIN NİŞASTA ÜZERİNE ETKİSİ 32
DENEY 41. ÜREAZ DENEYİ.....33
DENEY 42. KANDA KATALAZ ENZİMİNİN NİTEL TAYİNİ.....33
DENEY 43. KANDA PEROKSİDAZ ENZİMİNİN NİTEL TAYİNİ.....33

1.LABORATUARDA UYULMASI GEREKEN KURALLAR

Laboratuara girmeden önce yapılacaklar

- Uygun giysiler giyilmeli. Özellikle çok dar veya çok bol giysiler uzun aksesuarlar gibi hareketi kısıtlayıcı kıyafetlerle gelinmemeli.
- Önlük giyilmeli ve çalışırken önlüklerin önü kapalı olmalı.
- Herhangi bir nedenle laboratuardan çıkılacaksa önlükle çıkılmamalı.
- Eldiven takılmalı ve laboratuar dışında eldivenle çıkılmamalı.
- O gün yapılacak deney dikkatlice okunmuş olarak gelinmeli.
- Öğrenciler yanında selpak veya kağıt havlu gibi temizleyici malzemeler bulundurmalı.

Laboratuarda çalışırken yapılacaklar

- Herkes kendi işiyle uğraşmalı, birbirini gereksiz yere rahatsız etmemeli.
- Şakalaşma veya müzik dinleme gibi amaç dışı işlerle uğraşılmamalı.
- Laboratuarda acele hareket edilmemeli panik ve heyecan yapılmamalı.
- Laboratuarda yenilip, içilmemeli.
- Sigara içilmemeli.
- Laboratuardaki buzluklara, soğutuculara gıda maddeleri konulmamalı.
- Laboratuarda çeşitli kimyasal maddeler ve biyolojik materyellerle çalışılacağından elinizi ağzınıza veya gözünüze götürmemeye dikkat ediniz.
- **Ağızla** pipetleme yapmayınız.
- Her kimyasal madde için ayrı bir cam malzeme kullanılmalı. Başka kimyasal maddelere bulaşmış olanlar kullanılmamalıdır.
- Hazırlanan çözelti şişeleri hemen etiketlenmeli, hazırlanma tarihi mutlaka etiketine not edilmeli.
- Laboratuardaki sıvıların çoğu yanıcı özelliktedir. Bunlarla çalışırken yakınlarında ateş bulunmasına izin vermeyiniz.
- Laboratuarda herhangi bir kimyasalla temas etmeniz durumunda hemen temas eden yeri bol su ile yıkayınız ve öğretim elemanına durumu bildiriniz.
- Lavaboya kimyasal boşaltılacağında musluk açılmalı ve boşaltım işleminden sonra bir süre açık kalmalı.
- Laboratuarda birçok madde ve cihazın birlikte kullanılması söz konusu olacağından karşılıklı saygı ve nezaket kuralları içinde sıranızı bekleyerek çalışmalarımızı sürdürmeliyiz.
- Çalışırken belirlenen prosedür takip edilmeli.
- Gruplar kendi içinde görev dağılımı yapmalı.
- Bireysel hiç bir şey çalışma masasında bulundurulmamalı.
- Deneylerde başarılı sonuç alınıncaya kadar deney tekrar edilir.
- Herhangi bir şekilde öğrencinin katılmadığı laboratuar çalışması genel sınavdan önce telafi olarak tamamlanacaktır.

Deney bitiminde yapılacaklar

- Kullanılan kimyasallar yerlerine kaldırınız.
- Her grup kendi çalıştığı yerin temizliğinden ve düzeninden sorumludur.
- Masaların üstü silinmeli, bulaşıklar yıkanmalı ve kullanılan cihaz varsa bunlar temiz bırakılmalıdır.
- Ellerinizi yıkayınız
- Yapılan deneyin sonucu öğretim elemanına gösterilerek deftere not ediniz ve bir sonraki hafta yapılan uygulamanın raporunu öğretim elemanına teslim edin.

2. ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI

Çözeltiler, iki veya daha fazla maddenin homojen karışımlarıdırlar. Genel olarak bir çözeltinin bileşenleri(komponentleri); çözen madde(çözücü, solvent) ve çözünmüş madde veya maddeler(solüt veya solütler)dir. Çözücü genelde sıvı ve sudur; alkol, kloroform gibi sıvılar da olabilir. Çözünmüş maddeler katı, sıvı, gaz olabilir.

Bir çözeltideki çözünmüş madde miktarının fazla olması, çözeltinin konsantrasyonunun yüksek olduğu ve çözeltinin ***derişik(konsantre)*** olduğu şeklinde ifade edilir; çözeltideki çözünmüş madde miktarının az olması, çözeltinin konsantrasyonunun düşük olduğu ve çözeltinin ***seyreltik*** olduğu şeklinde ifade edilir. Konsantre çözeltilerde çözünmüş madde miktarı fazladır, seyreltik çözeltilerde çözünmüş madde miktarı azdır. Bir çözeltide çözünmüş madde miktarı, belli bir değerden daha fazla olamaz; çözünmüş maddenin azamisini içeren çözelti, ***doymuş*** çözelti olarak tanımlanır. Doymuş çözeltiye eklenecek daha fazla solüt, çözünmeden çözeltinin dibinde çökelti olarak kalır. Dibinde çökelti olmayan doymuş çözeltiye çözücü eklenmesi, çözeltiyi daha az konsantre veya seyreltik hale getirir ve çözeltinin ***dilüe*** olduğundan sözedilir.

KATI MADDELERİN % ÇÖZELTİLERİ (%w/v çözeltiler)

% w/v çözeltiler, konsantrasyonu, 100 mL çözeltideki çözünmüş madde miktarı gram olarak ifade edilen çözeltilerdir. Örneğin %5'lik glukoz çözeltisi dendiğinde, çözeltinin 100 mL'sinde 5 gram glukoz bulunduğu anlaşılır. Çözeltilerdeki çözücü genelde sudur, sudan başka bir sıvı ise bu ayrıca belirtilir.

% w/v çözeltilerin hazırlanması:

1) Hazırlanacak çözelti volümü için uygun volümde kuru ve temiz bir balon joje alınır.
2) Balon jojeye bir miktar çözücü konur.
3) Hazırlanacak volümde çözeltide bulunması gereken solüt miktarı hesaplanır:

$$\frac{istenenkonsantrasyon(\%)}{100} \text{ x } istenen\ volüm(mL) = g\ tartılacak\ solüt\ miktarı$$

Hesaplanan miktarda solüt tartılır ve balon jojedeki çözücüye eklenerek karıştırma suretiyle çözülür.

**KOH ve NaOH gibi alkalilerin ve H_2SO_4 gibi asidlerin çözünmeleri sırasında açığa çıkan fazla miktarda ısı balonun aşırı ısınma ile çatlamasına neden olabilir; bu durumda*

soğutmak amacıyla balonun dışı, akan çeşme suyu altında tutulmalı; fakat bu sırada balonun içine çeşme suyu kaçmamasına dikkat etmelidir.

4) Balon jojenin işaret çizgisine kadar çözücü eklenerek volüm istenilen değere tamamlanır ve balonun ağzı kapatılarak alt-üst etme suretiyle iyice karışma sağlanır.

Örnek: *250 mL % 5'lik glukoz çözeltisinin hazırlanması:*

1º) 250 mL'lik kuru ve temiz bir balon joje alınır.

2º) Balon jojeye bir miktar distile su konur.

3º) $\frac{5}{100}$ *x 250 = 12,5 g glukoz tartılır ve balondaki suya eklenerek çözülür.*

4º) Balonun işaret çizgisine kadar distile su eklenerek volüm 250 mL'ye tamamlanır ve balonun ağzı kapatılarak alt-üst etme suretiyle iyice karışma sağlanır.

**Çeşitli volümde ve çeşitli konsantrasyonda %w/v çözeltiler için gerekli solüt miktarı hesaplama örnekleri yapınız.*

Örnek: 500 mL %20'lik KOH çözeltisi için gerekli KOH miktarı?
200 mL % 0.9'luk NaCl çözeltisi için gerekli NaCl miktarı?

SIVI MADDELERİN % ÇÖZELTİLERİ (%v/v çözeltiler)

%v/v çözeltiler, konsantrasyonu, 100 mL çözeltideki çözünmüş madde miktarı mL olarak ifade edilen sıvı-sıvı çözeltileridir. Örneğin %70 v/v'lik etil alkol çözeltisi dendiğinde, çözeltinin 100 mL'sinde 70 mL etil alkol bulunduğu anlaşılır. Çözeltilerdeki çözücü genelde sudur, sudan başka bir sıvı ise bu ayrıca belirtilir.

Molar çözeltiler

Molar çözeltiler, konsantrasyonu, 1000 mL çözeltideki çözünmüş madde miktarı mol olarak ifade edilen çözeltilerdir. Örneğin 2 molar(2M) glukoz çözeltisi dendiğinde, çözeltinin 1000 mL'sinde 2 mol glukoz bulunduğu anlaşılır. Çözeltilerdeki çözücü genelde sudur, sudan başka bir sıvı ise bu ayrıca belirtilir.

1 mol madde, Avogadro sayısı($6,023 \times 10^{23}$) kadar birim parçacık(atom, molekül veya iyon) içeren miktarda maddedir ve 1 mol maddenin kütlesi, gram cinsinden birim parçacık kütlesine eşittir. Örneğin 1 mol Ca, 40,08 g Ca(Kalsiyumun atom ağırlığı 40,08); 1 mol glukoz, 180 g glukoz (glukozun molekül ağırlığı 180); 1 mol Na^+, 22,99 g Na^+(Sodyumun atom ağırlığı 22,99)'dur.

