

**KTO KARATAY ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**ÖĞRENCİ LABORATUVARI  
ÇALIŞMA KILAVUZU**

**(DÖNEM I)**



**2016-2017  
KONYA**

**KTO KARATAY ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**ÖĞRENCİ LABORATUVARI  
ÇALIŞMA KILAVUZU**

**(DÖNEM I)**

**Arş. Gör. Zeynep DENLİ**

**2016-2017  
KONYA**

## LABORATUVARDA UYULMASI GEREKEN KURALLAR

- 1) Temel prensip sessiz ve düzenli çalışmaktır.
- 2) Laboratuvara önlükle gelinir ve laboratuvar süresince çıkarılmaz. Laboratuvar çalışmalarında önlüğün düğmeleri ilikli olmalıdır.
- 3) Her öğrenci kendisine ayrılan bölümü ve malzemeleri kullanmalıdır.
- 4) Çalışmanın bitiminde, her öğrenci kullandığı malzemeleri temizlemeli, kendisinden sonra kullanacak olana temiz ve düzenli olarak bırakmalıdır.
- 5) Laboratuvar içerisinde şakalaşmak, özellikle kimyasal maddelerle şakalaşmak çok sakıncalı ve kesinlikle yasaktır.
- 6) Laboratuvarda kimyasal maddelere el sürülmez, koklanmaz, tadına bakılmaz.
- 7) Deneylede mümkün olduğu kadar az madde kullanılmalı ve madde israfından kaçınılmalıdır. Stok şişelerinden gereği kadar madde alınmalı, artanlar stok şişesine boşaltılmalıdır. Tüplerde bulunan diğer kimyasal madde artıkları stok şişesindeki bütün maddenin bozulmasına yol açabilir.
- 8) Çalışmalarda kirli malzeme kullanılmaz.
- 9) Uçucu, yanıcı ve patlayıcı (eter, alkol, kloroform vb.) madde şişelerinin ağızları devamlı kapalı tutulmalı ve yanında çakmak, kibrit gibi yakıcı maddeler kullanılmamalıdır.
- 10) Çözelti hazırlanıyorsa onun uygun şartlarda saklanması gerekir. Reaktiflerin üzerine reaktiflerin adı, hazırlayanın adı, hazırlanma tarihi ve biliniyorsa son kullanma tarihi yazılır.
- 11) Son kullanma tarihi geçmiş reaktifler kullanılmaz.
- 12) Bütün çalışmalarda, özellikle analizlerde saf su kullanılır.
- 13) Her ne şekilde olursa olsun kimyasal bir madde ile temasta, temas bölgesi bol su ile yıkanmalıdır. Bunlardan en çok karşılaşılanı asit, alkalilerle temas ve yanıklardır. Böyle bir durumda ilgililer haberdar edilmelidir.
- 14) Her çalışmadan sonra eller sabunla yıkanmalıdır.
- 15) Kan ve kan ürünleriyle çalışılıyorsa eldiven kullanılmalıdır.
- 16) Kullanımı bilinmeyen cihazlar kullanılmamalıdır.
- 17) Çalışma bitince her grup aldığı malzemeyi sağlam ve temiz olarak teslim edilmelidir.
- 18) Görevliden izinsiz laboratuvarı terk etmek yasaktır.
- 19) Her laboratuvar çalışması sonunda yoklama kağıdı mutlaka imzalanmalıdır.

## CAM MALZEMELER VE CİHAZLAR

### Aletler:

**Soğutucu ve derin dondurucu:** Bazı kimyasalların ve biyolojik materyallerin (doku, kan, vb.) saklanması gereklidir.

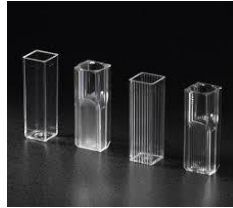
**Hassas Terazı:** Katı maddelerin miktarını ölçmeye yarar. Miligrama kadar olan ölçümleri yapar.



**Santrifüj:** Santrifüj makinesinin adıdır. Santrifüj makinası bir çözeltideki partikülleri yüksek hızla çevirerek ayırır. Tüpün alt kısmında birikene **çökelti**, üstte kalan sıvı kısma **süpernatant** denir.



**Spektrofotometre ve küveti:** Belirli dalga boyundaki bir ışığın çözelti tarafından emilimini (absorpsiyon) veya geçirgenliğini (transmitans) ölçmekte kullanılan alettir. Cihazların küvetleri kristal, cam veya plastikten yapılmıştır.



**Benmari (Su Banyosu):** Deney tüplerinin belli bir ısıda tutulmalarını sağlar.



**Etüv:** Bazı deneylerde gerekli olan sabit basınç ve sıcaklıkta kuru ortam sağlamak, rutin çalışmalarda maddeleri (kimyasal madde, doku vb.) ve cam eşyayı kurutmak için kullanılır.



**pH metre:** Biyolojik sıvıların, tamponların ve çözeltilerin pH'ını ölçmek ve ayarlamak için kullanılır.



**Saf su cihazı:** En basit şekliyle, suyu buharlaştırarak gaz fazına geçiren ve daha sonra yoğunlaştırarak arıyan alettir. Çok geliştirilmiş tipleri vardır.



**Elektrikli karıştırıcı (vorteks):** Üzerindeki küçük oyuğa yerleştirilen deney tübünü motor gücüyle döndürerek karıştıran alettir.

**Manyetik Karıştırıcı:** Çözelti karıştırmaya yarar.

**Manyetik Bar:** Manyetik alan oluşturmak amacıyla karıştırıcı ile birlikte kullanılır.



Vorteks



Manyetik Karıştırıcı



Manyetik Bar

### Cam ve Diğer Malzemeler:

**Beher:** Buharlaştırılması istenen çözeltilerin hazırlanmasında, karıştırılmasında ve sıvıların naklinde kullanılan geniş, silindirik, dibi düz cam kaplardır.

**Erlenmeyer:** Buharlaştırılması istenilmeyen çözeltilerin hazırlanmasında ve titrasyon deneyinde kullanılan konik cam kaplardır.

**Piset:** Sıvı tamamlamaya yarar. Az miktarda sıvı ilavelerinde kullanılır.



Beher



Erlenmeyer



Piset

**Deney tüpleri:** Silindir biçimindedir. Alt kısmı yuvarlak olduğundan porttüp (tüp sporu) ile kullanılır. Çöktürme, renklendirme ve diğer laboratuvar işlemleri için gerekli temel eşyadır.

**Santrifüj tüpleri:** Santrifüj aletinde kullanılır. Altları genellikle koni şeklindedir. Bazı santrifüjlerde altı yuvarlak tüpler kullanılır. Santrifüj tüplerinin biçimi, kullanıldığı santrifüj tipine özgüdür.

**Adi Balon:** Üzerlerinde hiç işaret yoktur. Bu yüzden bu kaplarda miktar ölçümü yapılamaz. Sıvıların toplanmasında, biriktirilmesinde ve saklanmasında kullanılır.

**Balon Joje:** Adı balona benzeyen cam kaptır. Üzerinde miktar bildiren çizgiler bulunur. Çözeltiler hazırlanmasında kullanılır. En hassas volümetrik kaptır. Daha sonra adi balon veya reaktif şişesine aktarılır.



Deney tüpü



Santrifüj tüpleri



Adi Balon



Balon Joje

**Damlalık Şişe:** Oluklu kapağa sahip şişelerdir. İçlerindeki solüsyonun damla damla akmasını sağlarlar. Titrasyon deneyinde indikatör damlatmak için kullanılırlar.

