الفصل السادس

الإنزيمات
Enzymes

مقدمة

أمدت الدراسات الحديثة بالمعلومات الدقيقة عن الإنزيمات وأهميتها على الأخص تلك الأبحاث التي أجريت لدراسة المنظومات الأنزيمية خارج الخلية والتي أعطتنا صورة جيدة عن توزيع ونشاط الإنزيمات داخل الخلية الحية. وتعتبر الخميرة والبكتيريا والطحالب مصادر ممتازة لمثل هذه الأنواع من الدراسات؛ نظراً لمحتواها البروتيني العالي ولتركيبها الأقل تعقيداً من النباتات الراقية. أيضاً الوظائف الفسيولوجية لبعض أجزاء الخلية تعتبر مرشداً ممتاز عن مواقع الإنزيمات ذات الصلة بهذه الوظائف، فعلى سبيل المثال لقد عُرِفت الرايبوسومات Ribosomes على أنها جسيمات سيتوبلازمية مهمتها الرئيسية تكوين البروتين، لذلك فإن الإنزيمات المحفزة للسلاسل ذات الروابط الببتيدية Peptide chains لا بد وأن توجد على سطح الريبوسوم أو في المناطق الملاصقة لهذه الريبوسومات.

لذلك تعتبر الإنزيمات مواد بروتينية تكونت بواسطة الخلايا الحية وهي تساعد تفاعلات معينة دون التأثير على ثابت الاتزان للتفاعل. وقد وجد بالتجارب أن درجة الحرارة العالية، والكحولات، وأملاح المعادن الثقيلة، والأحماض المعدنية المركزة،

تحدث ترسيب للإنزيمات وبذلك تفقد نشاطها. وللإنزيمات تخصص في عملها حيث إن لكل مركب إنزيم معين يستطيع أن يحلله.

توزيع الإنزيمات في النبات
Distribution of Enzymes in the Plant

الكثير من إنزيمات أيض الخلية ذات صلة كبيرة بجسيمات سيتوبلازم الخلية، وقد يوجد أعلى تركيز لهذه الإنزيمات في الميتوكوندريا والبلاستيدات الخضراء. كما اتضح أن الإنزيمات الضرورية للأكسدة التامة للبيروفيت في دورة كربس إلى H_2O و CO_2 موجودة في الميتوكوندريا، وهذا يشمل الأنزيمات الضرورية لتمرير الإلكترونات إلى الأكسيجين لتكوين الماء. ومرور الإلكترونات من المركبات المرحلية لدورة كربس إلى الأكسيجين يحدث عن طريق السيتوكروم Cytochrome أو منظومة نقل الإلكترون وينتج عن ذلك تكوين ATP. كما تحتوي البلاستيدات الخضراء على الإنزيمات اللازمة لتفاعلات الظلام في عملية البناء الضوئي (تحويل CO_2 إلى مادة عضوية) موجودة في أرضية البلاستيدات الخضر. كذلك إنزيم Deoxyribonuclease موجود في النواة والذي يحفز إنشقاق الحمض النووي DNA بالتحلل المائي. كذلك في البكتيريا التي تستعمل البروتينات والسكريات المتعددة كغذاء، فهذه الجزيئات كبيرة الحجم ومعقدة جداً ولا يمكنها اختراق غشاء الخلية إلا أن البكتيريا تفرز إنزيمات تختزل هذه الجزيئات إلى جزيئات أصغر قادرة على اختراق الخلية.

لذا فإن الإنزيم Enzyme هو عبارة عن عامل مساعد عضوي حيوي Biological catalyst تنتجه الخلايا الحية، وتتخصص الإنزيمات المختلفة في المواد التي تعمل على إسراع تفاعلها أو بدء وإسراع ذلك التفاعل بدرجات متفاوتة.

تنقسم الإنزيمات حسب التفاعل الذي تؤثر في سرعته إلى :

١- إنزيمات هاضمة أو محللة Hydrolases or hydrolytic enzymes

وتقوم هذه الإنزيمات بتحليل مواد مركبة إلى نواتج بسيطة للاستفادة بها في جسم الكائن الحي، أو ليؤثر في تلك النواتج إنزيمات أخرى لا يمكنها التأثير في المواد المركبة الأصلية ومن أمثلتها (إنزيم الدياستيز أو الأميليز Diastase or Amylase، إنزيم السكريز أو الأنفرتيز Sucrase or Invertase، وإنزيم الببسين).