**Çeşitli maddelerin farklı mollerdeki miktarlarının kütlelerini gram cinsinden hesaplama alıştırmaları yapınız.*

Örnek: 4 mol NaCl = ? g NaCl
584,5 g NaCl = ? mol NaCl
0,5 mol glukoz = ? mg glukoz
0,2 μmol Na^+ = ? mg Na^+
2,431 mg Mg^{2+} = ? mmol Mg^{2+}

Molar çözeltilerin hazırlanması

Katı maddelerin molar çözeltilerinin hazırlanması:

1) Hazırlanacak çözelti volümü için uygun volümde kuru ve temiz bir balon joje alınır.
2) Balon jojeye bir miktar çözücü konur.
3) Hazırlanacak volümde çözeltide bulunması gereken solüt miktarı hesaplanır:

İstenen volüm(L) x İstenen molarite(M) x Molekül ağırlığı(g) = g tartılacak solüt

Hesaplanan miktarda solüt tartılır ve balon jojedeki çözücüye eklenerek karıştırma suretiyle çözülür.

**KOH ve NaOH gibi alkalilerin ve H_2SO_4 gibi asidlerin çözünmeleri sırasında açığa çıkan fazla miktarda ısı, balonun aşırı ısınma ile çatlamasına neden olabilir; bu durumda soğutmak amacıyla balonun dışı akan çeşme suyu altında tutulmalı, fakat bu sırada balonun içine çeşme suyu kaçmamasına dikkat etmelidir.*

4) Balon jojenin işaret çizgisine kadar çözücü eklenerek volüm istenilen değere tamamlanır ve balonun ağzı kapatılarak alt-üst etme suretiyle iyice karışma sağlanır.

Örnek: *250 mL 2M'lık NaOH çözeltisinin hazırlanması:*

1º) 250 mL'lik kuru ve temiz bir balon joje alınır.

2º) Balon jojeye bir miktar distile su konur.

3º) 0,250 x 2 x 40 = 20 g NaOH tartılır ve balondaki suya eklenerek çözülür.

4º) Balonun işaret çizgisine kadar distile su eklenerek volüm 250 mL'ye tamamlanır ve balonun ağzı kapatılarak alt-üst etme suretiyle iyice karışma sağlanır.

**Çeşitli volümde ve çeşitli konsantrasyonda molar çözeltiler için gerekli solüt miktarı hesaplama örnekleri yapınız.*

Örnek: 500 mL 0,5M'lık glukoz çözeltisi için gerekli glukoz miktarı?
2000 mL 4M'lık KOH çözeltisi için gerekli KOH miktarı?
250 mL 36 mM'lık glukoz çözeltisi için gerekli glukoz miktarı?
100 mL 144 µM'lık glukoz çözeltisi için gerekli glukoz miktarı?

Sıvı asidlerin molar çözeltilerinin hazırlanması:

1) Hazırlanacak çözelti volümü için uygun volümde kuru ve temiz bir balon joje alınır.
2) Balon jojeye bir miktar distile su konur.
3) Hazırlanacak volümde çözeltide bulunması gereken sıvı asid miktarı hesaplanır:

$$\frac{istenenmolarite(M)xmolekülerag(g)xistenenvolüm(L)}{dansitexkonsantrasyon(\%)} = \text{mL alınacak sıvı asid}$$

Hesaplanan miktarda sıvı asid alınır ve balon jojedeki suya eklenerek karıştırma suretiyle çözülür.

** H_2SO_4 gibi asidlerin çözünmeleri sırasında açığa çıkan fazla miktarda ısı, balonun aşırı ısınma ile çatlamasına neden olabilir; bu durumda soğutmak amacıyla balonun dışı, akan çeşme suyu altında tutulmalı; fakat bu sırada balonun içine çeşme suyu kaçmamasına dikkat etmelidir.*

4) Balon jojenin işaret çizgisine kadar distile su eklenerek volüm istenilen değere tamamlanır ve balonun ağzı kapatılarak alt-üst etme suretiyle iyice karışma sağlanır.

Örnek: *500 mL 2M'lık HCl çözeltisinin, dansitesi 1,19 olan % 38'lik konsantre HCl'den hazırlanması:*

1º) 500 mL'lik kuru ve temiz bir balon joje alınır.
2º) Balon jojeye bir miktar distile su konur.
3º) $\frac{2x36,46x0,500}{1,19x0,38}$ = *80, 63 mL konsantre HCl alınır ve balondaki suya eklenerek çözülür.*
4º) Balonun işaret çizgisine kadar distile su eklenerek volüm 500 mL'ye tamamlanır ve balonun ağzı kapatılarak alt-üst etme suretiyle iyice karışma sağlanır.

**Çeşitli volümde ve çeşitli konsantrasyonda molar çözeltiler için gerekli sıvı asid miktarı hesaplama örnekleri yapınız.*

Örnek: 250 mL 4M'lık HCl çözeltisi için gerekli konsantre HCl miktarı?
2000 mL 1M'lık H_2SO_4 çözeltisi için gerekli konsantre H_2SO_4 (dansitesi 1,84 ve %96'lık) miktarı?

Normal çözeltiler

Normal çözeltiler, konsantrasyonu, 1000 mL çözeltideki çözünmüş madde miktarı ekivalan gram sayısı(Eq) olarak ifade edilen çözeltilerdir. Örneğin 2Normal(2N) H_2SO_4 çözeltisi dendiğinde, çözeltinin 1000 mL'sinde 2 ekivalan(2 Eq) H_2SO_4 bulunduğu anlaşılır. Çözeltilerdeki çözücü genelde sudur.

Bir element veya bileşiğin ***ekivalan ağırlığı(eşdeğer ağırlığı)***, 1 mol Hidrojen ile birleşen veya onun yerine geçebilen miktarının gram kütlesidir ve moleküler ağırlığın valans(değerlik)'a bölümüne eşittir. Örneğin bazı element ve bileşiklerin gram olarak ekivalan ağırlıkları şöyledir:

Madde	**Moleküler ağırlık (gram)**	**Valans**	**Ekivalan ağırlık (gram)**
HCl	36,46	**1**	*36,46*
H_2SO_4	98,08	**2**	*49,04*
H_3PO_4	98,00	**3**	*32,67*
NaOH	40,00	**1**	*40,00*
Na_2CO_3	106,00	**2**	*53,00*
NaCl	58,45	**1**	*58,45*
$CuSO_4$	160,00	**2**	*80,00*
$CaCl_2$	111,00	**2**	*55,50*
Na^+	22,99	**1**	*22,99*
K^+	39,10	**1**	*39,10*
Cl^-	35,45	**1**	*35,45*
Ca^{2+}	40,08	**2**	*20,04*
Mg^{2+}	24,31	**2**	*12,155*

**Çeşitli maddeleri gram miktarlarını ekivalan sayısı(Eq) olarak ifade etme ve ekivalan sayısı(Eq) miktarlarını gram olarak ifade etme alıştırmaları yapınız.*

Örnek: 80 g NaOH = ? Eq NaOH

2 Eq Na_2CO_3 = ? g Na_2CO_3

3,5 mEq K^+ = ? mg K^+

100 mEq Cl^- = ? g Cl^-

Normal çözeltilerin hazırlanması

Katı maddelerin normal çözeltilerinin hazırlanması:

1) Hazırlanacak çözelti volümü için uygun volümde kuru ve temiz bir balon joje alınır.
2) Balon jojeye bir miktar çözücü konur.
3) Hazırlanacak volümde çözeltide bulunması gereken solüt miktarı hesaplanır:

İstenen normalite(N) x Ekivalan gram(g) x İstenen volüm(L) = g tartılacak solüt

Hesaplanan miktarda solüt tartılır ve balon jojedeki çözücüye eklenerek karıştırma suretiyle çözülür.

**KOH ve NaOH gibi alkalilerin ve H_2SO_4 gibi asidlerin çözünmeleri sırasında açığa çıkan fazla miktarda ısı, balonun aşırı ısınma ile çatlamasına neden olabilir; bu durumda soğutmak amacıyla balonun dışı, akan çeşme suyu altında tutulmalı; fakat bu sırada balonun içine çeşme suyu kaçmamasına dikkat etmelidir.*

4) Balon jojenin işaret çizgisine kadar çözücü eklenerek volüm istenilen değere tamamlanır ve balonun ağzı kapatılarak alt-üst etme suretiyle iyice karışma sağlanır.

Örnek: *500 mL 2,5 N'lik NaOH çözeltisinin hazırlanması:*

1º) 500 mL'lik kuru ve temiz bir balon joje alınır.

2º) Balon jojeye bir miktar distile su konur.

3º) 2,5 x 40 x 0,500 = 50 g NaOH tartılır ve balondaki suya eklenerek çözülür.

4º) Balonun işaret çizgisine kadar distile su eklenerek volüm 500 mL'ye tamamlanır ve balonun ağzı kapatılarak alt-üst etme suretiyle iyice karışma sağlanır.

**Çeşitli volümde ve çeşitli konsantrasyonda Normal çözeltiler için gerekli solüt miktarı hesaplama örnekleri yapınız.*

Örnek: 500 mL 0,5N'lik Na_2CO_3 çözeltisi için gerekli Na_2CO_3 miktarı?