**Reaktif Şişesi:** Reaktiflerin saklanmasında kullanılırlar. Genellikle koyu renkte olurlar. Üzerlerinde reaktifle ilgili bilgileri içeren etiket bulunmalıdır.

**Huni:** Genellikle süzme, çözelti aktarma gibi işlemlerde kullanılan cam malzemelerdir.



Damlalık Şişe



Reaktif Şişesi



Huni

## Pipet:

### a)Cam pipetler

Belli ölçülerdeki sıvıların bir kaptan diğerine aktarılmasında kullanılırlar. Pipet içine sıvı alınması, pipet içindeki havanın emilmesiyle olur. Emme işlemi ağızla, puarla veya pipet pompası ile mümkündür. Dar cam borulardır. Alt ve üst kısımları açıktır. Pipetin en üstündeki rakam pipetin ölçtüğü toplam hacmi gösterir.

**Pipetlerin Kullanımı:** Gerek pipet ve gerekse dereceli silindirde sıvı hacimlerinin okunmasında en önemli nokta, gözün sıvı yüzeyi hizasına getirilerek okunmasıdır. Berrak sıvıların ölçümünde, menisküs altı çizgisi hizasına getirilerek okunur. Sıvılar genellikle iki kısımda değerlendirilir:

**a-** buldukları kabı ıslatan **b-**ıslatmayan sıvılar (ör: civa).

Sıvının kabı ıslatır veya ıslatmaz hali tamamen adezyon ve kohezyon güçleri ile ilgilidir. Bu sıvıların pipet veya dereceli silindir içerisine alınması neticesinde yüzey geriliminin etkisiyle üst kısımda bir kavis gözlenir (menisküs: kavis). Buldukları kabı ıslatan sıvılarda bu kavis içbükey iken, ıslatmayan sıvılarda dışbükeydir. Okumalar sıvının berrak ya da renkli oluşuna göre de farklılık arz etmektedir. Berrak sıvılarda okumalar menisküsün alt ucundan, renkli solüsyonlarda ise üst kısımdan yapılır.

## b)Otomatik pipetler (mikropipet)

İstenen hacmi sabit olarak çekebilen ve çok daha küçük hacimlerin pipetlenmesini sağlayan pipetlerdir. Bu pipetlerle 1-5000 µl arası sıvı pipetlenebilir.

**Mikropipet ucu:** Otomatik pipet uçlarıdır.

**Pastör pipeti (damlalık):** Pastör pipetleri, sıvıların güvenli bir şekilde aktarılması için tek kullanımlık plastik pipetlerdir ve oldukça kullanışlıdır.

**Pipet pompası (puar):** Asit, baz, hasta serumu vb. zararlı maddelerin pipetlenmesinde pipet ucuna takılarak kullanılır. (plastik, makaralı)



Cam pipet



Otomatik Pipet



Pipet Ucu



Plastik Puar



Makaralı Puar

**Büret:** Titrasyon deneyinde kullanılan alt ucu musluklu borulardır.

**Büret sporu ve sehpası:** Büret ile ilgili düzeneği dik tutmaya yarayan araçtır.

**Dereceli Silindir (Mezür):** Çözelti almaya veya ölçmeye yarayan dereceli çeşitli büyüklükteki cam malzemelerdir.



Büret



Büret sporu



Mezür

**Bunzen Beki:** Isı kaynağıdır. Kaynatma deneylerinde kullanılır. Isıtma işlemleri mutlaka uzun tüp ve alevin mavi kısmında yapılmalıdır.

**Üçlü Saç Ayağı:** Üstüne amyantlı tel konularak bunzen bekinin üzerine yerleştirilir. Isıtma işleminde kullanılır.

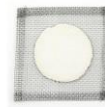
**Amyantlı Tel:** Isıtma işlemlerinde üç ayağın üzerine konulan normal ve emniyetli ısınmayı sağlayan. Orta kısmı ısıya dayanıklı kille sıvanmış tel kafeslerdir. Isıyı yayarak homojenlik sağlar.



Bunzen Beki



Üçlü Saç Ayağı



Amyantlı Tel

**Spatül:** Katı maddelerin tartımı sırasında madde transferini sağlar. Metal ve porselen olmak üzere değişik tipleri vardır. Bazılarının ucu düz, bazılarının ki yuvaraktır.

**Tahta Maşa:** Tüplerin ısıtma ve taşınma işlemlerinde kullanılan tahta malzemedir.

**Temizleme Fırçası:** Cam malzemenin temizlenmesinde kullanılır. (Örnek: Tüp, beher, vb.)



Spatül



Tahta Maşa



Temizleme Fırçası

**Porttüp (Tüp Sporu):** Tüplerin, kendi içlerindeki deliklere yerleştirilmesiyle dik durmalarını sağlar. Tüplerin muhafazası ve taşınmasında kullanılır.

**Baget:** Uçları kütleştirilmiş cam çubuktur. Çözeltilerin karıştırılmasında kullanılır.

**Süzgeç kağıdı:** Süzme yapılırken huninin üzerine konularak kullanılır. Süzgeç kağıdını geçip tüpte biriken sıvıya **filtrat** denir. Süzgeç kağıdında da partiküller kalır.



Tüp Sporu



Baget



Süzgeç Kağıdı

**Parafilm:** Cam malzeme ağzının kapatılmasına yarar. Malzeme ağzında gerilerek yapıştırılır.

**Flaster:** Reaktif şişesinin üzerine yapıştırılarak etiketlemede kullanılır.

**Laboratuvar saati:** Analiz sırasında inkübasyon gereken durumlarda belirlenen süreyi takip etmek amacıyla kullanılan kurmalı çalar saattir.

**Dispensör:** Reaktif şişelerine adaptör gibi takılarak kullanılır. Seri şekilde eşit miktarlarda sıvı boşaltımında kullanılırlar.



Parafilm



Laboratuvar saati



Dispensör

**Dansitometre:** Solüsyonların yoğunluğunu ölçen aletlerdir. Özellikle idrar için kullanılır.

**Refraktometre:** Solüsyonların yoğunluğunu ölçen aletlerdir (örnek: idrar).

**Havan:** Katı maddeleri ezmede kullanılır (örnek: maya).

**Desikatör:** Özellikle kimyasal maddelerin nemden korumak için kullanılırlar. Nemi tutmak için içerisinde susuz kalsiyum klorür ve silikajel gibi nem emici maddeler bulunur. Kapağın kenarına vazelin sürülerek kapatılır. Böylece hava alması engellenir (örnek: sodyum klorür, sodyum hidroksit).





Refraktometre



Havan



Desikatör

## **MALZEME TEMİZLİĞİ ve BİYOKİMYADA KULLANILAN SULAR**

**1-Distile Su (Saf su):** Laboratuvar çalışmalarında kullanılan sudur. Distile su yapısında anyon, katyon, mineral ve organik madde içermez. Çeşme suyu özel cihazlarla veya kaynatılma ile distile su haline getirilebilir.

**2-Deiyonize Su:** Çeşme suyunun reçinelerden geçirilerek, iyonlarının tutulması ile elde edilir. Reçine tarafından tutulamayan organik maddeler ise su içerisinde kalırlar. Steril değildir. İçerisinde bakteri barındırabilir. Bu yüzden bekletilmeden kullanılması gerekir.

