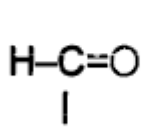


BİYOKİMYA LABORATUVAR FÖYÜ 4

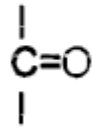
KARBONHİDRATLAR

Karbonhidratlar, kimyasal olarak polihidroksi aldehit veya ketondurlar veya hidroliz edildiklerinde böyle bileşikler veren maddelerdir. Bu sınıftaki çoğu madde için C : H : O oranı, 1 : 2 : 1 şeklindedir; genel formülleri $(CH_2O)_n$ şeklinde yazılabilir. Bazı karbonhidratlar, $(CH_2O)_n$ genel formülüne uymazlar; aynı zamanda azot, fosfor veya kükürt de içerirler; bu nedenle karbonhidrat yerine *karbohidrat* kelimesini kullanma eğilimi de vardır.

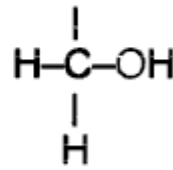
Karbonhidratların yapılarında ya aldehit ya da keton *bir karbonil grubu*; hem primer alkol yapısında hem sekonder alkol yapısında *iki veya daha fazla sayıda hidroksil* grupları bulunur.



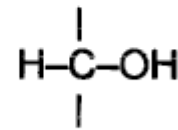
Aldehit grubu



Keton grubu



Primer alkol grubu



Sekonder alkol grubu

Karbonil grupları

Alkol grupları

Karbonhidratlar, dünyada en yaygın olarak bulunan biyomoleküllerdir; yeşil bitkiler ve algler tarafından fotosentez ile sürekli olarak CO_2 ve H_2O 'dan selüloz ve diğer bitkisel ürünler yapılmaktadır.

Karbonhidratların organizmada birçok fonksiyonu vardır: 1) Sofra şekeri ve nişasta gibi bazı karbonhidratlar, dünyanın önemli bir bölümünde insan diyetinin en önemli kısmıdır. 2) Karbonhidratların oksidasyonu, çoğu nonfotosentetik hücrede temel enerji sağlayıcı yoldur. Kan şekeri olarak bilinen ve vücudun en önemli karbonhidratı olan glukoz, memeli dokularının en önemli yakıtıdır. 3) İnsolubl (suda çözünmeyen) karbonhidrat polimerleri, bakteri ve bitkilerin hücre duvarlarında ve hayvanların bağ dokularında yapısal ve koruyucu elemanlar olarak işlev görürler. 4) Bazı karbonhidrat polimerleri, iskelet eklemlerini kayganlaştırırlar ve hücreler arası yapışmayı sağlarlar. 5) Karbonhidratlar, vücutta lipidlerin, bazı amino asitlerin, glikolipidlerin, glikoproteinlerin ve proteoglikanların ön maddesidir. Proteinlere ve lipidlere kovalent olarak bağlı bazı kompleks karbonhidrat polimerleri, molekülün intrasellüler yerini veya metabolik akıbetini belirleyen sinyal olarak etki gösterirler.

Genel olarak karbonhidratlar **monosakkaritler**, **oligosakkaritler** ve **polisakkaritler** olmak üzere üç büyük sınıfta toplanır.

Monosakkaritler (basit şekerler), daha basit şekle hidrolize olamayan karbonhidratlardır. Bunlar, sahip oldukları karbon atomlarının sayısına bağlı olarak triozlar, tetrozlar, pentozlar, heksozlar, heptozlar ve oktozlar şeklinde ve aldehid yada keton gruplarının bulunup bulunmamasına bağlı olarak aldozlar veya ketozlar şeklinde alt gruplara bölünebilir.

Monosakkaritler, renksiz, kristalli katılardır; suda çözünürler, fakat nonpolar çözücülerde çözünmezler. Monosakkaritlerin çoğu tatlıdır.