2000 mL 4N'lik KOH çözeltisi için gerekli KOH miktarı?

250 mL 58,45 mN'lik NaCl çözeltisi için gerekli NaCl miktarı?

Sıvı asidlerin normal çözeltilerinin hazırlanması:

1) Hazırlanacak çözelti volümü için uygun volümde kuru ve temiz bir balon joje alınır.
2) Balon jojeye bir miktar distile su konur.
3) Hazırlanacak volümde çözeltide bulunması gereken sıvı asid miktarı hesaplanır:

$$\frac{istenennormalite(N)xmolekülerag(g)xistenenvolüm(L)}{valansxdansitexkonsantrasyon(\%)} = \text{mL alınacak sıvı asid}$$

Hesaplanan miktarda sıvı asid alınır ve balon jojedeki suya eklenerek karıştırma suretiyle çözülür.

** H_2SO_4 gibi asidlerin çözünmeleri sırasında açığa çıkan fazla miktarda ısı, balonun aşırı ısınma ile çatlamasına neden olabilir; bu durumda soğutmak amacıyla balonun dışı, akan çeşme suyu altında tutulmalı; fakat bu sırada balonun içine çeşme suyu kaçmamasına dikkat etmelidir.*

4) Balon jojenin işaret çizgisine kadar distile su eklenerek volüm istenilen değere tamamlanır ve balonun ağzı kapatılarak alt-üst etme suretiyle iyice karışma sağlanır.

Örnek: *250 mL 0,1N'lik HCl çözeltisinin dansitesi 1,19 olan %38'lik konsantre HCl'den hazırlanması:*

1º) 250 mL'lik kuru ve temiz bir balon joje alınır.

2º) Balon jojeye bir miktar distile su konur.

3º) $\frac{0{,}1x36{,}46x0{,}250}{1x1{,}19x0{,}38}$ = *2,02 mL konsantre HCl alınır ve balondaki suya eklenerek çözülür.*

4º) Balonun işaret çizgisine kadar distile su eklenerek volüm250 mL'ye tamamlanır ve balonun ağzı kapatılarak alt-üst etme suretiyle iyice karışma sağlanır.

**Çeşitli volümde ve çeşitli konsantrasyonda molar çözeltiler için gerekli sıvı asid miktarı hesaplama örnekleri yapınız.*

Örnek: 2 L 1,5N'lik HCl çözeltisi için gerekli konsantre HCl miktarı?

200 mL 1 N'lik H_2SO_4 çözeltisi için gerekli konsantre H_2SO_4 (dansitesi 1,84 ve % 96'lık) miktarı?

Çözeltilerin seyreltilmeleri ve çözelti karışımları

Seyreltilen çözeltilerin ilk volüm(V_1), ilk konsantrasyon(C_1), seyreltildikten sonraki volüm(V_2) ve seyreltildikten sonraki konsantrasyon(C_2)'ları arasında, $\mathbf{V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2}$ şeklinde bir bağıntı vardır. Konsantre bir çözeltiden belli volümde ve belli konsantrasyonda seyreltik çözeltilerin hazırlanması için konsantre çözeltiden alınacak miktarı hesaplamada bu bağıntı kullanılır.

Örnek: % 98'lik alkol ile 250 mL % 70'lik alkol çözeltisi hazırlamak için,

$$\mathbf{V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2}$$

$$V_1 \times 98 = 250 \times 70$$

$$V_1 = \frac{250x70}{98}$$

V_1 = 178,57 mL % 98'lik alkol alınır ve toplam volüm 250 mL olacak şekilde distile su ile karıştırılır.

Bir maddenin volümü V_1 ve konsantrasyonu C_1 olan çözeltisi ile volümü V_2 ve konsantrasyonu C_2 olan çözeltisi karıştırıldığında da karışımın volümü(V_{1+2}) ve konsantrasyonu(C_{1+2}) ile karışımı oluşturan çözeltilerin volüm ve konsantrasyonları arasında $\mathbf{(V_{1+2}) \times (C_{1+2}) = V_1 \times C_1 + V_2 \times C_2}$ şeklinde bir bağıntı vardır.

**Çeşitli çözeltiler için seyreltme ve karıştırma durumLarı ile ilgili hesaplama alıştırmaları yapınız.*

Örnek: 250 mL 0,15 M'lık bir çözelti hazırlamak için 1,5 M'lık bir çözeltiden alınacak miktar?

Seri dilüsyonlar

Bir çözeltinin 1/2 oranında seyreltilmesi deyince 1 volüm çözelti ile 1 volüm seyreltme sıvısının karıştırılacağı anlaşılır; 1 volüm çözelti ile 2 volüm seyreltme sıvısının karıştırılması, 1/3 oranında seyreltme demektir. Seyreltme sıvısı genellikle sudur ve bu nedenle ***seyreltme*** işlemleri genellikle ***sulandırma*** veya ***dilüsyon*** olarak adlandırılırlar; seyreltme sıvısı da ***dilüent*** olarak adlandırılır.

Seri dilüsyonlarda her dilüsyondan sonra elde edilen yeni çözelti tekrar dilüe edilir ve bu işlem ardı ardına tekrarlanabilir. Örneğin; 0,5 mL serumun 0,5 mL fizyolojik NaCl çözeltisi ile karıştırılmasıyla serum 1/2 oranında dilüe edilmiş olur. 1/2 oranında dilüe serumdan 0,5 mL alıp 0,5 mL fizyolojik NaCl çözeltisi ile karıştırırsak tekrar 1/2 oranında dilüsyon yapmış oluruz. Art arda iki defa 1/2 oranında dilüsyon, toplam olarak $\frac{1}{2} \times \frac{1}{2} = \frac{1}{4}$ oranında dilüsyon demektir.

3. KARBOHİDRAT DENEYLERİ

3.1ŞEKERLERİN ASİTLERLE REAKSİYONLARI

DENEY 1. MOLISCH DENEYİ

Monosakkaritler konsantre asitlerle tepkimeye sokuldukları zaman dehidrasyona uğrayarak furfural ve hidroksimetil furfural bileşikleri oluşur. Bu furfuroller α-naftol ile tepkimeye girerek renkli bir bileşik oluştururlar.

Malzemeler :

Derişik sülfirik asit (H_2SO_4)

Molisch ayıracı: %5'lik etanolik α-naftol çözeltisi

%0.5'lik Sakkaroz, %0.5'lik Nişasta ve %0.5'lik glikoz çözeltileri

Yapılışı:

1 ml glukoz çözeltisine 3 damla %5'lik α-naftol çözeltisi eklenir ve karıştırılır. Daha sonra tüpü eğik tutarak kenarından dikkatle sülfirik asit sızdırılır. Çözeltinin temas yerinde mor bir halka oluşur.

DENEY 2. ANTHRON DENEYİ

Furfural ve hidroksimetilfurfural bileşiklerinin anthrone ile vermiş olduğu yeşilimtrak mavi-yeşil renkli bileşiğin gözlenmesine dayanır.

Malzemeler:

Anthrone ayıracı

% 0.5'lik glikoz çözeltisi

% 0.5'lik sakkaroz çözeltisi

% 0.5'lik nişasta çözeltisi

Anthrone ayıracının hazırlanması: 0.02 g anthrone 10 ml %95'lik sülfirik asitte çözülür.

Yapılışı: 3 deney tüpü alınır. Tüplerin birine 1 damla % 0.5'lik glikoz çözeltisi, birine % 0.5'lik sakkaroz çözeltisi son kalan tüpe de % 0.5'lik nişasta çözeltisi konur. Tüplerin üzerlerine 1'er ml saf su eklenir. Sonra her bir tüpe dikkatlice 3'er ml anthron ayıracı konur, karıştırılır. Sıcak su banyosunda üç dakika ısıtılır, soğutulur, renk oluşumu gözlenir.

DENEY 3. SELIWANOFF DENEYİ

Asit etkisiyle oluşan furfural türevlerinin resorsinol ile kırmızı renkte bir kompleks oluşturması esasına dayanır.

Malzemeler:

Seliwanoff ayıracı

% 1'lik fruktoz çözeltisi

% 1'lik sakkaroz çözeltisi

% 1'lik glukoz çözeltisi

İdrar

Seliwanoff ayıracının hazırlanması: 0.05 g resorsinol (m-dihidroksi benzen) tartılır ve 3N HCl çözeltisi ile ile çözülerek 100 mL'ye tamamlanır.
Yapılışı: 4 deney tüpü alınır. Tüplerin birine 5 damla % 1'lik glikoz çözeltisi, birine % 1'lik sakkaroz çözeltisi, bir diğerine 5 damla idrar, son kalan tüpe de % 1'lik fruktoz çözeltisi konur. Tüplerin üzerlerine 2.5'ar ml seliwanoff ayıracı eklenir. Sıcak su banyosunda 5 dakika ısıtılır, renk oluşumu gözlenir.

DENEY 4 MOORE DENEYİ

Şekerler kuvvetli bazik ortamda parçalanıp yeniden düzenlenirler ve karamelizasyon gerçekleşir. Glikoz ile yapılan deney sonucunda fruktoz ve mannoz içeren bir karışım elde edilir.

Malzemeler:
2N NaOH
% 5'lik glikoz çözeltisi

Yapılışı:

2 mL %5'lik glikoz çözeltisi üzerine 1 mL 2N NaOH çözeltisi eklenir, karıştırılır ve ısıtılır. Karışımın rengi sarı olur. Daha sonra kahverengine dönüşür ve karamel kokusu duyulur.

