

## 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 ممتازاً عن مواقع الإنزيمات ذات الصلة بهذه الوظائف، فعلى سبيل المثال لقد عُرِفَت الريبوسومات 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 بمجسيمات سيتوبلازم الخلية، وقد يوجد أعلى تركيز لهذه الإنزيمات في الميتوكوندريا والبلاستيدات الخضراء. كما اتضح أن الإنزيمات الضرورية للأكسدة التامة للبيروفيت في دورة كريس إلى  $H_2O$  و  $CO_2$  موجودة في الميتوكوندريا، وهذا يشمل الأنزيمات الضرورية لتمرير الإلكترونات إلى الأكسجين لتكوين الماء. ومرور الإلكترونات من المركبات المرحلية لدورة كريس إلى الأكسجين يحدث عن طريق السيوكروم 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 الخضراء. 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 البيسين).

### ٢- إنزيمات التخمر *Fermentation enzymes*

مثل إنزيم الزيميز، وفي الواقع لا يوجد هذا الإنزيم منفرداً بل مرتبطاً مع مجموعة من الإنزيمات توجد في خلايا فطيرة الخميرة *Yeast* وتشارك 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 أختزلت في الوقت نفسه مادة أخرى. وتتأكسد المادة إما بإضافة الأكسجين إليها (تأكسد أول أكسيد الكربون إلى ثاني أكسيد الكربون)، وإما نزع الهيدروجين منها (تأكسد كبريتيد الهيدروجين إلى عنصر الكبريت)، وإما بفقدانها إلكترونات وإما أكثر (تأكسد الحديدوز إلى حديدك). 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 وتبع 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  $\alpha$ -Amylase وتأثيره على تحلل مركب النشا وقياس نشاطه

### الفكرة الأساسية

يعمل إنزيم  $\alpha$  Amylase على التحلل المائي للروابط الجليكوسيدية ألفا ١-٤ الموجودة في جزيئات النشا Starch وبذلك ينتج عن التحلل المائي سكريات مختزلة لها القدرة على اختزال مركب ٣, ٥-ثنائي نيترو حمض الساليسيليك 3,5 Dinitrosalysilic acid (DNSA) حيث يتحول الأخير إلى مركب أحمر هو (٣- أمينو-٥- نيترو حمض الساليسيليك 3-amino - 5-Nitrosalysilic acid) في الوسط القلوي، وقياس 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  $\text{pH} = 6.7$  (محضر بإذابة ٦.٨ جم فوسفات بوتاسيوم ثنائي الهيدروجين  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  مع ١.٠٧ جم هيدروكسيد بوتاسيوم في كمية من الماء المقطر ثم يكمل الحجم إلى ٥٠٠ مل بالماء المقطر)، يضبط الرقم الهيدروجيني  $\text{pH}$  للمحلول بعد ذلك إلى ٦.٧ بإضافة حمض أو قلوي تبعاً للرقم الهيدروجيني للمحلول الناتج.
- ٣- محلول النشا (محضر 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 ) وبمضهر 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 مليلتر 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 قائمة 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 وأنايبه Centrifuge and tubes .
- ٩- خلاط أنايب ( Whirlmixers ) for test tubes
- ١٠- حمام مائي Water bath يضبط على درجة ٤٠ م.
- ١١- ميزان Balance .
- ١٢- أنايب 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) غقم 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 بوختر.

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

٥- الطبقة العليا الراتقة 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 ٥ مل ماء مقطر.

٣- يضاف ٢ مليلتر من المحلول المنتظم الفوسفاتي Buffer في كل أنبوبة.

٤- يضاف ٠.٣ مليلتر من الماء المقطر لكل أنبوبة.

٥- ضع ٠.١ مليلتر 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 نيترو حمض

الساليسيليك ( DNSA ) إلى الأنابيب ولكن تبعاً للاتسي ، كما بالشكل رقم (٦٣) :

- (أ) يضاف DNSA للبيلانك.
- (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 على محلول ثنائي نيتروحمض 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 البيلانك وتضبط قرائته ( الامتصاص ) إلى الصفر ثم يقرأ

امتصاص العينات الأخرى وتدوين النتائج.

١١- ينتج عن التحليل المائي للنشا سكر الجلوكوز والذي تستخدم كمياته الناتجة بوصفه دليلاً لنشاط الإنزيم ، لذلك يعمل منحني 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 المنحني في مجال من التركيزات التي تكون فيها العلاقة بين التركيز والامتصاص تتزايد طردياً ويانظم ( 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 الإنزيم ) 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 .

تسجيل النتائج في جدول كالآتي:

المعاملة (إضافة DNSA)	طيف الامتصاص	كمية السكر	كمية الإنزيم
الأنبوبة رقم ١ البلائك (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.