٢- إنزيمات التخمر Fermentation enzymes

مثل إنزيم الزيميز، وفي الواقع لا يوجد هذا الإنزيم منفرداً بل مرتبطاً مع مجموعة من الإنزيمات توجد في خلايا فطرة الخميرة Yeast وتشترك جميعها على التعاقب في تحليل المادة السكرية المضافة والقابلة للتخمر، ويكون من نواتج التحلل النهائي تكون ثاني أكسيد الكربون CO_2 بجانب نواتج أخرى يسمى التفاعل باسمها، مثل التخمر الكحولي، وتخمر حمض اللاكتيك.

٣- الإنزيمات المؤكسدة Oxidation enzymes

من المعروف أن التأكسد والاختزال عمليتان متضاربتان متلازمتان، فإذا تأكسدت مادة ما فقد اُختزلت في الوقت نفسه مادة أخرى. وتتأكسد المادة إما بإضافة الأكسيجين إليها (تأكسد أول أكسيد الكربون إلى ثاني أكسيد الكربون)، وإما نزع الهيدروجين منها (تأكسد كبريتيد الهيدروجين إلى عنصر الكبريت)، وإما بفقدها إلكتروناً وإما أكثر (تأكسد الحديدوز إلى حديديك). ومن أمثلة الإنزيمات المؤكسدة إنزيم Tyrosinase الذي يساعد على تأكسد عدد كبير من المواد الفينولية ويعزى إليه تغير لون الأنسجة النباتية عند تعرضها للجو. ومنها أيضاً إنزيمات الديهيدروجينيز Dehydrogenase التي تقوم بالأكسدة عن طريق نزع الهيدروجين من مركب ونقله إلى

مركب آخر ومن أمثلة هذه المجموعة إنزيم Alcohol dehydrogenase الذي يوجد في النبات.

وتخصص الإنزيمات من أهم الظواهر البيولوجية والتي بدونها لا تنتظم عملية تمثيل المادة الحية، ومن البديهي أن الإنزيمات لو كانت غير متخصصة لأثرت على مادة الخلية نفسها وهدمتها.

العوامل المؤثرة في نشاط وفاعلية الأنزيم Factors affecting enzyme activity

التفاعلات المحفزة بالإنزيم مثل كل التفاعلات الكيميائية، تتأثر بالعوامل الخارجية. ونظراً لطبيعتها البروتينية فإن الإنزيمات غالباً ما تكون حساسة للمؤثرات المتأرجحة المحيطة بها. لذلك معدلات التفاعل المحفزة بالإنزيمات تتأثر بالعوامل التالية:

(أ) تركيز مادة الأساس Substrate concentration

(ب) تركيز الإنزيم Enzyme concentration

(ج) درجة الحرارة Temperature

(د) الرقم الهيدروجيني pH

بالإضافة إلى ذلك فإن سرعة التفاعل الإنزيمي تتأثر بطبيعة نواتج التفاعل وكذلك بالمثبطات Inhibitors وكذلك تتأثر بالضوء Light، ويمكن تقدير نشاط الإنزيم بقياس وتتبع التغير الكيميائي الحادث للمادة الداخلة في التفاعل بواسطة الإنزيم وذلك بقياس الزيادة في النواتج أو بقياس النقص في المادة الداخلة في التفاعل حيث توضع المادة الداخلة في التفاعل مع الإنزيم تحت ظروف مناسبة قياسية (من درجة حرارة وحموضة) ثم تؤخذ عينات - مقدار من المحلول — للتحليل خلال فترات زمنية معينة. وفيما يلي بعض الاختبارات الوصفية للكشف عن نشاط بعض الإنزيمات وكذلك بعض الاختبارات الكمية لتقدير النشاط الإنزيمي والعوامل التي تؤثر فيه.

التجربة رقم (٢٨): الكشف عن تحرير إنزيم ألفا أميليز α-Amylase وتأثيره على تحلل مركب النشا وقياس نشاطه

الفكرة الأساسية

يعمل إنزيم α-Amylase على التحلل المائي للروابط الجليكوسيدية ألفا ١-٤ الموجودة في جزيئات النشا Starch وبذلك ينتج عن التحلل المائي سكريات مختزلة لها القـــــدرة على اختـزال مركب ٣ ,٥ — ثنائي نيتـــــــرو حمض الساليســـيليك 3,5 Dinitrosalysilic acid (DNSA) حيث يتحول الأخير إلى مركب أحمر هـــــو (٣- أمينو — ٥ — نيترو حمض الساليسيليك 3- amino - 5 - Nitrosalysilic acid) في الوسط القلوي، وبقياس كثافة اللون الأحمر المتكون يمكن تتبع نشاط الإنزيم، ويعتبر إنبات البذور مصدراً لتكون الإنزيم حيث يوجد في حبوب الشعير والقمح والذرة.