DENEY 5 TROMMER DENEYİ

Serbest aldehit veya keton grubu bulunduran bütün monosakkaritler indirgen özelliktedir. Monosakkaritler indirgeyici etkilerini ancak alkali ve sıcak ortamda gösterirler. Bu deneyde indirgeyici şeker Cu^{+2} iyonlarını indirgerler, buna karşılık kendileri şeker asitlerine yükseltgenirler.

Malzemeler:
%5'lik $CuSO_4$ çözeltisi
% 5'lik glikoz çözeltisi
%5'lik NaOH çözeltisi

Yapılışı:

2-3 mL %5'lik glikoz çözeltisi üzerine 1-2 mL %5'lik NaOH çözeltisi eklenir, karıştırılır. Bunun üzerine birkaç damla %5'lik $CuSO_4$ çözeltisi eklenip, sıcak su banyosunda ısıtılır. +2 değerlikli bakır +1 değerlikli bakıra indirgenir ve sarı renkli CuOH veya kırmızı renkli Cu_2O şeklinde çöker.

DENEY 6 BENEDICT'S DENEYİ

Bu yöntemde ayıraçta bulunan (+2) değerlikli bakır iyonu alkali ortamda sitrat anyonu ile kompleks yapar. Glukoz ya da diğer indirgen maddeler bakırı indirgeyerek CuOH veya Cu_2O oluşmasına ve çökelmesine yol açarlar.

Malzemeler:
Benedict ayıracı
% 5'lik glikoz çözeltisi
%5'lik sakkaroz çözeltisi
İdrar

Benedict ayıracının hazırlanması: 173 g sodyum sitrat ($Na_3C_6H_5O_7.2H_2O$) ve 100 g susuz sodyum karbonat (Na_2CO_3) uygun miktarda ılık suda çözülür, soğutulur ve bir litrelik bir balon jojeye süzülür. Ayrı bir kapta 17.3 g $CuSO_4.5H_2O$ 100 ml kadar suda çözülerek balon jojeye azar azar ve karıştırarak eklenir. Son hacim saf su ile litreye tamamlanır.

Yapılışı:

5 mL benedict ayıracına yaklaşık 1 ml %5'lik glikoz çözeltisi eklenir. Kaynayan su banyosunda 5 dakika bekletilir. Yeşil, sarı veya kırmızı tortunun oluşumu indirgeyici şekerler için reaksiyonun olumlu olduğunu gösterir. Aynı deney diğer şeker çözeltileri ve idrar için de tekrarlanır.

DENEY 7 BARFOED DENEYİ

Karbohidratların karbonil grupları zayıf asidik ortamda bakır(Cu^{+2}) gibi iyonları oksitleyerek sarı renkli CuOH'i veya kırmızı renkli Cu_2O'i verir. İndirgeyici monosakkaritler, indirgeyici disakkaritlerden daha çabuk bu reaksiyonu verir. İndirgeyici olmayan disakkaritler bu reaksiyonda kırmızı renk vermezler.

Malzemeler:
Barfoed ayıracı
% 1'lik glikoz çözeltisi
% 1'lik sakkaroz çözeltisi
% 1'lik nişasta çözeltisi

Barfoed ayıracının hazırlanması: 800 ml saf su içinde 66.5 g nötral kristal bakır asetat çözülür ve 6 mL asetik asit eklenir, saf su ile hacmi litreye tamamlanır.

Yapılışı:

5 mL barfoed ayıracına 5 ml %1'lik glikoz çözeltisi eklenir. İyice karıştırılır. Sıcak su banyosunda 2 dakika ısıtılınca kırmızı veya kırmızımsı bulutlanma olması indirgeyici şekerin varlığını gösterir. Kontrol için ise karbohidrat çözeltisi yerine 5 ml saf su kullanınız. Aynı deneyi % 1'lik sakkaroz ve % 1'lik nişasta çözeltisi ile tekrarlayınız.

DENEY 8 TOLLENS DENEYİ

Yöntem karbohidratların serbest aldehit veya keton gruplarının Ag^+ iyonlarını Ag^0 haline indirgemesi prensibine dayanır.

Malzemeler:
%1.7'lik $AgNO_3$ çözeltisi
% 5'lik NaOH çözeltisi
% 5'lik NH_3 çözeltisi
% 5'lik glikoz çözeltisi

Yapılışı:

Deney tüpüne 2 mL %1.7'lik $AgNO_3$ çözeltisi ve 1-2 damla %5'lik NaOH çözeltisi konulur. Bunun üzerine %5'lik NH_3 çözeltisinden damla damla ilave edilir. Daha sonra deney tüpüne aynı miktarda glikoz çözeltisi eklenip karıştırılır ve kaynar su banyosunda ısıtılır. +1 değerlikli Ag, metalik gümüşe (Ag^0) indirgenir. Deney tüpünün cidarında bir ayna oluşur.

DENEY 9 NYLANDER DENEYİ

Serbest aldehit ve keton grubu taşıyan şekerler alkali ortamda kaynatıldıklarında ayıraçta bulunan Bi^{+3} metalik Bi^0'a indirgenir.

Malzemeler:
Nylander reaktifi
% 5'lik glikoz çözeltisi
İdrar
Nylander reaktifinin hazırlanması:4 g sodyum potasyum tartarat ve 2 g bizmut-subnitrat tartılır. Az miktar %10'luk NaOH ile çözülüp, hacim aynı çözeltiyle 100 ml'ye tamamlanır.

Yapılışı:

Deney tüpüne 5 mL %5'lik glikoz çözeltisi koyun ve 0.5 ml nylander reaktifi eklenir. Karıştırıldıktan sonra sıcak su banyosunda 5 dakika ısıtın. Eğer indirgen şeker bulunuyorsa siyah bir renk ortaya çıkacaktır. Bu renk metalik bizmutun çökelmesi sonucu oluşur. 2.bir deney tüpüne 5 ml idrar konur. Üzerine 30 damla nylander reaktifi eklenir. Beş dakika kaynatılır. İdrarda önce fosfatlardan ibaret beyaz bir çökelek oluşur. Eğer idrarda şeker varsa idrarın rengi önce sarı-esmer, sonra siyaha döner. İdrarda şeker yoksa idrarın ve çökeleğin renginde değişiklik olmaz.İdrarda şeker miktarı %0.1 g'dan daha az ise kaynatma sırasında belirgin siyah bir çökelek oluşmaz.Ancak çökelek tüpün dibine düştükten sonra siyah çökelek oluşur.

DENEY 10 MÜSİK ASİT DENEYİ

Galaktoz konsantre nitrik asitle muamele edildiğinde müsik asit oluşur. Tipik kristallere sahip olan müsik asit sulu nitrik asitle ayrılır.

Malzemeler:
Konsantre HNO_3
% 2'lik galaktoz çözeltisi
İdrar

Yapılışı:

Bir erlene 10 ml % 2'lik galaktoz çözeltisi konur. Üzerine 5 ml konsantre nitrik asit eklenir. Bu erlen sıcak su banyosunda 34 dakika kaynatılarak buharlaşma sağlanır. Sürenin sonunda erlen alınarak soğutulur. Ağzına saat camı kapatılır. Daha sonra erlene 5 ml saf su konulur, bagetle karıştırılır. Çözünmeyen bazı katılar görülür. Bunlar müsik asit kristalleridir. Bir lam üzerine alınarak mikroskopta incelenir. Diğer bir erlene ise 5 ml idrar konur, üzerine 1 ml konsantre nitrik asit eklenir. Su banyosunda buharlaştırılır, soğumaya bırakılır. Ertesi gün dipte beyaz bir çökelek görülür. Çökeleğin üstündeki sıvı dökülür. Dipte kalan birkaç damla sıvı çökelek ile iyice karıştırılır ve lam üzerine alınarak mikroskopta incelenir.

3.2 FENİL HİDRAZİN İLE VERDİĞİ REAKSİYON

DENEY 11 OSAZON DENEYİ

Karbohidratların aldehit ve keton gruplarına fenil hidrazin moleküllerinin girmesiyle meydana gelen kristallere Osazon kristalleri denir. Oluşan bu kristaller mikroskop altında incelenebilirler.

Malzemeler:
%50'lik asetik asit çözeltisi
% 5'lik glikoz çözeltisi
% 5'lik laktoz çözeltisi
Fenil hidrazin çözeltisi
Doymuş NaCl çözeltisi
İdrar

Yapılışı:

Deney tüpüne 5 damla fenil hidrazin çözeltisi ve 10 damla %50'lik asetik asit çözeltisi konur. Üzerine 1 ml doymuş NaCl çözeltisi eklenince karışım koyu bir renk alır. Buna, şeker çözeltisinden 5 ml ilave edilip karıştırıldıktan sonra 30 dakika kaynar su banyosunda tutulur. Tüp su banyosundan çıkarıldıktan sonra soğuması için beklenir. Bu sırada sallanmaması

gerekir. Daha sonra meydana gelen kristaller bir lam üzerine aktarılır mikroskopta incelenir. Aynı deney diğer şeker çözeltileri ve idrar için de tekrarlanır. Glukoz, mannoz ve fruktozun osazon kristalleri sarı renkte ve ekin demeti şeklinde, galaktoz ve laktoz'un kristalleri ise koyu sarı renkte ve at kestanesi şeklindedir.

