كلية العلوم بقنا
قسم النبات والميكروبيولوجى

فسيولوجيا النبات العملى

(الجزء الرابع)

أ.د/ محمد محجـوب عـزوز
استاذ فسيولوجيا النبات

قسم النبات- كلية العلوم- جامعة جنوب الوادي

اسم الطالب:...

الفـرقـــــة: ....

سكشن رقم: ....

الفرقة الرابعة كلية التربية
شعبة العلوم البيولوجية والجيولوجية
٢٠٢٢-٢٠٢٣م

مقدمة

تتركز فكرة هذا الكتاب على كيفية اجراء بعض التجارب الخاصة بالتقدير الكمي الدقيق للسكريات،بالإضافة الى تقدير رقم التصبن والرقم اليودى، حيث سبق للطلاب في سنوات الدراسة السابقة كيفية التعرف على هذه السكريات كيفيا وليس كميا، وبالتالي فإن محتوى هذا الكتاب يهدف الى فهم وكيفية اجراء الآتى:

١- الأساس النظري لطريقة فاندر بلانك للتقدير الكمي الدقيق للسكريات.

٢- التقدير الكمي للسكريات الأحادية والثنائية والعديدة بطريقة فاندر بلانك.

٣- التقدير الكمي لمخاليط من السكريات الأحادية والثنائية والعديدة بطريقة فاندر بلانك.

٤- التقدير الكمي للسكريات الثنائية والعديدة بطريقة فاندر بلانك باستخدام الإنزيمات.

٥- العوامل المؤثرة على النشاط الأنزيمى المستخدم في تحليل السكريات الثنائية والعديدة الى السكريات الأحادية.

٦- تقدير رقم التصبن والرقم اليودى.

هذا الجهد هو توفيق من اللّه، فإن أصبت فذاك قصدي، وهو من فضل ربي، وله الحمد على توفيقه، وإن أخطأت فاستغفر اللّه من ذنبي، ورحم اللّه من أهدى إليّ عيبي، راجيا المولى عز وجل أن أكون قد وفقت في هذا العمل المتواضع، متمنيا ان يسهم هذا الكتاب في مساعدة ابنائنا الطلاب على اجراء هذه التجارب والوصول الى النتائج الصحيحة.

واللّه من وراء القصد

أ. د./ محمد محجوب عزوز

الفهـــرس

الفهرس

الموضوع .... الصفحة

الباب الأول

١- التقدير الكمي الدقيق للسكريات بطريقة فاندر بلانك ٥
١- الأساس النظري لطريقة فاندر بلانك.................................. ٩
٢- كيفية اجراء طريقة فاندر بلانك للتقدير الكمى الدقيق للسكريات............. ١٢
٣-التقدير الكمي الدقيق لسكر الجلوكوز بطريقة فاندر بلانك..................... ٢٥
٤- التقدير الكمي الدقيق للسكريات الثنائية (السكروز) بطريقة فاندر بلانك....... ٢٨
٥- التقدير الكمي الدقيق للسكريات العديدة (النشا) بطريقة فاندر بلانك.......... ٣٤

الباب الثاني

٢- التقدير الكمى الدقيق لمخلوط من السكريات بطريقة فاندر بلانك........٣٩
٦- التقدير الكمى الدقيق لمخلوط من الجلوكوز والسكروز بطريقة فاندر بلانك.....٤٠
٧- التقدير الكمى الدقيق لمخلوط من الجلوكوز والنشا بطريقة فاندر بلانك.......٤٧

الباب الثالث

٣-التقدير الكمى لمخلوط من السكريات بطريقة فاندر بلانك بإستخدام الإنزيمات..........٥٥
٧- التقدير الكمى الدقيق للسكروز بطريقة فاندر بلانك بإستخدام إنزيم الإنفرتيز .٥٨
٨- التقدير الكمى الدقيق للنشا بطريقة فاندر بلانك بإستخدام إنزيم الدياستيز...٦١

الباب الرابع

٤- العوامل المؤثرة على سرعة التفاعل الإنزيمي........................٦٥
٩- تأثير تركيز الإنزيم على سرعة التفاعل الإنزيمى.........................٦٧
١٠- تأثير تركيز مادة التفاعل على سرعة التفاعل الأنزيمى..................٧٣
١١- تأثير تركيز أيون الهيدروجين على سرعة التفاعل الأنزيمى...............٨٠
١٢- تأثير تركيز درجة الحرارة على سرعة التفاعل الإنزيمى..................٨٦
١٣- تقدير رقم التصبن...٩٣
١٤- تقدير الرقم اليودى..٩٦

الباب الأول

التقدير الكمي الدقيق للسكريات بطريقة فاندر بلانك

التقدير الكمي الدقيق للسكريات
بطريقة فاندر بلانك

Microestimation of Sugars By Vander Blank's Method

توجد السكريات فى النبات على ثلاث صور هى:-

١- الصورة الأحادية (السكريات الأحادية) Monosaccharides

هى سكريات تذوب فى الماء، وتتميز بأنها سكريات مختزلة لأنها تحتوى على مجموعة الألدهيد (H – C =O) أو الكيتون (C= O) ومنها:-

أ- سكر الجلوكوز والذى يحتوى على مجموعة الألدهيد.

ب- سكر الفركتوز والذى يحتوى على مجموعة الكيتون.

وهذه السكريات تسمى بالهكسوزات ومنها الجلوكوز والفركتوز.

٢- السكريات الثنائية Disaccharides

عبارة عن ارتباط جزأين من السكريات الأحادية مع بعضهما بواسطة رابطة جليكوسيدية، وهى سكريات تذوب فى الماء، ولكن ليس لها القدرة على الإختزال، نظرا لأنها لا تحتوى على مجموعة الألدهيد أو الكيتون، ومنها السكروز.

٣- السكريات العديدة Polysaccharides

عبارة عن إرتباط لعديد من السكريات الأحادية مع بعضها، وهى سكريات تذوب فى الماء أيضا ومنها النشا، وليس لها القدرة على الإختزال، نظرا لأنها لا تحتوى على مجموعة الألدهيد أو الكيتون أيضا.

الطرق المستخدمة فى التقدير الكمى الدقيق للسكريات

توجد طرق عديدة للتقدير الكمي الدقيق للسكريات منها طريقة فاندر بلانك والتى سوف نتناولها فى دراستنا هذه.

شروط طريقة فاندر بلانك

لكى يتم تقدير السكريات بطريقة فاندر بلانك يجب أن يتوافر **شرطان** أساسيان هما:-

١- أن يكون السكر المراد معرفة تركيزه **سكرا أحاديا**.

أى أن له القدرة على عملية الإختزال، وبالتالى لا يمكن تقدير السكريات الثنائية والعديدة إلا إذا كانت فى صورة أحادية، وعليه فلا بد من تحليل هذه السكريات لتتحول إلى الصورة الأحادية.

٢- أن يكون **وسط التفاعل متعادلا**.

اى ان الرقم الهيدروجينى يتراوح بين (pH = 6-7).

الكواشف الى تستخدم فى طريقة فاندر بلانك هى:-

١- **محلول فهلنج (أ)**: ويتكون من كبريتات النحاس

٢- **محلول فهلنج (ب)**: ويتكون من كربونات الصوديوم، وبيكربونات الصوديوم، وملح روشيل (طرطرات الصوديوم والبوتاسيوم) وأيودات البوتاسيوم.

٣- **محلول (C)**: يتكون من يوديد البوتاسيوم، وأكسالات البوتاسيوم.

٤- **محلول (D)**: يتكون من ٠,١ عيارى حمض كبريتيك.

٥- **محلول (E)**: يتكون من ٠,٠١ عيارى ثيوكبريتات الصوديوم.

الأساس النظرى لطريقة فاندر بلانك:

يمكننا فهم ما يحدث خلال التفاعلات الخاصة بالتقدير الكمى الدقيق للسكريات من خلال الخطوات الآتية:

١- عند إضافة محلول فهلنج (أ) + (ب) إلى محلول السكر المراد معرفة تركيزه والغليان يحدث التفاعل التالى:

$$CuSO_4 + C_6H_{12}O_6 \xrightarrow{100\ ^oC\ for\ 1/4\ h.} Cu_2O + C_6H_{12}O_7$$

$$Cu^{++} + C{=}O \text{ or } H\text{-}C{=}O \longrightarrow CU_2O\ (ppt.)\downarrow + \text{Oxidized Sugar (Gluconic Acid)}$$

وكما هو واضح من هذه المعادلة أنها تتم فقط فى وجود السكر الأحادى المختزل، ويحدث فيها تفاعل اكسدة – إختزال، حيث:-

أ- **يُختزل** النحاس الثنائى التكافؤ CU^{++} (النحاسيك) إلى أكسيد النحاسوز CU_2O أُحادى التكافؤ CU^{+}، وذلك بواسطة السكر الأُحادى والذى بدوره **يتأكسد** الى الحمض المقابل، وأكسيد النحاسوز الناتج هو راسب ذو لون أحمر طوبى أو مصفر أو مخضر، حيث يعتمد لون راسب أُكسيد النحاسوز الناتج على كمية السكر الأحادى الموجودة فى التفاعل والتى قامت بإختزاله، أى أن تركيز أُكسيد النحاسوز يدل دلالة مباشرة على تركيز السكر الأُحادى الموجود بالمحلول المراد تقدير تركيز

السكر فيه، وبالتالى فعندما تكون كمية السكر عالية يكون تركيز أُكسيد النحاسوز المتكون عالى والعكس صحيح. حيث أنه عندما يكون تركيز السكر عالى يكون لون الراسب **أحمر طوبى**، وعندما يكون أقل يكون لون الراسب **مُصفر**، أما الراسب **المُخضر** فيظهر عندما يكون تركيز السكر قليل جدا.

ب- لا تتم هذه المعادلة إلا فى **وجود السكر**.

٢- عند إضافة محلول (C) + (D) إلى محتويات الأنبوبة بعد الغليان والتبريد يحدث التفاعل الآتى:

$$5KI + KIO_3 + 3\,H_2SO_4 \longrightarrow 3K_2SO_4 + H_2O + 3I_2$$

١- **هذه المعالة تتم فى وجود أو غياب السكر**، وبالتالى فهذه المعادلة تتم فى وسط التفاعل بغض النظر عن وجود السكر من عدمه.

٢- ناتج هذه المعادلة هو إنطلاق اليود الجزيئى (I_2)، وهى تعطى كل اليود الجزيئى الموجود فى الحجوم المأخوذة من يوديد البوتاسيوم وأيودات البوتاسيوم، ومن هذه المعادلة السابقة نجد أن:-

أ- **فى غياب السكر** (ويسمى بإسم **بلانك**) فأن ناتج التفاعل يعطى حجم اليود الكلى (الجزيئى) المنطلق.

ب- **فى جود السكر**: سوف يُختزل جزء من اليود الكلى أو الجزيئى (I_2) إلى اليود الذرى($2I^-$) بواسطة أكسيد النحاسوز ويعتبر **يود مستهلك** ، حيث تتناسب كمية اليود المستهلك مع كمية أكسيد النحاسوز الموجودة، والتى تتناسب بدورها مع كمية السكر الأحادية المراد تقديرها، وذلك طبقا للمعادلة الآتية **والتى تتم فى وجود السكر فقط**:-

$$Cu^{+} + I_2 \longrightarrow 2Cu^{++} + 2I^-$$

٣- تقدر كمية اليود المستهلك من خلال تقدير اليود الكلى أو الجزيئى (غير المستهلك) فى الأنبوبة **غير المحتوية** على سكر، واليود الجزيئى (غير المستهلك) فى الأنبوبة **المحتوية** على سكر، ويكون الفرق بينهما هو كمية اليود المستهلك والمكافىء لتركيز السكر فى المحلول المراد تقدير تركيز السكر فيه، ويتم ذلك من خلال معايرة اليود الجزيئي مع ٠,٠١ عيارى ثيوكبريتات الصوديوم، فى وجود النشا كدليل، حيث تكون نقطة البداية هى **ظهور** اللون الأزرق الناتج من تفاعل اليود مع النشا، ونقطة النهاية هى **زوال** هذا اللون الأزرق، وذلك لنفاذ كمية اليود الجزيئى الموجودة (سبب ظهور اللون الأزرق مع النشا) نتيجة لمعايرتها بواسطة ٠,٠١ عياري ثيوكبريتات الصوديوم.