المحاليل والمواد والأدوات المستخدمة

١- يجرى استنبات حبوب الشعير قبل إجراء التجربة بثلاثة أيام على الأقل.

٢- محلول منظم فوسفاتي ٠,١ مولر له رقم هيدروجيني pH = 6.7 (يحضر بإذابة ٦,٨ جم فوسفات بوتاسيوم ثنائي الهيدروجين KH_2PO_4 مع ١,٠٧ جم هيدروكسيد بوتاسيوم في كمية من الماء المقطر ثم يكمل الحجم إلى ٥٠٠ مل بالماء المقطر)، يضبط الرقم الهيدروجيني pH للمحلول بعد ذلك إلى ٦,٧ بإضافة حمض أو قلوي تبعاً للرقم الهيدروجيني للمحلول الناتج.

٣- محلول النشا (يحضر بإذابة ٤,١٦ جم من النشا الذائب Soluble starch في قليل من الماء المقطر ثم تدفئة المحلول وإضافة ١,٦٦ جم كلوريد صوديوم ثم يسخن

المحلول مع التقليب حتى ذوبان النشا ويكمل الحجم بعد ذلك إلى واحد لتر بالماء المقطر).

٤- محلول ثنائي نيترو حمض الساليسيليك (DNSA) ويحضر كما يلي :

أ) يذاب ٧٥ جم من طرطرات الصوديوم والبوتاسيوم في ١٢٠ مل ماء.

ب) يعلق ٢,٥ جم من المركب ٣ ,٥ – ثنائي نيترو حمض الساليسيليك (DNSA) في ٥٠ ملليلتر من محلول هيدروكسيد صوديوم ٢ عياري.

ج) يخلط المحلولين (أ) ، (ب) أي محلولي طرطرات الصوديوم والبوتاسيوم مع (DNSA) ثم يقلب حتى تمام الذوبان.

د) يكمل حجم المحلول إلى ٢٥٠ مل بالماء المقطر ويرج جيداً للتجانس.

هـ) يضاف ٢٥٠ مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم ٢ عياري إلى المحلول السابق ويمزج جيداً حتى التجانس ثم يوضع في زجاجة قاتمة اللون.

٥- محلول سموجي Somogy's ونيلسون Nelson's .

٦- محلول هيدروكسيد صوديوم ٢ عياري.

٧- جهاز قياس الطيف الضوئي Spectrophotometer ويضبط على طول موجة ضوئية ٥٤٠ نانومتر.

٨- جهاز الطرد المركزي وأنابيبه Centrifuge and tubes .

٩- خلاط أنابيب (Whirlmixers for test tubes)

١٠- حمام مائي Water bath يضبط على درجة ٤٠ ٥م.

١١- ميزان Balance .

١٢- أنابيب اختبار مع حواملها المعدنية لوضعها بالحمام المائي.

١٣- خلاط Mixer أو هاون .

١٤- شاش Lawn .

١٥- أوراق ترشيح Filter papers .

١٦- ساعة إيقاف Stop watch .

١٧- ماصات Pipettes .

١٨- مناديل ورقية Tissue papers .

١٩- محلول هيبوكلوريد الصوديوم ١ ٪ لتعقيم حبوب الشعير قبل الإنبات.

٢٠- أحواض أو أطباق بلاستيك لاستنبات البذور .

طريقة العمل

أولاً: استنبات حبوب الشعير كما يلي:

أ) عقم سطح الحبوب بواسطة محلول ١ ٪ هيبوكلوريد الصوديوم لمدة ٣٠ دقيقة.

ب) اغسل الحبوب بالماء بالمقطر عدة مرات. ثم اتركها في الماء ٢٤ ساعة.

ج) وزع الحبوب على سطح ورقة ترشيح كبيرة مبللة وذلك في طبق بلاستيك أو حوض بلاستيك نظيف.

د) بعد ٣ أيام تكون البادرات جاهزة للاستعمال

ثانياً: استخلاص الإنزيم

١- زن ٢ جم من البادرات أو ٥ جم من الحبوب المنقوعة ٢٤ ساعة.