3.3 DİSAKKARİTLERİN REAKSİYONLARI

DENEY 12. LAKTOZ VE SAKKAROZUN NİTEL TAYİNİ

Malzemeler:
%5'lik $CuSO_4$ çözeltisi
% 5'lik sakkaroz çözeltisi
% 5'lik laktoz çözeltisi
%5'lik NaOH çözeltisi

Yapılışı:

İki deney tüpüne 2'şer ml laktoz ve sakkaroz çözeltisi konulduktan sonra üzerlerine 1'er ml %5'lik NaOH çözeltisinden eklenir ve karıştırılır. Bunların üzerlerine birkaç damla %5'lik $CuSO_4$ çözeltisi eklenip kaynar su banyosunda ısıtılır. İçinde laktoz çözeltisi olan tüpte +2 değerlikli bakır, +1 değerlikli bakıra indirgenir ve sarı renkli CuOH veya kırmızı renkli Cu_2O şeklinde çöker. İçinde sakaroz çözeltisi olan ikinci tüpte ise bir indirgenme tepkimesi meydana gelmez.

DENEY 13 SAKKAROZUN HİDROLİZİ

3.3.2.1 ASİTLE HİDROLİZİ

Malzemeler:
%5'lik NaOH çözeltisi
% 5'lik sakkaroz çözeltisi
%5'lik HCl çözeltisi

Yapılışı:

Deney tüpüne 2 ml sakkaroz çözeltisi ve eşit miktarda %5'lik HCl konulup karıştırıldıktan sonra su banyosunda kaynatılarak hidroliz edilir. Soğutulduktan sonra %5'lik NaOH ile alkali yapılır(pH kağıdı ile kontrol edilmeli). Ve bu karışıma trommer deneyi uygulanır.

3.3.2.2 MAYA İLE HİDROLİZ

Malzemeler:
% 5'lik sakkaroz çözeltisi
Maya

Yapılışı:

Deney tüpüne bir spatül ucu maya konur ve üzerine 3-4 ml sakaroz çözeltisi eklenip iyice karıştırılır. Bu karışım süzgeç kağıdından süzülür. Süzüntü ile Trommer deneyi yapılır.

3.4 POLİSAKKARİTLERİN REAKSİYONLARI

DENEY 14. NİŞASTANIN NİTEL TAYİNİ VE HİDROLİZİ

Malzemeler:
% 5'lik nişasta çözeltisi
İyot çözeltisi

Yapılışı:

Deney tüpüne 1-2 ml nişasta çözeltisi konulup üzerine bir damla iyot çözeltisi eklenirse mor bir renk meydana gelir. Deney tüpü su banyosunda ısıtılınca rengin açıldığı, soğutulduğu zaman ise tekrar koyulaştığı görülür.

3.4.2 Nişastanın hidrolizi

Malzemeler:
% 5'lik nişasta çözeltisi
Konsantre HCl
%5'lik NaOH çözeltisi

Yapılışı:

2 ml nişasta çözeltisi üzerine eşit miktarda konsantre HCl konulur. Sıcak su banyosunda kaynatılarak hidroliz edilir. Soğutulduktan sonra %5'lik NaOH ile alkali yapılır (pH kağıdı ile kontrol edilir). Karışıma Trommer deneyi uygulanır.

DENEY 15 STRİPLE İDRARDA GLUKOZ MİKTARI TAYİNİ

Malzemeler:
Strip
İdrar
%1'lik glikoz çözeltisi
%0.5'lik C vitamini

Yapılışı:

Dört adet tüp alınır. Bunlara sırasıyla şunlar konulur:

1. tüp: 5 damla idrar + 10 damla su
2. tüp: 5 damla idrar + 4 damla %1'lik glukoz + 6 damla su
3. tüp: 5 damla idrar + 10 damla %1'lik glukoz
4. tüp: 5 damla idrar + 10 damla %0.5'lik C vitamini

Daha sonrasında stripler daldırılır. Sonuçlar kaydedilir.

3.6 KAN ŞEKERİ MİKTAR TAYİNİ

DENEY 16. FOLİN-WU DENEYİ

Glikoz yapısında indirgen aldehit grubu taşır. Bu nedenle sıcak alkali ortamda bakırı indirger ve indirgenmiş bakır ortamdaki fosfomolibdat ile glikoz konsantrasyonu iler orantılı koyulukta mavi renkte bir kompleks oluşturur.

Malzemeler :

Alkali bakır ayıracı: 40 g susuz Na_2CO_3 400 ml kadar saf suda çözülür, 1lt'lik balon jojeye aktarılır. 7.5 gr tartarik asit katılır, bu çözüldükten sonra 4.5 g $CuSO_4.5H_2O$ katılır. Karışım 1lt'ye tamamlanır.

Fosfomolibdik asit renk ayıracı: 1lt'lik behere 35 g molibdik asit ve 5g sodyum tungstat konur. 200 ml %10'luk NaOH ve 200 ml saf su katılır. 20-40 dakika kuvvetle kaynatılır. Soğuduktan sonra takriben 350 ml oluncaya kadar saf su konur, 125 ml %85'lik fosforik asit katılır. 500 ml'ye saf su ile tamamlanır.

Yapılışı:

Proteinsiz süzüntü hazırlanışı:

15 ml'lik deney tüpüne 1 ml kan 7 ml saf su konup, karıştırılır. 1 ml %10'luk soydum tungstat çözeltisi katılır. Yavaş yavaş karıştırarak 1 ml 2/3 normal H_2SO_4 katılır. Karıştırılır 10 dakika beklenir. Süzgeç kağıdından kuru bir tüpe süzülür.

2 ml proteini uzaklaştırılmış kan filtratı, 2 ml % 0.08 g glikoz, 2 ml 0.12 g glikoz çözeltisi, % 0.2 g glikoz çözeltisi ve 2 ml saf su tüplere konur. Bütün tüplere 2'şer ml alkali bakır ayıracı konur. Karıştırılır, kaynar su banyosunda 6 dakika bırakılır. Su banyosundan alınan tüpler soğuk su bulunan beher içerisinde 2-3 dakika soğutulur. 2'şer ml fosfomolibdik asit ayıracı katılır. Birkaç dakika beklenir ve sonra 25 ml işaretine kadar saf su ile tamamlanır. Alt-üst edilerek karıştırılır. 10-15 dakika bekletilir. Spektrofotometrede 400-450 nm arasında okunur. Sıfır ayarı kör ile yapılır. Kan şekeri miktarı standart eğriden hesaplanır.

3.7 İDARDA KETON CİSİMLERİNİN ARANMASI

DENEY 17.LANGE TESTİ İLE ASETONUN ARANMASI

Bu yöntem asetonun sodyum nitroprussiyat ile renkli bir kompleks oluşturmasına dayanır.

Malzemeler:

Glasial asetik asit

%10'luk sodyum nitroprussiyat

%28'lik amonyum hidroksit

Yapılışı: Bir deney tüpüne 2 ml idrar konur, üzerine 0.5 ml asetik asit ve 0.5 ml sodyum nitroprussiyat çözeltisi katılır ve karıştırılır. Üzerine tüpü sallamadan ve bir tabaka oluşturacak şekilde şişeden amonyak katılır. Birkaç dakika tüplükte bekletilir. İki sıvı arasında mor renkli halka oluşması idrarda aseton bulunduğunu gösterir.

DENEY 18. GERHARL DENEYİ

Bu yöntem $FeCl_3$ ile asetoasetik asidin kırmızı bir renk vermesi esasına dayanır.

Malzemeler:
%10'luk $FeCl_3$ çözeltisi
İdrar
Yapılışı: Bir deney tüpüne 5 ml idrar konur ve üzerine 8-10 damla kadar %10'luk $FeCl_3$ çözeltisi damlatılır. Bu esnada fosfatlara bağlı olarak beyaz bir çökelek oluşur. Bu çökelek süzgeç kağıdından süzülerek berrak idrar süzüntüsü elde edilir. Bu süzüntüye 4-5 damla daha $FeCl_3$ çözeltisi katılır. Kırmızı renk oluşması idrarda asetoasetik asit bulunduğunu gösterir.

4. PROTEİN DENEYLERİ

4.1 PROTEİNLERİN RENK REAKSİYONLARI

DENEY 19. KSANTOPROTEİN DENEYİ

Yoğun nitrik asit, proteinleri sarıya boyar. NaOH ile nötralizasyon ise bu rengin koyu sarıya dönmesine neden olur.
Malzemeler:
Konsantre HNO_3
%33'lük NaOH
Yumurta albümini çözeltisi: Bir hacim yumurta akı 10 hacim saf su ile karıştırılır ve ısıtılır, ovamisin çöker. Çökelek süzülerek ayrılır. Süzüntü yumurta albümini çözeltisi olarak kullanılır.

Yapılışı:

Deney tüpüne 2 ml yumurta albümini çözeltisi konur. Üzerine 1 ml konsantre HNO_3 çözeltisi eklenir ve sıcak su banyosunda sarı renkli çökelek oluşuncaya kadar tutulur. Soğuduktan sonra üzerine %33'lük NaOH çözeltisinden birkaç damla eklenir. Sarı rengin portakal sarısına döndüğü görülür.

DENEY 20. BİÜRE DENEYİ

Peptid bağlarının varlığını gösteren bir deneydir. NaOH ile kuvvetli bazik hale getirilen protein çözeltisi seyreltik $CuSO_4$ çözeltisi ile reaksiyona sokulduğunda mor-menekşe renk verirler. Renk oluşumu iki veya daha fazla peptid bağının varlığını gerektirir. Bu nedenle dipeptidler ve amino asitler bu reaksiyonu vermezler.