## I.KURUL

### DENEY: ÇÖZELTİ HAZIRLAMA

- 1.100 ml izotonik NaCl hazırlayınız. (MA NaCl= 58,5 g/mol)
2. 50 ml %10'luk CuSO<sub>4</sub> çözeltisi hazırlayınız. (MA CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O= 250 g/mol).
3. 1 M 500 ml NaOH çözeltisi hazırlayınız.(MA NaOH= 40 g/mol)
4. Dansitesi 1,19 olan %38'lik konsantre HCl'den (HCl'nin molekül ağırlığı 36,46) 500 mL 0,2 N'lik HCl çözeltisi hazırlayınız.

**Not:**Hazırlanan çözeltileri görevlilere gösterdikten ve bilgi verdikten sonra dökünüz.

### MATERYAL:

#### A-Kimyasallar

- \* NaCl
- \* NaOH
- \* HCl
- \* CuSO<sub>4</sub>

#### B-Malzeme Ve Ekipman

- \* Beher
- \* Terazî
- \* Spatül
- \* Balon joje
- \* Pipet
- \* Manyetik karıştırıcı

**Kullanılan kimyasalların molekül ağırlıkları ve yoğunluk değerleri stok şişelerinin üzerindeki etikette yer almaktadır.**

### DENEY: TAMPON ÇÖZELTİ HAZIRLANMASI

**1-** pH = 5 ve pK = 4,77 olan 0,2 M 100 ml asetat tamponu hazırlayınız (d=1 gr/ml, %=100, MA asetik asit=60 gr/mol, MA sodyum asetat=82 gr/mol, antilog 0,23=1,7).

**2-** pH = 7 olan 0,1 M 100 ml fosfat tamponu hazırlayınız. (pK=7,2, MA Potasyum dihidrojen fosfat=136 gr/mol, MA Sodyum monofosfat dihidrat=178 gr/mol, antilog -0,2=0,63)

#### Deney:

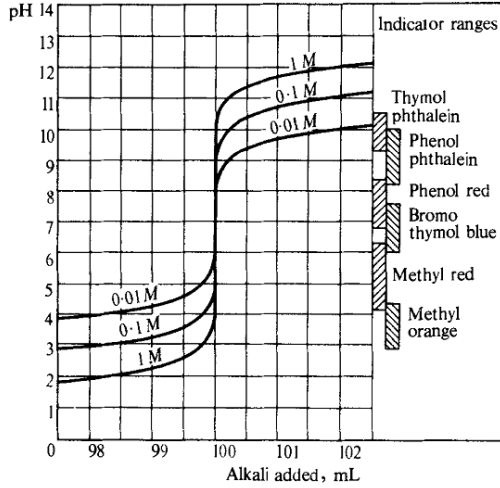
1. Suyun pH'ının ölçülmesi.
2. Kuvvetli asit ve bazın pH'ının ölçülmesi.
3. Tampon eklenerek pH ölçümü.

#### Malzeme ve Ekipman

- \* pH metre
- \* Beher

## DENEY: ASİT- BAZ- TİTRASYON

Konsantrasyonu bilinmeyen bir çözeltinin konsantrasyonunu, konsantrasyonu bilinen bir çözeltinin yardımıyla **ekivalan noktaya** kadar titre ederek bulmaktır. Ekivalan nokta asit ya da bazın mol sayılarının eşit olduğu noktadır. Ekivalan nokta uygun bir indikatörle, diğer bir deyişle ekivalan noktada renk değişikliğine uğrayan çözeltilerle saptanır. İndikatörler, zayıf asit ya da baz özelliğinde, titrasyonda ekivalan noktanın tayininde kullanılan boyar maddelerdir. Asidik ve bazik çözeltilerde farklı renk oluştururlar. Örneğin; bromtimol mavisi pH <6.1'de sarı renk verirken, pH>8.1'de mavi renk verir. pH 6.1 ile 8.1 arasında ise ara renk olarak yeşil oluşur.



Değişik titrasyon çeşitleri bulunmaktadır. Bunlardan en çok bilinen ve kullanılan asit-baz titrasyonudur. Asit-baz titrasyonu kendi içinde;

- Kuvvetli asit-kuvvetli baz titrasyonu
- Zayıf asit-kuvvetli baz titrasyonu
- Zayıf asit-zayıf baz titrasyonu
- Kuvvetli asit- zayıf baz titrasyonu olarak ayrılır.

## Titrasyon Eğrileri, Tampon Çözeltiler ve Deneyleri

**Kuvvetli asit-Kuvvetli baz titrasyon eğrisi:** Kuvvetli bir asit olan HCl ile kuvvetli bir baz olan NaOH titre edildiğinde eğri elde edilir. Burada kullanılan asit ve bazın normalitesi 0.1 N'dir. 50 ml 0.1 N HCl ile titrasyona başlanıp, NaOH eklenerek değişik pH'lara ulaşılmıştır. Baz eklenmesiyle pH önce yavaş artış gösterirken, ekivalan nokta civarında bu yükselme şiddetlenir ve tam bu noktada sıçrama şeklinde gözlenir. Tekrardan yavaşlayarak artış gösterir.

### Ayırıcılar:

1. 0.1N HCl
2. 0.1 N NaOH
3. Fenol Ftalein: 0.5 g tartılarak,%50'lik 100 ml alkolde eritilerek hazırlanır.

### Metod:

#### Kuvvetli asit kuvvetli baz titrasyonu:

Durulamadan sonra büret NaOH ile doldurularak, sıfır çizgisine teğet olacak şekilde sıvı seviyesi ayarlanır. 0.1 N HCl'den 50 ml'lik erlene pipetle 10 ml konur ve içine 1-2 damla fenol ftalein indikatörü damlatılır. Titrasyon işlemine yavaş yavaş büretten erlene NaOH damlatılarak başlanır ve pembe renk oluşumu 30 saniye sabit kalana dek devam edilir. Kullanılan NaOH eriyiklerde anlatıldığı şekilde tam 0.1 N olarak hazırlanmış ise kullandığımız HCl'nin kesin normalitesini aşağıdaki formülle saptamamız olasıdır.

$$N_1.V_1=N_2.V_2$$

N<sub>1</sub>:HCl'nin saptayacağımız normalitesi

V<sub>1</sub>:Erlene konan HCl hacmi (10 ml)

N<sub>2</sub>:NaOH'in normalitesi (0.1N)

V<sub>2</sub>:Büretten harcanan NaOH hacmi

Büret durulaması: 0.1 N NaOH az bir miktarda bürete konur. Birkaç damla büretin musluğundan akitıldıktan sonra musluk kapatılır ve yatay olarak elde çevrilerek büret durulanır. Bu olay üç kez tekrarlanır.

## PROTEİN TANIMA DENEYLERİ

### DENEY 1

#### DENEYİN ADI: Ninhidrin Deneyi

#### MATERYAL:

- \* Ninhidrin çözeltisi
- \* Bunzen beki
- \* Numune (amino asit çözeltisi)

#### DENEYİN YAPILIŞI:

**PRENSİP:** Güçlü bir okside edici madde olan ninhidrin, amino asitlerin oksidatif dekarboksilasyonuna neden olarak CO<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub> ve aldehit meydana getirir. Daha sonra indirgenmiş ninhidrin serbest hale gelen amonyak ile reaksiyon vererek **mor-mavi** renkli kompleks oluşur. Prolin ve hidroksiprolin ise ninhidrin ile **sarı** renk verirler.