٢- اطحن هذه البادرات بواسطة الخلاط في ١٠ مل من المحلول المنظم الفوسفاتي Buffer Solution أو في ٢٠ مل من المحلول المنظم على فترات لمدة ٥ دقائق.

٣- رشح المخلوط باستعمال ٤ طبقات من الشاش مع الضغط على الشاش أو باستعمال قمع بوخنر.

٤- أجرِ عملية الطرد المركزي للراشح لمدة ٢٠ دقيقة على سرعة ١٢٠٠٠ دورة / دقيقة.

٥- الطبقة العليا الرائقة هي التي تحتوي على الإنزيم لذلك تخلص من الراسب.

ثالثاً: قياس نشاط الإنزيم

يمكن قياس نشاط الإنزيم بإحدى الطريقتين التاليتين

الطريقة الأولى : ثنائي نيترو حمض الساليسيليك 3,5 Dinitrosalysilic acid DNSA .

١- تجهز ٥ أنابيب اختبار ويكتب عليها الفترات الزمنية بالدقيقة (بلانك – صفر دقيقة – ١٠ دقائق – ٢٠ دقيقة – ٣٠ دقيقة).

٢- ضع ٥ مل من محلول النشا المحضر سابقاً في كل أنبوبة باستثناء البلانك يوضع ٥مل ماء مقطر.

٣- يضاف ٢ ملليلتر من المحلول المنظم الفوسفاتي Buffer في كل أنبوبة.

٤- يضاف ٠,٣ ملليلتر من الماء المقطر لكل أنبوبة.

٥- ضع ٠,١ ملليلتر من مستخلص الإنزيم في كل أنبوبة ما عدا البلانك.

٦- يخلط المحلول جيداً ثم تحضن الأنابيب في حمام مائي ٤٠ ° م لمدة ٥ دقائق.

٧- تترك الأنابيب على درجة حرارة المعمل ٣٠ ° م لمدة ٥ دقائق.

٨- يوقف التفاعل الإنزيمي بعد ذلك بإضافة ٠,٥ مل من محلول هيدروكسيد الصوديوم ٢ عياري ثم ٣ مل من محلول ثنائي نيتروحمض

الساليـــسيليك (DNSA) إلى الأنابيـــب ولكـــن تبعـــاً للآتـــي ، كمـــا بالـــشكل رقـــم (٦٣):

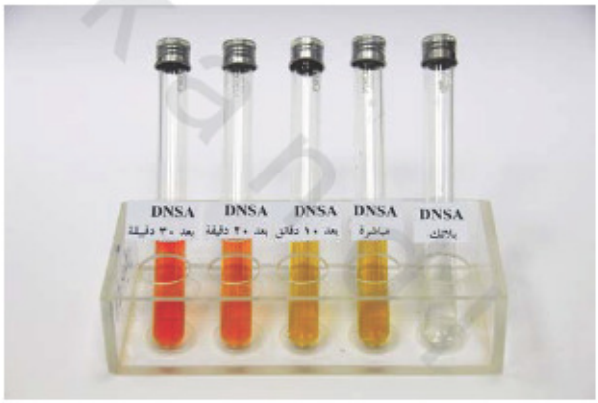
أ) يضاف DNSA للبلانك.

ب) يضاف DNSA للأنبوبة الأولى مباشرة لوقف التفاعل الإنزيمي.

ج) يضاف DNSA للأنبوبة الثانية بعد ١٠ دقائق لوقف التفاعل.

د) يضاف DNSA للأنبوبة الثالثة بعد عشرون دقيقة لوقف التفاعل.

هـ) يضاف DNSA للأنبوبة الرابعة بعد ثلاثون دقيقة لوقف التفاعل.



الشكل رقم (٦٣). يوضح الأنابيب (المعاملات) المحتوية علـــى محلـــول ثنـــائي نيتـــروحمض الساليسيليك DNSA لوقف نشاط إنزيم الألفا أميليز بعد فترات زمنية مختلفة مع المعاملة الضابطة.

٩- توضع الأنابيب مرة أخرى في حمام مائي ٤٠ °م ثم تبرد على درجة حرارة المعمل.

١٠- يضبط جهاز قياس الطيف الضوئي على طول الموجة الضوئية ٥٤٠ نانومتر، ثم يوضع به محلول البلانك وتضبط قرائته (الامتصاص) إلى الصفر ثم يقرأ

امتصاص العينات الأخرى وتدون النتائج.