تجربة رقم (١)

١- كيفية اجراء طريقة فاندر بلانك للتقدير الكمى الدقيق للسكريات:

طبقا لشروط طريقة فاندر بلانك، لابد أن يكون السكر المراد تقدير تركيزه على الصورة الأُحادية (سداسى ذرات لكربون)، ويحوى مجموعة الألدهيد (CHO) أو مجموعة الكيتون (C=O) أى أن له القدرة على عملية الإختزال. أما السكريات الأخرى (الثنائية والعديدة) فلا يمكن تقديرها إلا إذا كانت فى صورة أحادية، وبالتالى فلابد من تحليل هذه السكريات لتتحول إلى الصورة الأحادية.

خطوات العمل

١- خذ خمسة أنابيب اختبار نظيفة جافة.

٢- أضف إلى كل منهم المقادير الآتية من المحلول المراد إيجاد تركيز السكر فيه:-

أ- الأنبوبة الأولى ٠,٥مل من محلول السكر + ٤,٥ مل ماء مقطر.

ب- الأنبوبة الثانية ١مل من محلول السكر + ٤ مل ماء مقطر.

ج- الأنبوبة الثالثة ١,٥مل من محلول السكر + ٣,٥ مل ماء مقطر.

د - الأنبوبة الرابعة٢ مل من محلول السكر + ٣ مل ماء مقطر.

هـ-الأنبوبة الخامسة (بلانك) بدون محلول السكر + ٥ مل ماء مقطر.

٣- حضر مخلوط من محلول فهلنج (أ) + محلول فهلنج (ب) بنسبة ٢:٥ على الترتيب (بمعنى أن نأخذ ٢ مل من محلول فهلنج (أ)+ ٥ مل من محلول فهلنج (ب) أو مضاعفاتهما)

٤- أضف إلى كل أنبوبة من الأنابيب الخمسة ٥ مل من مخلوط محلول فهلنج (أ) + (ب) المحضر سابقا.

٥- أنقل الأنابيب الخمسة إلى حمام مائى ساخن، وأستمر فى التسخين حتى الغليان لمدة ١٥ دقيقة من بداية الغليان.

٦- لاحظ تكون راسب ذو لون أحمر طوبى أو مخضر أو مصفر فى الأنابيب الأربعة الأولى، هذا الراسب هو أكسيد النحاسوز، ويرجع لونه إلى تركيز السكر المراد تقديره فى الحجوم المختلفة المأخوذة، وبالتالى سوف لا يتكون أى راسب أو تغيير فى محتويات الأنبوبة الخامسة (بلانك) نظرا لعدم إحتوائها على سكر، وذلك طبقا للمعادلة الآتية:-

$$CuSO_4 + Hexose \longrightarrow Cu_2O + Oxidized\ Sugar$$

ج- سوف تلاحظ أن الأنبوبة الخامسة (بلانك) الخالية من السكر لم يظهر بها أى راسب لأكسيد النحاسوز، وبالتالى لا يظهر بها تغيير

للون الأزرق لمخلوط محلول فهلنج (أ) +(ب) المضاف، ويرجع السبب فى ذلك إلى أنه لم يحدث تفاعل أكسدة وإختزال فى المحاليل المضافة، وذلك لعدم وجود سكر فى هذه الأنبوبة.

٧- برد الأنابيب بعناية تحت الصنبور.

٨- أضف إلى كل أنبوبة من الأنابيب الخمسة ٥ مل من محلول (C).

٩- ثم أضف إلى كل أنبوبة من الأنابيب الخمسة ٥ مل من محلول (D).

ملحوظة: يفضل نقل محتويات كل انبوبة بعد التبريد فى دورق مخروطى ١٠٠ مل، ثم يضاف محلول C، D فى الأنبوبة الفارغة لضمان إزالة ما تبقى بها من راسب ثم اضافة ذلك الى محتويات الدورق، وبالتالى يتم نقل جميع محتويات الأنبوبة الى الدورق المخروطي.

سوف تلاحظ زوال الراسب فى الأنابيب الأربعة الأولى وذلك بسبب حدوث التفاعل الآتى فى كل من الأنابيب الخمسة:-

$$5KI + KIO_3 + 3H_2SO_4 \longleftrightarrow 3\,K_2SO_4 + H_2O + 3\,I_2$$

فى هذا التفاعل سوف تنطلق كمية من اليود على صورته الجزيئية (I_2)، واليود عامل مؤكسد (I_2) والنحاسوز عامل مختزل (Cu^{+1})، وبناء على ذلك فإذا وجد فى وسط التفاعل كلا من اليود(I_2)

والنحاسوز (Cu^{+1})، سوف يحدث بينهما تفاعل أكسدة – إختزال كالآتى:-

$$Cu^{+1} + I_2 \longleftrightarrow Cu^{+} + 2I^{-}$$

وهذا التفاعل سوف يتم فقط فى الأنابيب الأربعة الأولى والتى بها سكر أحادى والذى أدى الى تكوين أُكسيد النحاسوز حيث:-

أ- يُختزل اليود الجزيئى إلى يود ذرى بواسطة أُكسيد النحاسوز، وتسمى كمية اليود الجزيئى المتحولة إلى يود ذرى باليود المستهلك.

ب- وتتوقف كمية اليود الذرى أى المستهلك على كمية أُكسيد النحاسوز الموجودة بالأنبوبة، والتى تعتمد على كمية السكر الموجود أصلا فى المحلول. وبالتالى فإن كمية اليود الذرى المستهلك تتناسب طرديا مع كمية السكر الموجودة فى المحلول.

ج- **فى الأنابيب الأربعة الأولى** سوف تكون هناك كمية من **اليود الجزيئى** أى الغير مستهلك والتى لم تتفاعل مع أُكسيد النحاسوز الموجودة وكذلك **اليود الذرى** المستهلك المتفاعل، وتختلف نسبة اليود الجزيئى والذرى طبقا لكمية السكر الموجودة فى الأنابيب الأربعة.

د- **فى الأنبوبة الخامسة(بلانك)**، والتى لا تحتوى على سكر تكون كمية اليود كلها على هيئة **يود جزيئى** أو غير مستهلك.

١٠- انقل محتويات الأنبوبة الى دورق مخروطى ليتم معاير كل محتويات الأنابيب الخمسة على انفراد مع ٠,٠١ عيارى ثيوكبريتات الصوديوم، فى وجود النشا كدليل.

ملاحظات هامة يجب تداركها:

أ- سوف نلاحظ أنه عند إضافة دليل النشا يتلون المحلول باللون الأزرق نتيجة لوجود اليود الجزيئى أى الغير مستهلك.

ب- إذا لم يظهر لون الأزرق عند إضافة دليل النشا فإن ذلك يعنى أن اليود الجزيئي (غير المستهلك) قد تحول كله إلى يود ذرى (يود مستهلك)، وهذا يعنى أن كمية السكر الموجودة فى المحلول السكرى ذات تركيز عالى والتى أدت بدورها إلى تكوين كمية كبيرة من أُكسيد النحاسوز، الذى استهلك كل اليود الجزيئى وحوله إلى يود ذرى. وإذا حدث ذلك فإنه يلزمك أن تأخذ تراكيز أخرى جديدة بنسب تخفيف جديدة (كأن نأخذ مثلا نسبة جزء (١) من المحلول: ٤ أو ٩:١ أجزاء من الماء، مع أخذ هذه النسب فى الاعتبار أثناء إجراء حساباتك.

ج- يجب ألا تضع دليل النشا إلا عند إجراء المعايرة مباشرة، حتى لا يحدث إدمصاص لبعض جزيئات اليود على سطح النشا.

١١- استمر فى المعايرة حتى نقطة النهاية، وهى إختفاء اللون الأزرق تماما.

١٢- أحسب بدقة حجم ثيوكبريتات الصوديوم النازل من السحاحة فى الأنبوبة الخامسة (بلانك)، وهو يكافىء حجم اليود الغير مستهلك (كل اليود الجزيئى).

١٣- أحسب بدقة حجم ثيوكبريتات الصوديوم النازل من السحاحة فى الأنابيب الأربعة، وهو يكافىء أيضا حجم اليود غير المستهلك (اليود الجزيئى المتبقى).

١٤- أطرح حجم ثيوكبريتات الصوديوم النازل من السحاحة فى كل أنبوبة من الأنابيب الأربعة الأخرى من حجم ثيوكبريتات الصوديوم النازل من السحاحة فى الأنبوبة الخامسة (بلانك). وناتج هذا الطرح يكون هو حجم ثيوكبريتات الصوديوم المكافىء لحجم اليود المستهلك (اليود الذرى) فى كل أنبوبة من الأنابيب الأربعة، والذى يتناسب طرديا مع كمية السكر الموجود فى المحاليل المراد تقدير تركيز السكر فيها.

طريقة الحساب

١- نفرض أن حجم ثيوكبريتات الصوديوم المكافىء لحجم اليود غير المستهلك فى الأنبوبة الخامسة (بلانك) = ح

٢- نفرض أن حجم ثيوكبريتات الصوديوم المكافىء لحجم اليود غير المستهلك فى الأنبوبة رقم (١) = ح١

٣- نفرض أن حجم ثيوكبريتات الصوديوم المكافىء لحجم اليود غير المستهلك فى الأنبوبة رقم (٢) = ح٢

٤- نفرض أن حجم ثيوكبريتات الصوديوم المكافىء لحجم اليود غير المستهلك فى الأنبوبة رقم (٣) = ح٣

٥- نفرض أن حجم ثيوكبريتات الصوديوم المكافىء لحجم اليود غير المستهلك فى الأنبوبة رقم (٤) = ح٤

∴ حجم ثيوكبريتات الصوديوم التى تكافىء كمية اليود المستهلك فى الأنبوبة رقم (١) = ح- ح١= $\overline{ح}$

∴حجم ثيوكبريتات الصوديوم التى تكافىء كمية اليود المستهلك فى الأنبوبة رقم (٢) = ح (بلانك)- ح٢= $\overline{\overline{ح}}$

∴حجم ثيوكبريتات الصوديوم التى تكافىء كمية اليود المستهلك فى الأنبوبة رقم (٣) = ح− ح٣= ح‴

∴حجم ثيوكبريتات الصوديوم التى تكافىء كمية اليود المستهلك فى الأنبوبة رقم (٤) = ح− ح٤= ح⁗

ويكون ح′ ، ح″ ، ح‴ ، ح⁗ هى حجوم الثيوكبريتات المناظرة لكمية اليود المتفاعل المكافئة لكمية أكسيد النحاسوز المؤكسد والمكافئة لكمية السكر الموجودة فى المحاليل المراد تقدير تركيز السكر فيها.

وحيث أن ١ مل ثيوكبريتات صوديوم ٠,٠١ع≡ ٠,٢٧حجم هكسوز.

∴ تركيز السكر فى الأنبوبة الأولى الذى أخذنا بها ٠,٥مل من المحلول السكرى المراد تقدير السكر فيه يكون كالآتى:−

تركيز السكر فى ٠,٥ مل من المحلول = ح′ × ٠,٢٧ = س ملجم هكسوز/ ٠,٥ مل

تركيز السكر فى لترمن المحلول = (ح′ × ٠,٢٧ × ١٠٠٠) / (٠,٥× ١٠٠٠) = س′ جم/لتر

تركيز السكر فى الأنبوبة (٢) = (ح″ × ٠,٢٧ × ١٠٠٠) / (١× ١٠٠٠) = س″ جم/لتر

تركيز السكر فى الأنبوبة (٣) = ح٣ × ٠,٢٧ × ١٠٠٠ / ١٠٠٠×١,٥ = س٣ جم/لتر

تركيز السكر فى الأنبوبة (٤) = ح٤ × ٠,٢٧ × ١٠٠٠ / ١٠٠٠ × ٢ = س٤ جم/لتر

ويجب أن يكون التركيز الناتج (جم / لتر) فى الأنابيب الأربعة ثابت، ولكن سوف تختلف كميته لكل حجم مأخوذ على حده.