**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:

.....  
 .....  
 .....  
 .....

٣- المواد وطريقة العمل (مختصرة من التجربة):

.....

.....

.....

٤- النتائج:

.....

.....

.....

٥- المناقشة:

.....

.....

.....

٦- إجابة الأسئلة:

.....

.....

.....

٧- المراجع :

.....

.....

.....

٨- استفسارات عن النقاط غير الواضحة:

.....

.....

.....

التجربة رقم ( ٢٩ ): الكشف عن إنزيم التربسين Trypsin  
وقياس نشاطه في مركب الجيلاتين Gelatin

## مقدمة

يعتبر إنزيم التربسين أحد إنزيمات التحلل المائي للبروتينات Proteolytic enzyme الذي يعمل على التحليل المائي للروابط الببتيدية بين مجموعة الكربوكسيل على الحمض الأميني أرجينين أو الحمض الأميني ليسين وكذلك مجموعة الأمين على أي حمض أميني آخر. ويمكن دراسة نشاط هذا الإنزيم ( Trypsin ) وصفيًا 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 ) محضر بإذابة الجيلاتين في ماء دافئ مع التحريك المستمر.
- ٢- محلول إنزيم التربسين ( ٢٪ وزني / حجمي ) ومحضر بإذابة إنزيم التربسين في الماء ( يمكن 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 (البلاك) بينما يضاف ٥ مليلتر 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 (بلاك)	-
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 المرج 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 لازم لكل دورق على حدة.



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

## ثالثاً: النتائج

س ١ : دون نتائج المعايير في الجدول التالي :

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

س ٢ : ما هو ناتج التحلل المائي للجيلاتين؟

س ٣ : 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 ؟

س ٤ : ما هو تحليلك واستنتاجك للنتائج التي حصلت عليها والمدونة بالجدول

السابق؟

## 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:

.....  
 .....  
 .....  
 .....

٣- المواد وطريقة العمل (مختصرة من التجربة):

.....

.....

.....

٤- النتائج:

.....

.....

.....

٥- المناقشة:

.....

.....

.....

٦- إجابة الأسئلة:

.....

.....

.....

٧- المراجع :

.....

.....

.....

٨- استفسارات عن النقاط غير الواضحة:

.....

.....

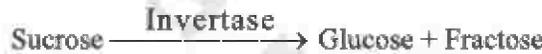
.....

التجربة رقم ( ٣٠ ) : الكشف عن إنزيم الإنفرتيز Invertase

الموجود في الخميرة الجافة Dry Yeast

مقدمة

يسمى إنزيم الإنفرتيز Invertase باسم آخر وهو إنزيم السكرينز Sucrase ويكشف وصفيًا 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.



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- أقمع 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 الأنبوبين 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 لفعال نشاط الإنزيم).

## ايضاح

يطلق مصطلح السكريات المختزلة Reducing Sugars على السكريات ذات المجموعة الألدهيدية أو بها مجموعة قابلة للتحويل 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 ).



**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:

.....

.....

.....

.....

٣- المواد وطريقة العمل (مختصرة من التجربة):

.....  
.....  
.....

٤- النتائج:

.....  
.....  
.....

٥- المناقشة:

.....  
.....  
.....

٦- إجابة الأسئلة:

.....  
.....  
.....

٧- المراجع :

.....  
.....  
.....

٨- استفسارات عن النقاط غير الواضحة:

.....  
.....  
.....

التجربة رقم ( ٣١ ) : فصل الخلايا النباتية باستخدام الإنزيمات المحللة للبكتين

### النتيجة من راسح بعض الفطريات Fungi

#### مقدمة

معروف عن المركبات البكتينية أنها المكون الرئيس للصفحة الوسطى Middle lamella بجدر خلايا النبات ، وهي المستولة 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 البشريتين العليا والسفلى لتصل ورقة الفول وتخلص من هذه السلخات واحتفظ بالأنسجة التي تقع بين البشريتين.
- ٢- ضع جزء من النسيج المتبقي على شريحة زجاجية.
- ٣- أضف بضع قطرات من راسح 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

تلاحظ انفصال الخلايا عن بعضها منفردة أو في مجموعات ويعود ذلك لفعل

الإنزيم المحلل للمواد البكتينية.

## 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:

.....  
.....  
.....  
.....

٣- المواد وطريقة العمل (مختصرة من التجربة):

.....  
.....  
.....

٤- النتائج:

.....  
.....  
.....

٥- المناقشة:

.....  
.....  
.....

٦- إجابة الأسئلة:

.....  
.....  
.....

٧- المراجع :

.....  
.....  
.....

٨- استفسارات عن النقاط غير الواضحة:

.....  
.....  
.....