١١- ينتج عن التحلل المائي للنشا سكر الجلوكوز والذي تستخدم كمياته الناتجة بوصفه دليلاً لنشاط الإنزيم، لذلك يعمل منحنى قياس أساسي يوضح العلاقة بين التركيزات القياسية للجلوكوز على المحور الأفقي وبين قيم الامتصاص الضوئي لها على المحور الرأسي ؛ وذلك لاستخدامه في معرفة تركيز المادة في محاليل مجهولة التركيز وذلك بمعلومية مقدار امتصاص هذه المحاليل المجهولة التركيز للضوء، بشرط أن يستخدم هذا المنحنى في مجال من التركيزات التي تكون فيها العلاقة بين التركيز والامتصاص تتزايد طردياً وبانتظام (على هيئة خط مستقيم).

١٢- يمكن تقدير كميات السكر الناتجة عن نشاط الإنزيم تبعاً للفترة الزمنية باستعمال القاعدة أن كل ١ ملليجرام من سكر الجلوكوز تتفاعل وتنتج لدينا طيف امتصاص قدره وحدة واحدة تحت نفس الظروف.

أي وحدة الإنزيم (كمية الأنزيم) قادرة على إنتاج واحد ملليجرام مكافئ من الجلوكوز في الدقيقة. فإذا كانت القراءة بجهاز طيف الامتصاص = ٠,٤٨ تكون كمية تركيز السكر المتحلل من النشا (الجلوكوز) بفعل إنزيم الأميليز = ٠,٤٨ ملليجرام في خلال ١٥ دقيقة من تفاعل الإنزيم.

تسجل النتائج في جدول كالآتي:

المعاملة (إضافة DNSA)	طيف الامتصاص	كمية السكر	كمية الإنزيم
الأنبوبة رقم ١ البلانك (بدون)			
الأنبوبة رقم ٢ (مباشرة)			
الأنبوبة رقم ٣ (بعد ١٠ دقائق)			
الأنبوبة رقم ٤ (بعد ٢٠ دقيقة)			
الأنبوبة رقم ٥ (بعد ٣٠ دقيقة)			

(أي كل وحدة طيف امتصاص تنتج من كمية ١ مجم مكافئ جلوكوز والأخيرة تساوي وحدة الإنزيم).

الطريقة الثانية: سموجي ونلسون Smogy's and Nelson's Method .

١- تتبع نفس خطوات التجربة الأولى من الخطوة رقم (١) - رقم (٧).

٢- أضف للمخلوط ١ مل من محلول سموجي.

٣- اغلي المخلوط في حمام مائي لمدة ٢٠ دقيقة ثم تبرد في حمام ثلجي.

٤- أضف ١ مل من محلول نلسون، ثم اخلط المحتويات بالأنابيب جيداً، ثم أكمل الأنابيب إلى ٢٥ مل بالماء المقطر.

٥- يقدر طيف الامتصاص للمعاملات وتكمل الخطوات تماماً كالطريقة الأولى.

openkandl.com

obeikandl.com

مقدمة في فسيولوجيا النبات العملية
تقرير التجربة العملية

عنوان التجربة: .....

اسم الطالب: .....

الرقم الجامعي: .....

تاريخ بدء التجربة: .....

تاريخ نهاية التجربة: .....

تاريخ تقديم التقرير: .....

١– الملخص:

.....

.....

.....

.....

٢– الهدف من التجربة:

.....

.....

.....

.....

obeikandl.com

٣– المواد وطريقة العمل (مختصرة من التجربة):

.....

.....

.....

٤– النتائج:

.....

.....

.....

٥– المناقشة:

.....

.....

.....

٦– إجابة الأسئلة:

.....

.....

.....

٧– المراجع :

.....

.....

.....

٨– استفسارات عن النقاط غير الواضحة:

.....

.....

.....

obeikandl.com

التجربة رقم (٢٩): الكشف عن إنزيم التربسين Trypsin وقياس نشـــاطه في مركب الجيـــلاتين Gelatin

مقدمـــة

يعتبر إنـزيم التربـسين أحـد إنزيمـات التحلـل المـائي للبروتينـات Proteolytic enzyme الذي يعمل على التحليل المائي للروابط الببتيدية بين مجموعة الكربوكسيل على الحمض الأميني أرجنين أو الحمض الأميني ليسين وكذلك مجموعة الأمين على أي حمض أميني آخر. ويمكن دراسة نشاط هذا الإنزيم (Trypsin) وصفياً بتتبع ناتج التحلل المائي للبروتين عن طريق تقدير الأحماض الأمينية الناتجة من هذا التحلل المائي ومعايرتها بمحلول قلوي مخفف في وجود الفورمالين، حيث يتحد الفورمالدهيد مع مجموعات الأمين بالأحماض الأمينية تاركاً مجموعة الكربوكسيل بها حرة. وبذلك يمكن معايرتها بمحلول قلوي مثل هيدروكسيد الصوديوم NaOH. (وتسمى عملية إضافة الفورمالدهيد والمعايرة بطريقة سورنسن لتقدير الأحماض الأمينية).