Karbon sayısına göre	Karbonil grubunun cinsine göre				
	Aldoz		Ketoz		
Trioz (3 karbonlu)	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C} \\ // \quad \backslash \\ \text{O} \quad \text{O} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$		$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$		
	Gliseraldehit		Dihidroksi aseton		
Tetroz (4 karbonlu)	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C} \\ // \quad \backslash \\ \text{O} \quad \text{O} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$		$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$		
	Eritroz		Entrüloz		
Pentoz (5 karbonlu)	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C} \\ // \quad \backslash \\ \text{O} \quad \text{O} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C} \\ // \quad \backslash \\ \text{O} \quad \text{O} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	
	Riboz	Ksiloz	Ribüloz	Ksilitüloz	
Heksoz (6 karbonlu)	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C} \\ // \quad \backslash \\ \text{O} \quad \text{O} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C} \\ // \quad \backslash \\ \text{O} \quad \text{O} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C} \\ // \quad \backslash \\ \text{O} \quad \text{O} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{H} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$
	Glukoz	Mannoz	Galaktoz	Fruktoz	Sorboz

Oligosakkaritler, 2'den 10'a kadar monosakkarit birimi veren karbonhidratlardır. Disakkaritler ve trisakkaritler alt gruplarıdır.

Disakkaritler, hidroliz olunca aynı veya farklı 2 molekül monosakkarit molekülünü oluştururlar. Örnek: sakkaroz, laktoz, maltoz.

Polisakkaritler, hidrolizle 6 molekül'den daha fazla monosakkarit verirler. Polisakkarit örnekleri düz veya dallanmış olabilen nişasta ve dekstrinlerdir.

Monosakkaritlerin Kimyasal Özellikleri:

1. Pentozlar ve heksozlar, serbest yarı asetal hidroksil gruplarıyla Cu^{+2} ve Fe^{+2} gibi iyonları indirgerler, bu sırada kendileri de aldonik asitlere yükseltgenirler.
2. Pentoz ve heksozlar, kuvvetli mineral asitler içinde dehidre olurlar; böylece pentozlardan *furfural* oluşur, heksozlardan *5-hidroksimetil furfural* oluşur. Furfural ve 5-hidroksimetil furfuralerin önemli bir özelliği, orcin, floroglusin, resorzin, α -naftol, antron, safra asitleri gibi bazı bileşiklerle kondanse olarak renk reaksiyonları

vermeleridir. Bu bileşiklerin bazı monosakkaritlerle verdikleri renk reaksiyonları özeldir; o monosakkaritlerin tanınmasında kullanılır.

3. Heksozların 1. ve 2. karbonlarına fenil hidrazin bağlanabilir; böylece karakteristik kristalli *osazonlar* oluşur. 3., 4., 5. ve 6. karbonlarının konfigürasyonları aynı olan glukoz, mannoz ve fruktoz, sarı renkli ve ekin demeti görünümünde osazon kristalleri oluştururlar. Glukozun C-4'de epimeri olan galaktoz, koyu sarı renkte ve atkestanesi görünümünde osazon kristalleri oluştururlar.
4. Monosakkaritler, şiddetli alkali ortamda çok çeşitli maddelere değişirler; örneğin glukozdan 100den fazla yeni madde oluşur.
5. Monosakkaritler, şiddetli asit ortamda kaynar dereceye kadar ısıtırlarsa kömürleşerek parçalanırlar.
6. Monosakkaritler, zayıf asitli ortamda sodyum amalgam ile yüksek depğerli alkollere indirgenebilirler.

UYGULAMALAR:

Monosakkaritlerin indirgeyici özellikleriyle ilgili uygulamalar:

Redüktör (indirgeyici) şekerlerle, redüktör olmayan şekerleri birbirinden ayırtetmek için kullanılır. Basit monosakkaritler indirgeyici ajanlardır. Monosakkaritler ferrisiyanit, hidrojen peroksit ve bakır iyonu (Cu^{+2}) gibi yükseltgeyici ajanları indirgerler. Şekerlerin karbonil grubu yükseltgenirken, yükseltgeyici ajanlar indirgenir. (İndirgeyici ajanlar elektron vericisi, yükseltgeyici ajanlar ise elektron alıcısıdır). Oksitleyici ajanları indirgeyebilen glukoz ve diğer şekerlere *redüktör (indirgeyici) şekerler* denir. Bu arada oluşan kiremit renkli çökelek (Cu_2O) şekerlerin analizinde kullanılır. Kısaca;

Serbest yarı asetal hidroksili içeren monosakkaritlerin, indirgeyici özellikleriyle Cu^{2+} 'ı Cu^{+} 'a indirgemeleri prensibine dayanır..