١٥- أرسم علاقة بيانية بين الحجوم المختلفة المأخوذة من محلول السكر(٠,٥، ١، ١,٥، ٢) على المحور السينى والحجوم المتفاعلة المناظرة للثيوكبريتات (ح١، ح٢، ح٣، ح٤) على المحو الصادى، ولاحظ شكل الخط الناتج.

ويمكن تلخيص الخطوات العملية السابقة كلآتى:-

خطوات العمل:

١- خذ خمسة أنابيب اختبار نظيفة جافة، وأضف إلى كل منهم هذه المقادير من المحلول المراد إيجاد تركيز السكر فيه:

(أ) الأنبوبة الأولى ٠,٥مل من محلول السكر + ٤,٥مل ماء مقطر.

(ب) الأنبوبة الثانية ١مل من محلول السكر + ٤ مل ماء مقطر.

(ج) الأنبوبة الثالثة ١,٥مل من محلول السكر + ٣,٥مل ماء مقطر.

(د) الأنبوبة الرابعة ٢مل من محلول السكر + ٣ مل ماء مقطر.

(هـ)الأنبوبة الخامسة (بلانك) بدون محلول سكر(٥ مل ماء مقطر).

٣- أضف إلى كل أنبوبة ٥من الأنابيب الخمسة السابقة٥ مل من مخلوط محلول فهلنج (أ) + (ب) بنسبة ٢:٥.

٤- أنقل الأنابيب الخمسة إلى حمام مائى ساخن وأستمر فى التسخين حتى الغليان، لمدة ١٥ دقيقة من بداية الغليان، ولاحظ تكون راسب أحمر طوبى أو أخضر أو أصفر فى الأنابيب من الأولى الى الرابعة.

٥- برد الأنابيب بعناية تحت الصنبور.

٦- أضف إلى كل أنبوبة من الأنابيب الخمسة ٥ مل من محلول (C).

٧- ثم أضف إلى كل أنبوبة من الأنابيب الخمسة ٥ مل من محلول (D).

سوف تلاحظ زوال الراسب فى الأنابيب الأربعة الأولى

٨- أترك الأنابيب ٥ دقائق حتى يتم التفاعل.

٩- عايرالأنابيب الخمسة مع ٠,٠١ عيارى من ثيوكبريتات الصوديوم فى وجود النشا كدليل (نقطة البداية هى ظهور اللون الأزرق، والنهاية هى زوال هذا اللون الأزرق)

١٠- اوجد تركيز سكر الجلوكوز المعطى لك فى كل أنبوبة.

النتائج:-

∴ حجم الثيوكبريتات الصوديوم التى تكافىء كمية اليود المستهلك أو المتفاعل فى: الأنبوبة رقم (١) = ح− ح١ = $\overline{\text{ح}}$

الأنبوبة رقم (٢) = ح− ح٢ = $\overline{\overline{\text{ح}}}$

الأنبوبة رقم (٣) = ح− ح٣ = $\overline{\overline{\overline{\text{ح}}}}$

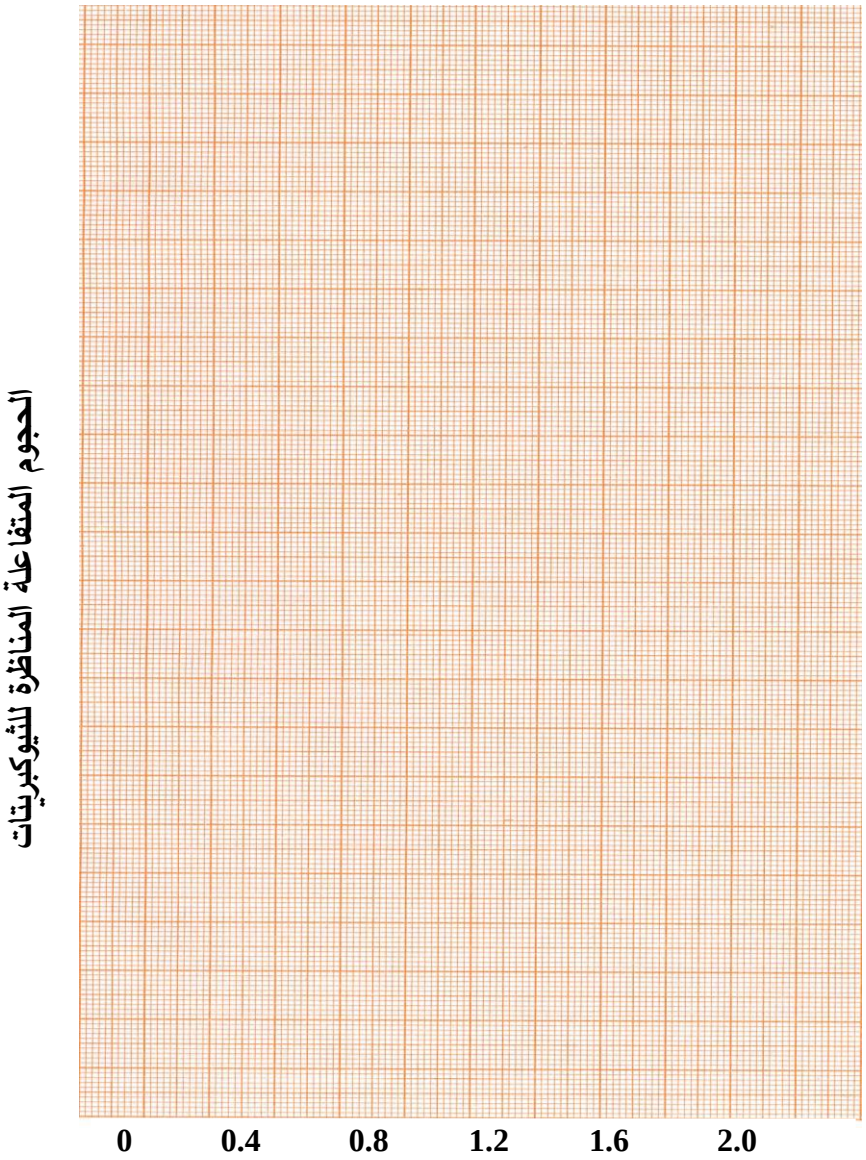
الأنبوبة رقم (٤) = ح− ح٤ = $\overline{\overline{\overline{\overline{\text{ح}}}}}$

تركيز السكر فى الأنبوبة (١) = ($\overline{\text{ح}}$ × ٠,٢٧ × ١٠٠٠) / (٠,٥ × ١٠٠٠) = جم/ لتر

تركيز السكر فى الأنبوبة (٢) = ($\overline{\overline{\text{ح}}}$ × ٠,٢٧ × ١٠٠٠) / (١ × ١٠٠٠) = جم/ لتر

تركيز السكر فى الأنبوبة (٣) = ($\overline{\overline{\overline{\text{ح}}}}$ × ٠,٢٧ × ١٠٠٠) / (١,٥ × ١٠٠٠) = جم/ لتر

تركيز السكر فى الأنبوبة (٤) = ($\overline{\overline{\overline{\overline{\text{ح}}}}}$ × ٠,٢٧ × ١٠٠٠) / (٢ × ١٠٠٠) = جم/ لتر


الحجوم المتفاعلة المناظرة للثيوكبريتات
0
0.4
0.8
1.2
1.6
2.0
حجم سكر الجلوكوز

تجربة رقم (٢)

الغرض من التجربة:

٢- التقدير الكمى الدقيق لسكر الجلوكوز بطريقة فاندر بلانك

التجـــربة

المواد والأدوات المطلوبة:

سحاحة – دورق مخروطى سعة ١٠٠ مل – أنابيب اختبار – جلوكوز – محلول فهلنج (أ) – محلول فهلنج (ب)– محلول (C) – محلول (D) – محلول (E)– دليل النشا.

خطوات العمل:

١– جهز ٦ أنابيب اختبار نظيفة جافة.

٢– أضف إلى كل أنبوبة من ثلاثة منهم ١ مل من محلول الجلوكوز+ ٤ مل من الماء المقطر، وإلى كل أنبوبة من الأنابيب الثلاثة الأخرى الباقية ٥ مل من الماء المقطر فقط (بلانك).

٣– أضف إلى كل أنبوبة من الأنابيب الستة السابقة ٥ مل من مخلوط محلول فهلنج (أ) + (ب) بنسبة ٢:٥ على الترتيب.

٤- أنقل الأنابيب الستة إلى حمام مائى ساخن وأستمر فى التسخين حتى الغليان، وذلك لمدة ١٥ دقيقة من بداية الغليان، ولاحظ تكون راسب أحمر طوبى أو أخضر أو أصفر فى الأنابيب الثلاثة الأولى.

٥- برد الأنابيب جميعها بعناية تحت الصنبور.

٦- أضف إلى كل أنبوبة من الأنابيب الستة ٥ مل من محلول (C) متبوعة بـ ٥ مل من محلول (D)، ثم أترك الأنابيب ٥ دقائق حتى يتم التفاعل.

٧- عاير الأنابيب الستة مع ٠,٠١ عيارى ثيوكبريتات الصوديوم (محلول E)، فى وجود النشا كدليل (نقطة البداية هى ظهور اللون الأزرق، والنهاية هى زوال هذا اللون الأزرق)

٨- اوجد تركيز سكر الجلوكوز المعطى لك.

طريقة الحساب

١مل من ثيوكبريتات الصوديوم (محلول E)٠,٠١ع ≡ ٠,٢٧مليجرام هكسوز

نفرض أن متوسط حجم محلول E ٠,٠١ع المكافىء للأنبوبة بلانك = ح

نفرض أن متوسط حجم محلول E ٠,٠١ع المكافىء للأنابيب فى حالة السكر= ح١

∴حجم محلول E المكافىء للسكر الموجود فى ١ مل = ح- ح١ = حَ

$$\text{تركيز الجلوكوز} = \frac{\text{حَ} \times ٠,٢٧}{١} = \text{س مليجرام/ مل من المحلول الأصلي}$$

$$\therefore \text{تركيز الجلوكوز} = \frac{\text{حَ} \times ٠,٢٧ \times ١٠٠٠}{١ \times ١٠٠٠} = \text{س جرام/ لتر}$$

نتائج التجربة

متوسط حجم ثيوكبريتات الصوديوم ٠,٠١ع المكافىء للأنبوبة بلانك (ح) =

متوسط حجم ثيوكبريتات الصوديوم ٠,٠١ع فى حالة السكر(ح١) =

∴ حجم ثيوكبريتات الصوديوم المكافىء لكمية السكر الموجود فى ١ مل المأخوذه(حَ) = ح- ح١=

$$\therefore \text{تركيز الجلوكوز بالجرام/لتر} = \frac{١٠٠٠ \times ٠,٢٧ \times}{١٠٠٠ \times ١} = \text{جرام/ لتر}$$

تجربة رقم (٣)

الغرض من التجربة:

٣- التقدير الكمى الدقيق للسكريات الثنائية (السكروز) بطريقة فاندر بلانك

كما ذكرنا سابقا فإن من شروط طريقة فاندر بلانك أن يكون السكر المراد تقديره أحاديا، وأن يكون الوسط متعادلا، وعليه يجب أولا أن يتحلل السكروز الثنائى إلى سكريات أحادية (الجلوكووز والفركتوز)، حيث أن كل من الجلوكوز والفركتوز سكريات أُحادية ولها القدرة على الإختزال.

التجـــربة

المواد والأدوات المطلوبة:

سحاحة – دورق مخروطى سعة ١٠٠ مل – دورق معيارى ١٠٠ مل – أنابيب اختبار – محلول سكروز – حمض هيدروكلوريك ١,٥ عيارى – هيدروكسيد صوديوم ١,٥ عيارى – دليل الفينول فيثالين – محلول فهلنج (أ) – محلول فهلنج (ب)– محلول (C) – محلول (D) – محلول (E)– دليل النشا.