Malzemeler:
%2'lik $CuSO_4$ çözeltisi

%10'luk NaOH
Yumurta albümini çözeltisi: Bir hacim yumurta akı 10 hacim saf su ile karıştırılır ve ısıtılır, ovamisin çöker. Çökelek süzülerek ayrılır. Süzüntü yumurta albümini çözeltisi olarak kullanılır.
Katı üre

Yapılışı:

Deney tüpünün dörtte birine kadar katı üre konur ve ısıtılır. Bu durumda üre erir. Isıtmaya devam edilirse üre katılaşır ve biüre oluşur. Isıtma esnasında tüpün ağzına pH kağıdı tutulursa açığa çıkan NH_3 buharı kağıdı bazik renge boyar. Tüp soğutulur, üzerine 5 ml kadar saf su eklenir karıştırılır ve süzülür. Süzüntünün 2 ml'si ayrı bir deney tüpüne alınır, üzerine 2ml %10'luk NaOH çözeltisi eklenir ve karıştırılır. Daha sonra damla damla %2'lik $CuSO_4$ çözeltisi eklenir. Oluşan renk gözlenir. Başka bir deney tüpüne de 2 ml yumurta albümini çözeltisi alınır ve aynı reaktifler ile muamele edilip renk oluşumu gözlenir.

DENEY 21. NİNHİDRİN DENEYİ

Amino asitlerin tanınmasında kullanılan en hassas yöntemdir.

Malzemeler:
%5'lik Glisin çözeltisi
%0.2'lik Ninhidrin çözeltisi

Yapılışı:

1 ml glisin çözeltisine 1 damla ninhidrin çözeltisi eklenir ve ısıtılır. Mor-menekşe bir renk meydana gelir.

DENEY 22. PROTEİNLERİN HİDROLİTİK PARÇALANMASI

Besinlerle alınan proteinler, vücutta mide-barsak kanalında proteolitik enzimlerin yardımıyla yapı taşları olan amino asitlere parçalanırlar. Laboratuarda ise protein çözeltisi kuvvetli bir asit veya alkali ile uzun bir süre ısıtılarak kendisini oluşturan amino asitlere parçalanabilir. Proteinlerin parçalanması sırasında ortaya çıkan ara bileşikler (albümozlar, peptonlar), proteinlere kıyasla daha az sayıda peptid bağı taşıdıkları için biüre deneyi uygulandığında mor-menekşe renginin farklı tonları oluşur.

Malzemeler:
%3'lük Sığır albümini çözeltisi
%25'lik NaOH çözeltisi
%2'lik $CuSO_4$ çözeltisi

Yapılışı:

6 adet deney tüpü alınır. Her bir tüpe aşağıdaki çizelgede belirtilen işlemler uygulanır.

Tüp no	Sığır albümini çözeltisi (ml)	%25'lik NaOH (ml)	Su banyosunda kalış süreleri (dakika)	%2'lik $CuSO_4$ (damla)
1	1	1	0	2
2	1	1	2	2
3	1	1	5	2
4	1	1	10	2
5	1	1	20	2
6	1	1	60	2

Her tüpte oluşan renk not edilir.

DENEY 23. SPEKTROFOTOMETRİK YÖNTEMLE PROTEİN MİKTARI TAYİNİ

Malzemeler:

Stok sığır albümini çözeltisi (10 g/dl): 40 g sığır albümini 400 ml suda çözülür.

Biüre reaktifi: 3 g $CuSO_4$ ve 12 g sodyum potasyum tartarat yaklaşık 1 L suda çözülür. Bu çözeltiye karıştırarak 600 ml taze hazırlanmış %10'luk NaOH çözeltisi katılır. Hacmi 2 L'ye tamamlanır. Zamanla eğer reaktifte kırmızı veya siyah çökelek meydana gelirse çökelek süzülerek uzaklaştırılır.

Yapılışı:

6 adet deney tüpü alınır. İçlerine aşağıdaki reaktifler konur. Tüpler 30 dakika beklemeye bırakılır. Sonra her bir tüpün 540 nm'de absorbansları okunarak kaydedilir. Stok protein çözeltilerini içeren tüpler için okunan absorbansların konsantrasyonlarına karşılık grafiği çizilir. Grafikten serum için ölçülen absorbansa karşılık gelen konsantrasyon değeri okunarak serumdaki protein miktarı bulunmuş olur.

Tüp no	İçerik (ml)	Biüre reaktifi (ml)	Absorbans
Kör	5 ml Serum fizyolojik	2.5	
1	5 ml 2 g/dl protein çözeltisi	2.5	
2	5 ml 4g/dl protein çözeltisi	2.5	
3	5 ml 6 g/dl protein çözeltisi	2.5	
4	5 ml 8 g/dl protein çözeltisi	2.5	
5	5 ml 10 g/dl protein çözeltisi	2.5	
6	5 ml serum	2.5	

4.4 AMİNO ASİTLERİN REAKSİYONLARI

DENEY 24. AZOT DENEYİ

Malzemeler: %5'lik KNO_2 çözeltisi
Asetik asit
%5'lik glisin çözeltisi

Yapılışı: 1 ml %5'lik KNO_2 çözeltisi birkaç damla asetik asitle asitlendirilir. Üzerine 1 ml glisin çözeltisi eklenir, karıştırılır ve deney tüpünün tabanından yukarıya doğru azot gazı çıkışı gözlenir.

DENEY 25. KÜKÜRT DENEYİ

Sistein ve sistinin kükürdü derişik NaOH ile kaynatılarak inorganik sülfite çevrilir. Kurşun asetat eklenir ve siyah kurşun sülfit çökeleği olumlu reaksiyonu gösterir.
Malzemeler: %40'lik NaOH çözeltisi
%5'lik Kurşun asetat
%5'lik sistein çözeltisi
%5'lik glisin çözeltisi

Yapılışı: 3 ml %5'lik sistein çözeltisine 1 ml %40'lık NaOH ve 1-2 damla kurşun asetat çözeltisi eklenir, 3 dakika kaynar su banyosunda ısıtılır, ortaya çıkan renk gözlenir. Aynı işlemler glisin çözeltisi için de uygulanır.

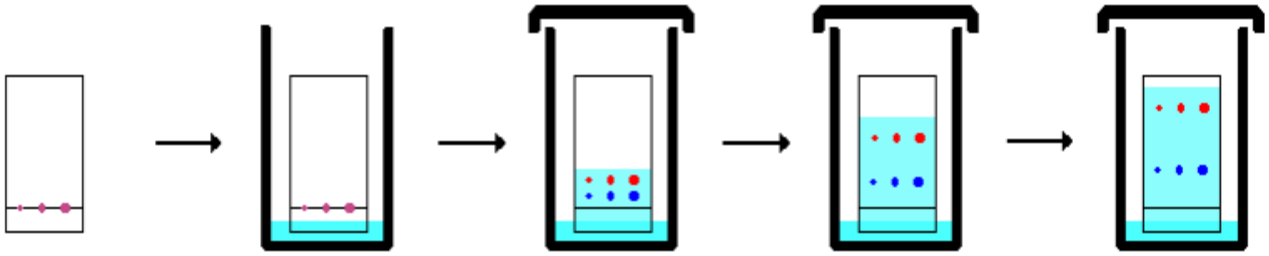
DENEY 26. İNCE TABAKA KROMATOGRAFİSİ İLE AMİNO ASİTLERİN AYRIMI

Malzemeler: İzopropil alkol
Ninhidrin çözeltisi
%5'lik sistein çözeltisi
%5'lik glisin çözeltisi
%5'lik glutamik asit çözeltisi
%1'lik yumurta albümini çözeltisi (%0.9'luk NaCl çözeltisi içinde)

Yapılışı:
Bir kromatografi tankı içerisine 10 ml izopropil alkol: su (8: 2) çözeltisi hazırlanarak konur. Daha sonra kromatografi plağı 6,5 cm x 20 cm ebatlarında kesilir. Bu plağın bir ucundan 0.8 cm kadar yukarısına kurşun kalemle bir çizgi çekilir.
Şekil 1'deki gibi işaretlenir. Plağın sol ve sağ yanından 1'er cm içeriden maddeler uygulanır, uygulanan yerler kurutulur. Plak tanktaki çözeltinin içine maddelerin uygulandığı ucundan daldırılır (Şekil 2). Yürütücü sistem plağı kapiller çekimin etkisiyle ıslatır (Şekil 3-4). Çözelti plağı tepe noktasına 1 cm kalana kadar ıslattığında tanktan

çıkartılıp kurutulur (Şekil 5). Plak ninhidrin çözeltisiyle ıslatılır ve ısıtıcı üzerinde ısıtılır. Oluşan lekelerin Rf değeri hesaplanır. Yumurta albümini çözeltisinde oluşan lekelerin Rf'leri de hesaplanır ve saf amino asit çözeltilerinin Rf'eri ile kıyaslanarak yumurta albümini çözeltisinde hangi amino asitlerin bulunduğu saptanır.