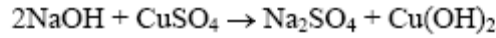
Trommer Testi

Gerekenler: 1) %5'lik glukoz çözeltisi. 2) %5'lik NaOH çözeltisi. 3) %5'lik CuSO_4 çözeltisi. 4) Pipet. 5) Deney tüpleri. 6) Kaynar su banyosu veya bunzen beki alevi.

Uygulama: 1) Bir deney tüpüne 2 mL %5'lik glukoz çözeltisi konur. 2) Tüpteki çözeltiliye 1 mL %5'lik NaOH çözeltisi eklenir ve karıştırılır. 3) Tüpteki karışıma 1 mL %5'lik CuSO_4 çözeltisi eklenir ve karıştırılır. 4) Tüpteki son karışım, su banyosunda veya bunzen beki alevinde dikkatlice ısıtılır. 5) Isıtılan karışımın sarı veya kırmızı renkli çökelti haline dönüştüğü gözlenir.



Açıklama: Önce NaOH ile CuSO₄ arasında tepkime olur ve suda mavi renkli kaba çökelti halinde Cu(OH)₂ oluşur.



Daha sonra, glukozun serbest yarı asetal hidroksili ile Cu(OH)₂ arasında tepkime olur; glukoz, Cu(OH)₂'i CuOH haline indirger ve kendisi de aldonik asidine yükseltgenir.

Oluşan CuOH, suda çözünmez ve *sarı renkli* çökelti halinde çöker.

Isıtma sırasında CuOH su kaybederek Cu₂O haline dönüşür.

1S1



Oluşan Cu₂O, suda çözünmez ve *kırmızı renkli* çökelti halinde çöker.

Tüpteki çökelti, içerdiği CuOH ve Cu₂O miktarlarına, bir bakıma da indirgenen bakır miktarına ve dolayısıyla glukoz çözeltisinin konsantrasyonuna bağlı olarak sarıdan kırmızıya kadar değişen renkte olur.

Tartışma: Deney glukoz yerine serbest yarı asetal hidroksili içeren bir başka şeker çözeltisi ile yapılıyorsa, Cu²⁺'nin Cu⁺'e indirgenmesine bağlı olarak sarıdan kırmızıya kadar değişen renkte bir çökelti gözlenirdi.

Deney glukoz yerine bir başka indirgen madde çözeltisiyle yapılıyorsa, yine Cu²⁺'nin Cu⁺'e indirgenmesine bağlı olarak sarıdan kırmızıya kadar değişen renkte bir çökelti gözlenirdi.

Deney glukoz çözeltisi yerine distile su ile yapılıyorsa, Cu²⁺ indirgenmezdi ve Cu(OH)₂'in ısı etkisiyle su kaybetmesi sonucu oluşan CuO'den ileri gelen siyah renkli çökelti gözlenirdi.

1S1



Deney glukoz yerine serbest yarı asetal hidroksili içermeyen bir şeker çözeltisi ile yapılıyorsa, Cu²⁺ indirgenemezdi ve CuO'den ileri gelen siyah renkli çökelti gözlenirdi.

Benedict Testi

Materyal

- 1- Benedict ayracı: 17,3 g bakır sülfat (CuSO₄) 173 g sodyum sülfat (Na₂SO₄) karıştırılarak suda çözülür, hacim 1000ml'ye tamamlanır.
- 2- Glukoz, laktoz ve nişastanın %5'lik çözeltileri

Yapılışı

- 1- Üç tüp alınarak her tüpe 2'şer ml Benedict ayracı koyunuz.

- 2- Tüplere sırasıyla 5'er ml glukoz, laktoz ve nişasta çözeltileri ilave ediniz.
- 3- Tüpleri sıcak su banyosunda 5 dakika kaynatınız.
- 4- Kiremit rengi (sarı-turuncu) renkli çökelek redükte şekerler için pozitif sonuç verir.
- 5- Elde ettiğiniz sonuçları kaydediniz.