خطوات العمل:

يمكن تقدير السكروز تقديرا كميا بإتباع الخطوات التالية:-

أ- تحويل السكروز إلى الجلوكوز والفركتوز:

١- فى أنبوبة اختبار نظيفة جافة، خذ ١٠ مل من المحلول المراد تقدير السكروز فيه.

٢- أضف إلى الأنبوبة ٥ مل من حمض الهيدروكلوريك ١,٥ عيارى.

٣- ضع الأنبوبة فى حمام مائى عند درجة حرارة ٦٥ °م لمدة ٢/١ ساعة. حيث أنه تحت هذه الظروف سوف يتحلل السكروز إلى الجلوكوز والفركتوز.

ب- معادلة الوسط الحامضى:

لهذه الخطوة أهمية خاصة وذلك لأن:

حمض الهيدروكلوريك ١,٥ عيارى يعتبر عامل مساعد، وبالتالى فهو يتبقى فى نهاية التفاعل كما هو، وعليه يصبح الوسط حامضى، وهذا يتعارض مع شروط طريقة فاندر بلانك، والتى تشترط أن يكون الوسط متعادلا، ولذلك يجب معادلة حمض الهيدروكلوريك ١,٥ عيارى، بواسطة هيدروكسيد الصوديوم ١,٥ عيارى، فى وجود دليل الفينول فيثالين والتى تتم كالآتى:-

٤- أخرج الأنبوبة من الحمام المائى بعد انتهاء الزمن (مدة ٢/١ ساعة تقريبا) اللازم لتحليل السكروز، وبردها بماء بارد.

٥- بعد تبريد الأنبوبة، أنقل محتويات الأنبوبة إلى دورق مخروطى سعة ١٠٠ مل، وعادل هذه المحتويات بإستخدام هيدروكسيد الصوديوم ١,٥ عيارى الذى يكون موجود بالسحاحة وذلك فى وجود دليل الفينول فيثالين(نقطة البداية عديم اللون والنهاية لون احمر وردى).

٦- استمر فى المعادلة (المعايرة)، حتى ظهور لون أحمر خفيف جدا (وهو لون دليل الفينول فيثالين في الوسط المتعادل والقلوى).

٧- أنقل محتويات هذا الدورق بعد انتهاء المعايرة، إلى دورق عيارى سعة ١٠٠ مل، واغسله عدة مرات بالماء المقطر، بحيث لا يتعدى المجموع الكلى لماء الغسيل للدورق عن ٥٠-٦٠ مل، وفى كل مرة أضف ماء الغسيل إلى الدورق المعيارى، ثم أكمل إلى العلامة بالماء المقطر (ومعنى ذلك أن ١٠ مل من محلول السكروز المتحلل خففت إلى ١٠٠ مل).

٨-أقفل الدورق المعيارى بغطائه المحكم، ثم رجه جيدا.

ج- التقدير الكمى للسكر

٨- جهز عدد ٦ أنابيب اختبار نظيفة جافة، وضع فى كل أنبوبة من ثلاثة منهم ٥ مل من الماء المقطر (بلانك)، وفى كل أنبوبة من الأنابيب الثلاثة الأخرى الباقية ٥مل من محلول السكروز المتحلل.

٩- أضف إلى كل أنبوبة من الأنابيب الستة ٥ مل من مخلوط محلول فهلنج (أ) + (ب) بنسبة ٢:٥على الترتيب.

١٠- أنقل الأنابيب الستة إلى حمام مائى ساخن وأستمر فى التسخين حتى الغليان لمدة ١٥ دقيقة من بداية الغليان.

١١- برد الأنابيب جميعها بعناية تحت الصنبور.

١٢- أضف إلى كل أنبوبة من الأنابيب الستة ٥ مل من محلول (C) متبوعة بـ ٥ مل محلول (D)، ثم أترك الأنابيب ٥ دقائق ليتم التفاعل.

١٣- عاير الأنابيب الستة مع ٠,٠١ عيارى ثيوكبريتات الصوديوم فى وجود النشا كدليل (نقطة البداية هى ظهور اللون الأزرق، والنهاية هى زوال هذا اللون الأزرق).

١٤- أحسب متوسط حجوم الثيوكبريتات المستهلكة فى حالة الثلاثة أنابيب غير المحتوية على السكر(بلانك)، وكذلك فى حالة الأنابيب الثلاثة الأخرى المحتوية على السكر.

١٥- اوجد تركيز السكر المعطى لك.

طريقة الحساب

١مل من ثيوكبريتات الصوديوم١٠,٠ع ≡ ٠,٢٧مليجرام هكسوز

١ جرام من السكروز ≡ ٠.٩٥جرام هكسوز

نفرض أن متوسط حجم ثيوكبريتات الصوديوم ٠,٠١ع المكافىء للأنابيب بلانك= ح

نفرض أن متوسط حجم ثيوكبريتات الصوديوم ٠,٠١ع المكافىء للأنابيب فى حالة السكر= $ح_{١}$

∴حجم ثيوكبريتات الصوديوم المكافىء لكمية السكر الموجود فى٥ مل المأخوذه =

$ح - ح_{١} = ح_{٢}$

$$\text{∴تركيز السكر} = \frac{ح_{٢} \times ٠,٢٧ \times ٠,٩٥ \times ١٠٠ \times ١٠٠}{٥} = \text{س مليجرام/١٠ مل}$$

$$\text{∴تركيز السكر} = \frac{ح \times ٢ \times ٠,٢٧ \times ٠,٩٥ \times ١٠٠ \times ١٠٠٠}{٥ \times ١٠ \times ١٠٠٠} = \text{س جرام/ لتر}$$

نتائج التجربة

نفرض ان حجم ثيوكبريتات الصوديوم ٠,٠١ع المكافىء للأنابيب بلانك هو : ح١، ح٢، ح٣

متوسط حجم ثيوكبريتات الصوديوم ٠,٠١ع المكافئ للأنابيب بلانك هو

(ح) = (ح١ + ح٢ + ح٣) ÷٣= (+   +   ) ÷ ٣ =

نفرض ان حجم ثيوكبريتات الصوديوم ٠,٠١ع المكافئ للأنابيب فى حالة السكرهو: ح٤، ح٥، ح٦

متوسط حجم ثيوكبريتات الصوديوم ٠,٠١ع المكافىء للأنابيب فى حالة السكر

(ح١) = (ح٤+ح٥+ح٦) ÷٣ = (+   +   ) ÷ ٣ =

∴ حجم ثيوكبريتات الصوديوم المكافىء لكمية السكر الموجود فى ٥ مل المأخوذه

(ح٢) = ح− ح١ =

× ٠,٢٧ × ٠.٩٥ × ١٠٠ × ١٠٠٠

∴ تركيز السكر = ———————————— = جرام / لتر

٥ × ١٠ × ١٠٠٠

تجربة رقم (٤)

الغرض من التجربة:

٤- التقدير الكمى الدقيق للسكريات العديدة (النشا) بطريقة فاندر بلانك

من شروط طريقة فاندر بلانك أن يكون السكر أحاديا، وأن يكون الوسط متعادل، وعليه يجب أولا أن يتحلل السكر العديد(النشا) الى السكريات الأحادية المكونة له وهو الجلوكوز، حيث أن النشا يتكون من عدد لا محدود من وحدات الجلوكوز، ويتم ذلك بواسطة حمض الهيدروكلوريك المركز ثم معادلة الحمض بواسطة قلوى ليصبح المحلول متعادل وبذلك نكون قد حققنا شروط فاندر بلانك لتقدير السكريات.

التجـــربة

المواد والأدوات المطلوبة:

سحاحة– دورق مخروطى ١٠٠ مل– دورق معيارى ١٠٠مل – أنابيب أختبار – حمض هيدروكلوريك مركز– محلول نشا – دليل نشا– كربونات صودويوم ٠.٥ عيارى– دليل فينول فيثالين– محلول فهلنج (أ) – محلول فهلنج (ب)– محلول (C) – محلول (D) – محلول (E).

خطوات العمل:

يمكن تقدير النشا تقديرا كميا بإتباع الخطوات التالية:-

أ- تحويل النشا (سكر عديد) إلى الجلوكوز (سكر أحادى) :

١- خذ أنبوبتين اختبار نظيفة جافة وأكتب على إحداهما رقم (١) والثانية رقم (٢)، وضع فى كل منهما ١٠ مل من محلول النشا المراد تقدير السكريات فيه.

٢- أضف إلى كل منهما حوالى من ١٠- ١٥ نقطة من حمض الهيدروكلوريك المركز.

٣- ضع الأنبوبتين فى حمام مائى واستمر فى التسخين حتى الغليان.

٤- أحضر طبق بروسلين ذو الفجوات، وضع فى كل فجوة كمية من محلول اليود المخفف.

٥- بعد مضى حوالى ١٥ دقيقة خذ نقطة من محلول النشا الموجود بالأنبوبة رقم (١) وضعها على نقطة يود فى طبق البروسلين، ولا حظ اختفاء اللون الأزرق من عدمه.

٦- استمر فى الغليان ومراقبة إختفاء اللون الأزرق من وقت لأخر كل ٥ دقائق حتى يختفى اللون الأزرق تماما.

٧- عند تمام إختفاء اللون الأزرق، ألغى الأنبوبة رقم (١) التى كان يتم منها الاختبار، ثم أخرج الأنبوبة رقم (٢) من الحمام وبردها بماء بارد.

ب- معادلة الوسط الحامضى:

٨- بعد تبريد الأنبوبة أنقل محتوياتها إلى دورق مخروطى سعة ١٠٠ مل، وعادل هذه المحتويات بإستخدام كربونات الصودويوم ٠,٥ عيارى، وذلك فى وجود دليل الفينول فيثالين (نقطة البداية عديم اللون والنهاية لون احمر وردى).

٩- استمر فى المعادلة (المعايرة) حتى ظهور لون أحمر خفيف جدا (وهو لون دليل الفينول فيثالين الوسط المتعادل والقلوى).

١٠- أنقل محتويات هذا الدورق المخروطى بعد انتهاء المعايرة إلى دورق عيارى سعة ١٠٠ مل (أى أن ١٠ مل من محلول النشا المتحلل خففت إلى ١٠٠ مل). واغسله عدة مرات بالماء المقطر بحيث لا يتعدى المجموع الكلى لماء الغسيل عن ٥٠- ٦٠مل، وفى كل مرة أضف ماء الغسل إلى الدورق المعيارى، ثم أكمل إلى العلامة بالماء المقطر.

١١- أقفل الدورق المعيارى بغطاءه المحكم ثم رجه جيدا.

ج- التقدير الكمى للنشا

١٢- جهز عدد ٦ أنابيب إختبار نظيفة جافة، وضع فى كل أنبوبة من ثلاثة منهم ٥ مل من محلول النشا المتحلل، وفى كل أنبوبة من الأنابيب الثلاثة الأخرى الباقية ٥ مل الماء المقطر فقطى(بلانك).

١٣- أضف إلى كل أنبوبة من الأنابيب الستة ٥ مل من مخلوط محلول فهلنج (أ) + (ب) بنسبة ٢:٥ على الترتيب.

١٤- أنقل الأنابيب الستة إلى حمام مائى ساخن وأستمر فى التسخين حتى الغليان لمدة ١٥ دقيقة من بداية الغليان.

١٥- برد الأنابيب جميعها بعناية تحت الصنبور.

١٦- أضف إلى كل أنبوبة من الأنابيب الستة ٥ مل من محلول (C) متبوعة بـ ٥ مل من محلول (D)، ثم أترك الأنابيب ٥ دقائق حتى يتم التفاعل.

١٧- عاير الأنابيب الستة مع ٠,٠١ عيارى ثيوكبريتات الصوديوم فى وجود النشا كدليل (نقطة البداية هى ظهور اللون الأزرق، والنهاية هى زوال هذا اللون الأزرق)

١٨- اوجد تركيز النشا فى المحلول المعطى لك.