أولاً: المحاليل والمواد المستخدمة

١- محلول جيلاتين Gelatin ٢٪ وزني / حجمي) يحضر بإذابة الجيلاتين في ماء دافئ مع التحريك المستمر.

٢- محلـول إنـزيم التربـسين (٢٪ وزنـي / حجمـي) ويحـضر بإذابـة إنـزيم التربسين في الماء (ممكن الحصول على إنزيم التربسين نقياً من الشركات الكيميائية).

٣- محلول فورمالين (محلول فورمالدهيد) متعادل.

٤- محلول هيدروكسيد صوديوم NaOH ٠,١ عياري.

٥- دليل فينول فثالين Phenolphthalein.

٦- دوارق مخروطية سعة ٢٥٠ مل.

٧- حمام مائي على درجة حرارة ٤٠ °م تقريباً.

ثانياً: طريقة العمل

١- يجهز عدد ٤ دوارق مخروطية سعة كل منها ٢٥٠ مل ثم يوضع بكل منها ٢٥ مل من محلول الجيلاتين (٢٪).

٢- يضاف ٥ مل من الماء المقطر للدورق الأول (البلانك) بينما يضاف ٥ ملليلتر من محلول الإنزيم لكل دورق من الدوارق الثلاثة الأخرى وترج جيداً.

٣- توضع الدوارق المخروطية المحتوية على الإنزيم مع الجيلاتين في حمام مائي على درجة حرارة حوالي ٤٠ °م لفترات مختلفة كما يلي:

رقم الدورق	مدة التحضين في الحمام المائي على درجة ٤٠ °م
الدورق الأول (بلانك)	-
الدورق الثاني	١٥ °م
الدورق الثالث	٣٠ °م
الدورق الرابع	٦٠ °م

٤- يضاف حوالي ٥ مل من محلول الفورمالين إلى الدورق الأول (مباشرة) وإلى الدوارق الأخرى بعد إجراء عملية التحضين في الحمام المائي في الفترات الزمنية المذكورة لكل دورق على حدة.

٥- يضاف دليل فينول فثالين (من ٤-٦ قطرة) لكل دورق، وذلك بعد إضافة الفورمالين.

٦- يجرى معايرة كل دورق بمحلول هيدروكسيد الصوديوم ٠.١ عياري (الموضوع بالسحاحة) ببطء مع الرج لمعادلة الأحماض الأمينية المنفردة خلال

التحلل المائي، وتستمر المعايرة كذلك حتى يظهر لون وردي فاتح، كما بالشكل رقم (٦٤). وعندها يحسب حجم محلول هيدروكسيد الصوديوم الذي لزم لكل دورق على حدة.

الشكل رقم (٦٤). يوضح عملية المعايرة لقياس نشاط إنزيم التربسين (تكون لون وردي فاتح).

obeikandl.com

ثالثاً: النتائج

س١ : دون نتائج المعايرات في الجدول التالي :

رقم الدورق	محتويات الدورق ومدة التحضين	حجم محلول هيدروكسيد الصوديوم ٠,١ ع (اللازم لظهور اللون)
الدورق الأول	جيلاتين + ماء (البلانك)	ملليلتر
الدورق الثاني	جيلاتين + إنزيم (١٥ دقيقة)	ملليلتر
الدورق الثالث	جيلاتين + إنزيم (٣٠ دقيقة)	ملليلتر
الدورق الرابع	جيلاتين + إنزيم (٦٠ دقيقة)	ملليلتر

س٢ : ما هو ناتج التحلل المائي للجيلاتين؟

س٣ : ما السبب في اختلاف حجم هيدروكسيد الصوديوم المستخدم في المعايرة في كل حالة ؟ وأي المحاليل لزم لها أقل حجم من هيدروكسيد الصوديوم لمعايرتها؟ وما السبب ؟ وأي المحاليل لزم لها أكثر حجم من هيدروكسيد الصوديوم ؟ وما تفسيرك لذلك؟

س٤ : ما هو تحليلك واستنتاجك للنتائج التي حصلت عليها والمدونة بالجدول السابق؟

obeikandl.com

مقدمة في فسيولوجيا النبات العملية

تقرير التجربة العملية

عنوان التجربة: .....