Rf= Lekenin uygulama yerinden uzaklığı/Çözeltinin uygulama yerinden uzaklığı



1 **2** **3** **4** **5**

4.5 PROTEİNLERİN ÇÖKTÜRME DENEYLERİ

DENEY 27. TUZLARLA ÇÖKTÜRME

Malzemeler: Doymuş $(NH_4)_2SO_4$ çözeltisi
%1'lik yumurta albümini çözeltisi
Serum

Yapılışı: İki ayrı tüpe 2'şer ml olmak üzere protein çözeltisi ve idrar konur. Üzerlerine aynı hacimde doymuş amonyum sülfat çözeltisi eklenir. Proteinlerin çökmesi gözlenir. Reaksiyon ortamına su eklenmesi ile çökeltinin tekrar eridiği görülür. Aynı işlemleri doymuş tuz çözeltisi ile gözlenir.

DENEY 28. ISI İLE ÇÖKTÜRME

Malzemeler: İdrar
%1'lik yumurta albümini çözeltisi
Serum

Yapılışı: 4 ayrı tüpe 3'er ml olmak üzere protein çözeltisi , idrar ve idrar + protein çözeltisi (1.5 ml idrar+1.5 ml protein çözeltisi) konur, ısıtılır. Çökelme durumları gözlenir.

DENEY 29. ASİTLERLE ÇÖKTÜRME

4.5.3.1 NİTRİK ASİT İLE

Malzemeler: İdrar
Derişik HNO_3
%1'lik yumurta albümini çözeltisi
Serum

Yapılışı: 3 ayrı tüpe 2'şer ml olmak üzere protein çözeltisi , idrar ve idrar + protein çözeltisi (1.5 ml idrar+1.5 ml protein çözeltisi) konur, tüpler 45^0 eğilir ve tüplerin kenarından HNO_3 sızdırılır. HNO_3 ile protein çözeltisinin değdiği yerde beyaz çökelek oluşur.

4.5.3.2 TRİKLOR ASETİK ASİT (TCA) İLE

Malzemeler: İdrar
%20'lik TCA
%1'lik yumurta albümini çözeltisi
Serum

Yapılışı: 4 ayrı tüpe 3'er ml olmak üzere protein çözeltisi ,idrar ve idrar + protein çözeltisi (1.5 ml idrar+1.5 ml protein çözeltisi) konur, 2 ml TCA konur. Çökelmeler gözlenir.

4.5.3.3 SÜLFOSALİSİLİK ASİT İLE

Malzemeler: İdrar
%10'luk sülfosalisilik asit çözeltisi
%1'lik yumurta albümini çözeltisi
Serum

Yapılışı: 4 ayrı tüpe 2'şer ml olmak üzere protein çözeltisi , idrar ve idrar + protein çözeltisi (1.5 ml idrar+1.5 ml protein çözeltisi) konur, 1 ml sülfosalisilik asit konur. Çökelmeler gözlenir.

DENEY 30. AĞIR METAL TUZLARI İLE

Malzemeler: İdrar
%1'lik $FeCl_3$ çözeltisi
%1'lik $AgNO_3$ çözeltisi
%1'lik HgCl çözeltisi
%1'lik yumurta albümini çözeltisi

Serum

Yapılışı: 3 ayrı tüpe 2'şer ml olmak üzere protein çözeltisi , idrar ve idrar + protein çözeltisi (1.5 ml idrar+1.5 ml protein çözeltisi) konur, 1 ml $FeCl_3$ çözeltisi konur. Çökelmeler gözlenir. Aynı denemeler diğer çözeltilerle de tekrarlanır.

DENEY 31. ALKOLLER İLE

Malzemeler: İdrar
Etanol
%1'lik yumurta albümini çözeltisi

Yapılışı: 3 ayrı tüpe 2'şer ml olmak üzere protein çözeltisi , idrar ve idrar + protein çözeltisi (1.5 ml idrar+1.5 ml protein çözeltisi) konur, üzerlerine çökelti oluşturuncaya kadar damla damla etanol eklenir. Bunun üzerine bir miktar su eklenir çökeltinin erimediği görülür.

DENEY 32. TCA İLE İDRARDA PROTEİN MİKTARI TAYİNİ

Malzemeler: İdrar
%12.5'luk TCA
%30 mg'lık yumurta albümini çözeltisi

Yapılışı: 3 ayrı tüpe 4'er ml olmak üzere protein çözeltisi (standart) , idrar (örnek 1) ve idrar + protein çözeltisi (1.5 ml idrar+1.5 ml protein çözeltisi) (Örnek 2)konur, üzerlerine 1'er ml TCA eklenir, karıştırılır. Diğer yandan bir başka tüpe de 4 ml idrar ve 1 ml su konur (Kör). Bütün tüpler 10 dakika bekletilir. Sonra tüpler birkaç kez baş aşağı çevrilerek karıştırılır ve hemen UV spektrofotometrede 420 nm' de örnek ve standart tüpleri köre karşı okunur. Sonuç aşağıdaki formüle göre hesaplanır:

$$\text{Örnek konsantrasyonu} = \frac{\text{Örnek absorbansý}}{\text{Standart absorbansý}} \times \text{Standart konsantrasyonu}$$

DENEY 33. PURDY YÖNTEMİ İLE İDRARDA PROTEİN MİKTARI TAYİNİ

Malzemeler: İdrar
Asetik asit
%10'luk potasyum ferrosiyanür

Yapılışı: 15 ml'lik iki santrifüj tüpünden birisine 5 ml idrar, diğerine idrar + protein çözeltisi (2.5 ml idrar+2.5 ml protein çözeltisi) konur, üzerlerine 1'er ml asetik asit ve 1.5'ar ml potasyum ferrosiyanür konur ve çalkalanarak karıştırılır. 5 dakika bekletildikten sonra tüpler 1500 rpm'de 3-5 dakika santrifüj edilir. Oluşan çökeleklerin hacmi okunur

ve bu değer 0.21 ile çarpılır. Bulunan değer 100 ml'sindeki protein miktarını gram olarak verecektir.
Not: İdrar analizinde çökeleğin hacmi 1.5 ml'den fazla çıkarsa idrar sulandırarak deney tekrarlanır ve bulunan sonuç sulandırma oranı ile çarpılır.

5. LİPİD DENEYLERİ

DENEY 34. KANDA TOTAL LİPİD MİKTARI TAYİNİ

Malzemeler: %1'lik vanilin çözeltisi
Fosfo-vanilin ayıracı
Standart yağ çözeltisi
Derişik H_2SO_4

Fosfo-vanilin ayıracının hazırlanması: Bir hacim %1'lik vanilin çözeltisine 4 hacim %85'lik fosforik asit katılır, iyice karıştırılır.
Standart yağ çözeltisinin hazırlanması: 1 g zeytin yağı 100 ml alkolde çözülür. Bu çözeltiden gerekirse dilüsyon yapılır.

Yapılışı: 3 adet tüp aşağıdaki şekilde pipetlenir:

	Örnek	Standart	Kör
Serum	0.1 ml	-	-
Standart	-	0.1 ml	-
Saf su	-	-	0.1 ml
Sülfürik asit	4 ml	4 ml	4 ml

Tüpleri kuvvetli bir şekilde iyice karıştırınız. Tüplerinin üzerini pamukla kapatınız. Tüpleri kaynar su banyosunda 10 dakika bekletiniz. Sonrasında soğuk su banyosunda oda sıcaklığına kadar soğutunuz. Bu tüplerden aynı şekilde işaretlenen yeni 3 tüpe aşağıdaki pipetlemeleri yapınız.

	Örnek	Standart	Kör
Karışımdan	0.2 ml	0.2 ml	0.2 ml
Fosfo-vanilin ayıracı	4 ml	4 ml	4 ml

Tüplerin ağzını kapatıp iyice karıştırınız. 30 dakika karanlıkta bekletiniz. Bekletme süresi asla 45 dakikayı geçmemelidir. Bu sürenin sonucunda meydana gelen pembe renk 520 nm'de körle sıfır ayarı yapılarak okunur. Hesaplama aşağıdaki gibi yapılır:

$$\frac{\text{Örneğin absorbansı}}{\text{Standardın absorbansı}} \times 1000 = \%.....\text{mg total lipid}$$

Bulunan değerler %2000 mg'dan yüksek ise serum 1:5 oranında dilüe edilerek (0.1 ml serum + 0.4 ml serum fizyolojik) deney tekrarlanmalıdır.

5.2 KOLESTEROLÜN RENK REAKSİYONU

DENEY 35. SALKOWSKY DENEYİ

Malzemeler: Kloroformda çözülmüş kolesterol (1 ml kloroformda 10 mg kolesterol)
Derişik sülfürik asit

Yapılışı: Tüpe 2 ml kloroformda çözülmüş kolesterol çözeltisinden konur. Bunun üzerine tüp eğik tutularak eşit miktarda sülfürik asit eklenir. Oluşan renkler gözlenir.