طريقة الحساب

١مل من ثيوكبريتات الصوديوم ٠,٠١ع ≡ ٠,٢٧مليجرام هكسوز

نفرض أن حجم ثيوكبريتات الصوديوم ٠,٠١ع المكافىء للأنبوبة بلانك = ح

نفرض أن حجم ثيوكبريتات الصوديوم ٠,٠١ع فى حالة السكر = $ح_{١}$

∴ حجم ثيوكبريتات الصوديوم المكافىء لكمية النشا الموجود فى ٥ مل المأخوذه =

$ح - ح_{١} = ح_{٢}$

∴ تركيز النشا = $\frac{ح_{٢} \times ٠,٢٧ \times ١٠٠ \times ١٠٠٠}{٥ \times ١٠ \times ١٠٠٠}$ = س جرام/ لتر

نتائج التجربة

متوسط حجم ثيوكبريتات الصوديوم ٠,٠١ع المكافىء للأنبوبة بلانك (ح)=

(ح١ + ح٢ + ح٣) ÷٣= (+ +) ÷٣=

متوسط حجم ثيوكبريتات الصوديوم ٠,٠١ع المكافىء للأنابيب فى حالة السكر (ح١) = (ح٤+ح٥+ح٦) ÷٣ = (+ +) ÷٣=

∴ حجم ثيوكبريتات الصوديوم المكافىء لكمية السكر الموجود في ٥ مل المأخوذة = ح- ح١=ح٢

∴ تركيز النشا = $\frac{ح_{٢} \times ٠,٢٧ \times ١٠٠ \times ١٠٠٠}{٥ \times ١٠ \times ١٠٠٠}$ = جرام/ لتر

الباب الثانى

التقدير الكمي الدقيق لمخلوط من السكريات بطريقة فاندر بلانك

تجربة رقم (٥)

الغرض من التجربة:

٥- التقدير الكمى الدقيق لمخلوط من الجلوكوز والسكروز بطريقة فاندر بلانك

إذا افترضنا أن لديك مستخلص نبات به سكريات أحادية مثل الجلوكوز وسكريات ثنائية مثل السكروز فكيف يمكنك تقدير الجلوكوز والسكروز معا؟ وللإجابة على ذلك السؤال فإنه يمكن ذلك طبقا لما يلى:

التجـــربة

المواد والأدوات المطلوبة:

سحاحة – دورق مخروطى سعة ١٠٠ مل – دورق معيارى ١٠٠ مل – أنابيب اختبار – نشا – حمض الهيدروكلوريك ١,٥ عيارى – هيدروكسيد صـــوديوم ١,٥ عيـــارى – دليـــل الفينـــول فيثـــالين – ثيوكبريتـــات صوديوم ٠,٠١ ع.

خطوات العمل:

يمكن تقدير الجلوكوز والسكروز معا تقديرا كميا بإتباع الخطوات التالية:-

أ- تقدير تركيز الجلوكوز (السكر أحادى) :

١- جهز عدد ٦ أنابيب اختبار نظيفة جافة، وضع فى كل أنبوبة من ثلاثة منهم ١ مل من مخلوط الجلوكوز والسكروز، بينما يوضع فى كل أنبوبة من الأنابيب الثلاثة الأخرى الباقية ١ مل الماء المقطر (بلانك).

٢- أكمل الأنابيب جميعها إلى ٥ مل بإضافة ٤ مل ماء مقطر لكل أنبوبة

٣- أضف إلى كل أنبوبة من الأنابيب الستة ٥ مل من مخلوط محلول فهلنج (أ) + (ب) بنسبة ٢:٥

٤- أنقل الأنابيب الستة إلى حمام مائى ساخن وأستمر فى التسخين حتى الغليان لمدة ١٥ دقيقة من بداية الغليان.

٥- برد الأنابيب جميعها بعناية تحت الصنبور.

٦- أضف إلى كل أنبوبة من الأنابيب الستة ٥ مل من محلول (C) متبوعة بـ ٥ مل محلول (D)، ثم أترك الأنابيب ٥ دقائق ليتم التفاعل.

٧- عاير الأنابيب الستة مع ٠,٠١ عيارى ثيوكبريتات الصوديوم فى وجود النشا كدليل (نقطة البداية هى ظهور اللون الأزرق، والنهاية زوال اللون الأزرق)، لتحصل فى النهاية على حجم ثيوكبريتات الصوديوم المكافئ لكمية الجلوكوز الموجودة فى ١ مل من المخلوط

ب- تقدير تركيز الجلوكوز والسكروز معا:

١- فى أنبوبة اختبار نظيفة جافة خذ ١٠ مل من مخلوط محلول الجلوكوز والسكروز .

٢- أضف إلى الأنبوبة ٥ مل من حمض الهيدروكلوريك ١,٥ عيارى.

٣- ضع الأنبوبة فى حمام مائى عند درجة حرارة ٦٥ °م لمدة ٢/١ ساعة. حيث أنه تحت هذه الظروف سوف يتحلل السكروز الموجود بالمخلوط إلى سكريات أحادية.

٤- أخرج الأنبوبة من الحمام المائى بعد انتهاء الزمن (مدة ٢/١ ساعة تقريبا) اللازم لتحليل السكروز، وبردها بماء بارد.

٥- بعد تبريد الأنبوبة أنقل محتوياتها إلى دورق مخروطي سعة ١٠٠ مل، وعادل هذه المحتويات باستخدام هيدروكسيد صوديوم ١,٥ عيارى، وذلك فى وجود دليل الفينول فيثالين(نقطة البداية عديم اللون والنهاية لون احمر وردى).

٦- استمر فى المعادلة (المعايرة) حتى ظهور لون أحمر خفيف جدا (وهو لون دليل الفينول فيثالين الوسط المتعادل والقلوى).

٧- أنقل محتويات هذه الدورق المخروطي بعد انتهاء المعايرة إلى دورق عيارى سعة ١٠٠ مل (ى أن ١٠ مل من محلول السكروز المتحلل خففت إلى ١٠٠ مل)، واغسله عدة مرات بالماء المقطر بحيث لا يتعدى المجموع الكلى لماء الغسيل عن ٥٠-٦٠مل، وفى كل مرة أضف ماء الغسل إلى الدورق المعيارى، ثم أكمل إلى العلامة بالماء المقطر.

٨- أقفل الدورق المعيارى بغطاءه المحكم ثم رجه جيدا.

ج- التقدير الكمى لمخلوط الجلوكوز والسكروز

٩- جهز ٦ أنابيب إختبار نظيفة جافة، وضع فى كل انبوبة من ثلاثة منهم ٥ مل من محلول السكروز المتحلل، بينما يوضع فى كل انبوبة من الأنابيب الثلاثة الأخرى الباقية ٥ مل الماء المقطر (بلانك).

١٠- أضف إلى كل أنبوبة من الأنابيب الستة ٥ مل من مخلوط محلول فهلنج (أ) + (ب) بنسبة ٢:٥

١١- أنقل الأنابيب الستة إلى حمام مائى ساخن وأستمر فى التسخين حتى الغليان، اترك الأنابيب الخمسة لمدة ١٥ دقيقة من بداية الغليان، ثم أخرج الأنابيب من الحمام المائى.

١٢- برد الأنابيب جميعها بعناية تحت الصنبور.

١٣- أضف إلى كل أنبوبة من الأنابيب الستة ٥ مل محلول (C) متبوعة بـ ٥ مل محلول D)، ثم أترك الأنابيب ٥ دقائق ليتم التفاعل.

١٤- عاير الأنابيب الستة مع ٠,٠١ عيارى من ثيوكبريتات الصوديوم فى وجود النشا كدليل (نقطة البداية هى ظهور اللون الأزرق، والنهاية هى زوال هذا اللون الأزرق)، لتحصل فى النهاية على حجم ثيوكبريتات الصوديوم ٠,٠١ع المكافىء لكمية الجلوكوز والسكروز الموجودة فى المخلوط.

طريقة الحساب

١مل من ثيوكبريتات الصوديوم٠,٠١ع = ٠,٢٧مليجرام هكسوز

١ جرام من السكروز = ٠,٩٥جرام هكسوز

نفرض أن حجم ثيوكبريتات الصوديوم ٠,٠١ع المكافئ للأنبوبة بلانك = ح

نفرض أن حجم ثيوكبريتات الصوديوم ٠,٠١ع الغير متفاعل فى حالة السكر = ح١

∴ حجم ثيوكبريتات الصوديوم٠,٠١ع المكافىء للجلوكوز فقط (كمية السكر الموجود فى ١ مل من الحجم المأخوذ من المخلوط)= ح- ح١ = ح٢

حجم ثيوكبريتات الصوديوم٠.٠١ع المكافىء للجلوكوز والسكروز معا الموجود في ١مل من الحجم المأخوذ من المخلوط= ح- ح٣ = ح٤

∴ تركيز الجلوكوز فقط فى المخلوط

= ح٢ × ٠,٢٧ × ١٠٠٠ = س١ جرام جلوكوز/ لترمن المخلوط

تركيز الجلوكوز والسكروز معا فى المخلوط

= ح٤ × ٠,٢٧ × ٠.٩٥ × ١٠٠ × ١٠٠٠ ×١ = س٢ جرام/ لتر

٥ ×١٠ × ١٠٠٠

∴ تركيز السكروز فقط في المخلوط= س٢ – س١ = س٣

نتائج التجربة

نفرض أن حجم ثيوكبريتات الصوديوم ٠,٠١ع المكافىء للأنبوبة بلانك =

نفرض أن حجم ثيوكبريتات الصوديوم ٠,٠١ع فى حالة السكر =

∴حجم ثيوكبريتات الصوديوم٠.١ع المكافىء **للجلوكوز فقط** (كمية السكر الموجود فى ١ مل من الحجم المأخوذ من المخلوط)= ح– ح١ = – =

حجم ثيوكبريتات الصوديوم٠.١ع المكافىء **للجلوكوز والسكروز** معا الموجود فى ١ مل من الحجم المأخوذ من المخلوط= ح– ح٣ = – =

∴ **تركيز الجلوكوز فقط فى المخلوط**= × ٠,٢٧ × ١٠٠٠= جرام / لتر

تركيز الجلوكوز والسكروز معا فى المخلوط

= × ٠,٢٧ × ٠.٩٥ × ١٠٠ × ١٠٠٠ = جرام/ لتر

٥ ×١٠ × ١٠٠٠

∴ تركيز السكروز فقط فى المخلوط = – = جرام/لتر

تجربة رقم (٦)

الغرض من التجربة:

٦- التقدير الكمى الدقيق لمخلوط من الجلوكوز والنشا بطريقة فاندر بلانك

يمكن تقدير مخلوط من الجلوكوز والنشا بإتباع نفس الطريقة السابقة التى أتبعت فى تقدير مخلوط من الجلوكوز والسكروز معا.

التجـــربة

المواد والأدوات المطلوبة:

سحاحة – دورق مخروطى سعة ١٠٠ مل – دورق معيارى ١٠٠ مل – أنابيب اختبار – نشا – حمض الهيدروكلوريك مركز – كربونات صوديوم ٠,٥ عيارى – دليل الفينول فيثالين – ثيوكبريتات الصوديوم ٠,١ع .

خطوات العمل:

يمكن تقدير الجلوكوز والنشا معا تقديرا كميا بإتباع الخطوات التالية:-

أ- تقدير تركيز الجلوكوز (السكر أحادى) في المخلوط :

١- جهز ٦ أنابيب اختبار نظيفة جافة، وضع فى كل أنبوبة من ثلاثة منهم ١ مل من مخلوط الجلوكوز والنشا، بينما يوضع فى كل أنبوبة من الأنابيب الثلاثة الأخرى الباقية ١ مل الماء المقطر (بلانك).

٢- أكمل الأنابيب جميعها إلى ٥مل بإضافة ٤ مل ماء مقطر لكل أنبوبة.

٣- أضف إلى كل أنبوبة من الأنابيب الستة ٥ مل من مخلوط محلول فهلنج (أ) + (ب) بنسبة ٢:٥

٤- أنقل الأنابيب الستة إلى حمام مائى ساخن وأستمر فى التسخين حتى الغليان لمدة ١٥ دقيقة من بداية الغليان.

٥- برد الأنابيب جميعها بعناية تحت الصنبور.