اسم الطالب: .....

الرقم الجامعي: .....

تاريخ بدء التجربة: .....

تاريخ نهاية التجربة: .....

تاريخ تقديم التقرير: .....

١– الملخص:

.....

.....

.....

.....

٢– الهدف من التجربة:

.....

.....

.....

.....

obeikandl.com

٣– المواد وطريقة العمل (مختصرة من التجربة):

.....

.....

.....

٤– النتائج:

.....

.....

.....

٥– المناقشة:

.....

.....

.....

٦– إجابة الأسئلة:

.....

.....

.....

٧– المراجع :

.....

.....

.....

٨– استفسارات عن النقاط غير الواضحة:

.....

.....

.....

obeikandl.com

التجربة رقم (٣٠): الكـــــشف عن إنـــــزيم الإنفـــرتيز Invertase الموجود في الخميرة الجافة Dry Yeast

مقدمة

يسمى إنزيم الإنفرتيز Invertase باسم آخر وهو إنزيم السكريز Sucrase ويكشف وصفياً عن نشاط الإنزيم وذلك بالكشف عن ناتج التفاعل حيث يقوم إنزيم الإنفرتيز بتحليل سكر السكروز Sucrose الثنائي إلى سكريات أحادية لها قدرة اختزالية وذلك بعكس السكروز نفسه الذي ليس له قدرة اختزالية. فيتحلل السكروز إلى جلوكوز وفركتوز.

$$\text{Sucrose} \xrightarrow{\text{Invertase}} \text{Glucose} + \text{Fractose}$$

وهي سكريات أحادية مختزلة وتتفاعل مع محلول فهلنج أو محلول بندكت معطية اللون الأحمر وهو أكسيد النحاس.

الأدوات والمواد المطلوبة

١- محلول سكر سكروز (١٠٪).
٢- خميرة جافة.
٣- هاون خزفي ويده لطحن الخميرة.
٤- أوراق ترشيح.
٥- أقماع زجاجية .
٦- أنابيب اختبار وماصات.
٧- محلول فهلنج (أ) وفهلنج (ب) أو محلول بندكت Benedict .
٨- حمام مائي .

طريقة العمل

١- اطحن ١ جم من الخميرة الجافة لتصبح مسحوقاً ناعماً.

٢- أضف لمسحوق الخميرة ١٥ مل ماء مقطر ثم اترك المخلوط لمدة ٢٠ دقيقة .

٣- رشح المخلوط للحصول على مستخلص إنزيم الإنفرتيز Invertase من الخميرة.

٤- ضع ٥ مل من محلول ١٠٪ سكروز في أنبوبة وكرر ذلك مع أنبوبة أخرى.

٥- أضف إلى الأنبوبة الأولى ٢ مل من مستخلص الإنزيم الطازج.

٦- اغلي حوالي ٣ مل من مستخلص الإنزيم ثم أضف إلى الأنبوبة الثانية ٢ مل من الإنزيم المغلي (الغلي لإيقاف نشاط الإنزيم).وتعتبر هذه الأنبوبة مقارنة أو بلانك Blank.

٧- بعد رج الأنبوبتين تتركان على درجة حرارة ٣٠ °م لمدة ساعة أو أكثر. أو تسخن على حمام مائي على درجة حرارة ٣٥ - ٤٠ °م لمدة خمس دقائق.

٨- يجرى اختبار فهلنج أو بندكت كما يلي :

أ) يؤخذ ٢ مل من كل من المحلولين السابقين في إنابيب نظيفة .

ب) أضف ١ مل من محلول فهلنج (أ) ثم ١ مل من محلول فهلنج (ب).

ج) ترج المحاليل جيداً ثم توضع في حمام مائي يغلي لمدة ٥ دقائق.

د) لاحظ تكون راسب أحمر في إحدى الأنبوبتين. اذكر أيهما ؟

(الراسب الأحمر هو عبارة عن أكسيد النحاس دلالة على وجود السكريات المختزلة لفعل نشاط الإنزيم).