Monosakkaritlerin renk tepkimeleri ile ilgili uygulama:

Molisch Testi

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

Gerekenler: 1) %5'lik glukoz çözeltisi. 2) Konsantre H_2SO_4 3) α -naftol'ün etil alkoldeki %1'lik çözeltisi. 4) Pipet. 5) Deney tüpleri.

Uygulama: 1) Bir deney tüpüne 2 mL %5'lik glukoz çözeltisi ve 1 mL α -naftol çözeltisi konup karıştırılır. 2) Tüpteki karışım üzerine 4 mL konsantre H_2SO_4 tabaka oluşturacak şekilde tüp kenarından dikkatlice akıtılarak eklenir. 3) Tüpte tabakaların temas yerinde *mor renkli halka* oluştuğu gözlenir.



Açıklama: Konsantre H_2SO_4 monosakkaridlerden su çekerek onları dehidre eder; pentozlardan furfural oluşur, heksozlardan da 5-hidroksimetil furfural oluşturur.

Furfural ve 5-hidroksimetil furfural da α -naftol ile tepkimeye girerler ve mor renkli trifenil metan oluştururlar.

Tüpte tabakaların temas yerinde gözlenen mor renkli halka, oluşan *trifenilmetan*dan ileri gelmektedir.

Tartışma: Deney glukoz çözeltisi yerine bir başka heksoz veya pentoz çözeltisi ile yapılıyorsa, gene tüpte temas yerinde mor halka gözlenirdi.

Molisch deneyi, monosakkaridlerin genel tepkimesidir; monosakkaridin türünü belirlemek yani pentoz mu yoksa heksoz mu olduğunu anlamak için yararlı değildir.

Monosakkaritlerin osazon oluşturmalarıyla ilgili uygulama:

Fischer Testi

Monosakkaritlerin, fenil hidrazin ile 1. ve 2. karbonlarının katıldığı bir tepkimeye girerek karakteristik osazon kristalleri oluşturmaları prensibine dayanır.

Aktif aldehit veya keton grubu ihtiva eden bileşikler fenilhidrazin ile asidik ortamda ısının etkisi ile osazon kristalleri oluştururlar. Osazon kristalleri karakteristik şekillerdedir ve erime noktaları indirgeyici şekerlerin tanınmasında rol oynar.

Fenilhidrazin şekerin karbonil grubu ile fenilhidrazon verecek şekilde reaksiyona girer. Meydana gelen fenilhidrazon diğer iki fenilhidrazin molekülü ile reaksiyona girerek osazon oluşturur. Osazon kristalleri altın sarısı renktedir ve oluştuğu karbonhidratın adının sonuna –azon eki ilavesi ile adlandırılırlar (Glukosazon gibi).

Osazon oluşumu, şeker molekülünün sadece 1. ve 2. karbon atomlarındaki konfigürasyonu bozar. Glukoz, fruktoz ve mannozun 3., 4., 5., ve 6. karbon atomlarının konfigürasyonları aynı olduğu için benzer osazon kristalleri oluştururlar.

Materyal

- 1- Glasiyal asetik asit
- 2- Fenilhidrazin
- 3- Sodyum asetat (CH_3COONa)
- 4- Mikroskop, lam ve lamel
- 5- Glukoz, fruktoz ve galaktozun %5'lik çözeltileri
- 6- Deney tüpleri
- 7- Kaynar su banyosu

