

A.Ü.F.F. Döner Sermaye
İşletme Yayınları
No:48

Bitki Fizyolojisi Laboratuvar Kılavuzu

Prof. Dr. Işıl ÖNCEL

Doç.Dr.A. Sülün ÜSTÜN

Yard. Doç. Dr Yüksel KELEŞ

ANKARA-2004

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	1
LABORATUAR ÇALIŞMALARINDA DİKKAT EDİLECEK KURALLAR	4
1. FİZYOLOJİDE DENEY ve ANALİZ	5
BİTKİ ÖRNEKLERİNDE ANALİZ	6
ANALİZ SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ	8
2. LABORATUARDA KULLANILAN KİMYASAL MADDELER	10
KİMYASAL MADDELERİN KULLANILIŞI	10
KİMYASAL MADDELER İÇİN ULUSLARARASI UYARI İŞARETLERİ	12
3. LABORATUARDA KULLANILAN MALZEMELER	14
LABORATUARDA KULLANILAN CAM MALZEMELER	14
CAM MALZEMELERİN TEMİZLİĞİ	17
LABORATUARDA ÇOK KULLANILAN ALET VE EKİPMANLAR	18
4. ÇÖZÜNÜRLÜK ve ÇÖZELTİLER	20
1.ÇÖZÜNÜRLÜK	20
2.ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI	22
A-Hacim konsantrasyonları:	22
B-Ağırlık konsantrasyonları:	23
C-Çözeltilerin seyreltilmesi:	24
5. ASİDİTE ve TAMPON ÇÖZELTİLER	25
Suyun İyonları ve pH	26
pH Ölçümü	27
Tampon Çözeltiler	27
Potansiyel Asidite	30
Aktüel asidite	30
6. İNORGANİK MADDELERİN ANALİZİ	31
Deney 1. Kuru distilasyonla element analizi	31
Deney 2. Külde katyon ve anyon aranması.	32
7. ORGANİK MADDELERİN ANALİZİ:	34
Deney 1 . Nişastanın nitel analizi	34
Deney 2. İnülinin nitel analizi	35
Deney 3. Seliözom nitel analizi	36
Deney 4. Ligninin nitel analizi	36
Deney 5. İndirgen şekerlerin nitel analizi	37

Deney 6. İndirgen olmayan şekerlerin nitel analizi	38
Deney 7. Proteinlerin nitel analizi	39
Deney 8. Yağların nitel analizi	39
Deney 9. C-vitamininin nitel analizi	40
Deney 10. Bazı bitki asitlerinin nitel analizi	40
8. BİTKİ SU İLİŞKİLERİ	42
Deney 1. Elektrolitlerde şişme	42
Deney 2. Sınır plazmoliz (limit plazmoliz) ile hücre özsuğu osmotik konsantrasyonunun belirlenmesi	43
Deney 3. Şerit metodu ile hücre su potansiyelinin belirlenmesi	45
Deney 4. Ağırlık metodu ile hücre su potansiyelinin belirlenmesi	46
Deney 5. Osmotik basıncın ölçülmesi	46
Deney 6. Potometre metodu ile transprasyonun ölçülmesi	47
Deney 7. Oransal su miktarının (OSM) belirlenmesi	48
9. ÇİMLENME	50
Deney 1. Sıcaklığın çimlenme üzerine etkisi	50
Deney 2. Çeşitli maddelerin çimlenme üzerine etkileri	51
10. BİTKİ GELİŞİMİNE MİNERAL MADDELERİN ETKİLERİ	53
Deney 1. Mineral maddelerin bitki gelişimi üzerine etkilerinin su kültürü yöntemi ile incelenmesi.	54
Deney 2. Mineral maddelerin bitki gelişimi üzerine etkilerinin kum kültürü yöntemi ile incelenmesi.	57
11- KROMATOĞRAFİK TEKNİKLER	59
1. Yüzey adsorpsiyon kromatografisi:	60
2. Kolon kromatografisi:	60
3. İyon değiştirme kromatografisi:	60
4. Partisyon (dağılma) kromatografisi:	62
5. Kağıt kromatografisi:	62
Deney 1. Filtre kağıdı kromatografisi (uzun şeritlerle)	62
Deney 2. Filtre kağıdı kromatografisi (geniş kağıtlarla)	64
6. İnce tabaka kromatografisi:	67
7. Gaz kromatografisi:	68
8. Yüksek basınçlı (performanslı) sıvı kromatografisi (HPLC):	70
12. RENK MADDELERİNİN (PİGMENT) EKSTRAKSİYONU VE BELİRLENMESİ	72
Deney 1. Klorofil ekstraksiyonu ve belirlenmesi	73
Deney 2. Antosiyanin ve flavonoid pigmentlerin kimyasal ayrımı	74
13. FOTOSENTEZ	76
Deney 1. Işık şiddetinin fotosenteze etkisi	77
Deney 2. Fotosentezde karbondioksit (CO ₂) miktarının rolü.	78
Deney 3. Fotosentez hızının belirlenmesi.	78
Deney 4. Ektrakte edilmiş kloroplastların katalitik özelliklerinin belirlenmesi.	79
Deney 5. Karanlıkta glikozdan nişasta sentezinin incelenmesi.	80
14. SOLUNUM	82
Deney 1. Oksijenli solunumun nicel olarak gösterilmesi	82
Deney 2. Solunum katsayısı ile solunum sübstratının belirlenmesi	84
Deney 3. Fermentasyon olayının incelenmesi	85
15. HORMONLAR	87
Deney 1. Kök ve gövde büyümesi üzerine oksinlerin etkilerinin incelenmesi.	88
Deney 2. Gövde uzaması üzerine gibberellinlerin etkilerinin incelenmesi	89
Deney 3. Amilaz aktivitesi üzerine gibberellin etkisinin incelenmesi.	90

16. BİTKİLERDE HAREKET	91
Deney 1. Bitkilerde geotropizma hareketi	92
Deney 2. Bitkilerde fototropizma hareketi	93
17. BİTKİ DOKU KÜLTÜRÜ	94
LABORATUAR ORGANİZASYONU	94
BESİN ORTAMI	95
DOKU KÜLTÜRLERİNİN UYGULAMA ALANLARI	96
MİKRO ÜRETİM DEVRELERİ	98
EKLER	99
EK-1 ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI	100
EK-2 ÖLÇÜ BİRİMLERİ	102
KAYNAKLAR:	103
İNDEKS	105

LABORATUAR ÇALIŞMALARINDA DİKKAT EDİLECEK KURALLAR

Laboratuar çalışmalarınız sırasında gerek güvenlik gerekse deneylerden başarılı sonuç alabilmek için aşağıdaki kurallara mutlaka uyunuz.

1-Çalışmaya başlamadan önce laboratuar kitabınızın ilgili bölümünü dikkatle okuyunuz.

2-Laboratuar çalışmalarınız süresince beyaz bir önlük giyiniz.

3-Deney materyal ve malzemelerini önceden eksiksiz olarak hazırlayınız.

4-Kullanacağınız malzemelerin temizliğini kontrol ediniz, değilse temizleyiniz.

5-Çalışmaya başlamadan önce çalışma ortamını temizleyiniz.

6-Deneyin gerektirdiği özelliklere sahip kimyasal maddeleri kullanmaya özen gösteriniz.

7-Deney yöntemini uygularken yöntemin gerektirdiği tüm koşulları yerine getirmeye dikkat ediniz.

8-Kimyasal maddelerin üzerindeki uyarı işaretlerine dikkat ediniz. Zararlı maddelerle çalışıyorsanız gerekli önlemleri alınız.

9-Çalışmanızı tamamladıktan sonra deney malzemelerinizi ve çalışma ortamınızı temiz bırakınız.

10-İnsan ve çevre sağlığı için zararlı kimyasal maddeleri lavobolara dökmeyiniz. Bu tip atıkların uzaklaştırılması için laboratuar sorumlularından yardım isteyiniz.

1. FİZYOLOJİDE DENEY ve ANALİZ

Canlılardaki hayat olayları; biyolojik maddelerin bileşiminin değişmesine sebep olduğundan, bu biyolojik maddelerin azalıp çoğalması, var veya yok oluşları, bu maddelerle reaksiyon veren kimyasal bir maddeden yararlanılarak incelenebilir.

Fizyoloji canlılık olaylarını inceleyen bir bilim olduğuna göre fizyolojik deneylerin gayesi bu olayları gözlemek ve bu olayların birim zaman içindeki değişimini ve bu değişimi etkileyen faktörleri belirlemektir. Fizyolojik olayların birçoğunun gözle veya diğer duyuyla takip edilmesi imkansızdır. Olayların gelişimini inceleyebilmek için o olayın sonuçlarının veya ürünlerinin varlığı ve miktarı araştırılır. Bu incelemeler için aynı etkilere karşı aynı tepkileri gösteren, şartlar aynı kaldıkça özellikleri değişmeyen ve şartların belli bir oranda değişimi ile özellikleri de belli bir oranda değişen göstergelere gereksinim vardır. Göstergelerin bu özellikleri sayesinde karmaşık canlılık olayları incelenebilir ve ölçülebilir.

Fizyolojik deneylerde analiz önemli bir yer tutar. Analiz, nitel (kalitatif) ve nicel (kantitatif) olmak üzere ikiye ayrılır.

Nitel analizler, olaylar, fiziksel özellikler ve kimyasal maddeler arasındaki ilişkilerin var yok şeklinde değerlendirildiği analizlerdir. Örneğin buğday tohumlarına iyot çözeltisi uygulayarak nişastanın varlığı tesbit edildiğinde nişasta vardır yada yoktur şeklinde bir sonuca ulaşılır. Bu bir nitel analizdir.

Nicel analizler, bir bitkinin yada bitki parçasının fizyolojik özelliklerini veya biyokimyasal yapısını belirli birimler kullanarak sayısal değerlerle ortaya koyan analizlerdir. Örnek olarak, buğday tohumundaki nişasta miktarı yüzde veya mg/gr gibi bir birimle ifade ediliyorsa bu bir nicel analiz sonucudur.

Bitki analizlerinde çeşitli yöntemler uygulanmaktadır. Bazı önemli analiz yöntemleri şunlardır.

1-Gravimetrik yöntemler: Maddenin bitkiden ayrılması ve ağırlığının ölçülmesi esasına dayanır.

2-Volumetrik yöntemler: Madde ile reaksiyona giren başka bir maddenin katılması ve miktarının ölçülmesi esasına dayanır (titrasyon).

3-Fotometrik yöntemler: Maddelerin belli kimyasallarla renklendirilmesi ve ışık absorbansının veya geçirgenliğinin ölçülmesi esasına dayanır.

4-Fleymfotometrik yöntemler: Minerallerin karakteristik alev renklerinin ölçülmesi esasına dayanır.

5-Kromatografik yöntemler: Maddelerin uygun çözücülerle sabit bir ortam üzerinde koşturulması esasına dayanır.

BİTKİ ÖRNEKLERİNDE ANALİZ

Bir bitkide yada bitki dokusunda organik veya inorganik maddelerin analize hazırlanmasında incelenecek maddelerin özelliklerine göre farklılıklar olmakla birlikte genel bir yöntem vardır.

Örneklerin temizlenmesi: Topraktan hasat edilen bitkilerde ya da dalından koparılan bitki parçalarında, bulaşmış yabancı maddeler bulunur. Analizden önce bu maddelerin temizlenmesi gerekir. Kirliliğin tipine göre elle, fırçayla yada yıkama ile bu maddeler temizlenebilir. Temizlemede kullanılacak yöntemin seçiminde dikkat edilmesi gereken nokta temizlik maddelerinden örneğe analiz edilecek maddelerin bulaşmamasıdır. Bitki örneklerinin yıkanmasında seyreltik HCl çözeltisi (0.2 N), asetik asit çözeltisi (% 2) veya deterjan çözeltisi (% 0.1) kullanılabilir. Bu maddelerle yıkama yapıldıktan sonra örnekler saf su ile durulanmalıdır.

Örneklerin sterilizasyonu: Bazı durumlarda örneklerin sterilizasyonu gereklidir. Bitkilerden alınan ekstraktlar analizden önce uzun süre bekletilecekse mikroorganizmalar ekstraktın organik madde kompozisyonunu değiştirebilir. Bu durumda analizden önce örnekler %1 lik sodyum hipoklorit (çamaşır suyu) içerisinde kısa bir süre tutulur ve steril saf su ile durulanır. Örneklerin saklanacağı kaplarda steril olmalıdır.

Örneklerin kurutulması: Bitki örnekleri çoğunlukla bol miktarda su içerirler ve suyun varlığı metabolik aktivitenin devamına neden olur. Bu yüzden örnekler alındıktan sonra süratle kurutulmalıdır. Kurutma ile metabolik aktivite durdurulur ve bitkinin organik madde kompozisyonununun değişmesi önlenmiş olur. Örnek alma ile kurutma arasında uzun bir zaman olacaksa örnekler bir derin dondurucuda korunmalıdır. Bazı analizler taze (yaş) materyalden yapılabilir, bu durumda bitki örneklerinin kurutulması aşamasına gerek yoktur.

Çalışılacak maddenin özelliğine göre farklı kurutma yöntemleri uygulanabilir. En çok kullanılan yöntemler şunlardır.

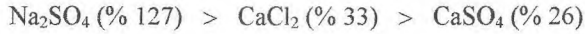
1-Kurutma dolabı veya etüvde kurutma: Bu yöntemde örnekler ısıtarak suyu buharlaştırılır, böylece örneklerin kuruması sağlanır. Bu yöntemde sudan başka buharlaşabilen maddelerde kaybedileceğinden uçucu maddelerin analizi için uygun değildir. Bu işlem için hava sirkülasyonlu kurutma dolapları daha uygundur. Ancak etüv ve fırınlar da, kurutma amacıyla kullanılabilir. Bu tip kurutma mineral madde analizleri için uygundur.

2-Desikatörde kurutma: Desikatörler nem çekici kimyasal maddelerle kurutma için hazırlanmış cam malzemelerdir. Desikatörlerde kurutma spesifik olarak suyu bağlayan maddelerle yapıldığı için avantajlıdır, bu sayede diğer uçucu maddeler bitki dokusunda kalırlar. Desikatörde kurutma çok zaman alıcı olduğu için kullanışlı değildir.

Desikatörde kurutmanın etkinliğini artırmak için önce su çekme kapasitesi yüksek olan maddeler, sonra su çekme etkinliği yüksek olan maddeler kullanılmalıdır. Desikatörlerde kullanılan bazı nem çekici maddelerin etkinlik sırası şöyledir.



Su çekme kapasitesine göre ise sıralama şöyledir.



Kurutucu maddelerden fosfor pentaoksit (P_2O_5) suyu irreversibil olarak bağlar. Diğer maddeler ise 125-130 °C ye kadar ısıtıldıklarında kururlar ve tekrar kullanılabilirler. Sıvıların kurutulması için bu maddeler doğrudan sıvının içine atılır. Katıların ve gazların kurutulmasında ise ortama bırakılmaları yeterlidir. Bazı desikatörlerde bir musluk bulunabilir, bu desikatöre vakum uygulamak içindir. Vakumlu desikatörler kurumayı hızlandırır, ancak su dışında bazı uçucu maddelerinde dokudan uzaklaşmasına neden olurlar.

Liyofilizatörde kurutma: Örneklerin, düşük sıcaklıkta (- 50 - -70 °C) donmuş halde ve vakum (10^{-3} - 10^{-5} mm Hg) uygulanarak kurutulduğu bir yöntemdir. Liyofilizatörler, özellikle enzimler veya buharlaşma noktası düşük olan organik maddelerle çalışılacağı zaman tercih edilirler. Bu yöntemle örnekler çok sağlıklı bir biçimde kurutulabilirler. Bir soğutma sistemi ve bir vakum pompasından oluşurlar.

Örneklerinin öğütülmesi: Bitki örneklerinin öğütülmesi hem ekstraksiyonu kolaylaştırır hemde farklı bitki kısımlarının homojen bir şekilde karışmasını sağlar. Öğütme işlemi genellikle belli çapta elekleri bulunan değirmenlerde yapılır. Örnek değirmende öğütülecek kadar fazla değilse havanda ezme suretiyle öğütme yapılabilir. Öğütülmüş örnekler

saklama kabına alındıktan sonra desikatörlerde yada 60-70 °C lik kurutma dolabında bir süre tutularak nem farklılıkları giderilebilir.

Örneklerin yakılması: Organik madde analizlerinde yakma yapılmaz. Ancak mineral madde analizleri için gereklidir. Yakma sonucu organik maddeler uzaklaştırılırken mineraller külde kalır. Yakma için iki yöntem vardır. Çalışılacak maddenin özelliğine göre uygun yöntem seçilmelidir.

1-Kuru Yakma: 500-600 °C ısıtılabilen özel yakma fırınlarında bitki dokuları gri renkli bir kül bırakıncaya kadar yakılır (2-6 saat) Bu işlemden önce sülfürik asit ve etil alkol ile ön yakma yapılabilir. Bu yöntemle yakılan örneklerde Na, K, Ca, Mg, P analizleri yapılabilir.

2- Yaş Yakma: Nitrik asit (HNO_3) - perklorik asit (HClO_4) karışımı içerisine konan örnekler, 150-200 °C de kaynatılır. Tam olarak kurumadan ocaktan indirilir ve soğutulur. Bu yöntemle yakılan örneklerde bor dışında kalan bütün bitkisel elementlerin analizi yapılabilir.

Örneklerin ekstraksiyonu: Kurutulmuş - öğütülmüş yada taze bitki materyallerinden çalışılacak maddenin uygun çözücüler yardımıyla ayrılması ve maddenin bir çözelti halinde elde edilmesi işlemidir. Çalışılan maddeye göre özel yöntemler ve çözücüler kullanılarak ekstraksiyon yapılır. Çöktürme, çalkalama, santrifüjleme, filtrasyon gibi işlemler ekstraksiyon için kullanılabilir. Ekstraksiyonda tam bir saflaştırma yapılmaz, yalnızca madde kendisine benzer özellikleri olan diğer maddelerden ayrılmış olur.

ANALİZ SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Deney ve analiz sonuçları çeşitli nedenlerden kaynaklanan hatalar nedeniyle hiçbir zaman tam doğru değildir. Deney ve analizlerin özelliklerine göre değişmekle birlikte bazı önemli hata sebepleri şunlardır.

1-Araştırmacının dikkatsizliğinden ve tecrübesizliğinden kaynaklanan hatalar (Deney süresince dikkatli olunmalı, uyarılar gözardı edilmemeli, sağlıklı bir etiketleme yapılmalı, yöntemde belirtilen sürele uyulmalı, mutlaka ön denemeler yapılmalı).

2-Kullanılan kimyasal maddelerden kaynaklanan hatalar (Yöntemin gerektirdiği saflıkta maddeler kullanılmalı. 2. konuya bakınız).

3-Örnekleme hataları (Yeterli sayıda ve homojen örnek alınmalı).

4-Alet ve ekipmandan gelen hatalar (Aletlerin kalibrasyonları ve araçların temizliği kontrol edilmeli).

5-Yöntemden gelen hatalar (Kullanılan yöntemin hatalı olabileceği gözönünde bulundurulmalı varsa alternatif yöntemlerle kontrol edilmeli).

6-Ortamdan gelen hatalar (Çalışma ortamının temizliği, sıcaklığı, nemi, ışık durumu bazı deneylerde hataya neden olabilir).

Yukarıda sayılan hata nedenlerini gidermek için gerekli önlemler alınsa bile sonuçlar yine de hatalıdır. Bu hataların düzeyi istatistik yöntemlerle belirlenebilir ve bir ölçüde azaltılabilir. İstatistiksel olarak kabul edilebilir hata sınırları 0.01 ve 0.05 seviyesindedir.

Deney ve analiz sonuçlarının güvenilirlik ölçülerinden biri standart sapmadır. Ölçüm değerlerinin aritmetik ortalamadan farkına sapma denir. Sapmaların aritmetik ortalamasına ortalama sapma veya ortalama hata denir. Standart sapma ise aritmetik ortalama etrafındaki dağılımın derecesini ifade eden varyansın kare köküdür.

Varyans ve standart sapma şu formülle hesaplanabilir.

$$S^2 = \frac{\sum X^2 - (\sum X)^2 / N}{N}$$

$S^2 = \text{Varyans}$
 $S = \text{Standart sapma}$
 $N = \text{Örnek sayısı}$
 $X = \text{Örnek değeri}$

Standart sapmanın 3 katından daha büyük sapma gösteren örnekler, sonuçların değerlendirilmesinde hesaba katılmaz.

2. LABORATUARDA KULLANILAN KİMYASAL MADDELER

Bilindiği gibi saf maddelerin özellikleri daha belirli ve kesindir; dolayısıyla olayların kanıtı ve ölçüsü olarak kullanılan kimyasal maddelerin saflık derecesini bilmek ve deney sonuçlarını buna göre değerlendirmek gerekir. Kimyasal maddelerin üreticileri tarafından, bu maddelerin saflık dereceleri çeşitli isimler altında standardize edilmiştir.

1- Teknik veya sınavi maddeler : Saflık derecesi çok düşük olan, en ucuz maddelerdir. Hassas deneylerde hiçbir zaman kullanılmaz. Genellikle yıkama işleri ve kaba deneyler için kullanılırlar.

2- Kimyasal saflıktaki maddeler (Chemical pure (c.p.)) : Kimyasal ve biyolojik deneylerde en çok kullanılan maddelerdir. Deney yönteminde maddelerin saflık derecesi özellikle verilmemişse bu maddeler kullanılır.

3- Saf maddeler (Reagent grade, Analytical pure) : Çok hassas olan deneylerde gereğince kullanılan maddelerdir. Deney yöntemlerinde kullanılması gerektiği özellikle belirtilir.

4- Özel maddeler : Kullanılacakları metoda göre özel olarak hazırlanmış başka işlerde kullanılması israf olan maddelerdir. Ambalajlarında ne amaçla kullanılacakları yazılıdır.

Deney için uygun saflıktaki maddeyi seçmek sonuçların doğruluğu ve deneylerin daha ekonomik olabilmesi için şarttır.

KİMYASAL MADDELERİN KULLANILIŞI

Bir deneyde kullanılan her kimyasal maddenin belli bir görevi vardır. Bu görevin diğer maddelerin yapacağı işlere mani olmadan tam olarak yapılabilmesi için belli miktarda kullanılması gerekir. Olayların nicel olarak incelenmesinde, kimyasal maddelerin doğru oranlarda kullanılması önemlidir. Katı ve sıvı halde bulunan maddelerin miktarlarının ölçülmesi ve bu miktarın değiştirilmeden kullanılması için maddelerin fiziksel hallerine uygun olarak ölçme aktarma ve saklama işlemleri uygulanır.






Bütün bu işlemler sırasında, araştırıcının ve çevrenin emniyeti bakımından patlayabilen, reaksiyonlar sırasında ısı çıkaran, asit, baz ve organik çözücülerin şişeleri üzerindeki ikaz işaretlerine dikkat edilmelidir. Kullanım sırasında şişelerin ağzı açık bırakılmamalı, dikkatli taşınmalı ve etiketlerde belirtilen saklama koşullarına uygun olarak saklanmalıdır.

Ayrıntılı bir kimyasal madde etiketinde şu bilgiler yer almaktadır.

- 1-Kimyasal maddenin adı, formülü ve moleköl ağırlığı.
- 2-Saflık derecesi ve içerisinde bulunan diğer maddelerin miktarları.
- 3-Maddenin yoğunluğu veya özgül ağırlığı.
- 4-Uygun depolama koşulları.
- 5-Üretici firmanın adı ve adresi.
- 6-Katalog numarası.
- 7-Uluslararası uyarı işaretleri ve açıklamalar.

KİMYASAL MADDELER İÇİN ULUSLARARASI UYARI İŞARETLERİ

Sembol	Tanımlama	Önem	Açıklama
	E Eksplösive (patlayıcı)	Çarpma, vurma, sürtme, kıvılcım, ateş ve ısıdan koruyun.	Bu kimyasallar atmosferik oksijen olmaksızın eksotermik olarak reaksiyon verebilir. Bu yüzden süratle gazları oluşturlar ve sınırlanmış koşullarda patlayabilirler.
	O Oxidizing (Oksitleyici)	Yanıcı maddeler ile temastan koruyun. Tutuşma riski var! Bu maddeler yangını artırır veya yangınla mücadeleyi güçleştirir.	Organik peroksitler yanıcı maddelerle temas etmese bile yanabilirler. Diğer kimyasallar kural olarak kendi kendilerine yanamazlar. Ancak yanıcı maddelerle temas ettiklerinde oksijen oluşturdıklarından alev alma tehlikesini veya alevin şiddetini artırır.
	T Toxic (Zehirli)	İnsan vücudu ile temastan tamamen kaçınılmalıdır. Kötü hissederseniz derhal bir sağlık kuruluşuna gitmelisiniz. Belirli maddelerle etkileşim halinde kanserojenik, teratojenik veya mutajenik etkilere özellikle dikkat çekilmelidir.	Solunum, yutma veya deriden absorpsiyon küçük miktarlarda bile sağlık için önemli zararlara neden olabilir veya bazen öldürebilir. Ciddi miktarlarda ise irreversibl zararlara yol açar ve uzun süreli absorpsiyon özellikle kanserojenik, mutajenik, ve üreme sisteminde toksik etkiler yapabilir.
	T+ Very toxic (Çok zehirli)	İnsan vücudu ile temastan tamamen kaçınılmalıdır. Kötü hissederseniz derhal bir sağlık kuruluşuna gitmelisiniz.	Solunum, yutma veya deriden absorpsiyon küçük miktarlarda bile sağlık için önemli zararlara neden olabilir veya bazen öldürebilir. Ciddi miktarlarda ise irreversibl zararlara yol açar
	Xn Harmful (Zararlı)	İnsan vücudu ile temastan tamamen kaçınılmalı. Kanserijenik, mutajenik veya üreme sistemi üzerinde toksik etkilere sahip olduğundan kuşku edilen maddelere özellikle dikkat çekilmelidir.	Solunum, yutma veya deriden absorpsiyonu akut veya kronik sağlık zararlarına yol açabilir. Şiddetli etkilenme durumunda bir defalık, tekrarlayan veya uzun süreli sağlık zararlarına yol açabilir. Uzun süreli etkilenme durumunda kanserojenik, mutajenik, ve üreme sistemi üzerinde zehir etkisinden kuşku lanıtılabilir. Solunumda duyarlılık riski !