٦- أضف إلى كل أنبوبة من الأنابيب الستة ٥ مل محلول (C) متبوعة بـ٥ مل من محلول (D)، ثم أترك الأنابيب ٥ دقائق ليتم التفاعل

٧- عايرالأنابيب الستة مع٠,٠١ عيارى ثيوكبريتات صوديوم فى وجود النشا كدليل (نقطة البداية ظهور اللون الأزرق، والنهاية زوال اللون الأزرق)، لتحصل على حجم ثيوكبريتات الصوديوم ٠,٠١ع المكافىء لكمية الجلوكوز الموجودة فى ١ مل من المخلوط.

ب- تقدير تركيز الجلوكوز والنشا معا :

١- خذ أنبوبتين اختبار نظيفة جافة وأكتب على إحداهما رقم (١) والثانية رقم (٢)، وضع فى كل منهما ١٠ مل من مخلوط الجلوكوز والنشا المراد تقدير السكريات فيه.

٢- أضف إلى كل منهما حوالى من ١٠- ١٥ نقطة من حمض الهيدروكلوريك المركز.

٣- ضع الأنبوبتين فى حمام مائى واستمر فى التسخين حتى الغليان.

٤- أحضر طبق بروسلين ذو الفجوات، وضع فى كل فجوة كمية من محلول اليود المخفف.

٥- بعد مضى حوالى ١٥ دقيقة خذ نقطة من محلول النشا الموجود بالأنبوبة رقم (١) وضعها على نقطة يود فى الطبق، ولا حظ اختفاء اللون الأزرق من عدمه.

٦- استمر فى الغليان وفى إختفاء اللون الأزرق من وقت لأخر كل ٥ دقائق حتى يختفى اللون الأزرق تماما.

٧- عند تمام إختفاء اللون الأزرق ألغى الأنبوبة رقم (١) التى كان يتم منه الإختبار، وأخرج الأنبوبة رقم (٢) من الحمام المائى وبردها.

ب- معادلة الوسط الحامضى:

٨- بعد تبريد الأنبوبة أنقل محتوياتها إلى دورق مخروطي سعة ١٠٠ مل، وعادل هذه المحتويات باستخدام كربونات الصوديوم ١,٥ عيارى، وذلك فى وجود دليل الفينول فيثالين(نقطة البداية عديم اللون والنهاية لون احمر وردى).

٩- استمر فى المعادلة (المعايرة) حتى ظهور لون أحمر خفيف جدا (وهو لون دليل الفينول فيثالين الوسط المتعادل والقلوى).

١٠- أنقل محتويات هذا الدورق المخروطي بعد انتهاء المعايرة إلى دورق عيارى سعة ١٠٠ مل(أى أن ١٠ مل من محلول النشا المتحلل خففت إلى ١٠٠ مل)، واغسله عدة مرات بالماء المقطر بحيث لا يتعدى المجموع الكلى لماء الغسيل عن ٥٠-٦٠ مل، وفى كل مرة أضف ماء الغسل إلى الدورق المعيارى، ثم أكمل إلى العلامة بالماء المقطر.

١١- أقفل الدورق المعيارى بغطاءه المحكم ثم رجه جيدا.

ج- التقدير الكمى لمخلوط الجلوكوز والنشا

١٢- جهز ٦ أنابيب إختبار نظيفة جافة، وضع فى كل انبوبة من ثلاثة منهم ٥ مل من المخلوط المتحلل (الجلوكوز+ النشا)، وفى كل انبوبة من الأنابيب الثلاثة الباقية ٥ مل الماء المقطر (بلانك).

١٣- أضف إلى كل أنبوبة من الأنابيب الستة ٥ مل من مخلوط محلول فهلنج (أ) + (ب) بنسبة ٢:٥

١٤- أنقل الأنابيب الستة إلى حمام مائى ساخن وأستمر فى التسخين حتى الغليان لمدة ١٥ دقيقة من بداية الغليان.

١٥- برد الأنابيب جميعها بعناية تحت الصنبور.

١٦-أضف إلى كل أنبوبة من الأنابيب الستة ٥ مل من محلول (C) متبوعة بـ٥ مل من محلول(D)، ثم أترك الأنابيب ٥ دقائق ليتم التفاعل.

١٧- عاير الأنابيب الستة مع ٠,٠١ عيارى ثيوكبريتات الصوديوم فى وجود النشا كدليل (نقطة البداية هى ظهور اللون الأزرق، والنهاية هى زوال هذا اللون الأزرق)، لتحصل فى النهاية على حجم ثيوكبريتات الصوديوم ٠,٠١ع المكافئ لكمية الجلوكوز والنشا الموجودة فى المخلوط.

طريقة الحساب

١مل من ثيوكبريتات الصوديوم٠,٠١ع = ٠,٢٧ مليجرام هكسوز

نفرض أن حجم ثيوكبريتات الصوديوم٠,٠١ع المكافئ للأنبوبة بلانك=ح

نفرض أن حجم ثيوكبريتات الصوديوم ٠,٠١ع الغير متفاعل فى حالة السكر = $ح_{١}$

∴.حجم ثيوكبريتات الصوديوم٠,٠١ع المكافئ للجلوكوز فقط (كمية السكر الموجود فى ١ مل من الحجم المأخوذ من المخلوط)= ح- $ح_{١}$ = $ح_{٢}$

حجم ثيوكبريتات الصوديوم٠,٠١ع المكافىء للجلوكوز والنشا معا الموجود فى ١٠ مل من الحجم المأخوذ من المخلوط= ح- $ح_{٣}$ = $ح_{٤}$

∴ تركيز الجلوكوز فقط فى المخلوط= $ح_{٢}$ × ٠,٢٧ × ١٠٠٠ = $س_{١}$ جرام/ لتر

تركيز الجلوكوز والنشا معا فى المخلوط

$$= \frac{ح_{٤} \times ٠,٢٧ \times ١٠٠ \times ١٠٠٠}{٥ \times ١٠ \times ١٠٠٠} = س_{٢} \text{ جرام/ لتر}$$

∴ تركيز النشا فقط فى المخلوط= $س_{٢}$ - $س_{١}$ = $س_{٣}$ جرام/لتر

النتائج

نفرض أن حجم ثيوكبريتات الصوديوم ٠,٠١ع المكافىء للأنبوبة بلانك =

نفرض أن حجم ثيوكبريتات الصوديوم ٠,٠١ع الغير متفاعل فى حالة السكر =

∴ حجم ثيوكبريتات الصوديوم٠,١ع المكافىء **للجلوكوز فقط**(كمية السكر الموجود فى ١ مل من الحجم المأخوذ من المخلوط)= ح- ح$_{١}$ = - =

حجم ثيوكبريتات الصوديوم٠,١ع المكافىء **للجلوكوز والنشا** معا الموجود فى ١٠ مل من الحجم المأخوذ من المخلوط= ح- ح $_{٣}$= - =

∴ **تركيز الجلوكوز** فقط فى المخلوط = × ٠,٢٧ × ١٠٠٠ = جرام / لتر

تركيز الجلوكوز والنشا معا فى المخلوط

$$= \frac{\times\ ٠,٢٧ \times ١٠٠ \times ١٠٠٠}{٥ \times ١٠ \times ١٠٠٠} = \text{جرام/ لتر}$$

∴ تركيز النشا فقط فى المخلوط = - = جرام/لتر

الباب الثالث

التقدير الكمى الدقيق
لمخلوط من السكريات بطريقة فاندر بلانك
باستخدام الإنزيمات

الإنزيمات Enzymes

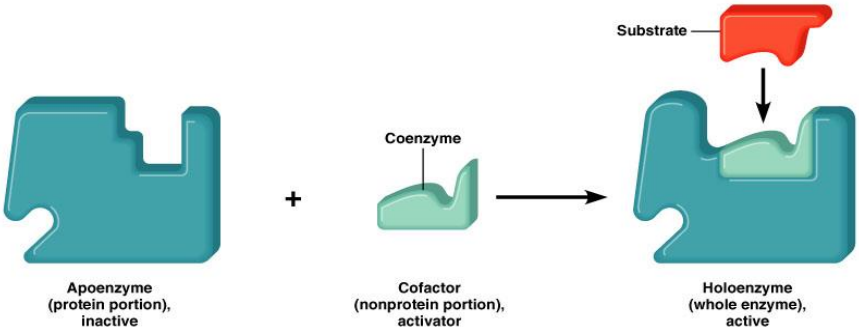
هى مواد بروتينية بسيطة أو معقدة، موجودة بالخلايا وتعمل على تسيير Catalyst التفاعلات بها وهى متخصصة. وتؤدى إلى سرعة التفاعل الكيميائى دون أن تستهلك فيه، أو تصبح من نواتجه.

أى أن الإنزيمات عوامل مساعدة عضوية Organic Catalyst، وتوجد الإنزيمات فى كل الكائنات الحية، إما منطلقة فى السيتوبلازم، أو مرتبطة بطريقة ما مع عضيات الخلية، كما أنها توجد كذلك فى العصير الخلوى.

بدراسة التركيب الكيميائي للإنزيمات، وجد أن بعضها يتكون من بروتينات بسيطة Simple Proteins أى تتكون من أحماض أمينية فقط، والبعض الآخر يتكون من بروتينات مرتبطة Conjugated Proteins. وفى هذه الحالة يتركب الإنزيم من جزء بروتينى (يتكون من أحماض أمينية فقط)، ويسمى بالإنزيم المجرد Apoenzyme وجزء غير بروتينى (لا يحتوى على أحماض أمينية) ويسمى بالعامل المرافق Co-factor والأنزيم المجرد Apoenzyme، والعامل المرافقCo-factor، يسميان معا بإسم

الإنـزيم المتكامـل Holoenzyme. والعامـل المرافـق هـو مركـب لازم لنشـاط الإنـزيم، ولا يعمـل بدونـه ولا يتـأثر بـالحرارة بعكـس الجـزء البروتينـى مـن الإنزيم الذى يتأثر بالحرارة

Apoenzyme + Cofactor ⟶ Holoenzyme



الإنزيم المتكامل ⟵ العامل المرافق + الإنزيم المجرد

تجربة رقم (٧)

الغرض من التجربة:

التقدير الكمى الدقيق للسكروز بطريقة فاندر بلانك

بإستخدام إنزيم الإنفرتيز (السكريز)

يمكن تقدير السكروز وذلك بتحليلـه مائيا بواسطة انـزيم الإنفرتيـز طبقا للمعادلـة الآتيـة:

$$\text{Sucrose} + H_2O \xrightarrow[\text{38- 42 °C for ½ h.}]{\text{Invertase (Sucrase)}} \text{Glucose} + \text{Fructose}$$

المواد والأدوات المطلوبة:

سـحاحة – دورق مخروطـى سـعة ١٠٠ مـل – إنـزيم الإنفرتيـز (السكريز)– محلول سكروز– أنابيب اختبار – محلول فهلـنج (أ)، (ب)– محلول (C)– محلول (D)– محلول (E)– دليل النشا.

خطوات العمل:

١– جهز عدد ٦ أنابيب اختبـار نظيفـة جافـة، وضـع فـى كل انبوبـة مـن ثلاثة منهم ٢ مل من المحلول المراد ايجاد تركيز السكر فيه، وفى كل انبوبة من الأنابيب الثلاثة الأخرى ٢ مل الماء المقطر (بلانك).

٢- أضف إلى كل أنبوبة من الأنابيب الستة ١مل من انزيم الإنفرتيز، وضع الأنابيب جميعها فى حمام مائى عند درجة حرارة ٣٧-٤٢°م لمدة ٢/١ ساعة.

٣- أخرج الأنابيب وبرد جميعها بعناية تحت الصنبور

٤-أضف إلى كل أنبوبة من الأنابيب الستة ٥ مل من مخلوط محلول فهلنج (أ) + (ب) بنسبة ٢:٥ على الترتيب.

٥- أنقل الأنابيب الستة إلى حمام مائى ساخن وأستمر فى التسخين حتى الغليان، لمدة ١٥ دقيقة من بداية الغليان.