1. Ninhidrin + Aminoasit → Hidrindantin + Aldehit + CO<sub>2</sub> + NH<sub>3</sub>
2. Hidrindantin + NH<sub>3</sub> + Ninhidrin → Mor-mavi renkli kompleks + 3 H<sub>2</sub>O

- \* Deney tüpüne 1 ml. amino asit çözeltisi pipetle konur.
- \* Üzerine 5 damla ninhidrin eklenir.
- \* Tüp bunzen bekinde 2 dakika kaynatılır.

Tahta maşayla tutulan tüp soğutularak (buzlu su veya çeşme suyu ile), tüpteki karışımın rengi takip edilir (ne kadar zaman geçiyor ve renk tonu şiddeti nasıl değişiyor?).

#### YORUM:

# PROTEİN DENATÜRASYON DENEYLERİ

## DENEY 1

**DENEYİN ADI:** Isı ile koagülasyon (çöktürme)

### A-Kaynatma Deneyi

- \*Asetik asit
- \*Numune (protein çözeltisi ve idrar)
- \*Deney tüpü
- \*Pipet
- \*Maşa
- \*Bunzen beki

### DENEYİN YAPILIŞI:

- \*Deney tüpüne 2–3 ml kadar idrar alınarak bunzen bekinde ısıtılır. Isıtmayı takiben bulanıklık görülmesi proteinler için pozitifdir.
- \*İdrarda protein aranması için yapılan kaynatmada protein harici diğer faktörlerde (karbonat ve fosfat kristalleri) bulanıklığa neden olur. Ayırt edilmesi için üzerine birkaç damla (0.5 ml kadar) % 3'ü asetik asit ilave edilir.

### YORUM:

Asit ilavesi sonucunda: Bulanıklık kaybolmaz ve artarsa protein  
Bulanıklık köpürme tarzında kaybolursa karbonat  
Bulanıklık köpürme olmadan kaybolursa da fosfat kristalinden  
olduğu düşünülür.

### B-Tanret Deneyi:

#### MATERYAL:

- \* Tanret reaktifi:(KI+HgCl<sub>2</sub>, asetik asit % 20)
- \* Numune (Protein çözeltisi veya idrar)

### DENEYİN YAPILIŞI:

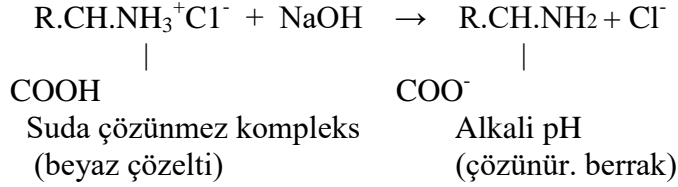
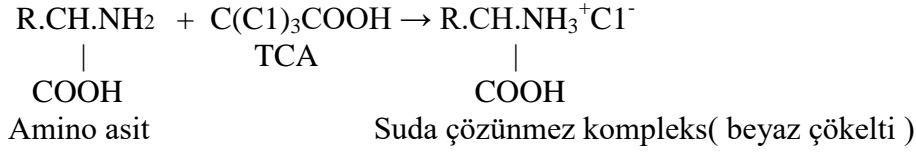
- \*Deney tüpünün 2/3'ü kadarına protein çözeltisi veya idrar alınır.
- \*Tüp tahta maşayla tutularak ve 45° C 'lik açıyla eğilerek tüpteki çözeltinin üst kısmı kaynayınca kadar alevde ısıtılır.
- \* 3–4 damla tanret reaktifi damlatılır.
- \* Bulanıklık izlenir.

### YORUM:

## DENEY 2

### DENEYİN ADI: Zayıf asitler ile denatürasyon

**DENEYİN PRENSİBİ:** Proteinlerin asit ilavesi sonucu asit PH 'da kation hali, ne geçmesi ve sonra da atomdaki negatif yüklü Cl iyonları ile nötürleşerek çökmesi esasına dayanır.



### MATERYAL:

- \* Asetik asit
- \* Sülfosalisilik asit % 10'luk
- \* Sodyum hidroksit % 10'luk (NaOH)
- \* Numune (protein çözeltisi:dilüe edilmiş yumurta beyazı)

**DENEYİN YAPILIŞI:** Yukarıda anlatılan bilgiler doğrultusunda aşağıdaki 6 uygulamayı yapınız ve her basamakla ilgili gözleminizi ve sebeplerini yazınız.

#### 1.Uygulama:

- \* Deneysel tüpüne dilüe edilmiş yumurta beyazı alınır.
- \* Üzerine 0.5 ml % 3'lük asetik asit ilave edilir.

#### 2.Uygulama:

- \* Deneysel tüpüne dilüe edilmiş yumurta beyazı alınır.
- \* Üzerine 0.5 ml TCA ilave edilir.

#### 3.Uygulama:

- \* Deneysel tüpüne dilüe edilmiş yumurta beyazı alınır.
- \* Üzerine 0.5 Sülfosalisilik ilave edilir.

#### 4.Uygulama:

- \* 2. Uygulamadaki tüp karışımına bulanıklık oluştuğundan sonra % 10'luk NaOH'ten damla damla ilave edilir.

#### 5.Uygulama:

- \* 1.uygulamadaki deney tüpüne bir miktar NaCl ilave edilir.

#### 6.Uygulama:

- \* 5.Uygulamadaki deney tüpüne % 10'luk NaOH 'ten damla damla ilave edilir.

### YORUM:

### **DENEY 3**

#### **DENEYİN ADI: Kuvvetli asitlerle denatürasyon A-HELLER HALKASI**

**DENEYİN PRENSİBİ:** Proteinlerin kuvvetli asitlerle denatürasyonu esnasında dayanır. Nitrik asitin yoğunluğundan dolayı dibe çökmesini takiben iki sıvının temas yüzeyinde denatürasyondan dolayı beyaz bir bulanıklık gözlenir. Halka tarzında denatürasyondan dolayı görülen bir beyaz halkaya Heller Halkası denir.

#### **METARYAL:**

- \* Nitrik asit ( $\text{HNO}_3$ )
- \* Numune(Protein çözeltisi –dilüe yumurta akı )

#### **DENEYİN YAPILIŞI:**

- \* Deney tüpüne 2-3 ml  $\text{HNO}_3$  konur.
- \* Pipetle 2-3 ml numune tüpün kenarından sızdırılır.(Bu esnada tüp  $45^\circ$  eğik olmalı)

#### **YORUM:**

### **B-Ksantoprotein Deneyi**

**PRENSİP:**Yapısında aromatik halka bulunan fenilalanin triptofan gibi amino asitler için karakteristiktir.Böyle bir amino asit veya protein çözeltisi üzerine konsantre nitrik asit ilave edildiğinde önce **beyaz bir tortu** , ısıtılırsa **sarı** bir renk meydana gelir.Daha sonra alkali ilave edilmesi halinde sarı renk **koyu portakal sarısı** veya **turuncu** diyebileceğimiz renge dönüşür.

#### **METARYAL:**

- \*  $\text{HNO}_3$  (Nitrik asit)
- \* % 40-50 NaOH
- \* Numune (aromatik amino asitten zengin amino asit çözeltisi)

#### **DENEYİN YAPILIŞI:**

- \* Heler halkası deneyinde kullanılan tüp karıştırılır veya deney tüpüne 2-3 ml  $\text{HNO}_3$  ve 2-3 ml numune konur.
- \* Bulanıklık oluşur.
- \* Tüpteki karışım alev üzerinde ısıtılır.
- \* Isıtmayı takiben sarı renk ( nitroza bileşiği) oluşur.
- \* Sarı renkli karışım üzerine 0.7 ml %40-50 'lik NaOH eklenir. Rengin koyulaştığı gözlenir.