Sembol	Tanımlama	Önem	Açıklama
	F+ Extremely flammable (Aşırı derecede yanıcı)	Ateşten, kıvılcım veya ısı kaynaklarından uzak tutulmalıdır.	0° C in altında parlama ve maksimum 35° C nin üstünde kaynama noktası olan sıvılar ile normal basınç ve sıcaklıktaki havada yanabilen gazlar ve gaz karışımlarıdır.
	F Highly flammable (Oldukça yanıcı)	Ateşten, kıvılcım veya ısı kaynaklarından uzak tutulmalıdır.	Parlama noktası 21° C nin altında olan aşırı derecede yanıcı olmayan sıvılardır. Katı maddeler bir ateşleme kaynağına kısa süre maruz kalırsa yanmaya veya dumsuz yanmaya devam ettikleri halde kolayca alev almazlar.
	C Corrosive (Aşındırıcı, paslandırıcı)	Göz deri ve elbiseleri korumak için özel önlem alınmalı. buharları solunmamalı. Kaza durumunda veya kendinizi kötü hissettiğinizde sağlık kuruluşuna gitmelisiniz.	Canlı dokular ve eşyalar için zararlıdır.
	Xi Irritating (Tahriş edici)	Göz ve deri ile temastan kaçınılmalı buharı solunmamalı.	Aşındırıcı olmaksızın doğrudan, uzun süreli veya tekrarlayan biçimde deri veya mukoza ile temas ettiğinde iltihaplara neden olabilir. Deri temasıyla duyarlılık riski var!
	N Dangerous for the environment (Çevre için tehlikeli)	Risk potansiyeline bağlı olarak kanalizasyon sistemine, toprağa veya çevreye girişine izin verilmez. Özel atık düzenlemeleri gerektirir.	Sıvı veya sıvı olmayan ortamlara bırakılması hemen veya uzun bir süre sonra çevrenin bir veya birçok birimine zarar verebilir.

3. LABORATUARDA KULLANILAN MALZEMELER

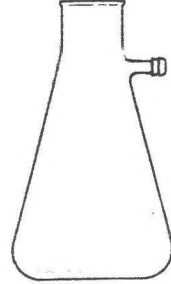
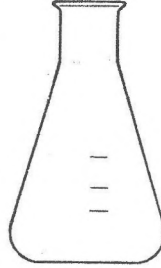
LABORATUARDA KULLANILAN CAM MALZEMELER

Laboratuarlarda yaygın olarak kullanılan temel malzemelerin bazı özellikleri ve ne amaçla kullanıldığı aşağıda kısaca özetlenmiştir.

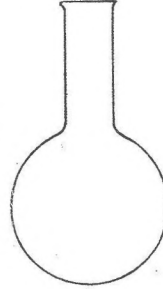
1-Beher: Özellikle buharlaştırma, yavaş yavaş karıştırma gibi işlemlere elverişlidir. Isıtmaya karşı dayanıklıdır. Yaklaşık ölçüleri üzerlerinde yazılıdır.



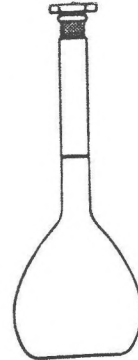
2-Erlen: Çözelti çalkalama, titrasyon işlemleri için kullanılır. Yaklaşık hacimleri üzerlerinde yazılıdır. Yan tarafında bir çıkış bulunduran tiplerine vakum erleni denir.



3-Balon: Kaynatma işlemi için kullanılır. Altı düz veya yuvarlak olanları vardır. Yuvarlak olanlar yüksek sıcaklıklara daha dayanıklıdır. Asitle yakma işlemleri için kullanılırlar.



4-Ölçübalonu (balonjoje) : Belli sıcaklıkta belli hacimde sıvı alacak şekilde ayarlıdır. Çözelti hazırlamak için kullanılırlar. Sıcaklığa dayanıksızdır. Boyun kısmında bulunan çizgi ölçektir.



5-Ölçü silindiri (mezür): Ölçü balonları gibi hassas değildirler. Fakat hacim ölçümlerinde pratik olarak kullanılırlar.

6-Şişeler: Genellikle saklama kabı olarak kullanılırlar. Katı maddeler geniş ağızlı, sıvılar dar ağızlı olanlarda saklanırlar. Işığa duyarlı maddeler renkli şişelerde saklanır.

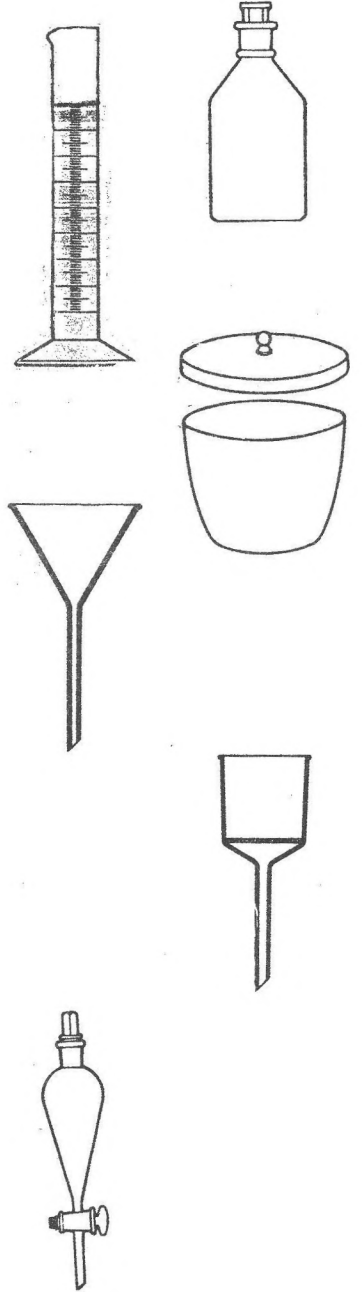
7-Kurutma veya tartı kapları: Cam veya hafif metalden yapılırlar. Genellikle bir kapakları vardır. Yüksek sıcaklıklarda kurutma için uygundurlar.

8-Huni: Dar ağızlı kaplara madde konulması ve süzme işlerinde kullanılır.

9-Buhner hunisi: Süzülmesi zor olan çözeltilerin vakumla süzülmesi için kullanılırlar. Bir vakum erleninin üzerine bir mantar yardımıyla oturtularak vakum uygulanır.

10-Ayırma hunisi: Birbiri içinde çözünmeyen sıvıların ayrı ayrı elde edilmesi, bu tip iki sıvının karıştırılması suretiyle ikisi arasında madde alışverişinin sağlanması gibi işlemlerde kullanılır. Alt kısmında bulunan musluk iki fazın tek tek elde edilmesini sağlar.

11-Cam çubuk (baget): Uçları yuvarlatılmış çeşitli boyutlarda olabilen



çubuklardır. Karıştırma işlemlerinde ve çökeleklerin yıkanma-sında kullanılırlar.

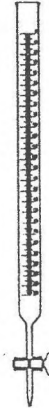
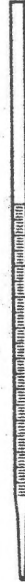
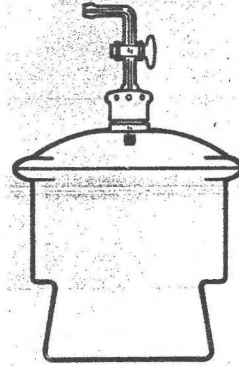
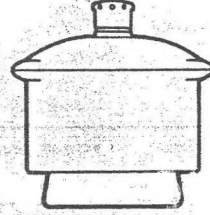
12-Yıkama şişesi (Kapan): Sıvıların içinden gaz geçirilmesini sağlayan özel şişelerdir. Gazların temizlenmesi, gazlarla sıvıların reaksiyonunun sağlanması, bir gazın sıvı içinde tutunması gibi işlemlerde kullanılırlar.

13- Desikatör : Kurutma, ısıtılmış materyalin nem çekmeden soğutulması ve saklanması için kullanılan malzemelerdir. Kapağında bir musluk bulunduranlara vakum uygulanabilir, böylece kurutma etkinliği artırılır.

14-Su trompu : Bir su musluğuna bağlanarak kapalı bir kap içinde vakum oluşturabilen araçlardır.

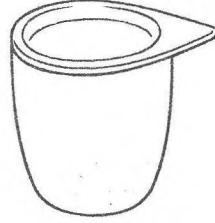
15-Pipet: Küçük miktarda fakat hassas ayarlı hacim ölçen cam malzemelerdir. Herhangi bir kaptan istenilen miktarda sıvı çekilmesi için kullanılırlar. Asit, baz, organik çözücüler gibi zararlı maddeler ağızla pipet kullanılarak çekilmez. Böyle durumlarda pipetlerin ucuna bir lastik puar takılarak kullanılmalıdır.

16-Büret: Pipetlerin daha büyük hacimli ve musluklu olanlarıdır. Üst kısmından doldurulur ve musluk açılmak

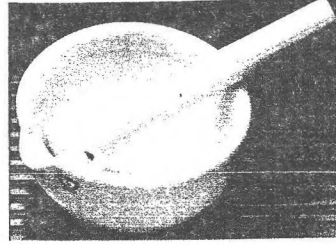


suretiyle istenilen miktarlarda sıvı alınır. Titrasyon işlemlerinde çok kullanışlıdır.

17-Piset: Camdan ve plastikten yapılmış olanları vardır. Yıkama işlemlerinde veya az miktarda sıvı aktarılmasında kullanılırlar.

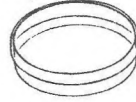


18-Krozeler: Yakma ve yüksek sıcaklıkta buharlaştırma gibi işlemlerde kullanılırlar. Porselen veya metalden yapılmış olanları vardır.



19-Havan: Ezme işlerinde kullanılır. Porselen ve metal olanları vardır.

20-Petri kabı: Derinliği az fakat yüzeyi geniş, kapaklı kaplardır. Tohum çimlendirme deneyleri veya kültür hazırlamada kullanılırlar.



CAM MALZEMELERİN TEMİZLİĞİ

Deneylerde doğru sonuçların elde edilebilmesi kullanılan cam malzemenin temizliği ile ilgilidir. Cam malzemenin yıkanmasında deneyin özellikleri, kullanılan maddeler ve kirliliğin çeşidi gözönünde tutulmalıdır.

1-Deterjanla Yıkama: Genellikle seyreltik (1/1000 gibi) deterjan çözeltileri kullanılır. Sonra bol çeşme suyu ile deterjan tamamen uzaklaştırılır ve damıtık su ile durulanır. Mineral maddeler, enzimler ve canlılarla yapılacak deneylerde bu tip yıkama kullanılmalıdır.

2-Kromik sülfürik asit çözeltisi: 5 gr kadar potasyum dikromat ($K_2Cr_2O_7$) veya 70 gr sodyum dikromat ($Na_2Cr_2O_7 \cdot 2H_2O$) 1 lt sülfürik asit içinde yavaş yavaş çözülür. Sodyum tuzu daha kolay çözündüğünden tercih edilmelidir. Yıkama işleminden sonra çözelti atılmaz tekrar kullanılabilir. Ancak rengi yeşile döndüğü zaman kullanılmaz. Yakıcı

olduğundan dikkatli kullanılmalıdır. Yıkama işlemi çeşme suyu ve damıtık su ile malzemenin durulanmasıyla tamamlanır.

3-Kral suyu: Konsantre sülfürik asitle nitrik asitin 1/1 oranında karıştırılmasıyla hazırlanır. Çok kirli kaplar bu çözeltide bir süre bekletilerek yıkanır.

4-Asetik asit (CH₃COOH) veya hidroklorik asit çözeltisi: Bu asitler 1/10-1/20 arasında sulandırılarak kullanılır. Kullanımı kolaydır, kaplardan kolayca uzaklaştırılabilir.

LABORATUARDA ÇOK KULLANILAN ALET VE EKİPMANLAR

1- Kurutma dolapları ve etüvler: Kurutma dolapları sıcaklık ayarları hassas olmayan, kaba kurutma işleri için kullanılan genellikle 50-250 °C arasında sıcaklık sağlayan aletlerdir. Etüvler ise daha hassas sıcaklık ayarlarına sahiptirler. Çeşitli deneylerde sabit sıcaklık sağlamada kullanılırlar.

2- Fırınlar: Çok yüksek sıcaklıklarda kuru yakma amacıyla kullanılırlar. Bitki dokularında mineral analizleri için kullanılırlar.

3- Banyolar: Buharlaştırma, kaynatma ve inkübasyon gibi amaçlarla kullanılırlar. Su banyoları 20-100 °C, yağ ve sülfürik asit banyoları 100-250 °C, kum banyoları daha yüksek sıcaklıklar için ve antifrizli su banyoları 0 °C 'nin altındaki sıcaklıklar için kullanılabilir.

4- Bunzen ocakları: Bunzen bekleri bir boru ile doğalgaz veya tüpgaza bağlanarak kullanılabilir. Bekin alt kısmında bulunan musluklardan gaz ve hava miktarları ayarlanarak istenilen kuvvette alev sağlanabilir.

5-Teraziler: Deney sonuçlarının başarısı herşeyden önce maddelerin doğru miktarlarda kullanılmasına bağlıdır. Deneyde kullanılacak materyal ve maddelerin tartımı için değişik duyarlılığa ve tartım sığasına sahip teraziler kullanılır. Terazinin duyarlılığı, terazi dengede iken kefesine 1 mg konduğu zaman göstergesindeki sapma ile ifade edilir. 1 mg 'da 10 taksimat sapan terazi 0.1g 'a duyarlı demektir. Tartım sığası ise terazinin duyarlı olduğu minimum ve maksimum ağırlıklar arasındaki değeri ifade eder. Teraziler şöyle sınıflandırılır.

	Terazi tipi	duyarlılığı	sığası
1	kaba	10 mg	500 gr
2	makro	0.1 mg	160-200 gr
3	semimikro	0.01 mg	80-100 gr
4	mikro	0.001 mg	20 gr
5	ultramikro	0.000002 mg	25 mg

Teraziler kullanılırken Şu noktalara dikkat edilmelidir:

1-Terazi dűzgűn bir zemine yerleŐtirilmelidir.

2-Tartımdan ۆnce terazinin su dűzeci kontrol edilmeli, dengede deđilse ayaklarda bulunan ayar vidalarından ayarlanmalıdır.

3-Duyarlı tartımlarda hava akımını ۆnlemek için kapaklar kapalı tutulmalıdır.

4-Kullanmadan ۆnce gerekiyorsa kalibrasyon yapılmalıdır.

5-Kullanılan terazide otomatik tara sistemi varsa tercih edilmelidir.

4. ÇÖZÜNÜRLÜK ve ÇÖZELTİLER

Deneylerde kimyasal maddelerin genellikle çözeltileri kullanılır. Yani bir sıvı içinde belli miktarlarda çözülerek kullanılırlar. Çünkü kimyasal reaksiyonlar sıvılarda daha kolay ve hızlı gerçekleşir. Çözeltiler çözünen madde çapının çok küçük olduğu karışımlardır (Parçacık çapı $< 10^{-9}$ m dir, parçacık çapı $10^{-9} - 10^{-7}$ m arasında olan karışımlar kolloitler, daha büyük parçacık çapına sahip olan karışımlar ise heterojen karışımlardır). Çözeltiler bütün ölçü işlemlerinde olduğu gibi birimlerle standartize edilmiştir. Bu standartlara göre belli şekillerde hazırlanmaları gerekir.

1.ÇÖZÜNÜRLÜK

Çözeltiler çözen ve çözünen olmak üzere iki kısımdan oluşur. Bazı maddeler için çözünürlük sınırsız olmasına karşın (Su içinde etil alkol gibi) bazı maddelerin çözünürlükleri sınırlıdır (Su içinde sodyum klorür gibi). Çözünürlükleri sınırlı olan maddeler için üç çeşit çözeltilerden bahsedilebilir: Doymamış çözelti, doymuş çözelti ve aşırı doymuş çözelti. Doymuşluk sıcaklıkla değişir.

Kristalin maddelerden sadece iyonik kristaller suda çözünürler. Bu tip kristallerin örgü noktalarında iyonlar bulunur. KCl, NaCl, CuSO₄ gibi inorganik tuzlar bu tip kristallerdir.

Moleküler maddelerin suda çözünürlüğü: Alkol, aseton gibi maddeler suda her oranda çözünürler, bunlar su molekülleriyle hidrojen bağları oluşturarak çözünürler. Yapısında büyük hidrofob organik grup bulunan alkoller ve ketonlar suda çözünmezler. Yapısında suyla hidrojen bağı veren O, N, F, Cl gibi atomlar bulunan maddelerin suda çözünmeleri beklenebilir. HCl ve NH₃ gibi maddelerin suda çözünmeleri moleküler değil iyoniktir.

Suyun dielektrik sabiti yüksek olduğundan (Suyun dielektrik sabiti 80 dir. Yani iyonlar su ortamında 80 kere daha serbest hareket ederler.) çözme gücü yüksektir. Alkol ve aseton gibi maddelerin dielektrik sabiti düşük olduğundan, iyon yapılı bileşikler bu çözücülerde çözünmezler veya az çözünürler.

Katı maddelerde çözünürlük sıcaklıkla artar. Sıcaklığın 10°C yükselmesiyle çözünürlük 2 kat artar. Çözünürlüğü sıcaklıktan etkilenmeyen (NaCl, Na₂CrO₄), sıcaklıkla azalan (Ca(OH)₂, CaSO₄) yada önce artıp sonra azalan (Na₂SO₄) maddelerde vardır.

Küçük parçaların çözünürlüğü büyük parçalarinkinden fazladır. Ancak böyle çözümler kararlı değildirler, bir süre sonra tekrar büyük kristaller oluşturarak daha az çözünen hale geçerler.

Suda iyi çözünen CaSO_4 , MgCO_3 , KClO_4 gibi maddeler su alkol karışımında çok az çözünürler bunun nedeni karışımın dielektrik sabitinin sudan daha düşük olmasıdır.

Çözünürlüğü az olan maddeler elektrolit ortamında saf su ortamına göre daha fazla çözünürler. Elektrolitler genellikle tuz olduklarından çözünürlüğe olan etkilerine tuz etkisi veya yabancı iyon etkisi denir.

Aynı molaritede olmak şartıyla elektrolit iyonlarının yüklerinin büyümesiyle çözünürlükte büyür. Çünkü iyon şiddeti büyür. Buna göre aynı molaritedeki MgSO_4 ın çözme özelliği KCl den fazladır.

Çeşitli maddelerin sudaki çözünürlükleri

Madde	Suda çözünürlük	Aykırı durumlar
Klorürler (Cl^-)	+	Hg_2^{2+} , Ag^+ , Au^+ , Pb^{2+}
Bromürler (Br^-)	+	$\text{HgBr}_2(\text{az})$, AgBr
İyodürler (I^-)	+	AgI , SnI_4 , BiI_3
Florürler (F^-)	-	Ag^+ , NH_4^+ ve alkali metal florürleri
Oksitler (O^{2-})	-	Alkali metal oksitleri, toprak alkali metal oksitleri (az)
Sülfürler (S^{2-})	-	NH_4 ve alkali metal sülfürleri
Nitratlar (NO_3^-)	+	
Perkloratlar (ClO_4^-)	+	K^+ , NH_4^+
Nitritler (NO_2^-) ve asetatlar (CH_3COO^-)	+	Ag^+
Sülfatlar (SO_4^{2-})	+	PbSO_4 , toprak alkali sülfatları, CaSO_4 , AgSO_4
Karbonatlar (CO_3^{2-}) Fosfatlar (PO_4^{3-}) Sülfidler (SO_3^{2-}) Oksalatlar ($\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$) Kromatlar ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) Siyanürler (CN^-)	- (kromatlar asitli ortamda çözünürler)	NH_4^+ ve alkali metaller
Tiyosülfatlar ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$)	+	Pb^{2+} , Ag^+
Silikatlar (SiO_2)	-	Alkali metal silikatları
Hidroksitler (OH^-)	-	Toprak alkali hidroksitler (az), NH_4 ve alkali metal hidroksitleri

2.ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI

Çözeltilerin hazırlanmasında önemli olan çözeltilerin belli miktarları içinde, belli miktarda çözen ve çözünen madde olmasını sağlamaktır. Bunun içinde bu oranları (konsantrasyonları) belirten standart tanımlar kabul edilmiştir.

A-Hacim konsantrasyonları:

Bu çözeltiler, hacim olarak belli miktar çözelti içinde çözünen maddenin belli sayıda molekülünün veya iyonunun dağılmasını sağlar. Çözücü miktarı ayrıca ölçülmez çözelti hacimce bellidir (Bir maddenin bir mol gramı $6,023 \cdot 10^{23}$ adet molekül içermektedir).

1-Molarite:

Bir litre çözeltideki çözünen maddenin mol gramını ifade eder. Genellikle çözeltisinde iyonlaşmayan maddeler için kullanılır ve M harfi ile sembolize edilir. Binde biri milimolar (mM) ve milyonda biri mikromolar (μ M) dır.

$$\text{Molarite (M)} = \frac{\text{madde mik. (g)}}{\text{molekül ağı. (M)}} \times \frac{1000}{\text{çözelti hacmi (ml)}}$$

Örnek: 2M sülfürik asit (H_2SO_4) çözeltisi nasıl hazırlanır?

$\text{H}_2\text{SO}_4 = 98 \text{ gr/mol}$

1 lt çözelti için: $2 = \text{g} / 98 \times 1000 / 1000$

$\text{g} = 2 \times 98$

$\text{g} = 196 \text{ gr}$

sülfürik asit saf olarak bulunmadığından (% 98 ve $d = 1.76$)

1 ml sinde $0.98 \times 1.76 = 1.73 \text{ gr}$ saf sülfürik asit vardır.

$$\begin{array}{r} 1\text{ml} \quad 1.73 \text{ gr} \\ \times \text{ml} \quad 196 \text{ gr} \\ \hline \end{array}$$

$x = 113.3 \text{ ml}$ sülfürik asit alınır ve son hacim saf su ile bir litreye tamamlanır.

2-Normalite:

Bir litre çözelti içindeki çözünen maddenin eşdeğer (ekivalan) gramını ifade eder. N harfi ile sembolize edilir. Eşdeğer ağırlık molekül ağırlığının etki değerliğine bölünmesiyle bulunur. Etki değerliği asitlerde H^+ iyon sayısı, bazlarda OH^- iyon sayısı, tuzlarda ise katyon değerliğidir.

$$\text{Normalite (N)} = \frac{\text{madde mik. (g)}}{\text{eşdeğer ağı. (gr)}} \times \frac{1000}{\text{çözelti hacmi (ml)}}$$

Örnek: 1N, 1 lt kalsiyum hidroksit Ca(OH)_2 çözeltisi nasıl hazırlanır?

$$\text{Ca(OH)}_2 = 74 \text{ gr / mol ve etki değeri} = 2$$

$$\text{Eşdeğer ağı.} = 74 / 2 = 37$$

$$1 \text{ lt çözelti için } 1 = g / 37$$

$$g = 37 \text{ gr}$$

37 gr Ca(OH)_2 son hacim 1 lt olmak üzere saf suda çözülür.

3-Yüzde:

100 ml çözelti içindeki gr veya ml olarak madde miktarını ifade eder. Hacim/hacim (v/v) yada hacim/ağırlık (v/w) şeklinde belirtilmelidir.

Örnek: % 1 lik glikoz çözeltisi nasıl hazırlanır?

1 gr saf glikoz tartılır ve son hacim 100 ml olacak şekilde saf su içerisinde eritilir.

B-Ağırlık konsantrasyonları:

Çözücü ve çözeltinin ağırlıkça ölçülmesiye hazırlanan çözeltilerdir. Ağırlık konsantrasyonlar, sıcaklığa bağlı hacim değişimliklerinden kaynaklanan hatayı ortadan kaldırdığı için avantajlıdır.

1-Molalite:

1000 gr çözücü içinde çözünen maddenin mol gramını ifade eder. m harfi ile sembolize edilir.

$$\text{Molalite (m)} = \frac{\text{madde mik. (g)}}{\text{molekül ağı. (M)}} \times \frac{1000}{\text{çözelti ağı. (gr)}}$$

Örnek: 0.5 molal 500 ml sodyum klorür (NaCl) çözeltisi nasıl hazırlanır?

$$\text{Sodyum klorür} = 58.5 \text{ gr/mol}$$

$$0.5 = g / 58.5 \times 1000 / 500$$

$$g = 14.63 \text{ gr sodyum klorür 500 gr saf su içinde çözülmelidir.}$$

2-Yüzde çözeltiler:

100 gr çözücü içinde çözünen gr madde miktarını ifade eder. ağırlık/ağırlık anlamında (w/w) şeklinde belirtilmelidir.

Örnek: % 2 lik magnezyum klorür ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) çözeltisi nasıl hazırlanır?

$$\text{Magnezyum klorür sulu ağı.} = 203.3 \text{ gr/mol}$$

Magnezyum klorür susuz ağı. = 152.5 gr/mol

$$\begin{array}{r} 203.3 \text{ gr} \\ x \end{array} \qquad \begin{array}{r} 152.5 \text{ gr} \\ ? \text{ gr} \end{array}$$

$x = 2.67$ gr magnezyum klorür tartılır ve saf su ile 97.33 gr saf suda çözülür. Son ağırlık 100 gr dir. (Sulu çözeltilerde 1 gr = 1 ml dir.)

3-Milyonda bir kısım (ppm)

Çözelti ağırlığının milyonda birini çözünen madde oluşturur. Yani litrede mg olarak çözünen madde miktarını ifade eder.

Örnek: 250 ml 100 ppm lik gibberellik asit çözeltisi nasıl hazırlanır?

100 ppm çözeltinin 1000 ml sinde 100 mg gibberellik asit vardır.

$$\begin{array}{r} 1000 \text{ ml} \\ 250 \text{ ml} \end{array} \qquad \begin{array}{r} 100 \text{ mg} \\ x \end{array}$$

$x = 25$ mg gibberellik asit tartılır ve son hacim 250 ml olmak üzere saf suda çözülür.

C-Çözeltilerin seyreltilmesi:

Hazırlanmış olan yüksek konsantrasyonlu bir stok çözeltiden daha düşük konsantrasyonlu bir çözeltiyi hazırlamak için yapılan işlemdir. Seyreltme işlemlerinde $M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$ eşitliği kullanılır. Sol tarafta stok çözeltinin konsantrasyonu (M_1) ve ondan alınması gereken miktar (V_1), sağ tarafta ise istenilen çözeltinin konsantrasyonu (M_2) ve son hacmi (V_2) bulunmaktadır.