٦- أضف إلى كل أنبوبة من الأنابيب الستة ٥ مل من محلول (C) متبوعة بـ ٥ مل من محلول (D)، ثم أتركهم٥ دقائق ليتم التفاعل.

٦- عاير الأنابيب الست مع ٠,٠١ عيارى ثيوكبريتات الصوديوم فى وجود النشا كدليل (نقطة البداية هى ظهور اللون الأزرق، والنهاية هى زوال هذا اللون الأزرق)،

٧-أحسب متوسط حجم ثيوكبريتات الصوديوم٠,٠١ع المكافئ للأنابيب الثلاثة فى حالة بلانك، وكذلك الثلاثة أنابيب المحتوية على السكر.

٨- أوجد تركيز السكر فى المحلول المعطى لك.

طريقة الحساب

١مل من ثيوكبريتات الصوديوم٠,٠١ع ≡ ٠,٢٧مليجرام هكسوز

١ جرام من السكروز ≡ ٠,٩٥جرام هكسوز

نفرض أن متوسط حجم ثيوكبريتات الصوديوم٠,٠١ع المكافئ للأنابيب بلانك = ح

نفرض أن متوسط حجم ثيوكبريتات الصوديوم ٠,٠١ع المكافئ للأنابيب فى حالة السكر= ح١

∴حجم ثيوكبريتات الصوديوم المكافئ لكمية السكر الموجود فى٢ مل المأخوذة=

ح− ح١= حَ

∴ تركيز السكروز = (حَ × ٠,٢٧ × ٠,٩٥ ×١٠٠٠) / (٢ × ١٠٠٠) = س جرام/ لتر

النتائج

متوسط حجم ثيوكبريتات الصوديوم ٠,٠١ع المكافئ للأنابيب بلانك =

متوسط حجم ثيوكبريتات الصوديوم ٠,٠١ع المكافئ للأنابيب فى حالة السكر =

∴ حجم ثيوكبريتات الصوديوم المكافئ لكمية السكر الموجود فى ٢ مل المأخوذة=

∴ تركيز السكروز = (× ٠,٢٧ × ٠.٩٥ ×١٠٠٠) / (٢× ١٠٠٠) = جرام/ لتر

تجربة رقم (٨)

الغرض من التجربة:

التقدير الكمى الدقيق للنشا بطريقة فاندر بلانك بإستخدام إنزيم الدياستيز

يمكن تقدير النشا وذلك بتحليله مائيا بواسطة انزيم الدياستيز طبقا للمعادلة الآتية:

$$\text{Starch} + H_2O \xrightarrow[\text{38- 42 °C for ½ h.}]{\text{Diastase}} (\text{Glucose})n$$

التجـــربة

المواد والأدوات المطلوبة:

سحاحة – دورق مخروطى سعة ١٠٠ مل – أنابيب اختبار – محلول نشا – انزيم الدياستيز – محلول فهلنج (أ)، (ب)– محلول (C)– محلول (D)– محلول (E)– دليل النشا.

خطوات العمل:

١- جهز عدد ٧ أنابيب إختبار نظيفة جافة، وضع فى كل انبوبة من أربعة منهم ٢ مل من المحلول المراد إيجاد تركيز النشا فيه، وفى كل انبوبة من الأنابيب الثلاثة الباقية ٢ مل الماء المقطر (بلانك).

٢- أضف إلى كل أنبوبة من الأنابيب السبعة ٢مل من انزيم الدياستيز، وضع الأنابيب جميعها فى حمام مائى عند درجة حرارة ٣٧-٤٢°م لمدة ٢/١ ساعة.

٣- حضر الطبق الصينى ذو التجاويف وضع بكل تجويف نقطة من محلول اليود المخفف.

٤- اختبر اختفاء اللون الأزرق، من وقت لآخر وذلك بأخذ نقط من محلول النشا الموجود فى إحدى الأنابيب الأربعة الأولى التى بها محلول النشا، حتى يختفى اللون الأزرق تماما، عندئذ يكون النشا قد تحلل تحللا كاملا إلى الجلوكوز بفعل إنزيم الدياستيز.

٥- عندئذ أخرج الأنابيب السبعة من الحمام المائى، والغى الأنبوبة التى كان يتم منها الاختبار، ثم برد الأنابيب الست الباقية جميعها بعناية تحت الصنبور.

٦-أضف إلى كل أنبوبة من الأنابيب الستة ٥ مل من مخلوط محلول فهلنج (أ) + (ب) بنسبة ٢:٥ على الترتيب.

٧- أنقل الأنابيب الست إلى حمام مائى ساخن، وأستمر فى التسخين حتى الغليان، واترك الأنابيب الخمسة لمدة ١٥ دقيقة من بداية الغليان.

٨- أضف إلى كل أنبوبة من الأنابيب الستة ٥ مل من محلول (C) متبوعة بـ ٥ مل من محلول (D)، ثم أترك الأنابيب ٥ دقائق حتى يتم التفاعل.

٩- عاير الأنابيب الست مع ٠,٠١ عيارى ثيوكبريتات الصوديوم فى وجود النشا كدليل (نقطة البداية هى ظهور اللون الأزرق، والنهاية هى زوال هذا اللون الأزرق).

١٠- أحسب متوسط حجم ثيوكبريتات الصوديوم ٠,٠١ع المكافئ للأنابيب الثلاثة فى حالة بلانك، وكذلك الثلاثة أنابيب المحتوية على السكر (النشا المتحلل).

١١- أوجد تركيز النشا فى المحلول المعطى لك.

طريقة الحساب

١مل من ثيوكبريتات الصوديوم٠,٠١ع ≡ ٠,٢٧مليجرام هكسوز

نفرض أن متوسط حجم ثيوكبريتات الصوديوم ٠,٠١ع المكافئ للأنابيب بلانك = ح

نفرض أن متوسط حجم ثيوكبريتات الصوديوم ٠,٠١ع المكافئ للأنابيب فى حالة النشا= ح١

∴حجم ثيوكبريتات الصوديوم المكافئ لكمية النشا الموجود فى٢ مل المأخوذة= ح−ح١ = حَ

$$\therefore \text{تركيز النشا} = \frac{\text{حَ} \times ٠,٢٧ \times ١٠٠٠}{٢ \times ١٠٠٠} = \text{س جرام/ لتر}$$

النتائج

متوسط حجم ثيوكبريتات الصوديوم ٠,٠١ع المكافئ للأنابيب بلانك =

متوسط حجم ثيوكبريتات الصوديوم ٠,٠١ع المكافئ للأنابيب فى حالة النشا =

∴ حجم ثيوكبريتات الصوديوم المكافئ لكمية النشا الموجود فى ٢ مل المأخوذة=

$$\therefore \text{تركيز النشا} = \frac{\times ٠,٢٧ \times ١٠٠٠}{٢ \times ١٠٠٠} = \text{جرام/ لتر}$$

الباب الرابع

العوامل المؤثرة على سرعة التفاعل الإنزيمى

العوامل المؤثرة على سرعة التفاعل الإنزيمى

يتأثر نشاط الإنزيم بمجموعة من العوامل منها:-

١- تأثير تركيز الإنزيم.

٢- تأثير تركيز مادة التفاعل.

٣- تأثير الرقم الهيدروجيني.

٤- تأثير درجة الحرارة.

ولدراسة عامل من هذه العوامل، على نشاط الإنزيم يجب أن تكون بقية العوامل فى حالتها المثلى، ويكون العامل المراد دراسة تأثيره هو المتغير الوحيد، حتى يتسنى لنا معرفة تأثيره تحت ظروف مثلى للبقية العوامل.

وسوف نحاول دراسة هذه العوامل من خلال التجارب الآتية:-

تجربة رقم ٩

الغرض من التجربة:

١- تأثير تركيز الإنزيم على سرعة التفاعل الإنزيمى

تزداد سرعة التفاعل الإنزيمى بازدياد تركيز الإنزيم، وذلك إلى حد معين يقل بعده هذا التأثير، ولقياس فعالية إنزيم يجب أن يكون تركيزه منخفض وتركيز المادة عالى، وفى هذه الحالة يتناسب معدل التفاعل الإنزيمى تناسبا طرديا مع تركيز الإنزيم، أما إذا كان تركيز المادة منخفض فإن معدل التفاعل يزداد إلى حد معين، ثم يثبت بعد ذلك أو تنخفض قيمته، وذلك نتيجة لانخفاض مادة التفاعل من جهة، وتراكم نواتج تحللها من جهة أخرى.

التجـــربة

المواد والأدوات المطلوبة:

سحاحة – دورق مخروطى سعة ١٠٠ مل – أنابيب اختبار – سكروز – انزيم الإنفرتيز- محلول نشا - إنزيم الدياستيز- محلول فهلنج (أ)، (ب)- محلول (C)- محلول (D)- محلول (E)- دليل النشا.

خطوات العمل:

١-جهز عدد ٥ أنابيب اختبار نظيفة جافة، ورقم الأنابيب من رقم١- ٥

٢- ضع فى كل انبوبة من الأربعة الأولى منهم ٦ مل من محلول السكروز.

٣- أضف إلى الأنبوبة الأولى رقم (١) ٠,٥ مل من أنزيم الإنفرتيز +٣,٥ مل ماء مقطر.

٤- أضف إلى الأنبوبة الثانية رقم (٢) ١مل من أنزيم الإنفرتيز + ٣ مل ماء مقطر.

٥- أضف إلى الأنبوبة الثالثة رقم (٣) ١,٥ مل من أنزيم الإنفرتيز +٢,٥ مل ماء مقطر.

٦- أضف إلى الأنبوبة الرابعة رقم (٤) ٢مل من أنزيم الإنفرتيز + ٢ مل ماء مقطر.

٧- ضع فى الإنبوبة الخامسة رقم (٥) ١٠ مل ماء مقطر.

٨- ضع الأنابيب جميعها فى حمام مائى عند درجة حرارة ٣٧-٤٢°م لمدة ١/٤ ساعة.

٩- بعد انتهاء مدة ٤/١ ساعة ارفع درجة الحرارة حتى الغليان لمدة ٥ دقائق، وذلك لإيقاف عمل الإنزيم.

١٠- أخرج الأنابيب وبرد جميعها بعناية تحت الصنبور.

١١- أضف إلى كل أنبوبة من الأنابيب الخمسة ٥ مل من مخلوط محلول فهلنج (أ) + (ب) بنسبة ٢:٥ على الترتيب.

١٢- أنقل الأنابيب الخمسة إلى حمام مائى ساخن، وأستمر فى التسخين حتى الغليان، واتركهم لمدة ١٥ دقيقة من بداية الغليان.

١٣- أضف إلى كل أنبوبة من الأنابيب الستة ٥ مل محلول (C) متبوعة بـ ٥ مل محلول (D)، ثم أترك الأنابيب ٥ دقائق حتى يتم التفاعل.

١٤- أخرج الأنابيب وبرد جميعها بعناية تحت الصنبور.

١٥- عاير الأنابيب الخمسة مع ٠,٠١ عيارى ثيوكبريتات الصوديوم فى وجود النشا كدليل (نقطة البداية هى ظهور اللون الأزرق، والنهاية هى زوال هذا اللون الأزرق).

١٦- أحسب الحجم المتفاعل من ثيوكبريتات الصوديوم ٠,٠١ع فى حالة الأنبوبة الخامسة (بلانك)، وكذلك فى الأنابيب الأربعة الأولى المحتوية على محلول السكروز.