#### **YORUM:**



## KARBONHİDRAT TANIMA REAKSİYONLARI

### DENEY 1

#### DENEY ADI: KÖMÜRLEŞME

**DENEYİN AMACI:** Yoğun mineral asitlerin karbohidrattaki bütün su moleküllerini ayırdığının gösterilmesi.

**PRENSİP:** Karbohidratlar yoğun asitler ile muamele edilirse bütün su moleküllerini (OH ve H gruplarını) kaybederek karbon zincirlerinden ibaret basit bir yapıya dönüşürler (kömürleşme).

#### MATERYAL:

- \* Yoğun H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
- \* 1 adet kesme şeker

#### DENEYİN YAPILIŞI:

- \* 1 kesme şeker alınır.
- \* Üzerine birkaç damla yoğun H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> damlatılır.
- \* Beklemeye bırakılır ve takip edilir.

\* **DİKKAT:** İçerisinde alkali maddeler bulunan tüplerin ısıtılmasına son derece itina gösterilmelidir, tüp içerisinde fazla miktarda madde bulunduğunda ve/veya karıştırmaksızın tek bir nokta üzerinden aleve tutularak ısıtıldığında tüp içerisindeki çözelti aniden kaynayarak fişkırtma tarzında tüpten fırlar. Bundan dolayı hem ısıtma işlemleri itina ile yapılmalı, hem de tüplerin ağızları arkadaşlarınızın bulunduğu tarafa çevrilmemelidir.

#### YORUM:

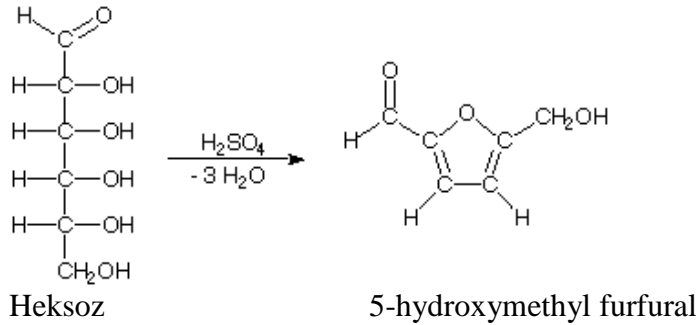
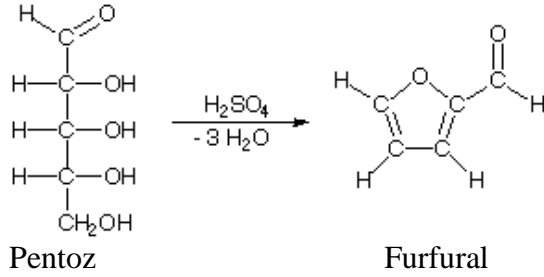
## DENEY 2

### DENEY ADI: Molisch Deneyi

**DENEYİN AMACI:** Bilinmeyen bir solüsyon içinde karbohidrat olup olmadığını araştırılması.

**PRENSİP:** Kömürleşmede bahsedilen olay sulu çözeltide gerçekleştirilirse karbohidrat sadece 3 mol su kaybeder ve furfural oluşur. Elimizdeki karbohidrat 5 karbonlu şeker (pentoz) ise furfural, 6 karbonlu şeker (heksoz) ise furfural türevi olan 5 hidroksi metil furfural oluşur.

Karbohidratların asit tesiri ile furfurala dönüşüp  $\alpha$ -naftol ile de renk vermeleri ortamda karbohidrat olduğunu tanımlayan Molish deneyi ile olur. Amino şekerler, şeker alkolleri ve karboksilik asitler hariç bütün karbohidratlar bu deneye pozitif cevap verir.



### MATERYAL:

- \* Konsantre  $H_2SO_4$
- \* Bilinmeyen bir çözelti
- \* Molish ayırıcı ( $\alpha$ -naftolun alkolde hazırlanmış çözeltisi)
- \* Deney tüpü
- \* Pipet

### DENEYİN YAPILIŞI:

- \* Bir adet deney tüpü alınarak içerisine 1-2 ml kadar bilinmeyen çözelti koyulur.
- \* Üzerine 1 -2 damla molish ayırıcı damlatılıp karıştırılır.
- \* Deney tüpü  $45^\circ$  açı yapacak şekilde tutularak tüpün kenarından 2 ml yoğun  $H_2SO_4$  ilave edilir.
- \*  $H_2SO_4$  yoğun olduğundan dibe çöker ve iki sıvının temas yüzeyinde mor - kırmızı renkte halka şekillenmesi deneyin (+) olduğunu gösterir.
- \* Daha sonra tüp çalkalanacak olursa asit ile tamamen karıştığından bütün sıvının renklendiği gözlenir.

### YORUM:

### **DENEY 3**

#### **DENEY ADI: Seliwanoff Deneyi**

**DENEYİN AMACI:** Seliwanoff deneyi ile karbohidratın aldoşeker mi, ketoşeker mi olduğunun anlaşılması.

**PRENSİP:** Seliwanoff keton grubu taşıyan şekerlerin tanınması için uygulanan bir deneydir. Çözelti içerisindeki şekerin aldoşeker mi yoksa ketoşeker mi olduğu bu deneyle anlaşılır. Deneyde kullanılan reaktif içerisindeki rezorsin ile keton grubu taşıyan karbohidrat ünitesi arasında şekillenen (reaksiyon neticesinde kırmızı bir renk ortaya çıkar.) bu durumun görülmesi ketoz şekerler için pozitifdir.

Aldoz şekerler de bu deneyde pozitif sonuç verebilir. Fakat bunun anlaşılması için uzun süre beklemek gerekir. Renk yoğun ve net olmayabilir.

#### **MATERYAL:**

- \* Seliwanoff ayırıcı
- \* Fruktoz çözeltisi
- \* Glukoz çözeltisi
- \* 3 adet deney tüpü
- \* Kaynar su banyosu

#### **DENEYİN YAPILIŞI:**

- \* 3 adet deney tüpü alınır.
- \* Birinci tüpe 2 ml fruktoz ve ikinci tüpe 2 ml glukoz, üçüncü tüpe de kontrol amacıyla 2 ml seliwanoff reaktifi koyulur.
- \* İlk iki tüpe 1-2 ml seliwanoff ayırıcı ilave edilir ve karıştırılır.
- \* Bütün tüpler kaynar su banyosuna koyulur.
- \* 5-10 dakika içerisinde fruktoz bulunan çözeltide kırmızı rengin şekillendiği görülür. Daha uzun süre beklenildiğinde, daha açık renkte olmak üzere, glukoz bulunan tüpte de renk şekillenir. 3. tüpteki reaktifin kendi renginde ise bir değişme olmaz.

#### **YORUM:**

## **DENEY 4**

### **DENEY ADI: Benedict Deneyi**

**DENEYİN AMACI:** Benedict deneyi ile karbohidrat olduğu bilinen çözeltinin indirgeyici olup olmadığı anlaşılır. Bu deney ile idrarda şeker varlığı belirlenebildiği gibi konsantrasyonu da semikantitatif olarak tayin edilebilir.

**PRENSİP:** Serbest aldehit yada keton grubu ( karboksil gurubu taşıyan karbohidratlar alkali ortamda, ısınmada etkisiyle bakır iyonlarını +2'den +1'e indirgerler ve renk değişimi gözlenir. Monosakkaritlerin tamamı serbest karbonil grubuna sahip olduğundan bu deneyde pozitif sonuç verirler. (Disakkaritler ?)