Örnek: 1M 'lık hidroklorik asit (HCl) çözeltisinden 100 ml 0.2 M 'lık HCl çözeltisi nasıl hazırlanır?

$$M_1 \cdot V_1 = M_2 \cdot V_2$$

$$1 \cdot V_1 = 0.2 \cdot 100$$

$$V_1 = 20 \text{ ml}$$

1M lik çözeltiden 20 ml alınır ve saf su ile 100 ml ye tamamlanarak seyreltilir.

5. ASİDİTE ve TAMPON ÇÖZELTİLER

Asit, sudaki çözeltisine yapısındaki hidrojen iyonunu veren bir madde olarak tanımlanmakla birlikte, H^+ bir proton olduğundan asitler proton veren bileşikler olarak tanımlanabilir.

İnorganik asitler (HCl , HNO_3 , H_2SO_4 gibi) ve canlılarda bulunan daha karmaşık yapılı ancak daha zayıf asit karaktere sahip organik asitler (nikotinic asit, palmitik asit, süksinik asit v.s.) önemli rollere sahiptirler.

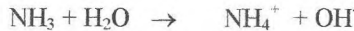


Yukarıdaki tepkimede HCl , proton verdiğine göre asit, H_2O ise proton aldığına göre bazdır. HCl ve H_2O arasındaki tepkime yeni bir asit ve baz oluşmasını sağlar. Bu yeni oluşan asit ve baza konjuge asit ve konjuge baz denir.

Bazlar, sudaki çözeltilerine hidroksil (OH^-) iyonu veren maddeler olarak tanımlanmaktadır. ($NaOH$, $Ca(OH)_2$, KOH vb.)

Bir çözeltideki asitin veya bazın kuvveti iyonizasyon derecesine bağlıdır. Belirli yoğunluktaki çözeltinin H^+ iyonları oranının artması asit özelliğini, OH^- iyonlarının oranının artması da bazik özelliğin artmasına neden olur.

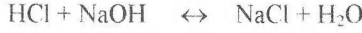
H^+ iyonunun suda serbest halde bulunması mümkün değildir. Yaklaşık dokuz su molekülü ile sarılan H^+ iyonu bunlardan birisi ile sıkıca bağlanır. Dolayısıyla suda H^+ yerine daima H_3O^+ (hidronyum) iyonundan söz etmek gerekir. Baz olması beklenmeyen NH_3 çözeltisi aşağıdaki eşitlikte görüldüğü gibi proton aldığı için baz H_2O ise proton verdiği için asittir. Aynı zamanda NH_4^+ , NH_3 ün konjuge asidi OH^- ise H_2O nun konjuge bazıdır. HCl ye karşı su baz olarak, NH_3 e karşı ise su asit olarak davranmaktadır. Diğer bir deyimle su molekülü karşısındaki maddeye göre hem asit hemde baz gibi etki göstermektedir. Bu tür maddelere amfiprotik maddeler denir.



Tuzlar ise bir asidin anyonu ile bir bazın katyonunun meydana getirdikleri bileşikler olarak tanımlanırlar. Asidin H^+ iyonu ile bazın OH^-

iyonları arasındaki kimyasal birleşmenin sonucunda su çıkması ile meydana gelirler. Bu reaksiyona nötralizasyon denir. Bu reaksiyonun tersine ise hidroliz denir.

Örnekler:



Suyun İyonları ve pH

Canlı sistemlerde, protoplazma ve protoplazmanın içinde bulunduğu ortamın asitlik derecesi biyolojik sistemin devamında çok önemli rol oynamaktadır. Genç dokuların pH si genellikle asit tarafta iken yaş ilerledikçe bazlık artar. Asidite'deki bu değişiklik solmaya başlayan, renkleri menekşe mavisine dönen bazı kırmızı renkli çiçeklerde kolaylıkla görülür. Yüksek bitkilerde pH genellikle 3 - 9 arasında değişmektedir. Şişme derecesi, permeabilite ve pek çok enzimin faaliyetinin denetimi sistemdeki H^+ ve OH^- iyonlarının miktarına bağlıdır. Bitkinin yetiştiği toprakların asidik (silisli ve bataklık yerler) veya bazik (kireçli topraklar) olmasına göre bu bölgelerde tamamen farklı bitki toplulukları yetişmektedir.

Suyun iyonlaşma dengesini aşağıdaki şekilde göstermek mümkündür.



$$[\text{H}_3\text{O}^+] \quad [\text{OH}^-]$$

$$K_{\text{denge}} = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+] [\text{OH}^-]}{[\text{H}_2\text{O}]^2}$$

Genellikle asit veya baz çözeltilerindeki hidronyum veya hidroksit iyonlarının konsantrasyonları 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-7} gibi üstel sayılar olduğundan bunlarla hesap yapmak uygun görülmemektedir. Bunlar yerine yeni bir konsantrasyon kavramı geliştirilmiştir. Kısaca p ile gösterilen bu kavram konsantrasyonun (-) logaritmasıdır. Bu nedenle,

$$\text{pH} = -\log \text{H}_3\text{O}^+$$

$$\text{pOH} = -\log \text{OH}^-$$

$$25^\circ\text{C saf suda } \text{pH} + \text{pOH} = 14$$

$$\text{pH} = \text{pOH} = 7 \text{ dir.}$$

pH değeri 0 - 7 olan çözeltiler asidik, 7 - 14 olan çözeltiler ise baziktir.

pH Ölçümü

pH ölçümü kolorimetrik ve elektrometrik olarak iki şekilde yapılabilir. Kolorimetrik yöntemde pH indikatörlerinin çözeltileri veya bu çözeltilerin kağıtlara emdirilip kurutulması ile elde edilen indikatör kağıtların renk değiştirmelerinden faydalanılır. Duyarlı ölçümlerde tercih edilmemelidir.

Elektronik ölçüm pH metre denilen cihazlarla yapılır. Bu yöntemin esası pH si ölçülecek çözeltilerden bir cam elektrodu aracılığı ile akım şiddeti ve voltajı daima sabit olan bir doğru akım geçirilir. Bu iş için kullanılan ve ondan ayrı olan bir elektrotta ise doymuş potasyum klorür çözeltisi bulunur. Bu elektrodun ucu poröz camdır, buradan giren hidronyum veya hidroksil iyonlarının miktarı doymuş KCl çözeltisinin iyonizasyon miktarını ve dolayısıyla iletkenliğini etkileyerek geçen elektrik akımını azaltır veya çoğaltır. Bu değişiklikler bir galvanometre ile aletin ekranından pH değeri olarak okunur.

Tampon Çözeltiler

Bazı durumlarda pH değişimlerine direnç gösteren çözeltiler hazırlamak amaçlanabilir. pH değerleri bilinen bu tip çözeltilere tampon çözeltiler denir. Tampon çözeltilerin pH si seyreltme veya az miktarda kuvvetli asit veya baz eklenmesi ile değişmez. Bu çözeltilerde etkili olan, hidroliz sonucu meydana gelen H_3O^+ veya OH^- iyonlarıdır.

Tampon çözeltileri genellikle iki yolla hazırlanır.

1. Zayıf asit çözeltisi konjuge bazının çözeltisi ile karıştırılır. Benzer şekilde zayıf baz çözeltisi, konjuge asidinin çözeltisi ile karıştırılır.

2. Zayıf asit çözeltisi kuvvetli bir bazla kısmen nötralleştirilir. Benzer bir şekilde zayıf baz çözeltisi kuvvetli bir asitle kısmen nötralleştirilir.

Biyolojik çalışmalarda canlı dokular ve enzimler pH değişimlerine karşı çok duyarlı olduklarından, tampon çözeltilerin önemi çok büyüktür. Tampon çözeltileri kullanılırken tamponlama kapasitesinde belirlemek ve bilmek doğru tamponun seçilmesi bakımından önemlidir.

Bir tampon çözeltinin pH sini 1 artırmak veya 1 eksiltmek için ilavesi gerekli olan asit veya bazın mol sayısına tamponluk kapasitesi denir.

Çeşitli amaçlar için geliştirilmiş çok sayıda tampon çözelti vardır. Bunlardan bazılarının hazırlanışı ve en iyi çalışmaları pH değerleri aşağıdaki tablolarda verilmiştir.

1-ASETAT TAMPONU (0.2 M)

Stok Çözeltiler:

A-0.2 M Asetik asit çözeltisi (1 lt suda 11.55 ml)

B-0.2 M Sodyum asetat çözeltisi $C_2H_3O_2Na \cdot 3H_2O$ (1 lt suda 27.22 gr)

Stok çözeltileri karıştırın ve su ile 100 ml ye tamamlayın.

pH	A (ml)	B (ml)
5.8	0.75	9.25
5.6	1.20	8.80
5.4	1.80	8.20
5.2	2.65	7.35
5.0	3.70	6.30
4.8	4.90	5.10
4.6	5.90	4.10
4.4	7.00	3.00
4.2	7.90	2.10
4.0	8.60	1.40
3.8	9.10	0.90
3.6	9.40	0.60

2-FOSFAT TAMPONU (0.1 M)

Stok Çözeltiler:

A-0.2 M $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ çözeltisi (1 lt suda 35.61 gr)

B-0.2 M $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ çözeltisi (1 lt suda 31.21 gr)

Stok çözeltileri karıştırın ve su ile 200 ml ye tamamlayın.

pH	A (ml)	B (ml)
5.8	08.0	92.0
6.0	12.3	87.7
6.2	18.5	81.5
6.4	26.5	73.5
6.6	37.5	62.5
6.8	49.0	51.0
7.0	61.0	39.0
7.2	72.0	28.0
7.4	81.0	19.0
7.6	87.0	13.0
7.8	91.5	08.5
8.0	94.7	05.3

3-POTASYUM FOSFAT TAMPONU (0.1 M)

Stok Çözeltiler:

A-0.2 M KOH çözeltisi (1 lt suda 11.22 gr)

B-0.2 M KH_2PO_4 çözeltisi (1 lt suda 27.22 gr)

Stok çözeltileri karıştırın ve su ile 100 ml ye tamamlayın.

pH	A (ml)	B (ml)
5.8	03.5	50
6.0	05.8	50
6.2	09.1	50
6.4	13.0	50
6.6	18.0	50
6.8	24.0	50
7.0	30.0	50
7.2	35.0	50
7.4	40.0	50
7.6	43.0	50
7.8	45.0	50
8.0	47.0	50

4- TRİS (Hidroksimetil) AMİNOMETAN - HCl TAMPONU (0.1 M)

Stok Çözeltiler:

A-0.2 M Tris (Hidroksimetil) aminometan çözeltisi (1 lt suda 24.23 gr)

B-0.2 M HCl çözeltisi

Stok çözeltileri karıştırın ve su ile 100 ml ye tamamlayın.

pH	A (ml)	B (ml)
7.2	50	43.0
7.4	50	41.0
7.6	50	39.0
7.8	50	34.0
8.0	50	29.0
8.2	50	24.0
8.4	50	18.0
8.6	50	13.0
8.8	50	09.5
9.0	50	06.0

Potansiyel Asidite

Potansiyel olarak bulunan H^+ iyonlarının konsantrasyonunun ancak bir alkali ile titrasyonu aracılığıyla ölçülen asiditeye potansiyel asidite denir.

Aktüel asidite

Belirli koşullar altında var olan H^+ iyonlarının düzeyini gösterir. Aynı sistemler için sabit olan bu asiditeye aktüel asidite denir. elektrometrik yada kolorimetrik olarak ölçülebilir.

6. İNORGANİK MADDELERİN ANALİZİ

Canlıların yapısını oluşturan maddelerin büyük bölümü C, H, ve O elementlerinden oluşmaktadır. Bunlardan başka N ve S proteinlerin yapısında, P nükleik asitlerin yapısında, Ca hücre çeperinin yapısında, Mg klorofilin yapısında bulunmaktadır. Bu minerallerin yanısıra Na, K, Mn, Cu, Zn, Mo, Co, B gibi elementler ya moleküllerin yapısına katılarak yada çözünür formda çeşitli görevler için bitkilerin yapısında değişik miktarlarda bulunurlar.

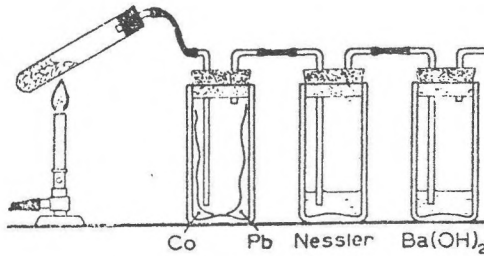
Deney 1. Kuru distilasyonla element analizi

Prensip:

Basit bir kuru distilasyon düzeneği kullanılarak bitkilerin yapısında en bol bulunan elementlerden H, O, C, N ve S nitel olarak belirlenebilir. Bu yöntemde tek bir bitki materyali kullanılarak ayraçlar yardımıyla bahsedilen elementlerin varlığı gösterilebilir.

Materyal:

- Kuru distilasyon düzeneği.
- Buğday (*Triticum aestivum*) ve bezelye (*Pisum sativum*) tohumları.
- Kobalt klorür (CoCl_2) ve kurşun asetatlı ($(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2\text{Pb}$) filtre kağıtları (Bkz. Ek 1).
- Nessler reaktifi ($\text{K}_2\text{HgI}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) (Bkz. Ek 1).
- Baryum hidroksit ($\text{Ba}(\text{OH})_2$) çözeltisi.



Şekil 1. Kuru distilasyon düzeneği.

Deneyin yapılışı:

Şekildeki gibi bir kuru distilasyon düzeneği kurulur. Tüpe buğday ve bezelye tohumları konur. Katalizör olarak az miktarda Ca(OH)_2 eklenir. Distilasyon düzeneğinin 3 yıkama şişesinden birincisine kobalt klorürlü ve kurşun asetatlı filtre kağıtları, ikincisine Nessler belirteci (K_2HgI_4) ve üçüncüsüne baryum hidroksit (Ba(OH)_2) çözeltisi konur. Deney tüpü alttan ısıtıldığında...

1.şişe: Kobalt klorür + H_2O → pembe renk → H ve O varlığını

Kurşun asetat + S → PbS (siyah renk) → S varlığını

2.şişe: Nessler belirteci + N → turuncu renk → N varlığını

3.şişe: Baryum hidroksit + C → BaCO_3 çök. → C varlığını gösterir.

Deney 2. Külde katyon ve anyon aranması.

Prensip:

Kuru yakma yöntemiyle yakılarak organik maddeleri uzaklaştırılmış külde fiziksel ve kimyasal testlerle bazı katyon ve anyonların varlığı gösterilebilir. Bu deneyde, Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{3+} katyonları ile Cl^- , PO_4^{3-} , SO_4^{2-} anyonlarının nitel analizleri yapılacaktır.

Materyal:

Odunlu bitki dokusu
% 10 HCl

Deneyin yapılışı:

A-Katyon aranması:

Odunlu bir bitki dokusu kuru yakma yöntemiyle yakılır. Aşağıdaki işlemlerle belirtilen maddelerin analizi yapılır.

Na^+	K^+	Mg^{2+}	Ca^{2+}	Fe^{3+}
Kül	Kül	Kül	Kül	Kül
↓	↓	↓	↓	↓
+ % 10 HCl	+ % 10 HCl	+ % 10 HCl	+ % 10 HCl	+ % 25 HCl
↓	↓	↓	↓	↓
Sarı alev	kobalt camı	süzüntü	süzüntü	süzüntü
	↓	↓	↓	↓
	menekşe alev	+ turnusol	+ turnusol	+ KSCN
		↓	↓	↓
		+ KOH (%10)	+ KOH (%10)	$\text{Fe}(\text{SCN})_3$
		↓	↓	↓
		+ $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ (%10)	+ $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ (%10)	kırmızı
		↓	↓	
		süzüntü	çökelek	
		↓	↓	
		+ Na_2HPO_4	+ CH_3COOH	
		↓	↓	
		$\text{Mg}(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$	Amon. oksalat $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$	
		↓	↓	
		mor-beyaz	pembe-beyaz	

B-Anyon aranması:

Odunlu bir bitki dokusu kuru yakma yöntemiyle yakılır. Aşağıdaki işlemlerle belirtilen maddelerin analizi yapılır.

Cl^-	PO_4^{3-}	SO_4^{2-}
kül	kül	kül
↓	↓	↓
+ HNO_3	+ HNO_3	+ HNO_3
↓	↓	↓
süzüntü	süzüntü	süzüntü
↓	↓	↓
+ AgNO_3	+ $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	+ BaCl_2
↓	↓	↓
AgCl	$(\text{NH}_4)_3\text{P}(\text{Mo}_3\text{O}_{10})_4$	BaSO_4
↓	↓	↓
beyaz	sarı	beyaz

7. ORGANİK MADDELERİN ANALİZİ:

Bitki kuru ağırlığının %90 ını oluşturan organik maddeler karbonhidratlar, proteinler, yağlar, nükleik asitler olmak üzere 4 önemli grupta toplanır. Bu bölümde bazı önemli organik maddelerin nitel tayinleri gerçekleştirilecektir.

Deney 1 . Nişastanın nitel analizi

Prensip:

Yüksek bitkilerdeki en önemli depo polisakariti bir glikoz polimeri olan nişastadır. Amiloz ve amilopektin olarak iki kısımdan oluşur. Amiloz molekülü suda süspansiyon olarak heliks yapı kazanır. İç kısmında iyot bağladığından mavi renk verir. Amilopektin ise dallanmış bir polimerdir. İyotla muamelesinde kırmızı renk verir. Asit ile hidroliz edilerek yapıtaşı olan glikoza parçalanabilir.

Materyal:

- Patates (*Solanum tuberosum*) yumruları, rizomlar, tohum endospermi ve fotosentetik dokular.
- %5 lik nişasta çözeltisi (Bkz. Ek 1).
- Lügol (IKI) (Bkz. Ek 1)

Deneyin yapılışı:

Örnekteki az veya çok nişasta miktarları potasyum iyodür (KI) de çözülmüş iyot (I) çözeltisi (Lügol) kullanılarak belirlenebilir. Nişasta iyot çözeltisi ile mavi-siyah renk verir. Nişastanın enzimlerle hidrolizi sırasında dekstrinler denen kısa zincirli moleküller oluşur. Bu moleküller iyot çözeltisi ile menekşe renk verir.

% 5 lik nişasta çözeltisi % 10 luk HCl ile karıştırılır ve 5 dk bekletilir. Bu şekilde hidroliz olan nişastanın miktarı glikoz testleri ile belirlenebilir.

Not: Nişasta çözeltisi ve lügol karışımını ısıtıp tekrar soğutarak gözlemlerinizi not ediniz.

Örnekler	Renk	Sonuç
1-		
2-		
3-		
4-		
5-		

Deney 2. İnülinin nitel analizi

Prensip:

İnülin bitkilerde depo ve besin maddesi olarak bulunan bir fruktoz polimeridir. Fruktoz polimerlerinin β (2-1) bağları ile bağlanması ile oluşur. Asitlerle hızlı bir şekilde hidrolize olur.

Materyal:

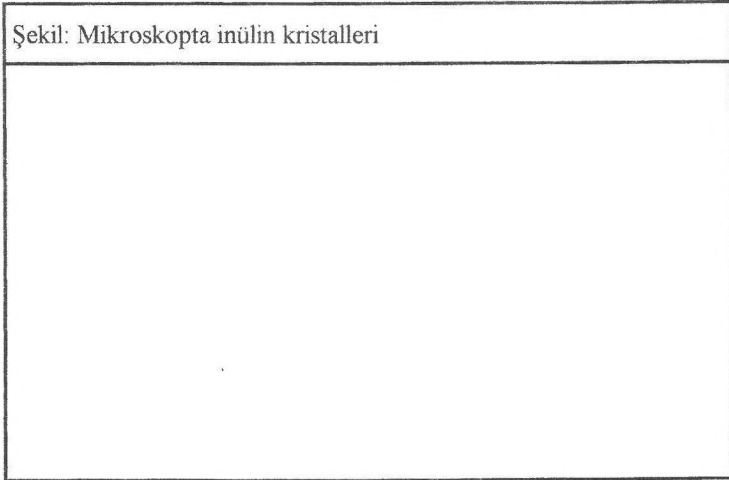
- Yıldız çiçeği (*Dahlia variabilis*) kök yumruları, enginar (*Cynara*) kapitulum eksen tablası, yerelması (*Helianthus tuberosus*) gövde yumruları, Karahindiba (*Taraxacum*) kökleri.

- Alkol (%95)
- Mikroskop

Deneyin yapılışı:

Bu depo polisakkarit nişastaya benzer ancak bir fruktandır ve lügol ile reaksiyon vermez. İnülin bulunduran bitki dokuları alkol ile dehidrate edildiğinde yelpaze biçimli kristal silindirleri ile mikroskopta kolayca tanınır.

Şekil: Mikroskopta inülin kristalleri



Deney 3. Selülozun nitel analizi

Prensip:

Selüloz, doğadaki en yaygın yapısal polisakkarittir. Glikoz moleküllerinin β (1-4) bağları ile polimerleşmesi sonucunda oluşur. Güçlü asitlerle tam olarak parçalandığında D-glikoz birimleri verirken kısmi parçalanma ürünleri sellobiyozdur.

Materyal:

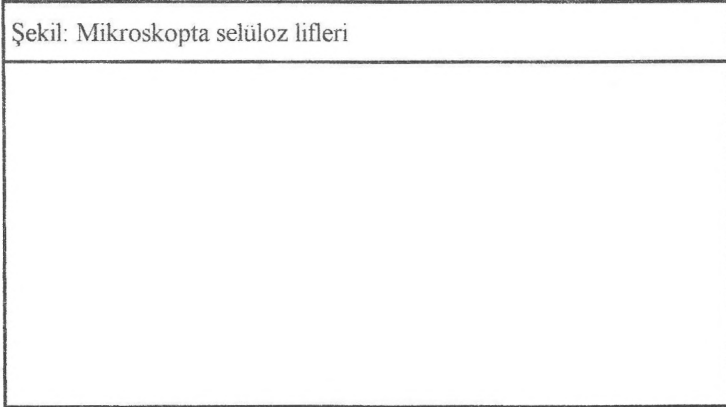
- Pamuk lifleri
- Schweitzer ayracı (Bkz. Ek - 1)
- Mikroskop

Deneyin yapılışı:

Pamuk lifleri Schweitzer ayracı içine atılır ve mikroskopta incelenir. Üzeri kütikula kaplı saf selülozdan oluşan pamuk liflerinin kütikülası çatlar. Selüloz bu çatlaklardan çıkarak baloncuklar oluşturur.

Selüloz lifleri %75 H_2SO_4 ile işlemden sonra lügol uygulaması ile mavi renk verir. Amiloidlerin oluşması mavi renk tepkimesinin nedenidir.

Şekil: Mikroskopta selüloz lifleri

**Deney 4. Ligninin nitel analizi**

Prensip:

Selülozla birlikte odun yapısını oluşturur. Odunda lignin oranı % 25 kadardır. Kimyasal yapısı fenil propan türevidir.

Materyal:

- Otsu ve odunsu bitki dokuları
- Fluroglisin (Bkz. Ek 1)
- % 25 lik HCl çözeltisi

Deneyin yapılışı:

Bitki dokuları küçük parçalar halinde kesilir. Üzerlerine fluroglisin ve % 25 lik HCl çözeltisi damlatılır. Kırmızı renk oluşumu dokuda lignin varlığını gösterir.

Örnekler	renk	sonuç
1-		
2-		
3-		
4-		
5-		

Deney 5. İndirgen şekerlerin nitel analizi

Prensip:

Serbest aldehit ve keton gurubu bulunduran karbonhidratlar alkali ortamlarda indirgeyici özellik gösterirler. Fehling ayırıcısındaki mavi renkli Cu^{++} glikoz, fruktoz, maltoz gibi şekerler tarafından indirgenerek Cu^+ haline dönüştürülür. Bu sırada şekerler oksitlenerek şeker asitlerine dönüşür ve kırmızı renk meydana gelir.

Ketozların (fruktoz gibi) analizi için Selivanof ayırıcı kullanılır. Çünkü Selivanof ayırıcı aldehit gruplarıyla reaksiyon vermezken ketozlarla kırmızı renk verir.

Materyal:

- Çeşitli meyveler, soğan, yeşil yapraklar (klorofilden arındırılmış)
- Fehling A ve Fehling B (Bkz. Ek-1)
- Selivanof ayırıcı (Bkz. Ek-1)
- %5 glikoz ve %5 fruktoz çözeltisi

Deneyin yapılışı:

Deney tüplerine %5 glikoz çözeltisi, %5 fruktoz çözeltisi ve örneklerden alınan ekstraktlar konulur. Üzerlerine Fehling A ve Fehling B den eşit miktarlarda eklenir, yavaş yavaş ısıtılır. Bir süre sonra karışımın

kiremit rengine dönmesi çözeltide indirgeyici şekerlerin bulunduğunu gösterir.

İndirgeyici şekerlerin diğer bir ayıracı da Selivanof'dur. Yukarıdaki gibi hazırlanan deney tüplerine Selivanof ayıracı katılırsa fruktoz ile kırmızı renk oluşur.

Örnekler	+Feh. Renk	+Seli. Renk	Sonuç
1-			
2-			
3-			
4-			
5-			

Deney 6. İndirgen olmayan şekerlerin nitel analizi

Prensip:

İndirgen şekerler aldehit ve keton gruplarını kullanarak polimerler oluşturduklarında indirgeyici özelliklerini kaybederler. Bu polimerler asitlerle hidroliz edilirse indirgeyici gruplar açığa çıkar ve indirgeyici şekerlere uygulanan testlerle belirlenebilirler.

Materyal:

- Çeşitli meyveler, soğan, yeşil yapraklar (klorofilden arındırılmış)
- Fehling A ve Fehling B (Bkz. Ek-1)
- Selivanof ayıracı (Bkz. Ek-1)
- %5 sakkaroz çözeltisi

Deneyin yapılışı:

%5 sakkaroz bir tüpe konur ve üzerine Fehling ayıracı eklenirse tepkime vermez. Buna karşın sakkaroz Selivanofla ısıtılırsa kırmızı renk verir. Bunun nedeni Selivanof ayıracındaki asitin sakkarozu glikoz ve fruktoza parçalaması ve Selivanof ayıracı ile fruktozun reaksiyon vermesidir.