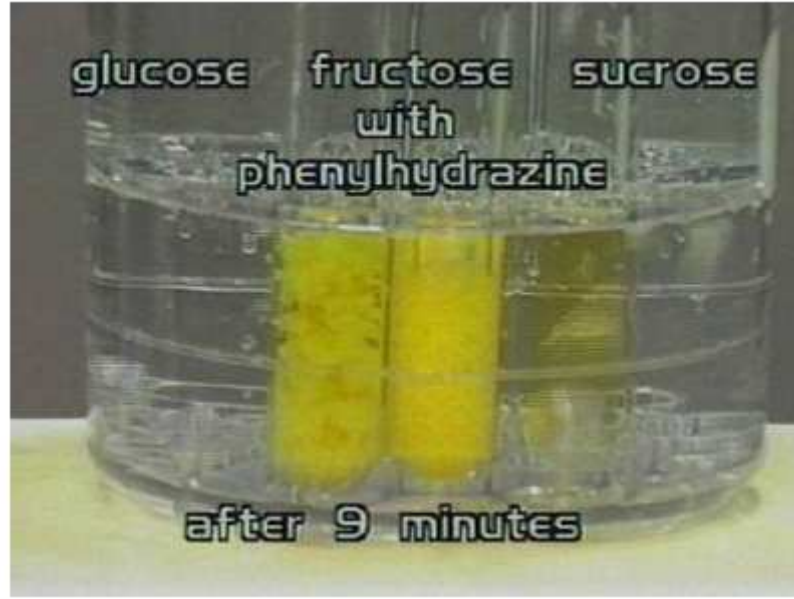
Yapılışı

- 1- Çalışacağımız karbonhidrat çözeltilerinden 5'er ml alıp deney tüplerine koyunuz ve tüpleri işaretleyiniz.
- 2- Tüplere 0,5 ml glasiyal asetik asit ilave ederek asitleştiriniz.
- 3- Tüplere bir pipet yardımı ile üçer damla fenil hidrazin ekleyiniz.
- 4- Her tüpe bir spatül ucu sodyum asetat koyunuz ve tüpleri parmağınızla kapatıp sallayarak içindekilerin iyice karışmasını sağlayınız.
- 5- Tüpleri sıcak su banyosuna koyunuz.
- 6- Osazon kristallerinin oluşum zamanları kaydedilir ve mikroskop altında incelenirler.

Bazı karbonhidratlar çözeltinin bulunduğu tüplerde hemen birkaç dakikada içinde sarı kristaller oluşur. Bu tüplerden pipetle bir damla alınız ve mikroskopla bunların kristal yapılarını inceleyiniz ve şekillerini çiziniz.

Bazı tüplerde süre ilerlemesine rağmen kristallenme görülmez. Bunlar soğukta kristal oluşturduklarından sıcak su banyosundan alınır ve çok az akan çeşme altında tutularak gayet

yavaş bir şekilde soğutulur. Tüp içinde sarı kristaller oluşunca mikroskop altında inceleyiniz ve şekillerini çiziniz.



Açıklama: Monosakkaridler, fenil hidrazin ile 1. ve 2. karbonlarının katıldığı bir tepkimeye girerek karakteristik osazon kristalleri oluştururlar. Glukoz ile ince uzun iğneler şeklinde ve ekin demeti görünümünde kristaller oluştuğu gözlenir.

Tartışma: Deney glukoz çözeltisi yerine mannoz çözeltisi veya fruktoz çözeltisi ile yapılırdı gene ince uzun iğneler şeklinde ve ekin demeti görünümünde kristaller oluştuğu gözlenirdi. Çünkü, glukoz, mannoz ve fruktozun 1. ve 2. karbonlarına bağlı gruplar farklı; fakat 3., 4., 5. ve 6. karbonlarına bağlı gruplar ise aynıdır. 1. ve 2. karbonlarına fenil hidrazinin bağlanmasıyla glukoz, mannoz ve fruktozun tüm karbonlarına bağlı gruplar aynı olmuş olur ve böylece oluşan osazon kristalleri arasında da fark olmaz. Deney galaktoz çözeltisi ile yapılırdı kirli sarı ve at kestanesi görünümünde kristaller oluştuğu gözlenirdi. Çünkü, galaktozun 4.karbonuna bağlı hidroksil grubu glukozdakine göre ters taraftadır; osazon oluşurken 4.karbon tepkimeye katılmadığından oluşan osazon kristalleri de farklı olur.

Deney glukoz çözeltisi yerine sukroz (sakaroz, bir disakkarid) çözeltisi ile yapılırdı osazon oluşumu gözlenmezdi.