### **MATERYAL:**

- \* Kaynar su banyosu
- \* Deney tüpü
- \* Pipet
- \* Benedict ayracı (Na-K tartarat, CuSO<sub>4</sub>, NaOH)
- \* Karbohidrat çözeltileri (glukoz, sakkaroz, nişasta, laktoz)

### **DENEYİN YAPILIŞI:**

- \* Bir adet deney tüpü alınarak içerisine 2,5 ml benedict ayracı koyulur.
- \* Üzerine 4-5 damla karbohidrat çözeltisi ilave edilir.
- \* Tüp kaynar su banyosunda 4-5 dakika bekletilir ve takip edilir.
- \* İdrar kullanıldığında şekillenecek renkler ve yorumları şöyledir:

Mavi veya çok açık yeşil => (-)

Yeşil (tortulu) => (+)

Yeşil - sarı (tortulu) => (++)

San - portakal (tortulu) => (+++)

Portakal - kırmızı (tortulu) => (++++)

### **YORUM:**

## **DENEY 5**

### **DENEY ADI: İyot testi**

**DENEYİN AMACI:** Nişastanın iyotla renk vermesi

**PRENSİP:** İyot nişasta molekülündeki bağlara girerek fiziksel özelliğini değiştirir.

### **MATERYAL:**

- \* Nişasta çözeltisi
- \* İyot
- \* Deney tüpü

### **DENEYİN YAPILIŞI:**

- \* Deney tüpüne 2 ml nişasta süspansiyonu alınır.
- \* Üzerine 1 damla iyot damlatılır. Mavi renk meydana gelir.
- \* Karışım ısıtıldığında renk ne oldu?
- \* Çeşme altında soğutulduğunda ne oldu?

### **YORUM:**

## II. KURUL

### KOLORİMETRİ DENEYLERİ

#### DENEY 1

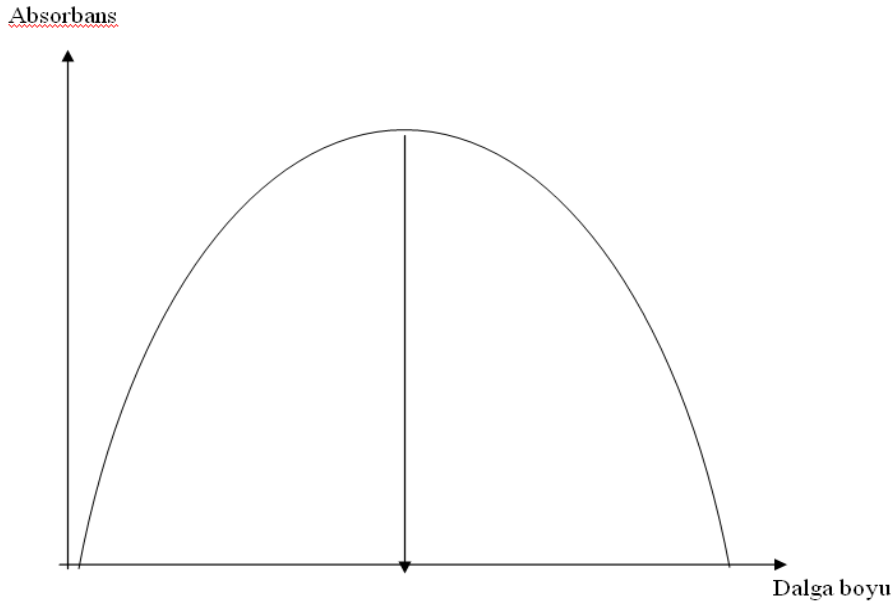
**DENEYİN AMACI:** 0,001 M  $\text{KMnO}_4$  çözeltisinin 280 nm'den başlayarak absorpsiyonunun ölçülmesi ve en yüksek absorpsiyon verdiği dalga boyunun bulunması.

#### MATERYAL:

- \*  $\text{KMnO}_4$  \* Küvet
- \* Distile su \* Fotometre

#### DENEYİN YAPILIŞI:

- \* Bir adet küvet alınır ve içerisine distile su doldurulur, kör oluşturulur.
- \* Körle fotometrenin sıfır ayarı yapılır.
- \* Başka bir küvet alınarak içerisine  $\text{KMnO}_4$  doldurulur.
- \* Dalga boyu 340 nm'den başlanarak 20'şer nm arttırılarak absorpsiyon ölçümü yapılır.
- \* Dalga boyu-absorpsiyon grafiği çizilir.
- \* En yüksek absorpsiyon verdiği dalga boyu bulunur.



#### YORUM:

## DENEY 2

**DENEYİN AMACI:** Standart grafiğinden faydalanarak, bir numunenin bilinmeyen konsantrasyonunun bulunması.

### MATERYAL:

- \* % 50, % 25, % 12,5, % 6,25'lik ve konsantrasyonu bilinmeyen  $\text{KMnO}_4$  çözeltisi
- \* Distile su
- \* Küvet
- \* Fotometre

### DENEYİN PRENSİBİ:

\* Deneysel çözeltilerin küvetlere doldurularak fotometrede absorbanlarının ölçümüne ve konsantrasyonu bilinmeyen  $\text{KMnO}_4$  çözeltisinin de absorbanının ölçülerek, çizilen grafikten konsantrasyonunun bulunması esasına dayanır.

\* Küvetler % 50, % 25, % 12,5, % 6,25 lik ve bilinmeyen konsantrasyonlu  $\text{KMnO}_4$  çözeltisi ile doldurulur.

\* Fotometrede bu çözeltilerin absorbanları ölçülür.

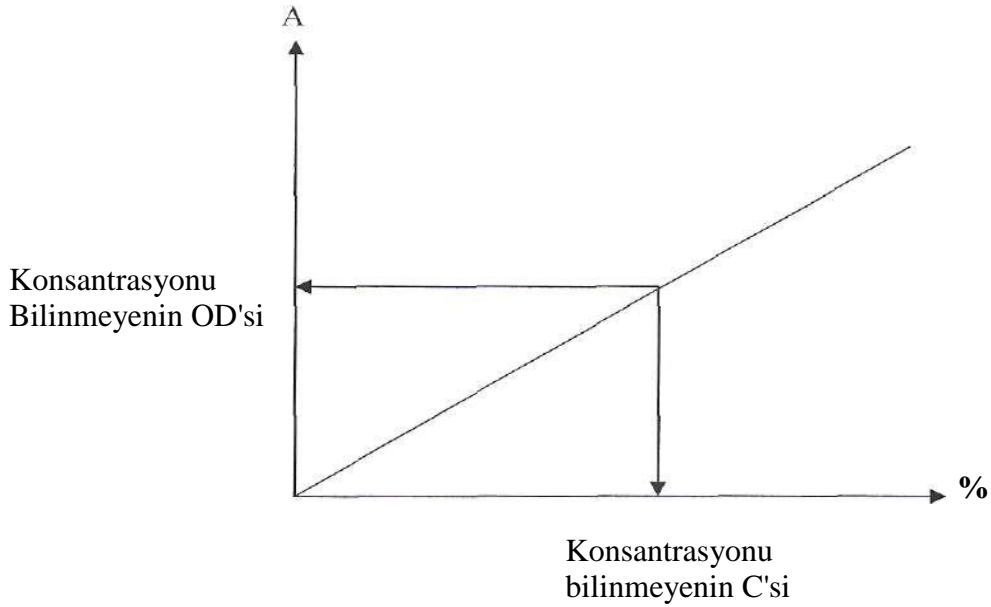
\* Elde edilen ölçülerle absorban-konsantrasyon grafiği çizilir.