Örnekler	+Feh. Renk	+Seli. Renk	Sonuç
1-			
2-			
3-			
4-			
5-			

Deney 7. Proteinlerin nitel analizi

Prensip:

Proteinler canlıların temel yapı elemanlarıdır. Amino asitlerin peptit bağları ile bağlanmasıyla oluşan makromoleküllerdir. Proteinler yapılarında bulunan amino asitlerin bazı özgül reaksiyonları ile belirlenebilirler. Amino gruplarıyla mor renk reaksiyonu veren ninhidrin, aromatik amino asitlerin benzen halkalarıyla sarı renk veren nitrik asit (ksantoprotein reaksiyonu), hidroksibenzen halkalarıyla kırmızı renk veren Millon ayırıcı bunlardan bazılarıdır.

Materyal:

- Çeşitli bitki dokuları ve besinler
- Konsantre nitrik asit (HNO₃)
- Millon ayırıcı (Bkz. Ek 1)

Deneyin yapılışı:

Çeşitli doku ve besinlerden birer parça alınır ve üzerine konsantre nitrik asit damlatılır. Protein varlığı sarı renk oluşumu ile anlaşılır (ksantoprotein reaksiyonu).

Örnek + ayıraç	Renk	Sonuç
1-		
2-		
3-		
4-		
5-		
6-		

Deney 8. Yağların nitel analizi

Prensip:

Yağlar çoğu bitki dokularında yoğun miktarda bulunur. Yağ asitleri ve gliserolden oluşan bileşiklerdir. Eter gibi organik çözücülerle dokulardan ekstrakte edilerek ağırlık azalması ile miktarı belirlenebilir. Ayrıca sudan III çözeltisi ile turuncu renk reaksiyonu verirler.

Materyal:

- Çeşitli bitki dokuları ve besinler, zeytin (*Olea europea*), ceviz (*Juglans regia*)
- Sudan III çözeltisi (Bkz. Ek-1)

Deneyin yapılışı:

Örnekler ezilerek bir tüpe konur, bir miktar su eklenerek çalkalanır. Suyun bir kısmı alınarak üzerine sudan III çözeltisi damlatılır. Turuncu renk yağ varlığını gösterir.

Örnekler	Renk	Sonuç
1-		
2-		
3-		
4-		
5-		

Deney 9. C-vitamininin nitel analizi

Prensip:

Bitki dokularında bol miktarda bulunan C-vitamini (askorbik asit) oksidatif zararlara karşı koruyucu bir role sahiptir. Bitki dokularından alınan ekstraktlarda C-vitamini varlığı indolfenol kullanılarak gösterilebilir.

Materyal:

- %1 lik indolfenol çözeltisi
- C-vitamini çözeltisi
- Çeşitli bitkilerden ekstraktlar.

Deneyin yapılışı:

C-vitamini çözeltisi ve bitki ekstraktlarından tüplere 5'er ml konur. Üzerine 4-8 damla indolfenol çözeltisi eklenir. Renk değişiklikleri kaydedilir.

Örnek	Ayıraç	Renk
1-C-vitamini çözeltisi	% 1 indolfenol çözü.	
2-		
3-		
4-		

Deney 10. Bazı bitki asitlerinin nitel analizi

Prensip:

Bitki dokularında bulunan organik asitlerin varlığı basit kimyasal testlerle gösterilebilir.

Materyal:

Bryophyllum veya *Sedum* (damkoruğu) türleri

Deneyin yapılışı:

Birkaç yaprak bir havanda ezilir. Hücre çeper materyalini ve kloroplastları ayırmak için filtre edilir yada santrifüjlenir. Ekstrakt sulu NaOH ile dikkatle nötralize edilir ve ikiye bölünür. Tabloda görüldüğü gibi test edilir.

Asit	1.kısım			2.kısım	
	1	2	3	4	5
Oksalik asit	beyaz çökelti	beyaz çökelti	beyaz çökelti	beyaz çökelti	beyaz çökelti
Malik asit	-	-	-	beyaz çökelti	soğukta çözünür
Sitrik asit	-	-	-	beyaz çökelti	ısıtınca çözünür
Tartarik asit	-	-	beyaz çökelti	beyaz çökelti	hafif çözünen çökelti

- 1- Önce %5 CaCl₂ den birkaç damla ekle
- 2- Sonra aynı miktarda glasiyel asetik asit ekle
- 3- Soğut ve %95 etanol ekle
- 4- Birkaç damla %5 kurşun asetat ekle
- 5-Sonra aynı miktarda glasiyel asetik asit ekle ve ısıt.

8. BİTKİ SU İLİŞKİLERİ

Su, dünya üzerindeki en önemli ve en yaygın maddelerden biridir. Yaşamın varlığı, yeryüzündeki vejetasyonun dağılımı, miktarı ve çeşitleri diğer çevresel faktörlerden önce kullanılabilir suyun varlığına bağlıdır.

Suyun bitkilerde çok önemli işlevleri vardır. Su nicel olarak önemli olduğu gibi nitel olarak önemlidir. Otsu bitkilerin taze ağırlığının % 80-90 ını odunlu bitkilerin ise %50 den fazlasını su oluşturmaktadır. Bazı bitki ve bitki kısımları havada kurutmakla dehidrate olabilirken, tohum ve spor gibi bazı kısımlar fırında kurutma ile bile canlılıklarını kaybetmeyebilirler. Fakat dokuların su içeriğindeki azalma daima fizyolojik aktivitede azalmaya neden olur.

Suyun bitkilerdeki ikinci bir temel işlevi çözücü olmasıdır. Gazlar, mineraller ve diğer çözünen maddeler su içinde çözünerek hücreden hücreye veya organdan organa hareket eder. Hücre çeperinin çoğu ve protoplazmik membranlar suya oldukça geçirgendir. Böylece devamlı bir sıvı faz oluşur ve çözünen maddeler bu sıvı fazla taşınır.

Su, fotosentez ve hidrolitik işlemleri de kapsayan çok önemli olaylarda reaktan veya süstrattır. Örneğin; tohumun çimlenmesinde nişastanın şekere amilaz aracılığıyla hidrolizinde su gereklidir. Fotosentez olayında CO_2 'in ve azot metabolizmasında nitratın rolü kadar önemli bir role sahiptir.

Suyun bir başka temel rolü turgor durumunun sürdürülmesidir. Suyun bu işlevi hücre uzama ve genişlemesi ile otsu bitkilerin biçimlerini koruyabilmeleri için mutlak gereklidir. Turgor stomaların açılmasında, yaprakların, petallerin ve çeşitli özelleşmiş bitki yapılarının hareketinde de önemlidir. Turgor durumunun korunması için suyun yetersizliği vejetatif büyümede önemli bir azalmaya neden olur.

Deney 1. Elektrolitlerde şişme

Prensip:

Çözündüklerinde iyonlaşabilen maddelere elektrolitler denir. Çözüntüdeki iyonların bitki dokularının şişmesi üzerine etkileri oldukça

farklıdır. Bu farklılıkta bitki dokularının iyonlara karşı geçirgenliği, iyonların elektrikselsel yükü ve atom ağırlıkları önemlidir. İyonların yüzeylerinde su tutarak hidrasyon örtüsü oluşturmaları çözeltideki serbest su miktarını azaltmaktadır. Atom çapı ve hidrasyon yeteneği birbirleriyle ters orantılıdır. Bitki dokularının yalnız suya veya hem suya hem iyonlara karşı geçirgen olması, elektrolitlerin şişme üzerinde artırıcı yada azaltıcı etki göstermesine neden olur. İyonların şişmeyi artırıcı etkilerine primer iyon etkisi, azaltıcı etkilerine ise sekonder iyon etkisi denir. Bu deneyde elektrolitlerin şişme üzerine sekonder iyon etkisi gözlenecektir.

Materyal:

Keten (*Linum*) tohumları

Elektrolit çözeltiler (LiCl, NaCl, KCl 'ün 2 M lık çözeltileri).

Deneyin Yapılışı:

Geniş ve kısa 4 tüpe 2 'şer gr keten tohumu tartılır. Bir mezür yardımıyla bir tanesinin hacmi ölçülür. Üzerlerine 15 'er ml elektrolit çözeltiler ve saf su konur. Arada çalkalamak suretiyle 24 saat bekletilir. Süre sonunda tohumlar bir süzgeç yardımıyla alınır ve filtre kağıdı ile kurulanır. Hacim ve ağırlıkları ölçülerek şişme miktarları belirlenir.

No	Çözelti	1. ağı (gr)	1. ha (ml)	2. ağırlık	2. hacim	% şişme
1	Su	2				
2	KCl	2				
3	NaCl	2				
4	LiCl	2				

Deney 2. Sınır plazmoliz (limit plazmoliz) ile hücre özsuyu osmotik konsantrasyonunun belirlenmesi

Prinsip:

Bitki hücreleri içinde bulunduğu çözeltinin konsantrasyonuna göre su alma ya da su kaybetme davranışı gösterir. Eğer hücre kendi osmotik konsantrasyonundan daha yüksek osmotik konsantrasyona sahip bir çözelti içine konursa su kaybeder. Bu duruma plazmoliz denir. Tersine osmotik konsantrasyonu daha düşük bir çözelti içine konursa su alır ve şişer. Bu olay ise deplazmolizdir. Plazmolizin başlangıç aşaması özel olarak sınır plazmoliz terimiyle tanımlanır. Sınır plazmolize neden olan

çözelti hücre özsuuyula izotonik olarak kabul edilir. Bu durumdan yararlanılarak hücre özsuunun osmotik konsantrasyonu belirlenebilir.

Bu amaçla kullanılacak dışsal (eksternal) çözeltinin iyonize olan veya olmayan bir çözelti olması osmotik basıncı etkileyeceğinden önemlidir. Sakkaroz iyonize olmayan bir çözüldür. KNO_3 ise iyonize olabilen bir çözüldür. Sakkaroz kullanılması durumunda hücre özsuunun osmotik potansiyelinin hesaplanmasında çözeltinin iyonizasyonu için düzenlemeye gerek duyulmaz. 1 M lık sakkaroz çözeltisinin osmotik basıncı 2269 kPa (2.27 MPa) veya 22.4 atmosferdir (Normal sıcaklık, basınç ve çözeltinin iyonize olmadığı koşullarda). Aşağıdaki tablo 20°C de sakkaroz çözeltisinin farklı molariteleri için osmotik basınçları vermektedir.

Molar	o.p./atm	o.p./kPa	Molar	o.p./atm	o.p./kPa
0.1	2.6	260	0.6	17.8	1800
0.2	5.3	540	0.7	21.5	2180
0.3	8.1	820	0.8	25.5	2580
0.4	11.1	1120	0.9	29.7	3000
0.5	14.3	1450	1.0	34.6	3500

Tablo: 20°C de sakkaroz çözeltisinin farklı molaritelerinin osmotik basınçları.

Materyal:

Tradescantia ve *Zebrina*'nın stamen tüyleri; *Rhoeo discolor*, *Tradescantia* ve *Zebrina* yapraklarının antosiyanin ile renklenmiş yaprak şeritleri, kırmızı soğan bulblarının epidermisi, yalnız tek hücre tabakası bulunduran yosun ve *Elodea* yaprakları.

0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, M sakkaroz çözülderi.

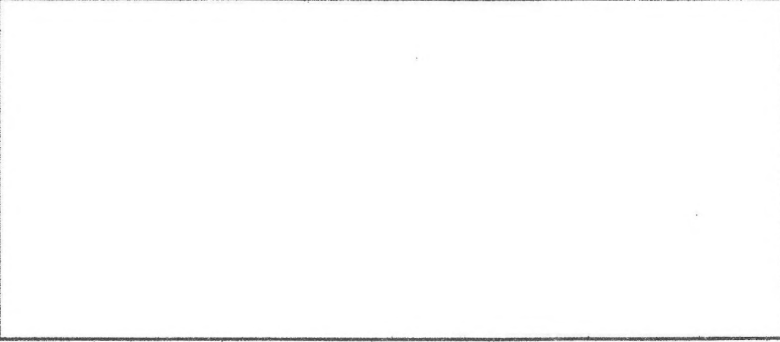
Deneyin Yapılışı:

Dokulardan alınan küçük parçalar (kesitler) içinde farklı molaritelerde sakkaroz çözülderi bulunduran petri kaplarına konur. Petriiler kapatılır ve 20 dk. beklendikten sonra doku çıkarılır, bir lam üzerine alınır. Aynı çözülden bir damla konur, lamel kapatılır. Hücrelerdeki plazmoliz durumu incelenir. Hücrelerinin yarısında plazmoliz başlamış olan örnek sınır plazmoliz olarak kabul edilir. Bu

örnek için içsel (internal) ve dışsal (eksternal) çözeltilerin izotonik oldukları düşünülür.

Yukarıdaki atmosfer ve kPa olarak sakkaroz çözeltilerinin osmotik basınçlarını gösteren tablodan yararlanılarak, hücrenin osmotik konsantrasyonu belirlenebilir.

Şekil: Farklı sakkaroz konsantrasyonlarında hücrenin plazmoliz durumu



Deney 3. Şerit metodu ile hücre su potansiyelinin belirlenmesi

Prensip:

Dokunun su potansiyelini belirlemek hücre özsuynunun molaritesi hakkında bilgi verecektir. Deney 2 de verilen tablodan yararlanarak dokunun su potansiyeli atmosfer ya da kPa olarak belirlenebilir.

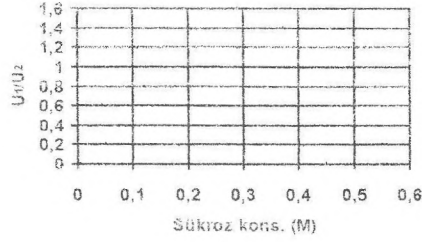
Materyal:

Pancar (*Beta vulgaris*), Patates (*Solanum tuberosum*) veya nergiz (*Nargessus*) kökleri.

Deney 2 deki sakkaroz çözeltileri

Deneyin yapılışı:

Bitki dokularından tam olarak 30 mm uzunluğunda birbirine eşit şeritler kesilir. Deney 1 deki gibi çözelti serisine yerleştirilir. En az bir saat beklenir ve duyarlı bir biçimde tekrar ölçülür. Başlangıç uzunluğunun (U1) sonuç uzunluğuna (U2) oranı (U1/U2) molariteye karşı grafiğe yerleştirilir.



Deney 4. Ağırlık metodu ile hücre su potansiyelinin belirlenmesi

Prensip:

Deney 3 dekinin aynı.

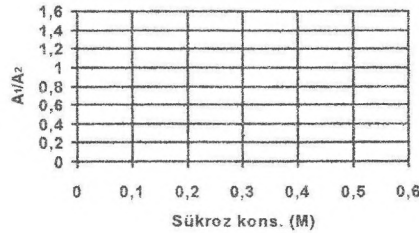
Materyal:

Deney 3 dekinin aynı.

Deneyin Yapılışı:

Bir mantar deleceği ile materyalden bir silindir çıkarılır ve herbiri 2 gr ağırlığında 6 eşit parçaya bölünür. Yıkayıp filtre kağıdı ile kurutulur. Herbirinin ağırlığı tam olarak ölçülür. Deney 1 deki çözelti

serisine ayrı ayrı yerleştirilir. Petrilerin kapakları kapatılır. 24 saat bekletdikten sonra çıkarılır derhal kurulanır ve tartılır. İlk ve son tartımlar arasındaki oran (A_1/A_2) hesaplanır molariteye karşı grafiğe geçirilir.



Deney 5. Osmotik basıncın ölçülmesi

Prensip:

Bir maddenin çözeltisi çözücü madde ile yarıgeçirgen (semipermeabl) bir zar ile ayrıldığında çözücü çözeltinin bulunduğu tarafa geçerek onu seyreltir. Bu olay osmoz dur. Osmoz olayı bir

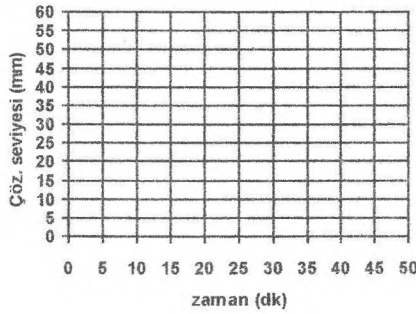
osmometre hunisinin borusundaki çözelti seviyesinin yükselmesiyle kolayca gözlenebilir.

Materyal:

- Osmometre hunisi
- Bir parça barsak (yarıgeçirgen zar)
- 1 M lık sakkaroz çözeltisi

Deneyin Yapılışı:

Osmometre hunisine sakkaroz çözeltisi doldurulur ve soğuk suda temizlenmiş barsak parçası huninin ağzına sıkıca bağlanır. Huni bir statif yardımıyla başaşağı gelecek şekilde saf su dolu bir kabin üzerine, suya batacak şekilde yerleştirilir. 5'er dk. aralıklarla osmometre hunisinin borusundaki su seviyesi işaretlenerek ölçülür. Zamana karşı grafiğe geçirilir.



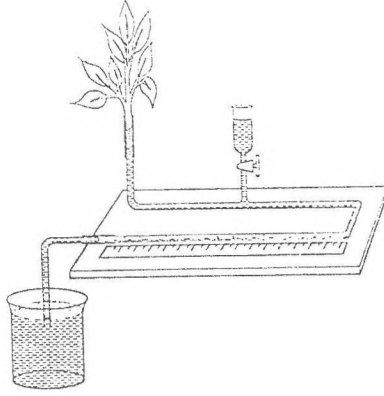
Deney 6. Potometre metodu ile transpirasyonun ölçülmesi

Prensip:

Bitkilerde su alma ve su kaybetme olayları nicel olarak birbirine bağlıdır. Bitkinin kökleri aracılığı ile aldığı su miktarını kapalı bir sistemde ölçmekle bitkilerde transpirasyon miktarı belirlenebilir. Bitkilerde transpirasyonun ölçülmesinde potometre denen düzenek kullanılabilir. Bu sistemde bitkinin belli bir zaman periyodunda kapalı bir kaptan çektiği su miktarı ölçülerek bitkinin transpirasyon hızı belirlenmiş olur.

Materyal:

- Bir bitki dalı veya gövdeden üst kısmı
- Potometre düzeneği.



Şekil 2. Potometre düzeneği

Deneyin Yapılışı:

Geniş ağızlı bir şişe ve buna uygun bir lastik tapa alınır tapaya iki delik açılır, deliklerden birine bitki, diğerine ise bir cam boru takılır. Delikler hava geçirmeyecek şekilde kapatılır. Şişenin işi ağzına kadar çeşme suyu ile doldurulur ve şişenin ağzı kapatılır. Cam borunun dışta kalan ucuna bir kauçuk boru yardımıyla bir büret takılır. Büretin içindeki suyun seviyesi kaydedilir. Belli zaman aralıklarıyla su seviyesi okunarak transpirasyonla kaybedilen su miktarı bulunur. Sonuçlar aşağıdaki tabloya kaydedilir.

zaman	su mik.	zaman	su mik.	zaman	su mik.

Deney 7. Oransal su miktarının (OSM) belirlenmesi

Prensip:

Bitkinin su durumunu gösteren oransal su miktarı (OSM) genel olarak yaprak dokularında incelenir. Yaprakların su içeriği çevresel koşullara göre çok değişken olduğundan OSM nin belirlenmesi pek çok çalışma için önemlidir.

Materyal:

Çeşitli bitki yaprakları

Deneyin yapılışı:

Bitki yaprağından diskler alınır. Taze ağırlıkları ölçüldükten sonra distile suya batırılarak 1-4 saat bekletilir ve turgorlu ağırlıkları ölçülür. Daha sonra 85 °C ye ayarlanmış etüvde sabit ağırlığa gelinceye dek kurutulur ve kuru ağırlık tesbit edilir. Bu verilerden yararlanılarak oransal doku ağırlığı (ODA) hesaplanır. OSM aşağıdaki formülle hesaplanır.

s = taze ağırlık (gr)

t = turgor ağırlığı (gr)

d = kuru ağırlık (gr)

$$OSM = 100 (s - d) / (t - d)$$

Örnek	Taze ağı. (gr)	Turgor ağı. (gr)	Kuru ağı. (gr)	OSM
1-				
2-				
3-				
4-				

9.ÇİMLENME

Çimlenme, tohum içindeki embriyonun uygun koşulları bulduğunda tohum kabuğundan dışarı çıkmasıdır. Bazı bitki tohumları olgunlaşmasını tamamladıktan hemen sonra çimlenme yeteneğindedir. Bazıları ise uygun koşullar olsa bile çimlenemezler. Bu duruma çimlenme durgunluğu veya dormansi denir. Dormansi nedenlerinden bazıları şunlardır: a) Tohum kabuğunun suyu ve gazları geçirmemesi, b)Tohum kabuğunun çok sert olması, c) Embriyonun tam gelişmemiş olması.

Tohum çimlenmesi çeşitli faktörlerden etkilenir. Bunlar arasında su, sıcaklık, oksijen, kimyasal maddeler ve ışık sayılabilir.

Deney 1. Sıcaklığın çimlenme üzerine etkisi

Prensip:

Bitki türlerine göre tohumların çimlenme için sıcaklık istekleri farklıdır. Bitkilerin büyük bir bölümünde optimum çimlenme sıcaklığı 20-30 °C civarındadır. Sıcaklığın çimlenmeye etkisinin dolaylı yollardan olduğu düşünülmektedir. Bitkilerin optimum çimlenme sıcaklıklarının tesbiti ekim alanlarının seçilmesi ve ekim zamanlaması bakımından önemlidir.

Materyal:

Marul (*Lactuca sativa*), susam (*Sesamum indicum*) ve keten (*Linum*) tohumları
kağıdı yerleştirilmiş petri kapları

Filtre

Deneyin yapılışı:

Dokuz adet filtre kağıdı yerleştirilmiş petri kutusu numaralanarak hazırlanır. Tohumlar bir miktar su ile 30 dk süreyle ıslatılır. 1, 2, 3 nolu kaplara marul, 4, 5, 6 nolu kaplara susam ve 7, 8, 9 nolu kaplara keten tohumlarından 50 şer adet yerleştirilir. 1, 4, 7 nolu kaplar 6 °C lik buzdolabına; 2, 5, 8 nolu kaplar 20 °C lik inkübatöre; 3, 6, 9 nolu kaplar

28 °C lik inkübatöre yerleştirilir. Petri kapları kurudukça sulanır. 24 saat aralıklarla çimlenen tohumlar sayılır ve koleoptil boyları ölçülür.

sıcaklık	6 °C			20 °C			28 °C		
süre	24 s	48	72	24	48	72	24	48	72
marul									
susam									
keten									

Deney 2. Çeşitli maddelerin çimlenme üzerine etkileri

Prensip:

Kimyasal maddeler çimlenme üzerinde uyarıcı ve inhibe edici etkiler yapabilir. Kimyasal maddelerin doğrudan çimlenme ortamına katılması ile bu maddelerin uyarıcı yada inhibe edici etkileri belirlenebilir. Kimyasal maddelerin bu özelliklerinden yararlanılarak tohumların çimlenme potansiyeli artırılabilir yada azaltılabilir.

Materyal:

Marul (*Lactuca sativa*) ve keten (*Linum*) tohumları

Filtre kağıtları yerleştirilmiş petri kutuları

10 ppm kinetin çözeltisi

1250 ppm üre çözeltisi

1250 ppm potasyum nitrat çözeltisi

200 ppm 2, 4 dinitrofenol çözeltisi

1 mM sodyum klorür çözeltisi

10 mM kalsiyum klorür çözeltisi

10 mM magnezyum sülfat çözeltisi

Deneyin yapılışı:

Toplam 16 adet petri kabı hazırlanır. Tohumlar 1. deneyde olduğu gibi petrilere yerleştirilir. Her petri kabına 4 er ml olmak üzere saf su ve çözeltilerden eklenir. Petri kutuları 22 °C lik inkübatöre bırakılır. 24, 48 ve 72 saat sonra çimlenen tohumlar sayılır. Aşağıdaki tabloya kaydedilir.

	marul			keten		
süre (saat)	24 s	48	72	24	48	72
su						
kinetin çözeltisi						
üre çözeltisi						
potasyum nitrat çözeltisi						
2, 4 dinitrofenol çözeltisi						
sodyum klorür çözeltisi						
kalsiyum klorür çözeltisi						
magnezyum sülfat çözeltisi						

10. BİTKİ GELİŞİMİNE MİNERAL MADDELERİN ETKİLERİ

Mineral maddelerin bitki gelişimi üzerine etkileri su ve kum kültürleri ile incelenmektedir. Minerallerin eksiklik ve fazlalıkları bitkilerde çeşitli gelişme bozukluklarına neden olmaktadır. Karakteristik eksiklik ve fazlalık belirtileri su ve kum kültürlerinde kolayca izlenebilir. Aşağıdaki tabloda önemli minerallerin eksiklik ve fazlalık belirtileri özetlenmiştir.

Mineral	Etkilenen bölge	Eksiklik belirtileri	Fazlalık belirtileri
Azot (N)	Öncelikle yaşlı yapraklar, tüm bitki	Kloroz (sararma), antosiyanin birikimi (mor renklenme),	hızlı büyüme, dayanıksızlık
Fosfor (P)	Öncelikle yaşlı yapraklar, meyve, çiçek, tüm bitki	Erken yaprak dökümü , antosiyanin birikimi, yer yer kuruma ve şekil bozuklukları, Büyüme engellenmesi	Erken olgunlaşma, Fe ve Zn eksikliği
Potasyum (K)	Öncelikle yaşlı yapraklar	sarı benekler ve lekeler, yaprak ucunda kuruma ve kıvrılma	
Kalsiyum (Ca)	Büyüme bölgeleri, Öncelikle genç yapraklar	Büyüme bölgelerinde ölüm, yaprak uçlarında kıvrılma ve kanca oluşumu	
Kükürt (S)	Öncelikle genç yapraklar	Soluk yeşilden sarıya renk değişimi, Bazılarında antosiyanin birikimi	
Demir (Fe)	Öncelikle genç yapraklar	Damarlar yeşil, damar araları sarı olmak üzere tipik bir belirti	

Deney 1. Mineral maddelerin bitki gelişimi üzerine etkilerinin su kültürü yöntemi ile incelenmesi.

Prensip:

Özel olarak hazırlanan ve bitkilerin ihtiyaç duyduğu besin maddelerini içeren çözeltiler kullanarak bitkilerin gereksinim duyduğu mineral maddeler ve bunların eksiklik ve fazlalık belirtileri su kültürlerinde yetiştirilen bitkilerde kolayca gözlemlenebilir.