ايضـــاح

يطلق مصطلح السكريات المختزلة Reducing Sugars على السكريات ذات المجموعة الألدهيدية أو بها مجموعة قابلة للتحول سريعاً إلى مجموعة ألدهيدية (مثل الجلوكوز). وتعود التسمية لتفاعل المجموعة الألدهيدية مع أيون النحاس ثنائي التكافؤ Cu^{++} وتحويله إلى أيون نحاس أحادي التكافؤ Cu^{+} يترسب على هيئة أكسيد النحاسوز Cu_2O ذي اللون الطوبي.

(الفركتوز يحتوي على مجموعة كيتونية وليست ألدهيدية).

obeikandl.com

obeikandl.com

مقدمة في فسيولوجيا النبات العملية
تقرير التجربة العملية

عنوان التجربة: .....

اسم الطالب: .....

الرقم الجامعي: .....

تاريخ بدء التجربة: .....

تاريخ نهاية التجربة: .....

تاريخ تقديم التقرير: .....

١– الملخص:

.....

.....

.....

.....

٢– الهدف من التجربة:

.....

.....

.....

.....

obeikandl.com

٣– المواد وطريقة العمل (مختصرة من التجربة):

.....

.....

.....

٤– النتائج:

.....

.....

.....

٥– المناقشة:

.....

.....

.....

٦– إجابة الأسئلة:

.....

.....

.....

٧– المراجع :

.....

.....

.....

٨– استفسارات عن النقاط غير الواضحة:

.....

.....

.....

obeikandl.com

التجربة رقم (٣١): فصل الخلايا النباتية باستخدام الإنزيمات المحللة للبكتين الناتجة من راشح بعض الفطريات Fungi

مقدمة

معروف عن المركبات البكتينية أنها المكون الرئيس للصفيحة الوسطى Middle lamella بجدر خلايا النبات، وهي المسئولة عن التحام الخلايا النباتية ببعضها فهي المادة البين خلوية التي تربط بين الخلايا وتتكون هذه المواد البكتينية من بكتات الكالسيوم أو الماغنسيوم وأحياناً يضاف لها مادة اللجنين. وجد من عدة تجارب سابقة أن الإنزيمات المحللة للبكتين أو الراشح الناتج من بعض الفطريات، والذي يحتوي على تلك الإنزيمات، لها المقدرة على تحلل مركب البكتين وبالتالي يكون من السهل جداً انفصال تلك الخلايا عن بعضها.

المواد والأدوات المستخدمة

١- ورق نبات الفول *Vicia faba* .

٢- محلول يحتوي على إنزيمات محللة للبكتين أو يستعاض عنها بالراشح الناتج من فطر *Botryodiplodia theobromae* والذي يحتوي على نفس الإنزيمات المحللة.

٣- مجهر ضوئي وشرائح مجهرية زجاجية وأغطيتها.

٤- قطارات Droppers

طريقة العمل

١- اعمل سلخات Strips لكل من البشرتين العليا والسفلى لنصل ورقة الفول وتخلص من هذه السلخات واحتفظ بالأنسجة التي تقع بين البشرتين.

٢- ضع جزء من النسيج المتبقي على شريحة زجاجية.

٣- أضف بضع قطرات من راشح الفطر المذكور أو محلول الإنزيم ثم ضع

غطاء الشريحة بحرص لعدم دخول فقاعات هوائية.

٤- اترك الشرائح المحضرة من ٢٠- ٣٠ دقيقة على درجة حرارة الغرفة.

٥- افحص الشرائح على القوتين الصغرى والكبرى.

المشاهدة

نلاحظ انفصال الخلايا عن بعضها منفردة أو في مجموعات ويعود ذلك لفعل الإنزيم المحلل للمواد البكتينية.

obeikandl.com

مقدمة في فسيولوجيا النبات العملية

تقرير التجربة العملية

عنوان التجربة: .....

اسم الطالب: .....

الرقم الجامعي: .....

تاريخ بدء التجربة: .....

تاريخ نهاية التجربة: .....

تاريخ تقديم التقرير: .....

١– الملخص:

.....

.....

.....

.....

٢– الهدف من التجربة:

.....

.....

.....

.....

obeikandl.com

٣– المواد وطريقة العمل (مختصرة من التجربة):

.....

.....

.....

٤– النتائج:

.....

.....

.....

٥– المناقشة:

.....

.....

.....

٦– إجابة الأسئلة:

.....

.....

.....

٧– المراجع :

.....

.....

.....

٨– استفسارات عن النقاط غير الواضحة:

.....

.....

.....

obeikandl.com