\* Grafik yardımıyla konsantrasyonu bilinmeyen numunenin konsantrasyonu bulunur.

**N.O.D**

\* **Bilinmeyen konsantrasyonu** =  $\frac{\text{N.O.D}}{\text{S.O.D}} \times \text{Std. konsantrasyonu}$

formülünden de bulunarak karşılaştırılır.



### YORUM:

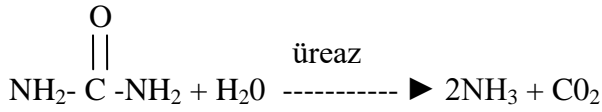
## ENZİMLE HİDROLİZ DENEYLERİ

**DENEYİN AMACI:** Çeşitli faktörlerin üreaz enziminin katalizlediği reaksiyonun hızına etkisinin bulunması

### MATERYAL:

- \* Substrat (ÜRE) çözeltiler ( 50, 100, 250, 500, 750, 1000, 1500, mM)
- \* ÜREAZ çözeltisi
- \* HgCl<sub>2</sub> (%1)
- \* 0,5 N metil red (indikatör)
- \* Fosfat tamponu (pH=7, 0.1 M)
- \* Pipet
- \* Denev tüpü
- \* Erlenmayer
- \* HCl (0.5 N)
- \* Benmari
- \* Büret

**PRENSİP:** Üreaz enzimi aşağıdaki reaksiyonu katalizler:



Yukarıdaki reaksiyonun hızına etki eden çeşitli faktörler araştırılacaktır. Reaksiyon hızı ürün miktarı cinsinden ölçülecektir. Bunun için deney sonucu açığa çıkan NH<sub>3</sub>, HCl ile titre edilir. Harcanan HCl miktarı hız olarak alınır.

**NOT:** Üreaz insan vücudunda bulunmaz, soya fasulyesinden elde edilir ve insanlarda kan üresi tayininde kullanılır.

### DENEY 1

**DENEYİN ADI:** Sıcaklığın reaksiyon hızına etkisi

#### MATERYAL:

- \* 7 adet erlenmayer
- \* HgCl<sub>2</sub>
- \* Pipet
- \* Üreaz
- \* Benmari
- \* Büret tutucu
- \* Metil red
- \* 7 adet deney tüpü
- \* Üre (1M)
- \* HCl
- \* Büret

#### DENEYİN YAPILIŞI:

- \* 7 adet erlenmayer alınır. (100 veya 250 ml'lik)
- \* Erlenmayerlerin üzerlerine K<sub>1</sub>, K<sub>2</sub>, D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub>, D<sub>4</sub>, D<sub>5</sub> yazılır.
- \* 7 adet deney tüpü alınır.



Hepsi yukarıdaki gibi işaretlenir ve aşağıda belirtilen pipetlemeler yapılır.

	<b><u>K</u><sub>1</sub></b>	<b><u>K</u><sub>2</sub></b>	<b><u>D</u><sub>1</sub></b>	<b><u>D</u><sub>2</sub></b>	<b><u>D</u><sub>3</sub></b>	<b><u>D</u><sub>4</sub></b>	<b><u>D</u><sub>5</sub></b>
<b>Substrat (Üre) (1M)</b>	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml
<b>HgCl<sub>2</sub></b>	4 damla	4 damla	-	-	-	-	-
<b>Üreaz</b>	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml

\*Tüpler karıştırılır.

**K<sub>1</sub>**: oda sıcaklığında

**K<sub>2</sub>**: kaynar suda

**D<sub>1</sub>**: oda sıcaklığında

**D<sub>2</sub>**: 37°C'de

=> **30 Dakika inkübe edilir.**

**D<sub>3</sub>**: 56°C'de

**D<sub>4</sub>**: 75°C'de

**D<sub>5</sub>**: kaynar suda

\* İnkübasyon sonunda D tüplerine 3'er damla HgCl<sub>2</sub> damlatılır ve karıştırılır.

\* Tüplerdeki reaktifler kendilerine karşılık gelen erlenlere boşaltılır ve 2'şer damla metil red ilave edilerek titrasyon yapılır.

\* K (kör) tüplerinde harcanan HCl miktarının ortalaması alınır.

\* Diğer tüpler için harcanan HCl miktarından çıkarılır.

\* Çıkan sonuç 2 ile çarpılır.

\* Sıcaklığa karşı harcanan HCl miktarı grafiğe çizilir.

\* **Optimum sıcaklık bulunur ve bundan sonraki deneyler bu sıcaklıkta yapılır.**

#### **NOT:**

\* Kör deneyleri, ortamda enzimin etkisi olmadan bulunabilen NH<sub>3</sub> miktarını veya NH<sub>3</sub>'den başka HCl'yi harcayan sebepleri ortadan kaldırmak içindir.

\* İnkübasyonlar 30 dakika yapıldığı için sonuçlar 2 ile çarpılmalıdır. Çünkü hız ifadesinde birim zaman 1 saattir.

#### **SONUÇ:**

## DENEY 2

**DENEYİN ADI:** pH'nın hızı etkisi

### MATERYAL:

- \* 7 adet erlenmayer
- \* 7 adet deney tüpü
- \* HgCl<sub>2</sub>
- \* Metil red
- \* Üre
- \* Üreaz
- \* Büret

### DENEYİN YAPILIŞI:

- \* 7 adet erlenmayer alınır.
- \* K<sub>1</sub>, K<sub>2</sub>, D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub>, D<sub>4</sub>, D<sub>5</sub> şeklinde işaretlenir.
- \* 7 adet tüp alınır.
- \* Tüpler K<sub>1</sub>, K<sub>2</sub>, D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub>, D<sub>4</sub>, D<sub>5</sub> şeklinde işaretlenir.
- \* Pipetlemeler yapılır.

	K <sub>1</sub> (pH=3)	K <sub>2</sub> (pH=9)	D <sub>1</sub> (pH=3)	D <sub>2</sub> (pH=5)	D <sub>3</sub> (pH=7)	D <sub>4</sub> (pH=9)	D <sub>5</sub> (pH=11)
<b>Substrat (Üre) (1M)</b>	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml
<b>HgCl<sub>2</sub></b>	4 damla	4 damla	-	-	-	-	-
<b>Üreaz</b>	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml
<b>Tüp içeriklerinin karışması sağlanır. Optimum ısıda 30 dakika inkübasyona bırakılır.</b>							
<b>HgCl<sub>2</sub></b>	-	-	2 damla	2 damla	2 damla	2 damla	2 damla

- \* Karıştırılır ve bütün tüpler optimum sıcaklıkta 30 dakika inkübe edilir.
- \* İnkübasyon sonunda D tüplerine 4'er damla HgCl<sub>2</sub> damlatılır.
- \* Karıştırılır.
- \* Her tüp kendisine karşılık gelen eri ene boşaltılır. K<sub>1</sub>, D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub> erlenlerine 2'şer damla metil red, K<sub>2</sub>, D<sub>4</sub>, D<sub>5</sub> erlenlerine 2'şer damla metil oranj damlatılır.
- \* Titrasyonlar yapılır. Harcanan HCl miktarı 2 ile çarpılır.
- \* Sonuçlar, pH'ya karşılık harcanan HCl miktarı şeklinde grafiğe çizilir.