Materyal:

- Arpa (*Hordeum vulgare*), mısır (*Zea mays*) fideleri
- Besin çözeltileri
- Cam kavanozlar

Deneyin yapılışı:

1-Genç fidelerin hazırlanması: Kum- perlit karışımı içine arpa tohumları ekilir ve uygun bir ortamda çimlendirilir. Çimlenen fideler, üzerine 0.5 cm çapında delikler açılan ambalaj köpüklerine pamukla desteklenerek yerleştirilir ve kültür çözeltisi doldurulmuş cam kavanozlara alınır.

2-Kültür kavanozlarının hazırlanması: Geniş ağızlı 7 cam kavanoz hazırlanır. Kaynar su ile iyice yıkanır ve saf sudan geçirilir. Alg gelişimini azaltmak için kavanozlar siyah bir kağıt yada alüminyum folyo ile kaplanır. Kültür çözeltileri kavanozlara eşit miktarlarda konur. Bir hava pompası ile kavanozların içindeki çözelti havalandırılır. Bitkilerin gelişme süresi boyunca havalandırma işlemine devam edilir.

3-Kültür çözeltilerinin hazırlanması: Kültür çözeltileri tablolarda gösterildiği gibi hazırlanır.

A-Tam Çözelti

CaSO ₄ .2H ₂ O	0.25 gr/lt
Ca(H ₂ PO ₄) ₂ .H ₂ O	0.25 gr/lt
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.25 gr/lt
NaCl	0.08 gr/lt
KNO ₃	0.70 gr/lt
FeCl ₃ .6H ₂ O	0.005 gr/lt

B-Potasyum (K) Eksik Çözelti

$\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25 gr/lt
$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.25 gr/lt
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.25 gr/lt
NaCl	0.08 gr/lt
NaNO_3	0.59 gr/lt
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.005 gr/lt

C-Kalsyum (Ca) Eksik Çözelti

$\text{K}_2\text{SO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.20 gr/lt
$\text{NaHPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	0.71 gr/lt
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.25 gr/lt
NaCl	0.08 gr/lt
KNO_3	0.70 gr/lt
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.005 gr/lt

D-Demir (Fe) Eksik Çözelti

$\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25 gr/lt
$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.25 gr/lt
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.25 gr/lt
NaCl	0.08 gr/lt
KNO_3	0.70 gr/lt
-----	-----

E-Azot (N) Eksik Çözelti

$\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25 gr/lt
$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.25 gr/lt
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.25 gr/lt
NaCl	0.08 gr/lt
KCl	0.52 gr/lt
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.005 gr/lt

F-Fosfor (P) Eksik Çözelti

$\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25 gr/lt
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$	0.16 gr/lt
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.25 gr/lt
NaCl	0.08 gr/lt
KNO_3	0.70 gr/lt
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.005 gr/lt

G-Kükürt (S) Eksik Çözelti

CaCl_2	0.16 gr/lt
$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.25 gr/lt
MgCl_2	0.21 gr/lt
NaCl	0.08 gr/lt
KNO_3	0.70 gr/lt
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.005 gr/lt

Çözelti ve bitkiler kavanozlara yerleştirildikten sonra havalandırma sistemi çalıştırılır. Pamuklar bir süre sonra ıslanacağı için mantar bulaşma riskini azaltmak amacıyla pamuk, zaman zaman değiştirilmelidir. Deney süresi uzunsa besin çözeltisi iki haftada bir değiştirilir. Terleme ve buharlaşma ile kaybedilen kısım saf su ile tamamlanmalıdır.

Çözelti	Bitki boyu	Renk	Diğer gözlemler
Tam			
-N			
-P			
-K			
-Ca			
-S			
-Fe			

Deney 2. Mineral maddelerin bitki gelişimi üzerine etkilerinin kum kültürü yöntemi ile incelenmesi.

Kum kültüründe uygun bir saksı kuvars veya silis kumu ile doldurulur (Perlit veya vermikullit gibi besin maddesi içermeyen maddelerin karıştırılması ile ortam bitkiler için daha uygun bir hale getirilebilir). Su kültürü için hazırlanan besin çözeltileri ile beslemek suretiyle bitkiler büyütülebilir.

Besin çözeltisinin kum kültürüne verilmesinde farklı yöntemler vardır. En yaygın kullanılan yöntem damla damla ve sürekli olarak çözelti

verilmesidir. Başka bir yöntemde basınçlı hava kullanılarak altta bulunan bir rezervuardan çözelti saksının altından verilmektedir.

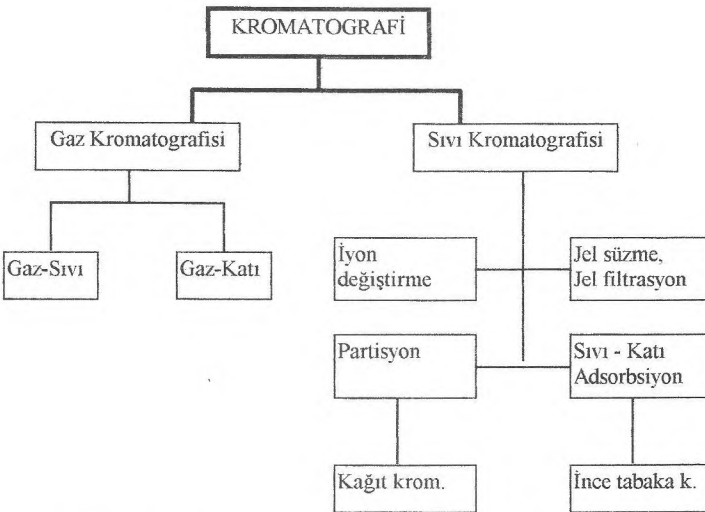
Bitkiler kum kültüründe su kültüründekilere göre doğal koşullara daha yakındır. Bir havalandırma sistemine ve bitkilerin desteklenmesine gereksinim duyulmaz. Bununla birlikte mikroelementlerle ilgili araştırmalarda su kültürleri daha kullanışlıdır.

11- KROMATOGRAFİK TEKNİKLER

Kimyasal yapısı birbirine çok benzeyen maddelerin ayrılma, saflaştırma ve tanınmaları için en çok uygulanan yöntemlerden biri kromatografidir. Bu maddeler arasında gazlar ve inorganik iyonlar, aminoasitler, şekerler, lipidler, steroidler, vitaminler, ilaçlar, hormonlar, proteinler polisakkaritler, nükleik asitler ve çözünebilir; virüsler, makromoleküller, subsellular komponentler ve bakteriler gibi bazı özel maddeler bulunur. Kimyasal ve fiziksel özellikleri birbirine çok yakın olan çeşitli bileşiklerin özellikleri ve yapıları kromatografik yöntemler ile kısa bir süre içerisinde ve kolayca tanımlanabilir.

Seçilmiş bir sabit ortam ve hareketli (mobil) bir sıvı veya gaz faz içerisinde çözülmüş tek tek maddelerin kütle transfer hızlarının farklılıkları kromatografinin temel prensibidir. Sabit faza daha fazla tutunan madde, hareketli faza daha iyi tutunabilen maddelerden daha yavaş hareket eder. Bir karışımdaki komponentlerin ayrışma hızları şu faktörlerin etkisi altındadır.

- 1.Hareketli ve sabit fazların nitelikleri.
- 2.Hareketli fazdaki maddenin nitelikleri.
- 3.Poröz ortamın nitelikleri.
- 4.Akımın dinamikleri.



Şekil 3. Kromatografinin dalları.

Bu metodlarda ayırma mekanizmasında rol oynayan fizikokimyasal işlemler yüzey adsorpsiyonu, iki faz arasında dağılıma (partisyon), iyon değişimi, sterik seçicilik (jel süzme- jel filtrasyonu) ve moleküler afinitedir. Çeşitli kromatografik yöntemler yukarıdaki şemada özetlenmiştir.

1.Yüzey adsorpsiyon kromatografisi:

Sıvı-katı kromatografisi olarak ta bilinen bu yöntem kromatografinin en eski şeklidir. Bir molekül ile bir katı destek veya adsorban arasındaki elektrotatik, hidrojen bağlayıcı ve dispersif etkileşimler adsorpsiyon kromatografisinin temelini oluşturur. Sabit faz olarak ince kalsiyum karbonat, alüminyum oksit, talk, nişasta, sakkaroz, magnezyum oksit, propak polimerleri, hareketli faz olarakta su, alkol, aseton, kloroform, nitrobenzen, toluen gibi çözücüler kullanılmaktadır. Kullanılan adsorbanlar üç tiptir.

- 1.Nonpolar adsorbanlar (kömür, polistren-divinil benzen)
- 2.Asidik polar adsorbanlar (silika jel)
- 3.Bazik polar adsorbanlar (alümina)

Adsorbanın partikül çapı (genellikle 100-150 μm) ve pH'si iyi bir ayırım için önemlidir. Ayrıca adsorbanın bazı ayırmalardan önce ön bir işlem ile aktive edilmesi gerekebilir. Adsorpsiyon kromatografisi ile izomerler hidrokarbonlar, rasemler, hormonlar ve antibiyotikler kolaylıkla ayrılabilir.

2.Kolon kromatografisi:

Kolon kromatografisinde etkili olan faktör adsorpsiyondur. Metodun en büyük avantajı istenilen miktardaki karışımı komponentlerine ayırabilme olanağı sağlamasıdır. Kolonlarda adsorban madde olarak en çok alumina (Al_2O_3), CaCO_3 , Ca(OH)_2 , CaSO_4 , Magnezia (MgO) sakkaroz, nişasta, talk kullanılır.

Kromatografisi yapılacak madde miktarının yaklaşık 25 katı adsorban bir kolona doldurulur. Adsorbanın dökülmemesi için kolonun en altına bir miktar cam pamuğu konup sıkıştırılır. Üzerine HCl ve suda yıkanmış kum konur. Adsorbanın üzerinede aynı kumdan konur. Bu tabakalar 1 cm kadar olmalıdır. Böylece kolon hazırlandıktan sonra ayırımı yapılacak maddeleri içeren çözelti üstten dökülür.

3.İyon değiştirme kromatografisi:

Bu yöntemle maddenin yapısında bulunan iyonların temasta bulunduğu çözelti içindeki aynı cinsten yüklü başka iyonlar ile bir dengeye göre değiştirilmesi esasına dayanır. Özellikle inorganik iyonlar, amino asitler, nükleotidler ve proteinlerin ayrılmasında kullanışlı bir yöntemdir.

Bu amaçla kullanılan katı maddeler, çözelti ortamında çözünmeyen büyük moleküllü doğal ve yapay maddelerdir. Kil ve zeolit gibi inorganik olanlar çok eski yıllardan beri kullanılmaktadır. Günümüzde ise selüloz, dekstran, polistren-divinilbenzen gibi polimerik maddelerin yanısıra bazı özel durumlarda permutit ve hidroksiapatit gibi organik olanlar daha fazla kullanılmaktadır.

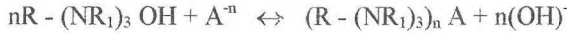
Organik iyon değiştiricilere reçineler adı da verilmektedir. Bir kation değiştirici reçinede kendisi kovalent olarak bağlanmış pek çok negatif yüklü fonksiyonel gruplar ile bunlarla ilişkide olan ve çözücülerin kationlarıyla yer değiştirmesi mümkün olan Na^+ gibi gevşek olarak bağlanmış kationlar bulunur. Kation değiştirici reçinedeki fonksiyonel gruplar sülfonat iyonları gibi güçlü asidik; karboksilat iyonları gibi zayıf asidik veya karboksimetil, fosfat sulfometil, sulfoetil veya sulfopropil grupları olabilir.

Örnek:



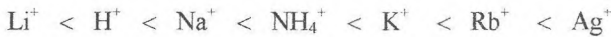
Anyon değiştirici reçineler trimetilaminoetil grupları gibi kuvvetli bazik kuaterner aminler veya aminoetil, dietilaminoetil veya guanidoetil gibi zayıf bazik grupların varlığında ve bunların bir (+) yük taşıyabilme özellikleri ile karakterize edilirler.

Örnek:

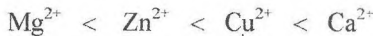


İyon değiştirici reçineler üzerindeki iyon bileşikleri, hareketli fazın pH 'sı ve iyonik gücü değiştirilerek uzaklaştırılır. Bazı durumlarda pH ile birlikte sıcaklığın değiştirilmeside iyi bir ayırım yapmayı sağlar.

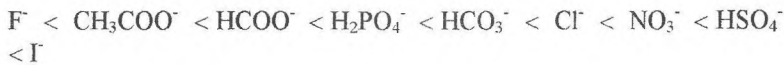
Tek değerlikli kationların bir kation değiştirici reçineye bağlanması şu sırayla olur.



Çift değerli iyonlarda ise



Kuvvetli anyon değiştirici reçinelerde ise anyonların bağlanma sırası şöyledir.



Yukarıda verilen sıraya göre, H⁺ kullanılan bir ayırmda rezolüsyonun yetersiz olduğu düşünülüyorsa, Li⁺ kullanılmasından fayda görülebilir. Çünkü Li⁺ yerini H⁺ e göre daha isteksiz olarak alacak ve maddelerin bağlanma farklılıklarının daha bariz olarak saptanabilmesine olanak sağlayacaktır.

4.Partisyon (dağılma) kromatografisi:

Biyolojide en çok kullanılan başarılı bir ayırım yöntemi de dağılım temeline dayanan partisyon kromatografisidir. Bu yöntemde suyu şiddetle adsorbe eden sabit bir faz (genellikle silikajel) ve bunun üzerinde sıvı faz olarak çeşitli organik çözücüler kullanılır. Çözünen maddelerin (solüt) bu iki faz arasında ne derecede dağıldığı partisyon katsayısı ile ifade edilir.

$$DK = \frac{\text{Sabit fazdaki solüt çözünürlüğü}}{\text{Hareketli fazdaki solüt çözünürlüğü}}$$

Polar maddeler polar çözücülere ve nonpolar maddeler nonpolar çözücülere daha iyi nüfuz ederler. Dağılma kromatografisi ile özellikleri birbirine çok yakın maddeler bile ayrılabilir. Örneğin aminoasitler, asitler, şeker türevleri, alkoller vs.

5.Kağıt kromatografisi:

En basit kromatografik tekniklerden biridir. Bu metot da adsorbsiyon ve iyon değişimi rol oynarsa da esas önemli olan partisyonudur. Dağılım, sabit faz olan kağıtla hareketli faz olan ve kağıdın üzerinde hareket eden çözücü arasında olur.

Deney 1. Filtre kağıdı kromatografisi (uzun şeritlerle)

Prensip:

Filtre kağıdı kromatografisinde sabit faz olarak bir filtre kağıdı kullanılır. Hareketli faz ise değişkendir. Bu yöntemde pek çok organik madde birbirinden kolaylıkla ayrılabilir. Kağıt kromatografisinde bitki dokularından ekstrakte edilmiş örnekler kullanılır (Tablo 2).

Mateyal:

Cam kavanoz ve kapak

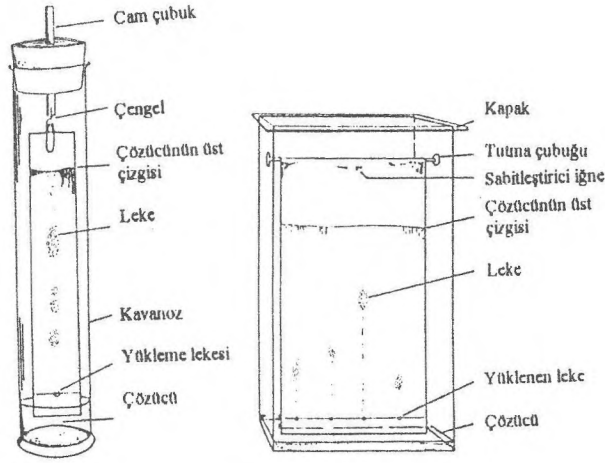
Whatman No.1 filtre kağıdı

Ayrımı yapılacak madde ve uygun çözücü karışımı (bkz. Tablo 1 ve 2).

Deneyin yapılışı:

Kromatogram kavanozunun hazırlanması:

Uzun ve dar bir cam kavanoz, ağzına bir kapak (tıpa) ve ondan aşağıya sallanan bir çengel cam çubuk (mantarın içinden geçmeli ve aşağı yukarı hareket ettirilebilmelidir). Kavanozun içine iki cm çözücü konur. Whatman no 1 filtre kağıdından uzun bir şerit kesilir (filtre kağıtlarında çözücülerin koşma oranları farklıdır, kutularının üzerinde çözücülerin akış oranları gösterilmektedir). Cam çubuk çengel ve şerit öyle düzenlenmelidir ki şerit çözücüye dokunmaksızın havada serbest hareket etmelidir.



Şekil 4. Kromatogram kavanozunun hazırlanması.

Kağıdın yüklenmesi:

Filtre kağıdının tabanından 3 cm kadar yukarıda bir nokta kalemle işaretlenir. İşaretin üzerine bilinen ve bilinmeyen madde kapiler bir pipet yardımıyla yüklenir. Yüklemede; materyalin yeterince bol (konsantr) olmasına ve yüklenen maddenin oluşturduğu leke çapının 5 mm'yi geçmemesine dikkat edilmelidir.

Kromatogramı koşturma:

Kağıt kısıkaçı veya bir iğne yardımıyla yüklenmiş kağıt çengele tutturulur. İç atmosfer doygunlaşmaya kadar 10 dk kavanozun içinde tutulur. Sonra çözücüye 5 mm kadar batacak şekilde kağıt aşağıya indirilir. Kapak veya tıpa çözücü buharını kaçırmayacak şekilde kapatılmalı gerekirse vazelin sürülmelidir. Çözücü, materyali taşıyarak kağıt üzerinde yavaşça yükselecektir. Çözücü kağıdın tepesine yaklaştığında kağıt çıkarılır ve çözücünün ulaştığı yükseklik işaretlenir.

Kromatogramın geliştirilmesi:

Bir kurutma dolabında kağıt dikkatle kurutulur. Bazı çözücülerin yanıcı ve zararlı olduğu unutulmamalıdır. Bazı lekeler renkli olduğundan kolayca görülebilirken renksiz olanlar için geliştirme spreylene gereksinim vardır. Bunun için bir çeker ocakta kromatogram spreylene. Renkler genellikle çabuk solduğundan renk oluşur oluşmaz yeri işaretlerin görünümü ve rengi not edilir. Bazan kromatograma morötesi (ultraviyole) ışık ile de bakılabilir (bkz. Tablo 2).

Ürünlerin tanınması:

Lekelerin tanımlanması, bilinmeyen maddelerle yanyana paralel bir kromatogram koşturmakla mümkündür. Bu kromatograma bilinmeyen madde içinde var olduğu tahmin edilen bilinen bir madde yüklenmiştir. Kromatogramların sonuçları karşılaştırılır ve Rf değerleri hesaplanır (bkz. Tablo 3).

$$R_f = \frac{\text{Lekenin aldığı yol}}{\text{Çözücünün aldığı yol}}$$

Ayrıca Rf değerleri aşağıdaki tablodan da bulunabilir. Fakat kesin bir tanımlama için bilinen bir maddenin kromatogramının yapılması gerektiği unutulmamalıdır.

Farklı lekelerin boyutlarını ve yoğunluklarını karşılaştırmak suretiyle karışımındaki maddelerin miktarlarının doğru bir şekilde anlaşılması da mümkündür.

Deney 2. Filtre kağıdı kromatografisi (geniş kağıtlarla)

Prensip:

Geniş boyutlu kağıtlar kullanılarak aynı anda çok sayıda örneğin kromatogramı yapılabilir. Bilinen ve bilinmeyen lekeleri karşılaştırmak bu yöntemde çok daha kolaydır. Eğer kare bir tank kullanılıyorsa iki yollu kromatogramlar yapılabilir. Bunun için 1. deneydeki gibi koşturma yapılır. Kağıt kurutulur, yan çevrilerek yeni bir solvent ile tekrar koşturulur.

Materyal:

Cam kavanoz ve kapak

Whatman No.1 filtre kağıdı

Ayrılmı yapılacak madde karışımı ve buna uygun çözücü karışımı (bkz. Tablo 1 ve 2)

Deneyin yapılışı:

Geniş bir cam kavanoz ve kapak hazırlanır. Kromatogramın asılabilmesi için bir kanca ve cam çubuk kapağa takılır. Maddeler deney

1'deki gibi yüklenir. Kavanoza iki cm kadar çözücü konur ve nemlendirilmiş filtre kağıdı çözeltiye batırılır. Kavanozu çözücü buharıyla doymak için kavanozun kenarlarına çözücü ile nemlendirilmiş kaba filtre kağıdı parçaları konur. Kromatogramların geliştirilmesi ve ürünlerin tanınması deney 1'deki gibi yapılır.

Tablo 1. Kromatografide kullanılan bazı çözücüler

Maddeler	Çözücüler
Klorofil ve karotenoid pigmentler	Kağıt yada ince tabakada kullanılabilir. 100 kısım petrol eteri (k.n. 100-120° C) 12 kısım propanon (aseton). (100 kısım petrol eteri (k.n. 60-80° C) 20 kısım aseton ince tabakada daha iyi sonuç verir.)
Bitki asitleri	100 kısım bütil metanoat, 40 kısım %98 metanoik asit, 10 kısım su. 100 ml çözücüye 0.5 gr sodyum metanoat ve çözücü soluk portakal rengi alıncaya kadar yeterince katı bromofenol blue eklenir. (Bu maddeler zararlı olduğundan dikkatli çalışılmalıdır).
Amino asitler şekerler ve bitki asitleri	Fenol - su 28 gr saf kristal fenol alınır, ayırma hunisine konur ve 12 ml su eklenir. (Gerekirse daha fazla hazırlanabilir.) az miktarda NaCl eklenir ve kuvvetle çalkalanır. Oksidasyonu engellemek için huniyi azotla doldurun ve tabakalar ayrılana kadar bekleyin (en az 1 saat alır) aşağıdaki tabaka su ile doymuş fenoldür, üsttekini atın.
Amino asitler ve şekerler	120 kısım bütan 1-ol, 30 kısım glasiyel asetik asit ve 60 kısım su.
Amino asitler	İki yollu filtre kağıdı kromatografisinde bu sistem etkili bir ayırım sağlar. Yukarıdaki solventle koşturduktan sonra kurutulan kağıt yan yatırılır ve aşağıdaki solventle tekrar koşturulur. 180 kısım etanol, 10 kısım amonyum hidroksit ve 10 kısım distile su.
Antosiyanin pigmentler	40 kısım bütan 1-ol, 10 kısım glasiyel asetik asit, 50 kısım su Bir ayırma hunisinde çözücü hazırlanır. Alt tabaka kullanılır üst tabaka atılır.

Tablo 2. Kromatografi için ekstraksiyon metodları ve geliştirme

Maddeler	Ekstraksiyon	Geliştirme
Klorofil ve karotenoid pigmentler	Asetonda ezilir.	Geliştirme gerektirmez lekelerin görünmesi için morötesi ışık kullanılır.
Bitki asitleri	% 70 lik etil alkolde ezilir.	Kromatogram kurutulur, bir amonyum hidroksit şişesinin üzerine tutarak geliştirilir. Kromatogramın çok mavi olmasına izin vermeyin. Kromatogram birkaç gün bekletilirse lekeler daha belirgin olur.
Amino asitler	% 80 etanol veya suda ezilir.	Kromatogram kurutulur, bütanol de çözülmüş %2 ninhidrin ile spreyleneir. (ninhidrin zararlıdır) kromatogram kuvvetle ısıtılır ve lekeler görülür.
Şekerler	%50 etanolde ezilir	Kromatogram dikkatle kurutulur ya bütanol de %3 lük paraanisidin + birkaç damla HCl ile yada aseton içinde %10 luk rezorsinol çözeltisi + birkaç damla HCl ile spreyleneir.
Bitki asitleri	Suda ezilir.	Kromatogram kurutulur ve NaOH ile pH'si 5.8 e ayarlanmış bromotimol blue ile spreyleneir.
Amino asitler	% 80 etanolde yada suda ezilir.	Kromatogram kurutulur ve bütanol de % 2 lik ninhidrin ile spreyleneir ve ısıtılır.
Şekerler	Su içinde 0.1 M sodyum etanoat'ta ezilir.	Kromatogram dikkatle kurutulur, bütanol de %3 lük paraanisidin + birkaç damla HCl ile spreyleneir ve kurutulur.
Antosiyanin pigmentleri	% 80 etanolde ezilir.	Geliştirme gerekmez. Amonyum buharı ile mavi lekeler verir.

Tablo 3. Bazı maddelerin Rf değerleri ve renkleri

Maddeler	madde	Rf	renk
Klorofil ve karotenoid pigmentler	klorofil b	0.45	yeşil
	klorofil a	0.65	mavi-yeşil
	Ksantofil	0.71	sarı-kahve
	Feofitin	0.83	gri
	karoten	0.95	sarı
Bitki asitleri	tartarik asit	0.20	mor fonda sarı
	sitrik asit	0.25	
	oksalik asit	0.32	
	malik asit	0.37	
	sukkinik asit	0.57	
Amino asitler	glutamik asit	0.38	portakal-kırmızı
	glisin	0.50	kahve-mor
	tirozin	0.66	koyu mor
	arjinin	0.70	kırmızı-mor
	alanin	0.72	mavi-mor
	lösin	0.91	koyu mor
	prolin	0.95	sarı
Şekerler	glikoz	0.31	rezorsinol ile kırmızı
	fruktoz	0.46	anisinin ile sarı-kahve
	sakkaroz	0.35	
Antosiyantin pigmentleri	delfinidin	0.59	mavi-mor
	pelargonidin	0.73	parlak kırmızı
	peonidin	0.74	kırmızı-mor
	siyanidin	0.79	leylak-mor

6.İnce tabaka kromatografisi:

Uygulaması kağıt kromatografisine çok benzerdir. Ondan farkı kağıt yerine sabit faz olarak ince bir tabaka halinde ve sert düzgün taşıyıcı bir levha üzerine kaplanmış olan destek maddesinin kullanılmasıdır. Bu destek maddeleri genellikle silikajel, talk, alümino, toz selüloz, diatomeli topraklar, sefadesk gibi kolloidal maddelerdir. Farklı destek maddeleri ile kaplı plakalar ticari amaçla piyasada satılmaktadır. Bunlar suyla bulamaç haline getirilip özel levhalara ince tabaka halinde yayılıp kurutulurlar. Kurutma oda sıcaklığında yapılırsa bir miktar su tabaka üzerinde film gibi kalır. Bu durumda ince tabaka kromatografisi kağıt kromatografisine benzer. Bu tip kromatografi sıvı-sıvı kromatografisi olur. Yüksek sıcaklıkta kurutulurken tabakadaki su uzaklaştırılırsa katı-sıvı kromatografisine dönüşür. Ayrımı yapılacak maddeye uygun olanı seçilerek kullanılır.