5.3 SERUMDA TOTAL KOLESTEROL MİKTAR TAYİNİ

DENEY 36. KUNKEL METODU

Malzemeler: Kolesterol stok standardı (1mg/ml): 100 mg kolesterol bir miktar asetik asitte çözülür ve 100 ml'ye tamamlanır.
Stok demir klorür ayıracı (8.4 mg/ml): 840 mg $FeCl_3.6H_2O$'den bir miktar asetik asitte çözülür ve 100 ml'ye asit ile tamamlanır.
Çöktürücü demir klorür ayıracı: Stok demir klorür ayıracının 1 hacmi 9 hacim asetik asitle seyreltilir. Bu ayraçta zamanla çökelek meydana gelirse kullanılmamalıdır.
Derişik H_2SO_4

Yapılışı: 3 adet tüp aşağıdaki şekilde pipetlenir:

	Kör	Standart	Örnek
Saf su	0.1 ml	-	-
Stok kolesterol stand.	-	0.1 ml	-
Serum	-	-	0.1 ml
Çök.demir klorür ayr	4 ml	4 ml	4 ml

Tüpler 1500 rpm'de 5 dakika santrifüjlenirler. Tüplerin üstteki berrak sıvılarından 2'şer ml alınarak üzerlerine 1.5 ml derişik sülfürik asit eklenir ve iyice karıştırılır. Çözeltilerin oda sıcaklığına kadar soğuması için 30 dakika beklenir. Bu sürenin sonunda her tüpün absorbansı 560 nm'de ölçülür. Hesaplaması aşağıdaki şekilde yapılır:

$$\frac{\text{Örneğin absorbansı}}{\text{Standardın absorbansı}} \times 100 = \text{.....mg total kolesterol/100 ml serum}$$

5.4 DENEY 37 HDL KOLESTEROL ÖLÇÜMÜ

Metod iki ayıraçtan oluşur. 1.ayıraç VLDL ve şilomikronlara bağlanabilen polimerler ve polianyonlardan oluşur. Bu kompleks lipoproteinler ikinci ayıraçta bulunan deterjan ile stabilize edilir. Bunun yanısıra HDL partikülleri polimer ve polianyonlara bağlanmayarak deterjan ile çözülürler. Sonuçta sadece HDL partiküllerine bağanmış olan kolesterol ölçülmüş olur.

MATERYALLER

Ayıraç 1: α-siklodekstrin 0.5 mM, dekstran sülfat 0.5 g/l, magnezyum klorür 2.0 mM, Polianyon
Ayıraç 2: Peroksidaz, Kolesterol oksidaz, Kolesterol esteraz, 4-aminoantipiren.
Standart çözelti: 70 mg/dl'lik kolesterol çözeltisi

Yapılışı:

	Standart	Örnek
Ayıraç 1(µl)	2000	2000
Örnek (µl)	-	27
Standart (µl)	27	-
37^0'de 5 dakika beklenir.		
Ayıraç 2 (µl)	667	667
37^0'de 5 dakika beklenir. Ve 600 nm'de ölçüm yapılır.		

Hesaplama: $\frac{\text{Örneğin absorbansı}}{\text{Standardın absorbansı}}$ x Standardın konsantrasyonu

Beklenen değerler:

Erkeklerde: 30-70mg/dl
Kadınlarda: 30-85mg/dl

5.5 DENEY 38 TRİGLİSERİT ÖLÇÜMÜ

Lipaz
Trigliseritler ----------> Gliserol + Yağ asitleri
GK
Gliserol + ATP -----> Gliserol -1-fosfat + ADP
GPO
Gliserol -1-fosfat + O_2 ------> H_2O_2 +Dihidroksiaseton Fosfat
Peroksidaz
H_2O_2 + 4-aminoantipiren + DHBS -------> Kinonimin boyası + HCl + $2H_2O$
505 nm'de oluşan kinonimin boyasının absorbansta yarattığı artış örnekteki trigliserit konantrasyonuna karşılık gelir.

Ayıraç içeriği

ATP
DHBS
4-aminoantipiren
peroksidaz
GPO
GK
lipaz
magnezyum klorür
Standart çözelti: 200 mg/dl'lik trigliserit çözeltisi

Yapılışı:

	Standart	Örnek
Ayıraç (µl)	3000	3000
Örnek (µl)	-	30
Standart (µl)	30	-
37^0'de 5 dakika beklenir. 505 nm'de ölçüm yapılır.		

Hesaplama: $\frac{\text{Örneğin absorbansı}}{\text{Standardın absorbansı}}$ x Standardın konsantrasyonu

Beklenen değer: <200 mg/dl

6. ENZİM DENEYLERİ

DENEY 39. SERUMDA AMİLAZ TAYİNİ

Malzemeler: Tamponlanmış nişasta substrat çözeltisi (pH=7): 250 ml saf su içine 4.3 g benzoik asit ve 13.3 g Na_2HPO_4 (veya 27 g $Na_2HPO_4.7\ H_2O$) çözülür, kaynama derecesine kadar ısıtılır. 0.2 g nişasta 5 ml soğuk suda çözülür, fosfat çözeltisine katılır, kabı birkaç kez soğuk su ile çalkalayarak tüm nişasta bulaşığının toplanması sağlanır. Bu çözelti 1 dakika daha kaynatılır, soğutulduktan sonra 500 ml'ye tamamlanır, buzdolabında saklanır.
Stok iyot çözeltisi: 3.567 g KIO_3 ve 45 g KI 800 ml saf suda çözülür, dikkatle 9 ml derişik HCl katılır, soğuduktan sonra su ile 1 L'ye tamamlanır.
İyot çalışma çözeltisi: Stok iyot çözeltisi su ile 1:10 oranında seyreltilir ve renkli şişede buzdolabında saklanır. Bu çözelti her ay taze hazırlanmalıdır.

Yapılışı: İki adet tüpe 2.5 ml nişasta substrat çözeltisi konur. Birine kör diğerine de örnek yazılarak kodlanır. Her iki tüp 37^0C'lik su banyosunda 5 dakika bırakılır. Örnek tübüne 0.05 ml serum katılır ve karıştırılır. Su banyosunda tekrar tam 7.5 dakika tutulur. Kör tübü de 7.5 dakika su banyosunda tutulur ve bu sürenin sonunda 0.05 ml serum konur. Daha sonra her iki tüpe de 15 ml su ve 2.5 ml iyot çalışma çözeltisi konur. Tüpler su ile 25 ml'ye tamamlanır ve alt-üst edilerek karıştırılır. Kör ve örnek tüpleri 660 nm'de suya karşı okunur. Hesaplama aşağıdaki şekilde yapılır:

$$\frac{\text{Körün absorbansı-Örneğin ansorbansı}}{\text{Körün absorbansı}} \times 800 = \text{.....Amilaz Ü/100 ml serum}$$

DENEY 40. AMİLAZIN NİŞASTA ÜZERİNE ETKİSİ

Malzemeler: %0.5'lik nişasta solüsyonu
Fehling A
Fehling B
İyot çözeltisi
Tükürük

Yapılışı: Deney tüpüne 2 ml tükürük konur ve üzerine 8 ml saf su eklenerek karıştırılır. Bu karışım 4 ayrı deney tübüne eşit olarak paylaştırılır ve tüpler numaralandırılır. Daha sonra her bir tüpe 2'şer ml nişasta solüsyonu eklenir. Hemen 1. tüp kaynatılır. 2. tüp 2, 3. tüp 5, 4. tüp 10 dakika bekletilir. 1.tüpün kaynatılma ve soğutma, diğer tüpleri de bekleme işlemlerinden sonra her bir karışımin 0.5 ml'sinde iyot solüsyonu ile nişasta aranır. Tüplerde kalan miktarlara ise fehling deneyi uygulanır. Oluşan renkler gözlenerek yorumlanır.

DENEY 41. ÜREAZ DENEYİ

Malzemeler: Üreaz süspansiyonu: 1-2 g soya fasülyesi unu, 50 ml saf su içerisinde 10 dakika çalkalanır, daha sonra süzülür.
%1'lik alkolik fenolftalein çözeltisi
İdrar
%1'lik alkolik HgCl
%5'lik üre çözeltisi

Yapılışı: 4 ayrı deney tüpü alınır ve aşağıdaki gibi pipetlenir:

1.tüp	2.tüp	3.tüp	4.tüp
5 ml üre çözeltisi	5 ml üre çözeltisi	5 ml idrar	3 ml üre çözeltisi
3 damla fenolftalein	3 damla fenolftalein	3 damla fenolftalein	1 ml HgCl çözeltisi
3 ml üreaz	3 ml kaynamış üreaz	3 ml üreaz	3 ml üreaz
			3 damla fenolftalein

Her tüpte oluşanlar gözlenir.

DENEY 42. KANDA KATALAZ ENZİMİNİN NİTEL TAYİNİ

$$2H_2O_2 \xrightarrow{\text{Katalaz}} 2H_2O + O_2$$

Malzemeler: %3'lük H_2O_2 çözeltisi
Kan

Yapılışı: 1 ml seyreltilmiş kan üzerine 1-2 ml H_2O_2 çözeltisi eklenir. Şiddetli oksijen gazı çıkışı gözlenir.

DENEY 43. KANDA PEROKSİDAZ ENZİMİNİN NİTEL TAYİNİ

Malzemeler: Benzidinin hidrojen peroksitteki %1'lik çözeltisi
Kan

Yapılışı: Bir tüpe 1-2 ml benzidin çözeltisi konur. Üzerine 1 ml seyreltilmiş kan konur. Yeşil renk oluşumu gözlenir. Bu renk daha sonra kahverengine dönüşür.

Yararlanılan Kaynaklar:

Doç. Dr. Mustafa ALTINIŞIK, Organik Kimya ve Biyokimya Uygulamaları, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2007.
Biyokimya Pratik Ders Notları Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya A.B.D, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova-İzmir, 2003.
Yrd. Doç. Dr. Hüseyin SÜZEK, Klinik Biyokimya Uygulama Kitabı Muğla Üniversitesi, Muğla Sağlık Yüksekokulu, Muğla,2003.
Doç. Dr. Yılmaz DÜNDAR, Yrd. Doç. Dr. Recep ASLAN, Biyokimya-Fizyoloji Laboratuvarı, Afyon Kocatepe Üniversitesi Yayınları Yayın No:13, Afyon, 1998.