### SONUÇ:

### DENEY 3

**DENEYİN ADI:** Enzim miktarının hıza etkisi

#### MATERYAL:

- \* 7 adet erlenmayer
- \* 7 adet deney tüpü
- \* Distile su
- \* HgCl<sub>2</sub>
- \* Büret tutucu
- \* Metil red
- \* Üre çözeltisi
- \* Üreaz çözeltisi
- \* Büret
- \* HCl

#### DENEYİN YAPILISI:

- \* 7 adet erlenmayer alınır.
- \* Üzerleri K<sub>1</sub>, K<sub>2</sub>, D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub>, D<sub>4</sub>, D<sub>5</sub> şeklinde işaretlenir.
- \* 7 adet deney tüpü alınır ve aşağıdaki pipetlemeler yapılır.

	<b>K<sub>1</sub></b>	<b>K<sub>2</sub></b>	<b>D<sub>1</sub></b>	<b>D<sub>2</sub></b>	<b>D<sub>3</sub></b>	<b>D<sub>4</sub></b>	<b>D<sub>5</sub></b>
<b>Substrat (Üre) (1M)</b>	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml	4 ml
<b>Distile su</b>	5 ml	1 ml	5 ml	4 ml	3 ml	2 ml	1 ml
<b>HgCl<sub>2</sub></b>	4 damla	4 damla	-	-	-	-	-
<b>Üreaz</b>	1 ml	5 ml	1 ml	2 ml	3 ml	4 ml	5ml

- \* Tüpler karıştırılır ve hepsi optimum sıcaklıkta 30 dakika inkübe edilir.
- \* İnkübasyon sonunda D tüplerine 3'er damla HgCl<sub>2</sub> ilave edilir ve karıştırılır.
- \* Her tüp kendi erlenine boşaltılır ve 2'şer damla metil red ilave edilerek titrasyon yapılır.
- \* Her tüp için harcanan HCl miktarı 2 ile çarpılır.
- \* Enzim miktarına karşılık gelen HCl miktarı grafiğe çizilir.

#### SONUÇ:

#### DENEY 4

**DENEYİN ADI:** Substrat miktarının enzim hızına etkisi

#### MATERYAL:

- \* Metil red
- \* 10 adet deney tüpü
- \* Üreaz
- \* HgCl<sub>2</sub>
- \* Üre
- \* Büret

#### DENEYİN YAPILISI:

- \* Toplam 10 adet erlenmayer alınır; K<sub>1</sub>, K<sub>2</sub>, S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>, S<sub>3</sub>, S<sub>4</sub>, S<sub>5</sub>, S<sub>6</sub> şeklinde işaretlenir.
- \* 10 adet tüp alınır; K<sub>1</sub>, K<sub>2</sub>, S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>, S<sub>3</sub>, S<sub>4</sub>, S<sub>5</sub>, S<sub>6</sub> şeklinde işaretlenir.
- \* Bütün tüplere 4'er ml üre çözeltisi ilave edilir.
- \* K tüplerine 3'er damla HgCl<sub>2</sub> ilave edilir.
- \* K tüplerine 1'er ml üreaz çözeltisi ilave edilerek karıştırılır.
- \* K tüpleri optimum sıcaklıkta 30 dakika inkübe edilirler.
- \* S tüplerine 5'er dakika ara ile 1 'er ml üreaz çözeltisi ilave edilir. Karıştırılır ve optimum sıcaklıkta 30 dakika inkübe edilirler.
- \* İnkübasyon sonunda tüpler tekrar 5'er dakika ara ile benmariden çıkarılırlar.
- \* S tüplerine 2'şer damla HgCl<sub>2</sub> damlatılır.
- \* Her tüp (K'lar dahil) kendilerine karşılık gelen erlenlere boşaltılır, her birine 2'şer damla metil red ilave edilir.
- \* Titrasyon yapılır.

	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>4</sub>	S <sub>5</sub>	S <sub>6</sub>
<b>Substrat (Üre)</b>	4ml 100mM	4ml 1000mM	4ml 100mM	4ml 250mM	4ml 500mM	4ml 750mM	4ml 1000mM	4ml 1500mM
<b>HgCl<sub>2</sub></b>	4damla	4damla	-	-	-	-	-	-
<b>Üreaz</b>	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml
<b>Tüp içeriklerinin karışması sağlanır. Optimum ısıda 30 dakika inkübasyona bırakılır.</b>								
<b>HgCl<sub>2</sub></b>	-	-	2 Damla	2 Damla	2 Damla	2 Damla	2 Damla	2 Damla

- \*Karıştırılır, erlenmayere boşaltılır.
- \*Titrasyonda harcanan HCl miktarı 2 ile çarpılır ve sonuçlar substrat konsantrasyonlarına karşı harcanan HCl şeklinde kağıda çizilir.
- \* V<sub>max</sub> ve K<sub>M</sub> değerleri bulunur.
- \* Aynı değerler Lineweaver - Burke eğrisi çizilerek de bulunur.

#### YORUM:

## DENEY 5

### DENEYİN ADI: Enzim İnhibisyonu

#### DENEYİN YAPILIŞI:

- \* Toplam 6 adet erlenmayer alınır; K<sub>1</sub>, K<sub>2</sub>, S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>, S<sub>3</sub>, S<sub>4</sub>, S<sub>5</sub> şeklinde işaretlenir.
- \* 10 adet tüp alınır; K<sub>1</sub>, K<sub>2</sub>, S<sub>1</sub>, S<sub>2</sub>, S<sub>3</sub>, S<sub>4</sub>, S<sub>5</sub> şeklinde işaretlenir.
- \* Bütün tüplere 4'er ml üre çözeltisi ilave edilir.
- \* K tüplerine 3'er damla HgCl<sub>2</sub> ilave edilir.
- \* K tüplerine 1'er ml üreaz çözeltisi ilave edilerek karıştırılır.
- \* K tüpleri optimum sıcaklıkta 30 dakika inkübe edilirler.
- \* S tüplerine 5'er dakika ara ile 1'er ml üreaz çözeltisi ilave edilir. Karıştırılır ve optimum sıcaklıkta 30 dakika inkübe edilirler.
- \* İnkübasyon sonunda tüpler tekrar 5'er dakika ara ile benmariden çıkarılırlar.
- \* S tüplerine 2'şer damla HgCl<sub>2</sub> damlatılır.
- \* Her tüp (K'lar dahil) kendilerine karşılık gelen erlenlere boşaltılır, her birine 2'şer damla metil red ilave edilir.
- \* Titrasyon yapılır.

	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>4</sub>	S <sub>5</sub>
<b>Substrat (Üre)</b>	4ml 100mM	4ml 1000mM	4ml 100mM	4ml 250mM	4ml 500mM	4ml 750mM	4ml 1000mM
<b>HgCl<sub>2</sub></b>	4damla	4damla	-	-	-	-	-
<b>Üreaz</b>	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml
<b>İnhibitör</b>			5 damla	5 damla	5 damla	5 damla	5 damla
<b>Tüp içeriklerinin karışması sağlanır. Optimum ısıda 30 dakika inkübasyona bırakılır.</b>							
<b>HgCl<sub>2</sub></b>	-	-	2 Damla	2 Damla	2 Damla	2 Damla	2 Damla

- \* Karıştırılır, erlenmayere boşaltılır.
- \* Titrasyonda harcanan HCl miktarı 2 ile çarpılır ve sonuçlar substrat konsantrasyonlarına karşı harcanan HCl şeklinde kağıda çizilir.
- \* V<sub>max</sub> ve K<sub>M</sub> değerleri bulunur.
- \* Aynı değerler Lineweaver - Burke eğrisi çizilerek de bulunur.