Analiz edilecek materyal ya küçük bir leke halinde veya preparatif amaçlı ise çizgi şeklinde tabakaya yerleştirilir.

İnce tabaka kromatografisi bazı yönleriyle daha avantajlıdır.

1. Bu yöntemle ayırım kuvveti ve hızı kağıt kromatografisinden çok daha iyidir. Çünkü ayırım partiyonun yanısıra adsorbsiyon, iyon değişirme ve jel filtrasyon gibi olayların kombine etkisi altında yapılır.

2. Miktarca daha az maddelerin ayrılması mümkündür.

3. İnce tabaka kromatografisinde çeşitli maddeler adsorblayıcı ve sabit faz olarak kullanılabilir.

7. Gaz kromatografisi:

Diğer kromatografi tekniklerinde olduğu gibi gaz kromatografisi de bir karışımda bulunan maddeleri ayıran bir tekniktir. Gaz kromatografisi ile ayırımın esası, numunenin iki faz arasında dağılımıdır. Bu fazlardan biri sabit fazı diğeri ise sabit faz üzerinden geçirilen bir hareketli faz (gaz fazı) dır.

a) Eger sabit faz bir katı ise, gaz -katı kromatografisi (GKK) olarak adlandırılır. Adsorbsiyona dayanan bu teknikle maddelerin ayırımı Gaz-sıvı kromatografisi (GSK) tekniğinden daha az kullanılır. Bu yöntemle kullanılan katı maddeler, aktif kömür, alüminyum oksit, silikajel gibi maddelerdir.

b) Eğer sabit faz bir sıvı ise gaz-sıvı kromatografisinden (GSK) söz edilir. Bu yöntemle sıvı olan sabit faz bir destek katısı üzerine ince bir film halinde yayılmıştır. Bu kromatografi şeklinde etkin olan olay dağılımadır (partiyon).

Bir gaz kromatografisi sistemi şu kısımlardan oluşur.

1. Taşıyıcı gaz tüpleri (H_2 , N_2 , He, Ar)
2. Gaz akışını kontrol eden basınç ayarlayıcılar
3. Enjeksiyon bölümü
4. Kolon
5. Isı kontrol ünitesi
6. Dedektör
7. Kaydedici

1. Taşıyıcı gaz: Taşıyıcı gaz kaynağı olarak yüksek basınçlı gaz tüpü kullanılır. En çok kullanılan taşıyıcı gazlar Azot, helyum ve argondur. Taşıyıcı gazlar inert olmalı yani çözücü ile etkileşmemelidir.

Bundan başka gaz seçiminde difüzyon hızının küçük olmasına, ekonomik olmasına ve kullanılan dedektöre uygun olmasına dikkat edilmelidir.

2. Akış kontrol ünitesi: Kolon girişindeki gaz akış hızını sabit tutmak gerekir. Bu da basınç regülatörleri ile sağlanır. Belirli bir sıcaklıkta ve sabit gaz akışı sağlandığında bileşikler kolonu belirli bir zamanda terk ederler (alıkonma süresi). Akış hızı sabit olduğuna göre, bileşikler belirli bir gaz hacmi ile sürüklenirler (alıkonma hacmi).

3. Enjeksiyon ünitesi: Ayrılacak bileşikler kolon girişine özel bir enjektör yardımıyla bir defada ve tam olarak verilmelidir. Enjeksiyon sırasında gaz kaçağının önlenmesi için kendiliğinden kapanan bir septum kullanılır.

4. Kolon: Kolonlar genellikle spiral biçiminde cam veya paslanmaz çelikten üretilir. Kolonlar içinde dolgu maddesi bulundurabileceği gibi (dolgulu kolon) boşta olabilir (kapiler kolon). Ayrırma işlemi kolonda gerçekleşir. Kolonun boyu, çapı ve içindeki dolgu maddesi ayırım için çok önemlidir.

Dolgulu kolonlar katı destek maddeleri ile sıkıca doldurulur. Bu maddenin görevi sıvı fazın tutunabileceği inert bir yüzey alanı sağlamaktır. Katı destek maddesinde aranan özellikler şunlardır. a) inert olmalı, b) basınca dayanıklı olmalı, c) geniş yüzey alanı olmalı, d) düzgün şekilli ve homojen büyüklükte olmalı, e) mekanik dayanıklılığı olmalı, f) kolona doldurma sırasında parçalanmamalıdır.

Sabit faz partiyonun gerçekleşeceği sıvı fazdır. İdeal bir sıvı fazda şu özellikler aranır. a) Örnek içindeki bileşikler farklı dağılım katsayısı göstermeli, b) örnekler sıvı fazda belirli bir çözünme göstermeli, c) analiz sıcaklığında sıvı fazın buhar basıncı ihmal edilebilir düzeyde olmalı ve sıvı faz stabil olmalı, d) örneklere karşı kimyasal olarak kararlı olmalıdır.

Genel olarak nonpolar örneklerin ayırımı için nonselektif sabit fazlar, izomerler ve farklı polaritedeki bileşikler içinse selektif fazlar kullanılmalıdır. Genel olarak selektif fazlar daha az termostabildir.

5. Isı kontrol ünitesi: Analiz sırasında kolon sıcaklığı önemlidir. Bu nedenle kolonun bulunduğu bölümün sıcaklığını ayarlayan bir ısı kontrol ünitesi bulunur. Çalışma sabit sıcaklıkta yapılabileceği gibi ısı programlaması ile değişken sıcaklıklarda da yapılabilir. Isı programlaması ile analiz süresi kısaltılabilmektedir.

6. Dedektör: Kolonda ayrılan bileşiklerin varlığını ve miktarını tespit eden ünitelerdir. Ayrılarak dedektöre gelen maddeler burada bir elektrik sinyali üretirler. Bir dedektörde şu özellikler aranmalıdır. a) yüksek duyarlılık, b) düşük seslilik, c) Çok sayıda bileşiğe duyarlılık, d) akış ve sıcaklık değişimlerine dayanıklı.

Yaygın kullanılan bazı dedektör tipleri şunlardır.

1. Isı iletkenlik dedektörü (TCD).
2. Elektron yakalama dedektörü (ECD).
3. Alev iyonizasyon dedektörü (FID).
4. Alkali alev iyonizasyon dedektörü (AFID).

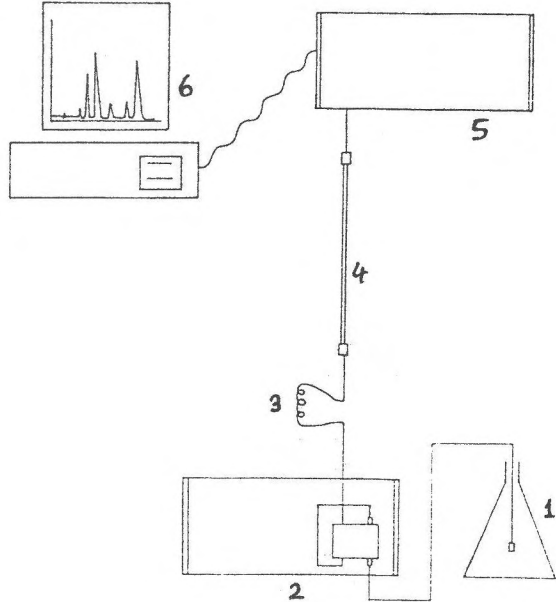
7. Kaydediciler: Dedektörden çıkan sinyaller bir kaydedici cihazla sayısal yada grafik olarak kaydedilir. Bu amaç için özel bir veri kontrol yazılımı kullanan bilgisayarlardanda yararlanılabilir.

8. Yüksek basınçlı (performanslı) sıvı kromatografisi (HPLC):

Sıvı kromatografisi ayırma tekniğinin teorisi gaz kromatografisinde anlatıldığı gibidir. Ancak burada hareketli faz (mobil faz) gaz yerine sıvıdır. Genel olarak bir karışımdaki bileşiklerin ısıya duyarlı veya büyük moleküllü olması, karışımdaki maddelerin sıvı kromatografisi ile daha iyi ayrılmasını sağlamaktadır.

Bir Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) sisteminde altı temel bölüm vardır.

1. Çözücü haznesi
2. Pompa (1, 2 yada 3 adet olabilir.)
3. Enjektör (Örneğin verildiği kısım)
4. Kolon
5. Dedektör
6. Kaydedici



Şekil 5. HPLC ünitelerinin şeması.

1.Solvent haznesi: İçine hareketli fazın konulduğu am Şişelerdir. Sıvı kromatografisinde kullanılan hareketli faz Şu özelliklere sahip olmalıdır. a)Durucu fazın özelliklerini deėiŐtirmemeli, b)ayrılacak karışımdaki bileŐenlerin hepsini ozmeli, c)düşük viskozitede olmalı, d)gerektiğinde çalışılan bileŐiklerden kolayca ayrılabilmeli, e)kullanılan dedektöre uymalı, f)yüksek saflıkta ve ekonomik olmalı.

2.Pompa: Hareketli fazın istenilen basınçta kolondan akışını sağlar. Pompa aracılığıyla, hareketli faz sabit akış hızında ve sabit basınçta olmak üzere kolondan geçirilir. Kromatografi işlemi sırasında pompa mobil faz kompozisyonu değiştirilmeden kullanılıyorsa izokritik mod, işlem süresince mobil faz kompozisyonu deėiŐtiriliyorsa gradient mod olarak adlandırılır.

3.Enjektör: Örneklerin kromatografi sistemine verildiği kısımdır. Örnekler ya akış durdurulmadan bir septum yardımıyla yada bir vana yardımıyla akış durdurularak sisteme enjekte edilir.

4.Kolon: Ayrımın başarısı doğru kolonun kullanılmasına bağlıdır. Kolonlar dolgu maddesi içeren paslanmaz çelikten bir tüp ve bağlantı parçalarından oluşur. Kolon dolgu maddeleri olarak silika, alümina, kömür ve organik polimerler kullanılır.

5.Dedektör: Kolondan çıkan sıvının bileŐimini algılayan ve meydana gelen değişiklikleri sinyaller halinde kaydediciye gönderen kısımdır. HPLC sistemlerinde morötesi ve görünür ışık dedektörleri kullanılmaktadır. Amaca göre fluorometre ve elektrokimyasal dedektörlerde kullanılmaktadır.

6.Kaydedici: Dedektörden gelen sinyaller bir kaydedici tarafından alınarak kaydedilir ve değerlendirilir. Bir maddenin kolondan geçmesi için gereken zamana alıkonma zamanı denir. Her maddenin alıkonma zamanı farklı olduğundan maddeler birbirinden farklı zamanlarda dedektöre ulaŐırlar ve birbirini izleyen pikler halinde yazıcıdan yada bilgisayar ekranından alınırlar.

12. RENK MADDELERİNİN (PİGMENT) EKSTRAKSİYONU VE BELİRLENMESİ

Bitkilerde fotosentez gibi ışık ile ilgili olayları gerçekleştiren çeşitli renk maddeleri (pigmentler) bulunur. Pigmentlerin bir bölümü plastidler içerisindeki zar sistemlerine (tilakoid membranlara) yerleşmiş olarak bulunurken bir kısmı vakuolde çözülmüş durumdadır. Pigmentler ışık enerjisinin bitkiler tarafından kullanılabilmesini sağladığı gibi, bitkilerin şiddetli ışıktan zarar görmesini de önlemektedirler. Fotosentetik organizmalardaki pigmentler aşağıdaki tabloda özetlenmiştir.

Organizma	Primer pigment	Aksesuar pigmentler	Absorbe ettiği dalgaboyu (nm)
Mor bakteriler	b.klo.a *	b klo.a b klo.b	mavi,mor-kırmızı 470-750 mavi,mor-kırmızı 400-1020
Yeşil kükürt bakterileri	b.klo.a	b klo.c Clorobium klo.	mavi-kırmızı 470-750
Mavi-yeşil alg	klo.a**	fikosiyenin fikoeritrin allofikosiyenin	turuncu 630 yeşil 570 kırmızı 650
Kırmızı alg	klo.a	fikosiyenin fikoeritrin allofikosiyenin	turuncu 630 yeşil 570 kırmızı 650
Kahverengi alg	klo.a	klo.c	mor, mavi-kırmızı
Yüksek bitkiler	klo.a	klo.b	mavi,mor- turuncu,kırmızı 454-670
Çoğu yüksek bit. alg ve bak.		α ve β karotenoidler ksantofiller	mavi - yeşil 450
* Bakteriyoklorofil-a		** Klorofil-a	

Deney 1. Klorofil ekstraksiyonu ve belirlenmesi

Prensip:

Bitki dokularının yeşil renk maddesi klorofil; aseton, metanol, etanol gibi çözücülerle dokulardan ekstrakte edilebilir. Bu ekstraktlardaki klorofil-a ve klorofil-b nin miktarları maksimum absorpsiyon gösterdikleri dalga boyunda spektrofotometre ile absorbansları ölçülerek belirlenebilir. Işık absorpsiyonu ile klorofil miktarlarının belirlenebilmesi için önceden standartlar kullanılarak hesaplanmış olan katsayılar kullanılmaktadır.

Materyal:

- Çeşitli bitkilerin yaprakları
- % 80 lik aseton (pH=7.8) (Bkz. Ek 1)
- Havan

Deneyin yapılışı:

Yapraklardan 1 cm çapında dairesel diskler alınır. Bir havanda 2 ml tamponlanmış (pH = 8) %80 lik aseton ile havanda ezilir. Havan ve havan eli 2 ml aseton ile üç kere yıkanır. Karışım 2500 devir / dk'da 10 dk santrifüjlenir. Süpernatant alınarak 750 nm'de sıfırlanmış spektrofotometrede 664 ve 647 nm'de absorbansları okunur. Klorofil-a, klorofil-b ve toplam klorofil aşağıdaki eşitliklerden hesaplanır.

Klorofil konsantrasyonu $\mu\text{gr} / \text{ml}$

$$\text{Klorofil-a} = 12,25. A^{664} - 2,55. A^{647}$$

$$\text{Klorofil-b} = 20,31. A^{647} - 4,91. A^{664}$$

$$\text{Klo. a+b} = 17,76. A^{647} + 7,34. A^{664}$$

$\mu\text{gr} / \text{ml}$ olarak bulunan klorofil değerleri toplam 8 ml çözücü kullanıldığından 8 ile çarpılır ve kullanılan yaprak diskinin m^2 olarak yüzey alanına bölünürse klorofil miktarı $\mu\text{gr} / \text{m}^2$ olarak bulunabilir. Kullanılan yaprak materyalinin ağırlığının önceden belirlenmesi ile $\mu\text{gr} / \text{gr}$ olarak klorofil miktarını hesaplamakta mümkündür.

Örnekler	Klorofil-a	Klorofil-b	Klorofil a+b
1-			
2-			
3-			
4-			

Deney 2. Antosiyanin ve flavonoid pigmentlerin kimyasal ayrımı

Prensip:

Antosiyanin ve flavonoid pigmentler vakuolde bulunan ve koruyucu fonksiyonları olan renk maddeleridir. Bu pigmentler uygun çözücülerle kademe kademe ayrılabilir. Ortamın asiditesine göre farklı renklerde kendilerini gösterdiklerinden bu yolla belirlenebilirler.

Materyal:

- Renkli çiçekler ve sonbahar yaprakları.
- Etil alkol
- Petrol eteri

Deneyin yapılışı:

Birkaç yaprak veya petal %80 etil alkolde ezilerek genel bir ekstrakt elde edilir. Santrifüjlenerek veya filtre edilerek eşit hacimde petrol eteri ile bir ayırma hunisine konur, karıştırılır ve iki faz birbirinden ayrılır. Tabakalar aşağıdaki gibi test edilir.

a)Üst tabaka (Petrol eteri): Üst tabakanın rengi sarı ise karotenoidler vardır. Eşit hacimde %95 etanol ekleyerek karıştırılır ve renklerin dağılımı gözlenir. Ksantofiller etanolde çok çözünür. Karotenler petrol eteri tabakasında kalır.

b)Alt tabaka (Etanol): Alt tabaka renklenmiş ise Antosiyanin ve Flavonoidleri içeriyor demektir. Renksiz ise antosiyaninler yoktur fakat Flavonoidler bulunabilir. Bu çözeltiden 5 ayrı test tüpüne 2 şer ml ekstrakt konur ve aşağıdaki uygulamalar yapılır.

- 1.tüp, 4 damla %1 HCl eklenir. (Çözeltiyi asit yapmak için)
- 2.tüp, Kontrol olarak bırakılır.
- 3.tüp, 4 damla %1 Na_2CO_3 eklenir. (Çözeltiyi alkali yapmak için)
- 4.tüp, 4 damla %1 NaOH eklenir. (Çözeltiyi alkali yapmak için)
- 5.tüp, Birkaç damla %1 Na_2CO_3 eklenir. Bu alkali çözeltiyeye 4 damla sulu FeCl_3 eklenir.

Aşağıdaki tabloda saf antosiyaninler (A), Flavonoidler (F) ve her ikisinin (A+F) karışımında gözlenecek renkler özetlenmiştir.

Renk mad.	1.tüp (asit)	2.tüp (nötral)	3.tüp (Na_2CO_3)	4.tüp (NaOH)	5.tüp (FeCl_3)
A	kırmızı, leylak	mavi, leylak, pembe	mavi	mavi	koyu mavi, mavi, mor
F	sarı, renksiz	sarı, renksiz	sarı	sarı	yeşil zeytin rengi, sarı
A+F	kırmızı	pembe	yeşil	zeytin, kahve, sarı	zeytin, kahve

Antosiyaninlerin tipini ayırt etmek zordur. Ancak nötral çözeltinin rengine bakılarak aşağıdaki ayrımlar yapılabilir.

Antosiyanin	Renk
Pelargonidin	kırmızı
Peonidin	koyu kırmızı
Malvidin	leylak
Petunidin	mor
Siyanidin	mor
Hirsutudin	mavi
Delfinidin	mavi

13. FOTOSENTEZ

Fotosentez işlemi canlı organizmalar tarafından ışık enerjisinin organik moleküllerin yapısındaki kimyasal enerjiye dönüştürülmesidir. Bu olay canlıların karmaşık fiziko-kimyasal reaksiyonlarında güneş enerjisinin kullanılmasını sağlar. Fotosentez canlılar dünyasının tümü için enerji üretir. Fotosentez özet olarak şöyle yazılabilir.

Düşük en. organik bileşikler + ışık en. $\xrightarrow{\text{fotosentetik org.}}$ Yüksek en. organik bileşikler

Fotosentez olayı daha ayrıntılı bir biçimde şöyle yazılabilir.

$\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{Işık en.} \xrightarrow{\text{klorofil içeren bitki}} (\text{CH}_2\text{O}) + \text{O}_2 + \text{Kimyasal en.}$

Fotosentetik organizmaların ana gruplarının yapı ve fotosentetik karakterleri aşağıdaki tabloda özetlenmiştir.

Fotosentetik karakter	Prokaryot	Ökaryot
Organizma yapısı	Basit yapıli tek hücre, membransız nükleus, aynı kompartmanda vesiküler membranlarda fotosentez.	Çok hücreli yapı, karmaşık hücrelerarası etkileşim, membranlı nükleus, ayrılmış kompartmanlarda vesiküler membranlarda fotosentez.
Oksijenik olmayan formlar	Fotosentetik bakteriler (mor ve yeşil kükürt bakterileri), Oksijen oluşmaz, zorunlu anaeroblar, İndirgeyici kaynağı hidrojen sülfid, sülfür, tiosülfid, hidrojen, organik bileşikler, gaz azotu indirgerler.	Yok
Oksijenik formlar	Mavi yeşil algler, Oksijen oluştururlar, indirgeyici kaynak sudur, gaz azotu indirgerler.	Algler, yüksek bitkiler, oksijen oluştururlar, indirgeyici kaynak sudur, gaz azotu indirgeyemezler.

Deney 1. Işık şiddetinin fotosenteze etkisi

Prensip:

Bitkiler güneşli bir gündeki güneş ışığının 1/10 unda maksimum fotosentez yapabilirler. Bu değerin altında fotosentez hızı ışıkla sınırlanır. Bitkiler yapay ışıkta da fotosentez yapabilirler. Tungsten veya floresan lambadan çıkan ışınlar fotosentez için yeterlidir. Ancak yapay ışıkla maksimum fotosentezi sağlamak için güçlü bir ışık kaynağına gereksinim vardır.

Materyal:

- *Elodea* bitkisi
- Cam tüp
- 100 W lık ampul

Deneyin yapılışı:

Elodea bitkisinin gövdesi eğik olarak kesilir. Oksijenin kolay çıkması için boyuna yarıklar açılır. Ucu yukarı gelecek şekilde bir tüpe konur ve tüp su ile doldurulur. *Elodea* içeren tüp bir statifle tutturulur. *Elodea*'nın tam karşısına 100 W lık bir ampul asılır ve *Elodea* dan çıkan oksijen kabarcıkları sayılır.

Bitki ışık kaynağından 25, 50, ve 100 cm uzaklıklara konularak deney tekrarlanır ve ışık şiddetinin etkisi gözlenir. 15 dk boyunca her dakikada çıkan kabarcık sayısı belirlenir ve tabloya yazılır.

Sonuçlar değerlendirildiğinde fotosentez şiddetinin ışık kaynağına uzaklığın karesi ile ters orantılı olduğu anlaşılır. Işık kaynağına 25 cm uzakta oksijen verimi dolayısıyla fotosentez hızının en fazla, 100 cm uzaklıkta ise oksijen verimi ve fotosentez hızının en az olduğu görülür.

zaman (dk)	Kabarcık sayısı				
	25 cm	50 cm	100 cm	Az CO ₂	Çok CO ₂
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					

Deney 2. Fotosentezde karbondioksit (CO₂) miktarının rolü.

Prensip:

Normalde atmosferdeki CO₂ konsantrasyonu % 0.03 tür. Bu konsantrasyon % 0.06 oluncaya değin fotosentez hızı artar. Bu değerden sonra ise fotosentez hızı artan CO₂ miktarından etkilenmez. Ortamdaki CO₂ konsantrasyonu %5 e yükselirse bitkiler zehirlenir. CO₂ konsantrasyonunun artışı C₃ tipi bitkiler için daha önemlidir. C₄ tipi bitkilerde bir CO₂ konsantre etme mekanizması iş gördüğünden artan CO₂ konsantrasyonuna duyarlılıkları azdır.

Materyal:

- Deney 1'deki düzenek

Deneyin yapılışı:

Deney 1'deki düzenek hazırlanır. Işık kaynağı 25 cm uzaklığa yerleştirilir. Elodea bitkisi önce kaynamış su (CO₂ miktarı düşük veya yok) içine konur. 15 dk boyunca çıkan kabarcıklar sayılır ve tabloya yazılır. Aynı deney 1:1 oranında sulandırılmış gazoz (CO₂ miktarı fazladır.) ile yapılır. Çıkan oksijen kabarcıkları sayılır ve tabloya yazılır.

Deney 3. Fotosentez hızının belirlenmesi.

Prensip:

Fotosentez yapmış ve yapmamış yaprakların kuru ağırlık farkının belirlenmesiyle fotosentez ürünlerinin miktarı bulunabilir. Bu miktar zamana bölüldüğünde ise fotosentez hızı belirlenebilir.

$$\text{Fotosentez hızı} = \frac{g_2 - g_1}{t}$$

Materyal:

- Saksısı ile birlikte sardunya (*Pelargonium zonale*)
- Mantar deleceği

Deneyin yapılışı:

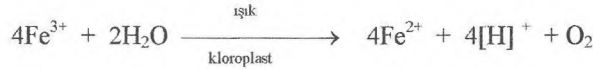
Fotosentezden kaynaklanan kuru ağırlık artışının ölçülmesi ile fotosentez hızı belirlenebilir. Saksıdaki sardunya bitkisi bir süre karanlıkta bırakılır. Bu bitkinin yapraklarından diskler alınır ve 105°C de etüvde kurutulur. Aynı bitki birkaç gün ışıktaki bırakılır ve yine yaprak diskleri alınır. Aynı çap ve sayıdaki yaprak diskleri kurutulur ve kuru ağırlıkları

tesbit edilir. İki grup disk arasındaki kuru ağırlık farkının bitkinin ışıkta kaldığı zamana bölümü fotosentez ürünlerinin sentez hızını verir.

Deney 4. Ekstrakte edilmiş kloroplastların katalitik özelliklerinin belirlenmesi.

Prensip:

İzole kloroplast süspansiyonları, aydınlatıldığında demir (Fe^{3+}) iyonlarını indirgemekte ve aynı zamanda O_2 üretilmektedir. Bu kloroplast ekstraktları CO_2 kullanamaz ancak suyu parçalayarak oksijen ve hidrojene ayırabilir. Bu işlem Hill reaksiyonu olarak adlandırılır. Hidrojen bir oksitleyici ajan tarafından yakalanabilir. Örneğin ıspanak kloroplast ekstraktları aşağıdaki reaksiyonu gösterebilir.



Bu reaksiyonu gösterebilmek için 2, 6 diklorfenolindolifenol (2,6 DFİF) kullanılabilir. Bu boya aydınlanmış kloroplast süspansiyonlarında birkaç dakikada beyazlamaktadır (indirgenmektedir). Bu durum, kloroplastlardaki indirgeyici gücü gözlememize olanak sağlar.

Materyal:

- Taze ıspanak (*Spinaca oleracea*) yaprakları
- Sakkaroz tamponu (Bkz. Ek 1)
- 2, 6 diklorfenolindolifenol (2,6 DFİF) (Çok seyreltik)
- 0,5 M KCl

Deneyin yapılışı:

Bir şişe içindeki tampon buzlu suya daldırılarak soğutulur. Havan ve havaneli de aynı biçimde soğutulmalıdır. Bir miktar taze ıspanak yaprağı havanda 10 ml kadar soğuk tamponla ezilerek kloroplastları ekstrakte edilir. 3 dk orta hızda santrifüjlenerek nişasta taneleri ve hücre çeperi çöktürülür (Santrifüj için soğutulmuş tüpler kullanılmalıdır). Üst çözelti temiz tüpe boşaltılarak yüksek hızda 10 dk tekrar santrifüjlenir. Üst çözelti atılır ve kloroplastlar 4 ml buzda soğutulmuş tamponda süspansiyon edilir. 6 adet tüp alınarak aşağıdaki tabloda gösterilen uygulamalar yapılır. 1, 3 ve 5 numaralı tüpler parlak ışıkla aydınlatılır ve boya beyazlayıncaya kadar beklenir.

Aydınlanmış kloroplastların indirgen özellikleri hakkındaki düşüncelerinizi not ediniz.

Tüp no	2,6 DFİF	0,5 M KCl	Ekstrakt	Işık	Sonuç
1	1 ml	0,5 ml	0,5 ml	+	
2	1 ml	0,5 ml	0,5 ml	-	
3	1 ml	0,5 ml	0,5ml (Kaynatılmış)	+	
4	1 ml	0,5 ml	0,5ml (Kaynatılmış)	-	
5	----- (1 ml saf su)	0,5 ml	0,5 ml	+	
6	----- (1ml saf su)	0,5 ml	0,5 ml	-	

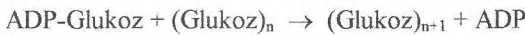
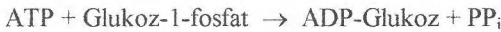
Deney 5. Karanlıkta glikozdan nişasta sentezinin incelenmesi.

Prensip:

Fotosentezin karanlık evresinde esasen iki dönüşüm seti vardır. Bunlardan birincisi glikoz, sakkaroz ve nişasta gibi yüksek karbonhidrat ürünlerinin oluşumu ile ilgili iken ikincisi bir seri reaksiyonla fotosentezin devamlılığında gerekli olan CO₂ akseptörü (tutucusu) ribuloz 1,5 bisfosfatın yeniden sentezidir.

Ribuloz 1,5 bisfosfat üretimi dışında kalan asimile karbon; nişasta, lipidler ve proteinlerin sentezi için kloroplastlarda kullanılmaktadır. Aydınlanma sırasında çoğu bitkilerin kloroplast stromasında büyük granüller halinde nişasta birikir. Karanlıkta ya çözünerek solunumda kullanılır ya da depo organlara taşınır.

Nişasta polimerlerinin oluşumu için nükleotid şekerlere gereksinim vardır.



Glukoz-1-fosfat'tan nişasta sentezi nişasta sintaz enzimi tarafından gerçekleştirilir. Üretilen (α 1-4) bağlı amiloz molekülleri bir dal enzimi ile amilopektine dönüştürülür.

Materyal:

- Genç sardunya (*Pelargonium zonale*) yaprakları
- Derin payreks petri kabı (2 adet)
- % 5 lik steril glikoz çözeltisi
- Mantar deleceği
- % 1 lik sodyum hipoklorit çözeltisi
- Lügol çözeltisi

Deneyin yapılışı:

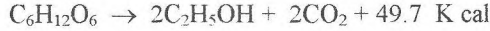
Steril 20 ml % 5 lik glikoz çözeltisi bir petriye dökülür. Diğer petriye ise kontrol olarak steril saf su konur. Bir mantar deleceği ile en az 24 saat karanlıkta bırakılmış sardunya yaprağından bir cm çapında birkaç disk çıkarılır. % 1 lik sodyum hipoklorit çözeltisinde 3 dk çalkalanarak sterilize edilir, steril distile suda yıkanır ve her kaba bir adet bırakılır. Petriler etiketlenir ve 3 gün karanlıkta bekletilir. Yaprak diskleri çıkarılır ve glikoz çözeltisindeki küçük bir çentik kesilerik işaretlenir. Klorofili ortadan kaldırmak için kaynayan suyun içine batırılır ve % 90 lik etil alkolün içine bırakılır. Nişasta oluşumu lügol ile test edilir.

14. SOLUNUM

Organik bileşiklerin biyolojik oksidasyonuna solunum denir. Solunum reaksiyonları sırasında organik maddelerin yapısındaki enerji ATP moleküllerine aktarılarak canlılar tarafından kullanılabilen enerji formuna dönüştürülür. Solunum reaksiyonları oksijenli ve oksijensiz olarak iki tipte gerçekleşir. Oksijenli (aerobik) solunum basitçe şöyle gösterilebilir.



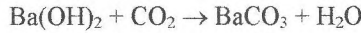
Oksijensiz (anaerobik) solunum veya alkol fermentasyonu ise basitçe şöyle özetlenebilir.



Deney 1. Oksijenli solunumun nicel olarak gösterilmesi

Prensip:

Oksijenli solunum sırasında CO_2 veriminin ölçülmesi için Pettenkofer aygıtı denen düzenek kullanılır. Dışarıdan gelen havanın karbondioksiti, yıkama şişesindeki %10 luk KOH tarafından tutulur. Karbondioksitten arındırılmış havanın oksijeni solunum yapacak bitki tarafından kullanılır ve solunum sonucu dışarıya CO_2 verilir. Solunum sonucu çıkan CO_2 Pettenkofer tüpündeki $Ba(OH)_2$ tarafından tutulur. Sistemdeki hava bir su trompu ile sürekli olarak çekilir ve CO_2 den dolayı $Ba(OH)_2$ bulanmaya başlar.

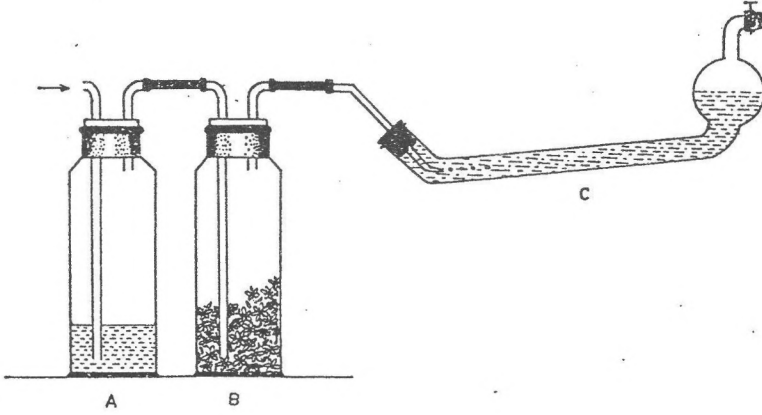


Oluşan $BaCO_3$ ortemdaki alkalinin kuvvetini azaltır. Titrasyonla harcanan asit miktarı belirlenir. Böylece bitkinin belirli bir sürede ne kadar CO_2 verdiği hesaplanabilir.

Materyal:

- Pettenkofer düzeneği
- Çimlenmekte olan tohum veya yeni koparılmış çiçekler
- Titrasyon düzeneği

Deneyin yapılışı:



Şekil 6. Pettenkofer düzeneği

Pettenkofer düzeneği kurulur. Yıkama şişelerinden birine %10 luk KOH çözeltisi, diğerin çimlenmekte olan tohum veya yeni koparılmış çiçekler konur. Pettenkofer tüpünün içine ise $Ba(OH)_2$ konur. Tüpe konan $Ba(OH)_2$ kuvvetli bir asit olan oksalik asit ile titre edilerek asiditesi belirlenir. Titrasyon için küçük bir erlen alınır ve içine 5ml $Ba(OH)_2$ konur, üzerine birkaç damla fenolfitalein ilave edilir ve erguvani renk oluşuncaya kadar büretten oksalik asit damlatılır. Harcanan oksalik asit miktarı tayin edilir. Deney başladıktan 15 dk sonra pettenkofer tüpünden 5ml $Ba(OH)_2$ alınarak tekrar oksalik asitle titre edilir. 15 dk ara ile işlem tekrarlanır. Her ölçüm sonucu için aşağıdaki işlemler yapılır.

$$\text{CO}_2 \text{ mik} = \frac{\text{İlk titrasyon} - \text{son titrasyon}}{\text{alınan Ba(OH)}_2 \text{ miktarı}} \times \text{Tüpteki Ba(OH)}_2 \text{ miktarı}$$

Deney sonucunda elde edilen değerler yerine konularak deney süresi sonunda 1 gr materyalin verdiği CO₂ hesaplanır.

NOT: Oksalik asitin konsantrasyonu, titrasyonda kullanılan 1 ml oksalik asit 1 mg karbondioksit'e eşdeğer olacak şekilde hesaplanır.

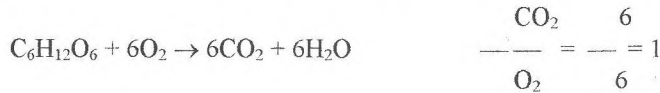
süre (dk)	titrasyonda kullanılan oksalik asit (ml)	Bağlanan CO ₂ miktarı (mg)
0		
15		
30		
45		
60		

Deney 2. Solunum katsayısı ile solunum sübstratının belirlenmesi

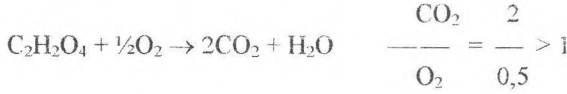
Prensip:

Solunum sırasında belirli bir sürede dışarı verilen karbondioksitin alınan oksijene oranına solunum katsayısı (SK) denir. SK = 1 ise verilen CO₂ alınan O₂ ye eşittir. Bu durum, solunum sübstratının karbonhidrat olduğunu gösterir. SK > 1 ise verilen CO₂ miktarı alınan O₂ den fazladır bu durum solunumda O₂ ce zengin organik asitlerin kullanıldığını gösterir. SK < 1 ise verilen CO₂ alınan O₂ den azdır. Bu durumda solunumda oksijen miktarı az olan yağların kullanıldığını gösterir.

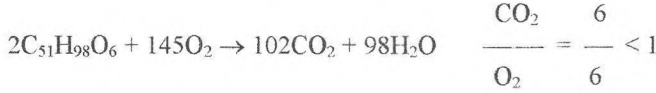
1- Solunum sübstratı karbonhidrat ise:



2- Solunum süstratı organik asitler ise:



3- Solunum süstratı yağ asitleri ise:



Materyal:

- Keten (*Linum*) tohumları, bezelye (*Pisum sativum*) tohumları, yonca (*Medicago sativa*) yaprakları ve damkоруđu (*Sedum*) bitkisi.

- manometre

Deneyin yapılışı:

Farklı materyaller 3 ayrı tüpe konur ve her biri bir manometreye bağlanır. Solunumun gerçekleşmesi için uygun bir ortama konur ve bir süre beklenir. Manometre kollarındaki değışmeler solunum katsayısının değışimini gösterir.

Deney 3. Fermentasyon olayının incelenmesi

Prensip:

Bazı organizmalar solunum sırasında oksijen kullanmazlar. Bu durumda solunum ürünü olarak CO₂ den başka etil alkol ve laktik asit gibi organik bileşikler meydana gelir. Bu olaya oksijensiz solunum veya fermentasyon denir. Oluşan ürünlerin analizi ile bu olayın varlığı anlaşılabilir. Bu deney fermentasyon ürünlerinden CO₂ in analizine dayanmaktadır. CO₂ in varlığı Ba(OH)₂ ile beyaz renkli BaCO₃ çökeleği oluşturmasından anlaşılabilir (bkz. Deney 1).

Materyal:

- Bira mayası (*Sacharomyces cerevisiae*)
- %1 lik glikoz çözeltisi
- %10 luk Ba(OH)₂ çözeltisi

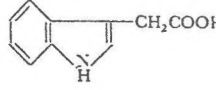
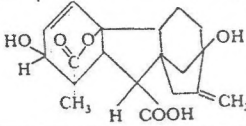
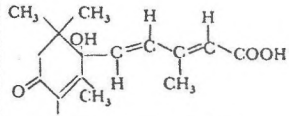
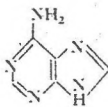
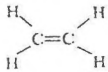
Deneyin yapılışı:

Bir erlene 200 ml, %1 lik glikoz çözeltisi koyulur ve içerisine bir miktar bira mayası karıştırılır. Erlenin ağzına U biçiminde bir cam boru takılır. Cam borunun diğer ucu %10 luk Ba(OH)₂ bulunan tüpe takılır

(borunun ucu çözeltinin içinde olmalıdır). Hazırlanan düzenek 30°C de uzunca bir süre bekletilirse tüpün dibinde beyaz renkli BaCO_3 çökeleğinin biriktiği görülür. Fermentasyonda etil alkol oluşumu ise erlenin tıpası açıldığında karakteristik kokusundan anlaşılabilir. Oluşan BaCO_3 çökeleğinin tartılması ile fermentasyon hızı ve fermentasyonun CO_2 verimi belirlenebilir.

15. HORMONLAR

Bitkiler için hormon terimi doğal olarak bitki tarafından oluşturulan büyüme düzenleyici maddeler için kullanılmaktadır. Bitkilerin çoğunda büyüme 5 ana hormon sistemi tarafından koordine edilir. Bu hormon sistemleri ve bazı özellikleri aşağıdaki tabloda özetlenmiştir.

Hormon veya büyüme düzenleyici	Formülü	Hormon üretimini etkileyen faktörler	Etkilediği bazı işlemler
Öksinler	İndolasetik asit (IAA) 	Işık, yerçekimi	Fotropizma, Geotropizma
Gibberellinler	Giberellik asit (GAA) 	Düşük sıcaklık, ışık (fitokromların yardımıyla)	Çimlenme, uzama, çiçeklenme
Absisinler	Absisik asit (ABA) 	?	Dormansinin uyarılması, Diğer büyüme hor. etkisinin azaltılması
Sitokininler	Adenin türevleri 	?	Protein sentezinin teşviki
Etilen		Işık (Öksin ve fitokromların yardımıyla)	Uzamanın inhibisyonu, olgunlaşma

Deney 1. Kök ve gövde büyümesi üzerine oksinlerin etkilerinin incelenmesi.

Prensip:

Bitkilerin büyümesi meristem hücrelerindeki vakuolleşme nedeni ile hücre çeperinde geri dönüşken olmayan plastik uzama meydana gelmesi ile ilgilidir. Bunun için hücre çeperinin yumuşaması ve içeriye su girmesi gerekir. Oksinlerin farklı konsantrasyonlarının etkisinde uzunluğuna büyüme ve hücre çeper plastisitesi arasında doğru orantı vardır. Ayrıca oksinler yeni hücre çeper materyalinin üretilmesi ve çepere katılmasında teşvik ederek büyümeye neden olmaktadır.

Oksinlerin etki mekanizması asit - büyüme teorisine göre açıklanabilir. Buna göre, zarda bulunan proton pompası H^+ iyonlarını stoplazmadan çepere geçirerek çeperin gevşemesine neden olur. Oksinler bu proton pompasının çalışmasını sağlamaktadır.

Materyal:

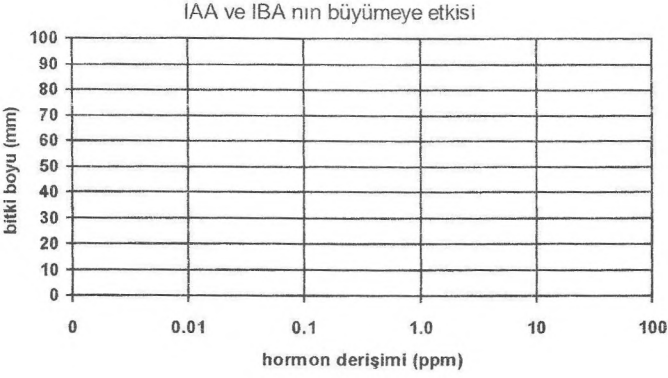
- Tere (*Lepidium sativum*) tohumları
- 12 steril petri kabı
- Filtre kağıdı
- IAA (İndol asetik asit) ve IBA (İndol bütirik asit) çözeltileri. (0.01, 0.1, 1.0, 10 ve 100 ppm)

Deneyin yapılışı:

%1 lik sodyum hipoklorit çözeltisinde sterilize edilmiş 120 tohum ve 12 adet steril petri kabı distile sudan geçirilerek yıkanır. Her petri kabına birer filtre kağıdı yerleştirilir ve 5'er ml distile su ile nemlendirilir. Her petri kabına 10 adet tohum konur. Petri kapları karanlıkta 30°C de 48 saat inkübe edilir.

İnkübatörden çıkarılan petrilere benzer ölçülerdeki sağlıklı fideler seçilir, sağlıklılar atılır. Fideler seçilirken dikkatli davranılmalıdır. Her fidenin kök uzunlukları 10 mm kadar olmalıdır.

Her petriye farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış oksin çözeltilerinden 7'er ml eklenir. 48 saat inkübatörde bekletilir ve tekrar kök gövde ölçümleri yapılır. Her oksin konsantrasyonu için boydaki ortalama artışlar hesaplanır ve grafiğe yerleştirilir. İki oksinin uyarıcı ve inhibe edici etkileri karşılaştırılır.



Deney 2. Gövde uzaması üzerine gibberellinlerin etkilerinin incelenmesi

Prensip:

Gibberellinlerin uzamayı artırıcı etkisi çeper plastisitesi ve hücre özsuynunun ozmotik potansiyelinin azaltılması ile ilgilidir. Gibberellinlerin büyüme üzerindeki etkisi öksinlerinkinden farklıdır. Çepere H^+ salınımı ile ilgili olmadığı düşünölmektedir. Dıştan uygulanan yüksek gibberillin miktarları öksinlerden farklı olarak maksimum büyümeye neden olmaktadır. Ayrıca gibberellinlerin gövde büyümesi üzerine etkisi öksinler tarafından desteklenmektedir.

Materyal:

- *Bryophyllum*, Lahana (*Brassica oleracea*), Bezelye (*Pisum sativum*) (Cüce varyeteler) bitkilerine ait fideler.
- Gibberellik asit (GA) çözeltisi (1/20000) (Bkz. Ek-1)

Deneyin yapılışı:

Sulu GA çözeltisinden bitkinin apeksine bir damla damlatılır. Uygulama 4-5 günde bir olmak üzere 3 hafta kadar devam ettirilir. Bir kontrol bitkisine aynı şekilde distile su uygulanır. Uygulanmış ve uygulanmamış bitkilerdeki büyüme kaydedilir. Her bitki üzerindeki yapraklar sayılır.

	Bitki büyümesi	Yaprak sayısı
Kontrol		
Giberellik asit		

Deney 3. Amilaz aktivitesi üzerine gibberellin etkisinin incelenmesi.

Prensip:

Gibberellinlerin en önemli etkilerinden biri tohum çimlenmesini teşvik etmektedir. Tohum içindeki embriyodan salınan gibberellinler alevron tabakasını etkileyerek hidrolitik enzimlerin (α -amilaz gibi) salınmasına neden olur. Bu enzimler de endospermdeki depo besinlerin parçalanmasını ve kullanılmasını sağlar.

Materyal:

- Arpa tohumları
- Nişasta agar (Bkz. Ek-1)
- GA çözeltisi (Bkz. Ek-1)

Deneyin yapılışı:

İki steril petri kabına 3 mm kalınlığında nişasta agar dökülür. Aynı ortamdan iki petri kabı daha hazırlanır ve 1ml GA stok çözeltisi eklenir (Son konsantrasyon milyonda 10 kısım olmalıdır). GA agar sıvı iken karıştırılmalıdır.

20 arpa tohumunun kabukları soyulur. Bir saat kadar ıslatılır ve bir yarısı embriyoyu içermek üzere ortasından ikiye kesilir. Parçalar %1 lik sodyum hipoklorit e daldırılarak 1 dk steril edilir ve steril su ile yıkanır. Embriyo içeren 5 parça GA içeren bir pleyte yerleştirilir. Embriyo içermeyen 5 parça GA içeren diğer pleyte yerleştirilir. Aynı işlem GA bulandırmayan kontrol pleytlerine yapılır. 25°C de 48 saat inkübe edilir. ve saf iyot çözeltisi ile boyanır. Renksiz alanlar amilaz aktivitesi içermektedir. Bu durum nişasta hidrolizinden anlaşılır.

GA ve embriyonun amilaz enziminin aktivitesi üzerine etkilerini tartışınız.

16. BİTKİLERDE HAREKET

Bitkiler toprağa bağlı olarak yaşadıklarından yer değiştirme hareketi göstermezler. Bununla birlikte bitkilerde hücre ve organ düzeyinde çeşitli hareketler görülmektedir. Bitkilerde hareketin bazı özellikleri aşağıdaki tabloda özetlenmiştir.

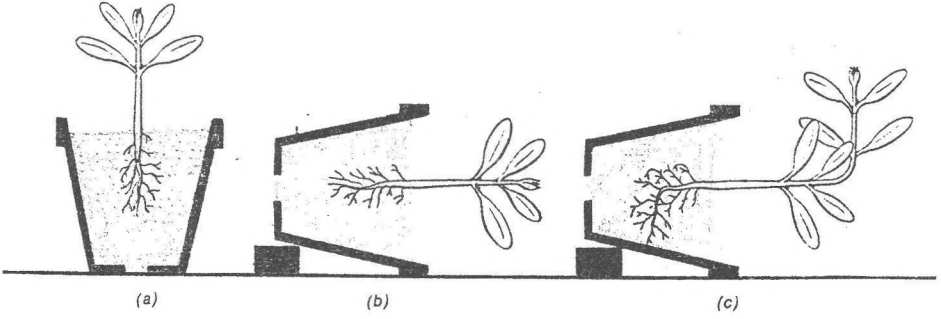
Bitkilerde gözlenen hareket çeşitleri aşağıdaki tabloda özetlenmiştir.

Hareket biçimi	Hareket tipi	Doku	Uyaran
Ölü doku hareketleri	şişme	legümen meyveler	su
	kohezyon	eğrelti sporangiumu	su
Durum değiştirme hareketleri	nutasyon	genç organlar, petioller	asimetrik büyüme
	varyasyon	<i>Echaliun</i> meyveleri	turgor asimetrisi
Etkenin yönüne bağlı durum değiştirme hareketleri (Tropizma hareketleri)	fototropizma	yaprak, çiçek	ışık
	geotropizma	kök (-), gövde (+)	yerçekimi
	kemotropizma	polen tüpü	kimyasal maddeler
	hidrotropizma	kökler	su
	travmatropizma	kökler	yaralanma
Etkenin yönüne bağlı olmayan durum değiştirme hareketleri (Nasti hareketleri)	haptotropizma	sarılcı bitki sülükleri	dokunma
	termonasti	çiçek sepal ve petalleri	ısı
	niktinasti	Fabaceae yaprakları	ışık
	sismonasti	<i>Mimosa pudica</i> yaprakları	dokunma
Yer değiştirme hareketleri (Taksi hareketleri)	fototaksi	<i>Öglena</i>	ışık
	kemotaksi	Eğrelti (<i>Isoetes</i>) spermatozoidleri	kimyasal maddeler
Hücre hareketleri	Amöboid har.	Myxomycetes	ışık, su, kimyasal mad.
	Plazma har.	<i>Elodea</i> , <i>Vallisneria</i> , <i>Chara</i>	ışık ve kimyasal mad.
	Nükleus har.	Hymenomycetes	hücre bölünmesi
	kromatofor har.	yapraklar	ışık

Deney 1. Bitkilerde jeotropizma hareketi

Prensip:

Jeotropizma bitkilerin yerçekimine tepkisidir. Bitkilerin kökleri yerçekimi doğrultusuna gövdesi ise ters doğrultuya yönelir. Bu olay canlı bir bitki ile gösterilebilir. Jeotropizmanın nedeni, oksin dağılımının yeryüzü elektiriksel yükünden kaynaklanan asimetrisidir.



Şekil 7. Pozitif ve negatif jeotropizma. a) Bitki normal büyüme pozisyonunda, b) aynı bitki 90° yan yatırılmış, c) yerçekimi etkisine kök ve sürgün tepkisi.

Materyal:

Saksısı ile birlikte bir kolyoz (*Coleus*) bitkisi.

Deneyin yapılışı:

Kolyoz bitkisi yatık olarak bir masaya yerleştirilir. Bitkinin büyüme değişiklikleri zaman zaman not edilir.

Deney 2. Bitkilerde fototropizma hareketi

Prensip:

Fototropizma bitkilerin ışığa yönelme tepkisidir. Bitki organları ya ışık yönüne yada aksi yöne yönelirler. Fototropizmaya bitkilerde bulunan pigmentler neden olur.

Materyal:

Karanlıkta çimlendirilmiş arpa tohumları
Kırmızı ve mavi ışık kaynakları

Deneyin Yapılışı:

Topraktan yeni çıkmış arpa koleoptilleri karton kutulara konarak tek yönlü olmak üzere kırmızı ve mavi ışıkla ışıklandırılırlar. Bir süre sonra koleoptillerin yönelme davranışları gözlenerek not edilir.

17. BİTKİ DOKU KÜLTÜRÜ

Bitki doku kültürleri temelde bir üretim yöntemidir. Bitkinin çeşitli kısımlarından alınan küçük bir parçanın (explant) sterilize edildikten sonra çeşitli maddeleri içeren steril gıda ortamında (in vitro) ve uygun çevre koşullarında kültüre alınması işlemidir. Mikro üretim veya aseptik kültür adıda verilir. Embriyo, meristem, kallus, protoplast kültürleri gibi çeşitli tipleri vardır.

Bu teknikle fizyoloji, biyokimya, sitoloji ve genetik ile ilgili konularda problemin çözülmesi için yeni olanaklar sağlanmıştır. Bu temel konuların yanısıra bitki ıslahı, üretimi, çeşitli bitkisel metabolitlerin elde edilmesi bitki materyalinin uzun süre korunması gibi uygulama alanlarına sahiptir.

Bitki doku kültür tekniğinin üç temel esası vardır.

- 1- Kültürün gelişmesi için gerekli organik ve inorganik maddeleri içeren steril bir besin ortamının hazırlanması.
- 2- Bakteri, mantar veya her ikisini taşıyan ve kültüre alınacak bitki parçasının orijinini oluşturan ana materyalin dezenfekte edilmesi.
- 3- Orijin bitkiden istenen eksplantın (meristem, anter, embriyo, yaprak ucu vb.) alınarak steril gıda ortamına, steril koşullarda konulması ve gelişmesi için uygun çevre şartlarına yerleştirilmesi.

LABORATUAR ORGANİZASYONU

1-Ön Hazırlık Odası : Gıda ortamının hazırlandığı, bitkinin temizlenip sterilize duruma getirildiği kullanılan kap ve malzemenin olduğu oda. Hassas terazi, pH metre, otoklav, etüv, buzdolabı, malzeme dolabı, banko, lavobo, gaz ocağı, vb.

2-Kültür Hazırlama Odası: Bu kısım temiz ve hava akımının olmadığı bir oda olmalı. Steril oda veya steril kabin, steril odalar penceresiz, yıkanabilir özellikte, sıcaklık ayarlı, personel de buraya steril giysi ve ayakkabı ile girmeli ağız maskesi kullanılmalı.

3-İnkübasyon odası: Sabit ışık ve sıcaklık ayarı olan odalardır. Işık istemeyen kültürler için karanlık oda kısmı, ayarlı floresan lamba, kültürlerin konacağı raflar, amaca göre ışığı azaltan veya artıran bir düzenek bulunmalıdır.

BESİN ORTAMI

Bir doku için en uygun gıda ortamı denemeler ile saptanabilir. Bütün gıda ortamlarının temeli gerekli makro ve mikro elementlerin, mineral tuzların, karbon kaynağı olarak şekerlerin belirli miktarda karıştırılmasıdır.

Bir besin ortamında bulunan maddeler dört grupta toplanır.

1-Su (saf su kullanılmalı)

2-İnorganik bileşikler: Karbon, oksijen, Hidrojen en fazla istenen elementlerdir. Azot genellikle NO_3^- veya NH_4^+ şeklinde, fosfor HPO_4^- şeklinde, kükürt SO_4^{2-} şeklinde bulunmalıdır. Potasyum, kalsiyum, magnezyum, sodyum ve klor iyonları yeterli miktarda katılmalıdır. Ayrıca mikroelementler az miktarda eklenmelidir. Demir çeşitli şekillerde gıda ortamına katılabilir; demir tartarat, demir EDTA, demir klorür, demir sülfat gibi.

3-Organik bileşikler:

a)Karbonhidratlar: Genel olarak % 2-3 şeker eklenen gıda ortamlarında sakkaroz en fazla kullanılandır. Bazı durumlarda fruktoz ve glikoz kullanılır. Laktoz, maltoz, galaktoz ve nişasta genel olarak olumlu sonuçlar vermemiştir.

b)Vitaminler: Bitkiler vitaminleri kendileri sentezleyebilirlerse de kültür koşullarında bazı vitaminler yetersiz kalmaktadır. Tiamin (B_1) 0,1-1 mg/l, nikotinik asit 0,5 mg/l, piridoksin 0,5 mg/l, inositol 100 mg/l katılmalıdır. Biotin, folik asit, ribofilavin, askorbik asit gibi vitaminlerde tedbir olarak katılabilir.

c)Hormonlar: En kritik ve özel önemi olan hormonlar öksinler ve sitokininlerdir. Kök/sürgün oranı öksin/ sitokinin oranına bağlıdır. Sitokinin fazla ise sürgün, öksin fazla ise kök gelişimi fazladır. İndol asetik asit (IAA), İndol bütirik asit (IBA), naftalen asetik asit (NAA), zeatin, 2,4 di klorofenoksi asetik asit, Benzilaminopürin (BAP), kinetin (6 furfil amino pürin), İzopentil adenzin (IPA), 2 izopentil adenin (2IPA), bazı durumlarda gibberellinler (sürgün yerine kallus oluşması isteniyorsa) kullanılır.

d)Amino asit ve diğer azotlu bileşikler: Amino asitler ve amidleri bazı kültürler için yararlıdır.

4- Doğal bileşikler: Hindistan cevizi, mısırın endospermi, muz, portakal, domates, meyve pulp ve suları, kazein, laktalbumin gibi hidrolize proteinler, malt, bira mayası, balık yağı gibi ürünler.

DOKU KÜLTÜRLERİNİN UYGULAMA ALANLARI

Bitki hücre ve doku kültürleri alanında son gelişmeler; hücre bölünmesi, hücre beslenmesi, totipotensi durumu, radyobiyojoloji, hücre muhafazası genetik ve fizyoloji gibi çeşitli temel konulardaki problemlerin çözümünde yardımcı olmuştur. Bitki doku kültürlerinden yararlanma alanlarını şöyle sıralayabiliriz.

- 1-Hızlı üretim
- 2-İslah
- 3-Virüssüz bitki elde etmek
- 4-Uzun süreli muhafaza
- 5-Sekonder metabolit üretimi

1-Hızlı üretim: Bugün geliştirilmiş olan in vitro ve mikro üretim yoluyla bitkinin kısa bir sürede fazla sayıda çoğaltılabilmesi mümkündür. Bu yolla yeni ıslah edilmiş hibrit bitkiler diğer klasik yöntemlere göre çok kısa zamanda ticari amaçlara uygun miktarlarda çoğaltılması başarılabilmektedir.

- Hastalıklardan arındırılmış stoklardan üretim yapmak.
- Yıl boyu üretim yapmak.
- Kültür aşamasında olan bitkiler kolaylıkla ülkeler arasında transfer edilebilir.

a)Eksplantlardan adventif sürgünlerin direkt olarak oluşması. Yaprak, kök, gövde yüksek totipotente sahip ya kallus ya adventif sürgün oluşur. Oksin sitokinin oranı kallus oluşumunda etkilidir. Sürgün gelişimi sitokinin artırılarak sağlanır.

Sürgünler ikinci eksplant olarak kullanılabilir. Gelişen sürgünler birkaç mm kalacak şekilde kısaltılır ve anaç dokudan daha fazla sürgün çıkması teşvik edilir. Süsen (Iris) yılda 5 yavru yumru meydana getirir. Ancak çiçek sapından alınacak 1mm kalınlıktaki bir parça NAA ortamında çok miktarda sürgün oluşturur ve bir soğan sapından 100 yeni bitki meydana gelir.

b)Kallus veya hücre süspansiyonlarının adventif sürgünlerin oluşması : Kallus geliştiği ortamdan daha zayıf gıda ortamına alınırsa sürgün (totipotent hücreleri) meydana getirir. Daha zengin besiyeri ortamına alınırsa kallus oluşur. Sıvı ortama alınırsa gevşek yapılı olurlar ve küçük hücre grupları ve tek hücrelere ayrılırlar. Bu hücre süspansiyonları katı ortama alındıklarında direkt olarak adventif embriyolar oluşturabilir

veya rejeneratif kallus meydana getirebilir. Üretim için kallus ve hücre süspansiyonu en çok düşünülen bir yoldur. Sürgünler köklenmeyi teşvik edici ortamlarda köklendirilir. Transfer için optimum devre köklerin gelişmeye başladığı yaprakların kendilerinin fotosentez yapabildiği devredir.

2-İslah : Melezleme ile işe başlanır. Melezler kendilendikten sonra karakterlerin kombinasyon durumları gözlenir.

a)Üretim:Bitki ıslahçıları selekte ettikleri tek bitkileri kısa bir sürede üretebilme şansına sahip olabilmektedir.

b)Varyasyon:İshtan amaç istenilen özelliklere sahip yeknesak bitkiler elde etmektir. Buda varyasyon yaratma ve istenilen karaktere sahip bitkilerin seçimi ile olur. Varyasyon yaratma 1- embriyo kültürü, 2- mutasyon, 3- haploid bitki elde etme 4- Protoplast kültürü ve 5- somatik hibridizasyon ile olur.

c)Transformasyon:Genetik mühendisleri tarafından hücrelerde yapılan modifikasyonlar daha önceleri mümkün olmayan şekilde genler ile uğraşım yollarını açmıştır. Bu sayede istenilen özellikler bitkilere aktarılabilmektedir.

3-Virüssüz bitki elde etmek:

a)Bitkide mevcut virüslerin tanımlanması.

b)Virüsü elemine etmek için gerekli tedavi edici işlemlerin yapılması. (termoterapi - meristem kültürü).

c)Bu işlemler sonucu elde edilen bitkilerin testten geçirilmesi

d)Tekrar enfeksiyon olmayacak bir ortamda muhafaza edilen sağlıklı bitkilerin üretimi.

Doku kültürünün kullanılması halinde tek bir sağlıklı bitki elde edilmesi üretimde başlangıç için yeterlidir. Bu bitki sonradan ya geleneksel üretim yöntemleri yada hızlı doku kültürü yöntemleri ile çoğaltılabilmektedir. .

4-Uzun süreli muhafaza: Genetik kaynak olarak korunması sözkonusu olan bitkiler, ister ticari amaçla kullanılan varyeteler olsun, ister pirimitif varyeteler veya yabani türler olsun başlıca 3 ana guruba ayrılabilirler.

a)Tohumları -20 ve daha düşük sıcaklıkta % 5-7 nem içeren ortamlarda uzun süre saklanan tohumlar.

b)Nem miktarı düşünce canlılığı azalan depolanamayan kısa ömürlü bitkiler.

c) Heterozigot olan, tohumla üretilmeleri istenmeyen veya mümkün olmayan ve dolayısıyla vejetatif üretilen bitkilerin muhafazası 1-arazide, 2-çelik, aşı kalemi, 3-seralarda, 4-polen muhafazası, 5-doğada muhafaza, 6- *in vitro* koşullarda yapılabilmektedir.

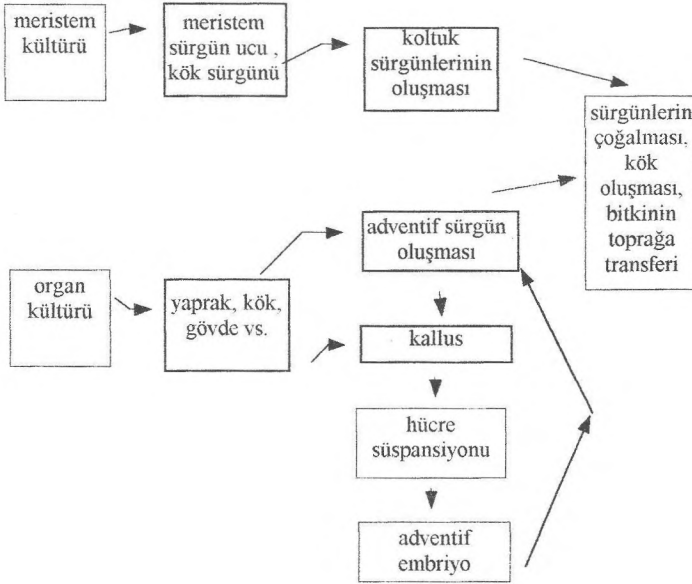
5-Sekonder metabolit üretimi:

Bitkiler, oldukça değişik maddeleri sentez edebilecek yapıya sahiptirler. Bu maddeler çok eski yıllardan beri gıda, tat, aroma, tıbbi madde ve enerji kaynağı olarak değerlendirilmektedir. Bitkilerde bulunan ana maddelerin yanısıra, ekonomik yönden önemli olduğu kadar fizyolojik ve ekolojik önemleri olan sekonder metabolitlerin üretilmesinde doku kültüründen yararlanılmaktadır. Bitki hücrelerinin mikroorganizmalar gibi sıvı bir besin ortamında süspansiyon şeklinde gelişebilme yeteneği bu tekniğin birçok sanayi dalında kullanılmasını gündeme getirmiştir.

Doku kültürü ile üretilen sekonder metabolitler arasında fitosteroller, flavonoidler, tanenler, antrakinonlar, yağlar, reçine ve kauçuk sütü gibi maddeler bulunmaktadır.

MİKRO ÜRETİM DEVRELERİ

Aşağıdaki şemada doku kültürü üretim aşamaları özetlenmiştir.



Şekil 8. Doku kültüründe üretim aşamalarının şeması

EKLER

EK-1 ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI

Baryum hidroksit çözeltisi: 50 gr $Ba(OH)_2$ ve 15 gr $BaCl_2$ 500 ml kaynamakta olan suda çözülür. Erlenin ağzı mantar kapak veya parafilm ile iyice kapatılır ve soğumaya bırakılır. Fazla $Ba(OH)_2$ kristallenir. Berraklaşan sıvı havayla temas ettirilmeden bir boru yardımıyla başka bir kaba aktarılır. Taze kaynatılmış distile su ile 1 lt ye tamamlanır ve soğutulür.

Fehling ayrıracı:

A çözeltisi: 35 gr bakır sülfat ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) bir miktar saf su ile çözülür ve 500 ml ye tamamlanır.

B çözeltisi: 120 gr KOH ve 173 gr Na-K tartarat bir miktar suda çözülür ve 500 ml ye tamamlanır.

Fenol Fitalein Çözeltisi: 1 gr fenol fitalein 100 ml alkolde çözülür.

Floroglisin: 1gr fluroglisin 100 ml %95 lik alkolde eritilerek hazırlanır (*Uzun süre beklerse bozulur*).

Gibberellin (GA): 0.1 gr gibberellik asit 2 ml etanolde çözülerek bir stok çözelti yapılır. Bu hacim 100 ml ye tamamlandığı zaman 1/1000 lik bir çözelti olur. Buzdolabında koyu renkli şışede birkaç hafta saklanabilir.

İndolasetik asit (IAA): 2ml etanolde 0.1 gr IAA çözülerek bir stok çözelti hazırlanır. 80 °C ye ısıtılmış 900 ml suya karıştırılır ve hacim 1 lt yapılır. Bu stok çözelti 1/10000 dir. Buzdolabında birkaç hafta saklanabilir ve gerektiğinde seyreltilebilir.

İndolbütirik asit (IBA): IAA gibi hazırlanır.

Lügol (IKI): 5 gr iyot kristali ve 25 gr potasyum iyodür (KI) bir havanda ezilerek birbirine iyice karıştırılır ve saf suda çözülerek 1 lt ye tamamlanır.

Metil Oranj Çözeltisi: 100 mg metil oranj 100 ml suda çözülür, gerekirse süzülür.

Millon ayracı:

A çözeltisi: 100 ml % 98 lik H_2SO_4 ve 800 ml saf su karıştırılır ve dikkatlice 100 gr civa II sülfat ($HgSO_4$) eklenerek filtre edilir. Hacmi 1 lt'ye tamamlanır (*Bu çözeltinin hazırlan-masında ve taşınmasında dikkat edilmelidir.*)

B çözeltisi: 10 gr saf sodyum nitrit ($NaNO_2$) 1 lt saf suda çözülür.

Nessler Reaktifi: 10 gr KI 10 ml suda çözülür. Bu çözeltiye hafif kırmızı bir çökelek kalıncaya kadar karıştırarak doymuş civa II klorür ($HgCl_2$) çözeltisi yavaşca ilave edilir. Bu karışıma 60 ml suda çözünmüş 30 gr KOH in buzda soğutulmuş çözeltisi eklenir. Sonra 1 ml daha doymuş civa II klorür çözeltisi eklenir. Su ile 200 ml ye seyreltilir. Çökmesi beklenir ve berrak kısım süzülerek alınır.

Nişasta Çözeltisi: 0.5 gr nişasta veya çözünebilir nişasta 5 ml su ile ezilir. devamlı çalkalayarak 100 ml su eklenir. Birkaç dakika kaynatılır, soğutulur ve süzülür.

Nişasta Agar Ortamı: %1 agar içinde %0.5 nişasta eklenir.

Schweitzer ayracı: 10 gr $CuSO_4$ 100 ml suda eritilir. yavaş yavaş 100 ml % 10 luk KOH eklenir. Oluşan $Cu(OH)_2$ çökeleği süzülerek suyla yıkandıktan sonra 20 ml amonyak içinde eritilir (*Taze kullanılmalıdır.*)

Seliwanof ayracı: 1.7 gr rezorsin 100 ml derişik HCl içinde çözülür.

Sudan III çözeltisi: 0.1 gr sudan III 10 ml % 95 alkolde eritilerek 10 ml gliserin ile karıştırılır.

Sakkaroz tamponu (Kloroplast ekstraksiyonu için): Aşağıdaki maddeler verilen oranlarda karıştırılır.

Susuz disodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4)	2.8 gr
Potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4)	6.4 gr
Sakkaroz	102.8 gr
Potasyum klorür	37.0 gr
Saf su	1 lt ye tamamlayacak kadar

Tamponlanmış % 80 lik aseton: %80 lik aseton sodyum fosfat tamponu ile pH=7.8 olacak şekilde düzenlenir

EK-2 ÖLÇÜ BİRİMLERİ

UZUNLUK BİRİMLERİ

1 metre	m	1000 mm
1 milimetre	mm	1000 μm
1 mikrometre	μm	1000 $\text{m}\mu$
1 milimikron	$\text{m}\mu$	10 Å
1 angstrom	Å	10^{-10} m

AĞIRLIK BİRİMLERİ

1 kilogram	kg	1000 gr
1 gram	gr	1000 mg
1 miligram	mg	1000 μgr
1 mikrogram	μgr	10^{-9} kg

HACİM BİRİMLERİ

1 metreküp	m^3	1000 dm^3 (lt)
1 litre	lt	1000 ml (cm^3)
1 mililitre	ml	1000 μl
1 mikrolitre	μl	10^{-6} lt

YÜZEY (ALAN) BİRİMLERİ

1 metrekare	m^2	100 dm^2
1 desimetrekare	dm^2	100 cm^2
1 santimetrekare	cm^2	100 mm^2
1 milimetrekare	mm^2	10^{-6} m^2

BASINÇ BİRİMLERİ

1 atmosfer	atm	1.01325 bar
1 bar	bar	10^5 Pa (N/m^2)
1 Pascal	Pa	19.87×10^{-6} atm
1 mm / Hg	torr	133.3 Pa

KONSANTRASYON BİRİMLERİ

1 molar	M	1000 mM
1 milimolar	mM	1000 μM
1 mikromolar	μM	10^{-6} M

KAYNAKLAR:

- BARON, W. M. M. Organization in Plants, Edward and Arnold Ltd., 1986.
- BOZCUK, S. Bitki Fizyolojisi, Metabolik olaylar. Hatiboğlu yayınevi, ANKARA, 1986
- DEMİRCİ, Ş., ALSANCAK ÖZKAN, G. Analitik Kimya. Temel Kavramlar. A.Ü.F.F. Yayınları No: 34, ANKARA, 1995.
- DEVLİN, R. M. Plant Physiology, D. Van Nostrad Comp., 1975.
- DUYGU, E., ÖNCEL, I., ÖKTEM, Y., ALKAN, R., KAMBEROĞLU, D. Genel Biyolojik Teknikler Laboratuar Kılavuzu. Cilt 1-A. Utku Yayınevi ANKARA, 1981.
- EDWARD, L. J. STEVENSON, R. Basic Liquid Chromatography. Polo Alto, California. 1978.
- HALBOURN, C. L. A. Gas Chromotography. Adlard and Son Ltd. Batholonew Pres. 1969.
- HARPER, H. A. Review of Physiological Chemistry. Lange Medical Pub. 1975.
- HASMAN, M. Bitkilerin Metabolizma Fizyolojisi, İst. Üni. Yayınları, İstanbul Matbaası, 1972.
- JOHNSON, E. L., STEVENSON, R. Basic Liquid Chromatography. 1978.
- KACAR, B. Bitki Besleme, Ank. Üni. Ziraat Fak. Yayınları: 899, 1984.
- KACAR, B. Bitki Besleme Uygulama Kılavuzu, Ank. Üni. Ziraat Fak. Yayınları: 900, 1984.
- KACAR, B. Bitki Fizyolojisi Uygulama Klavuzu, Ank. Üni. Ziraat Fak. Yayınları, 1990

- KRAMER, P. J. Water Relations of Plants, Academic Press Inc., 1983.
- LAWLOR, D. W. Photosynthesis: Molecular, Physiological and Environmental Processes, Longman, 1993.
- MAHADEVAN, A., SRİDHAR, R. Methods in Physiological Plant Pathology. Sivakami Publications. 1982.
- ÖNDER, N. Genel Bitki Fizyolojisi, İst.Üni. Fen Fak. Yayınları, 1985
- ONDER, N., YENTÜR, S. Bitki Fizyolojisi Laboratuar Kılavuzu, İst. Üni. Fen Fak. Yayınları, 1991.
- PALAVAN-ÜNSAL, N., Bitki Büyüme Maddeleri, İst. Üni. Basımevi, 1993.
- VARDAR, Y. Bitki Fizyolojisine Giriş, Ege Üni. Fen Fak. Kitaplar Serisi, 1967.

İNDEKS

A

alanin, 64
 aldehit, 35; 36
 alkol, 7; 19; 33; 57; 63; 70; 77; 78; 81
 allofikosiyenin, 69
 amilopektin, 32
 amiloz, 77
 amino asit, 36; 58
 anisidin, 64
 Antosiyenin, 2; 42; 50; 51; 62; 63; 64; 70;
 71; 72
 antrakinonlar, 91
 anyon, 1; 30; 59
 arjinin, 64
 aseptik kültür, 88
 asetatlar, 20
 asimetrik büyüme, 86
 askorbik asit, 37; 89
 ayırma hunisi, 62; 70
 azot, 40

B

Beta vulgaris, 43
Brassica oleracea, 84
 Buhner hunisi, 14
 Bunzen ocakları, 17
 büret, 45

C

cam çubuk, 60; 61
 Chara, 86

Ç

çözeltiler, 19; 20; 22; 25; 40; 41; 51

D

Dahlia variabilis, 33
 delfinidin, 64
 demir, 75; 89
 dielektrik sabiti, 19
 doku kültürü, 91

dormansi, 47

E

Ecbalium, 86
 eksplant, 90
 elektrolit, 19; 41
Elodea, 42; 73; 74; 86
 erlen, 79
 etil alkol, 7; 19; 63; 70; 77; 81
 ettüvler, 17

F

fehling ayıracağı, 35; 36; 94
 fenil propan, 34
 fenolfitalcin, 79
 fermentasyon, 81
 fırınlar, 6
 fikoeritrin, 69
 fikosiyenin, 69
 fitosteroller, 91
 fluroglisin, 34; 94
 folik asit, 89
 fosfor, 7; 89
 fotosentez, 40; 68; 73; 74; 75; 90
 fototaksi, 86
 fototropizma, 2; 86; 87
 fruktoz, 33; 35; 64; 89

G

geotropizma, 86
 gibberellik asit, 22; 94
 gibberellinler, 85; 89
 glikoz, 21; 32; 34; 35; 36; 64; 76; 77; 81;
 89
 glisin, 64
 glutamik asit, 64

H

haptotropizma, 86
 havan, 69
Helianthus tuberosus, 33
 heterojen karışımlar, 19
 hidroksitler, 20

hidrotropizma, 86
Hücre çeperi, 29; 76; 83

I

Isoetes, 86
inülin, 33
iyot, 5; 32; 85; 94
iyot çözeltisi, 5; 32; 85
izotonik çözelti, 41; 42

J

Juglans, 37
Juglans regia, 37

K

kalsyum, 21; 49; 57
karbonhidrat, 76; 80
karoten, 64
karotenoidler, 69; 71
katyon, 1; 21; 30; 58
kauçuk sütü, 91
kemotaksi, 86
kemotropizma, 86
keton, 35; 36
klorofil, 29; 64; 69; 70; 72
kohezyon, 86
kolloitler, 19
kPa, 41; 42; 43
kromatlar, 20
kromatografik yöntem, 56; 57
ksantofiller, 69
ksantoprotein reaksiyonu, 36; 37
kükürt, 69; 73; 89
kum kültürü, 2; 55
kuru distilasyon, 29; 30
kuru yakma, 17; 30; 31
kurutma dolapları, 6

L

Lactuca sativa, 48
Lepidium sativum, 83
lignin, 34
Linum, 40; 48; 81
lösin, 64
lügol, 32; 33; 34; 77

M

maltoz, 35; 89
manometre, 81
Medicago sativa, 81
mikro üretim, 89
millon ayırıcı, 36; 94
Mimosa pudica, 86
Myxomycetes, 86

N

naftalen asetik asit, 89
Nargessus, 43
nicel analiz, 5
nikotinik asit, 23; 89
niktinasti, 86
ninhidrin, 36; 63
nişasta, 2; 5; 32; 57; 76; 77; 85; 89; 94
nişasta agar, 85
nişasta sintaz, 77
nitel analiz, 1; 5; 30; 32; 33; 34; 35; 36;
37; 38
nitrik asit, 16; 36; 37
nükleik asit, 29; 32; 56
nükleotid şekerler, 77
nutasyon, 86

O

odun, 34
oksalik asit, 64; 79; 80
oksijensiz solunum, 81
oksinler, 83
Olea europea, 37
ortalama hata, 8
ortalama sapma, 8
osmometre, 44
osmotik basınç, 41; 42
osmotik konsantrasyon, 2; 41; 42
osmoz, 44

P

pelargonidin, 64
Pelargonium zonale, 75; 77
peonidin, 64
petri kabı, 49; 77; 83; 85
petrol eteri, 62; 70; 71
Pettenkofer düzenegi, 79
pigment, 68; 69
pipet, 15; 60
plazmoliz, 2; 41; 42
polisakkarit, 33
potasyum, 16; 25; 32; 49; 94
potometre, 45
ppm, 22; 48; 49; 83
primer iyon etkisi, 40
prolin, 64

R

reçine, 91
rezorsin, 95

S

Sacharomyces cerevisiae, 81
sakkaroz, 36; 41; 42; 43; 44; 57; 64; 76; 89
Schweitzer ayırıcı, 34

sekonder iyon etkisi, 40
 Selivanof ayırıcı, 35; 36
 sellöbiyoz, 34
 selüloz, 34; 58; 64
Sesamum indicum, 48
 seyreltme, 25
 sınır plazmoliz, 41; 42

Ş

şişme, 2; 40; 41; 86

S

sismonasti, 86
 siyanidin, 64
Solanum tuberosum, 32; 43
 solunum, 2; 78; 80; 81
 solunum katsayısı, 80; 81
Spinaca oleracea, 75
 standart sapma, 8
 su kültürü, 2; 51; 55
 su potansiyeli, 2; 42; 43
 su trompu, 78
 Sudan III, 37; 95

T

tanenler, 91

tartım, 17
 teraziler, 17
 termonasti, 86
 tirozin, 64
 titrasyon, 5; 13; 80
 transpirasyon, 45
 travmatropizma, 86
Triticum aestivum, 29
 turgor, 40; 46; 86
 turgor asimetrisi, 86
 turgor durumu, 40

V

Vallisneria, 86
 varyasyon, 86; 90

Y

yağ, 17; 37; 81
 yeşil kültür bakterileri, 73
 yıkama, 6; 9; 16; 30; 78
 yıkama şişesi, 30; 78

Z

zeatin, 89
Zebrina, 42