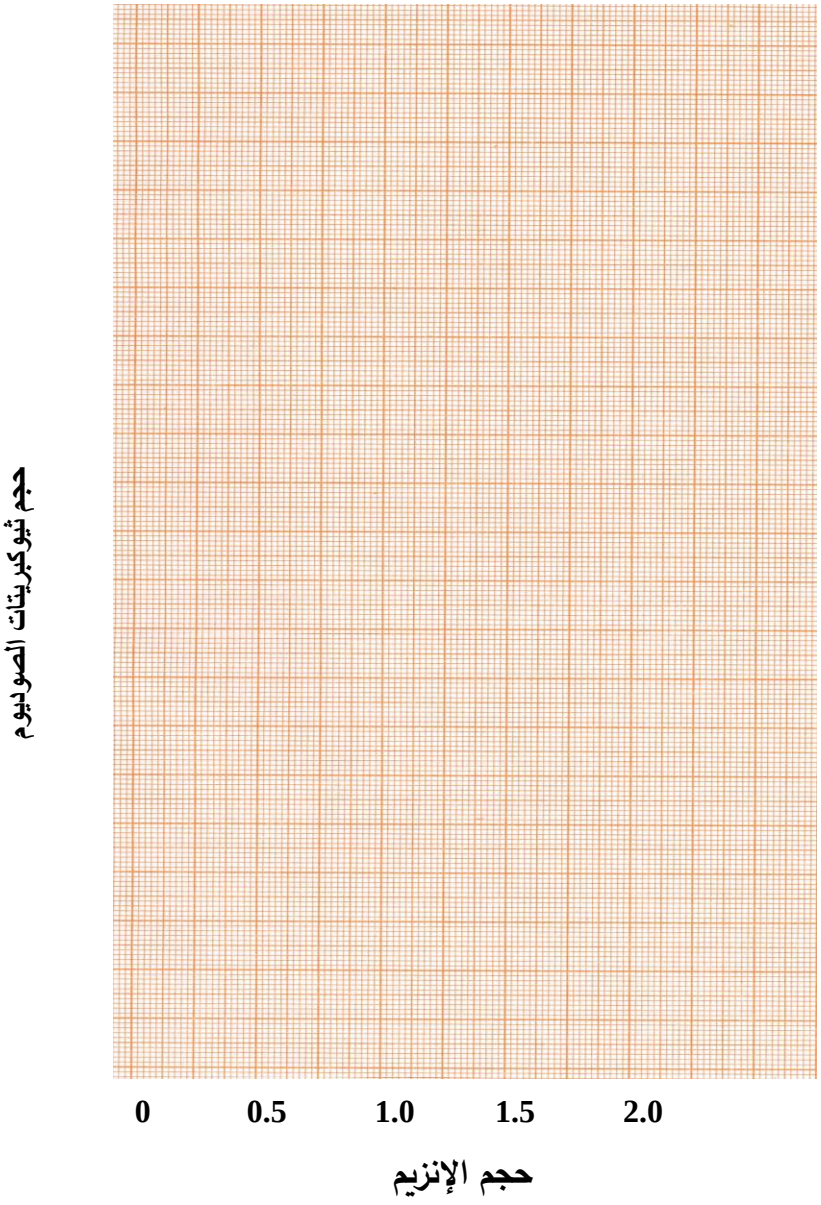
١٧- أرسم علاقة بيانية ممثلا حجم الإنزيم المأخوذ ٠,٥، ١، ١,٥، ٢ على المحور السينى، والحجم المتفاعل من ثيوكبريتات الصوديوم ٠,٠١ع على المحور الصادى.

١٨- أكتب تعليقا فسيولوجيا على هذه النتائج.

١٩- يمكن تكرار هذه التجربة بواسطة إنزيم الدياستيز ومحلول النشا.

النتائج

	الأنبوبة الأولى	الأنبوبة الثانية	الأنبوبة الثالثة	الأنبوبة الرابعة	الأنبوبة بلانك
سكروز (مل)	٦	٦	٦	٦	–
ماء مقطر (مل)	٣,٥	٣	٢,٥	٢	٥
انزيم الإنفرتيز (مل)	٠,٥	١	١,٥	٢	–
حجم الثيوكبريتات المكافئ **لليود غير المستهلك**					
حجم الثيوكبريتات المكافئ **لليود المستهلك**					


حجم ثيوكبريتات الصوديوم
0
0.5
1.0
1.5
2.0
حجم الإنزيم

التعليق

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

تجربة رقم ١٠

الغرض من التجربة:

٢- تأثير تركيز مادة التفاعل على سرعة التفاعل الأنزيمى

تزداد سرعة التفاعل الإنزيمى بازدياد تركيز مادة التفاعل إلى حد معين يكون فيه تركيز مادة التفاعل مسببا النشاط الأمثل مع تركيز الإنزيم، وبعد زيادة تركيز مادة التفاعل عن ذلك (حيث تكون كل المراكز النشطة للإنزيمات مشبعة بمادة التفاعل) يصبح تركيز الإنزيم هو العامل المحدد لزيادة سرعة التفاعل. وبالتالى فإن زيادة تركيز مادة التفاعل عن هذا الحد قد تؤدى إلى انخفاض سرعة معدل التفاعل، وذلك نتيجة للأسباب التالية:-

١- تراكم مادة التفاعل.

٢- تراكم نواتج التفاعل.

٣- زيادة لزوجة وسط التفاعل مما يؤدى إلى قلة حركة مواد التفاعل والإنزيم.

التجـــربة

المواد والأدوات المطلوبة:

سحاحة – دورق مخروطى سعة ١٠٠ مل – أنابيب اختبار – سكروز – إنزيم الإنفرتيز- نشا – إنزيم الدياستيز - محلول فهلنج (أ)، (ب)- محلول (C)- محلول (D)- محلول (E)- دليل النشا.

خطوات العمل:

١-جهز عدد٥ أنابيب إختبار نظيفة جافة، ورقم الأنابيب من رقم١- ٥

٢- ضع فى كل أنبوبة من الأربعة الأولى منهم ١ مل من أنزيم الإنفرتيز.

٣-أضف إلى الأنبوبة الأولى رقم (١) ٠,٥ مل من محلول السكروز+٣,٥ مل ماء مقطر.

٤- أضف إلى الأنبوبة الثانية رقم (٢) ١مل من محلول السكروز + ٣ مل ماء مقطر.

٥- أضف إلى الأنبوبة الثالثة رقم (٣) ١,٥ مل من محلول السكروز+٢,٥ مل ماء مقطر.

٦- أضف إلى الأنبوبة الرابعة رقم (٤) ٢مل من محلول السكروز + ٢ مل ماء مقطر.

٧- ضع فى الأنبوبة الخامسة رقم (٥) ٥ مل ماء مقطر (بلانك).

٨- ضع الأنابيب جميعها فى حمام مائى عند درجة حرارة ٣٧-٤٢°م لمدة ١/٤ ساعة.

٩- بعد انتهاء مدة ١/٤ ساعة ارفع درجة الحرارة حتى الغليان لمدة ٥ دقائق، وذلك لإيقاف عمل الإنزيم.

١٠- أخرج الأنابيب وبردها جميعا بعناية تحت الصنبور

١١- أضف إلى كل أنبوبة من الأنابيب الخمسة ٥ مل من مخلوط محلول فهلنج (أ) + (ب) بنسبة ٢:٥ على الترتيب.

١٢- أنقل الأنابيب الخمسة إلى حمام مائى ساخن، وأستمر فى التسخين حتى الغليان، واتركهم لمدة ١٥ دقيقة من بداية الغليان.

١٣- أخرج الأنابيب وبرد جميعها بعناية تحت الصنبور.

١٤- أضف إلى كل أنبوبة من الأنابيب الخمسة ٥ مل من محلول (C) متبوعة بـ ٥ مل من محلول (D)، ثم أترك الأنابيب ٥ دقائق حتى يتم التفاعل.

١٥- عاير الأنابيب الخمسة مع ٠,٠١ عيارى ثيوكبريتات الصوديوم فى وجود النشا كدليل (نقطة البداية هى ظهور اللون الأزرق، والنهاية هى زوال هذا اللون الأزرق)،

١٦- أحسب الحجم المتفاعل من ثيوكبريتات الصوديوم ٠,٠١ع فى حالة الأنبوبة الخامسة (بلانك)، وكذلك فى الأنابيب الأربعة الأولى المحتوية على محلول السكروز.

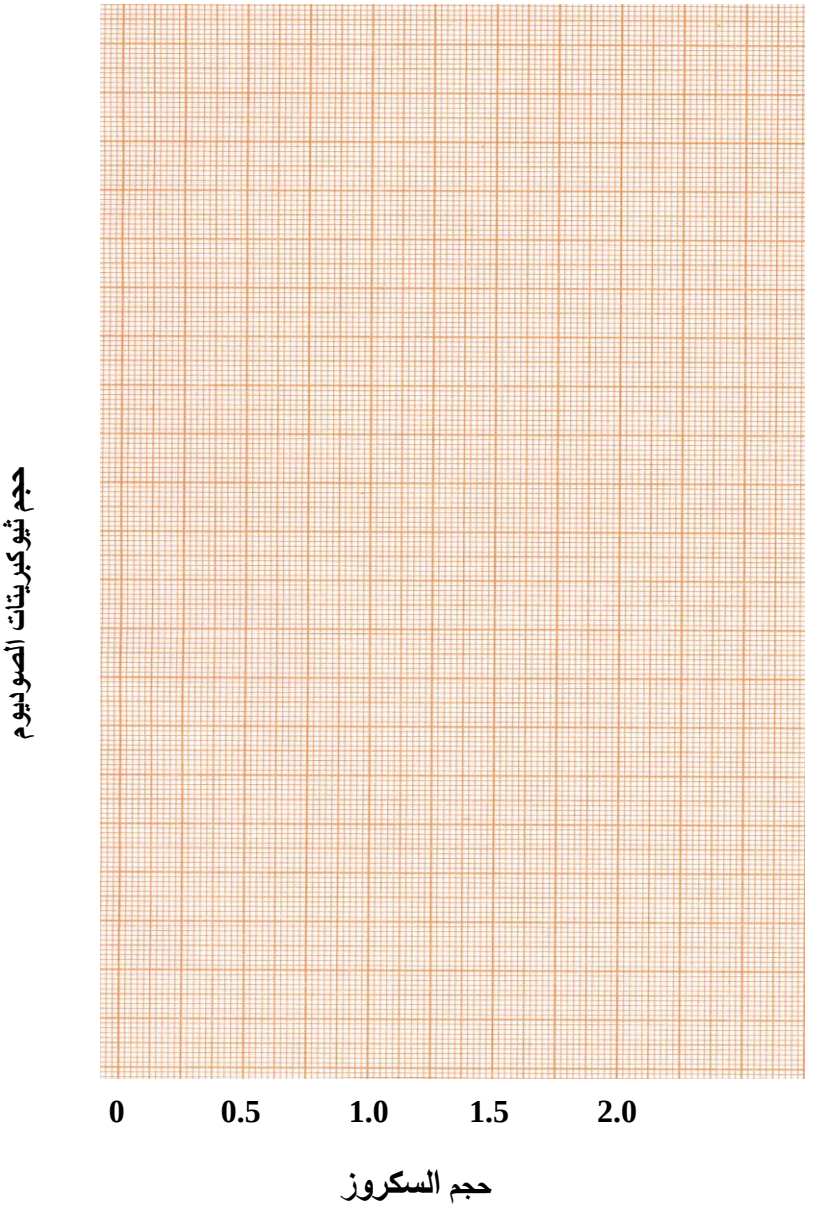
١٧- ارسم علاقة بيانية ممثلا حجم محلول السكروز لمأخوذ ٠,٥،١، ١,٥،٢ المأخوذ على المحور السينى، والحجم المتفاعل من ثيوكبريتات الصوديوم ٠,٠١ع على المحور الصادى.

١٨- أكتب تعليقا فسيولوجيا على هذه النتائج.

١٩- يمكن تكرار هذه التجربة بواسطة إنزيم الدياستيز ومحلول النشا.

النتائج

	الأنبوبة الأولى	الأنبوبة الثانية	الأنبوبة الثالثة	الأنبوبة الرابعة	الأنبوبة بلانك
سكروز (مل)	٠,٥	١	١,٥	٢	–
انزيم الإنفرتيز (مل)	١	١	١	١	–
ماء مقطر (مل)	٣,٥	٣	٢,٥	٢	٥
حجم الثيوكبريتات المكافئ لليود غير المستهلك					
حجم الثيوكبريتات المكافئ لليود المستهلك					


حجم ثيوكبريتات الصوديوم
0
0.5
1.0
1.5
2.0
حجم السكروز

التعليق

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

تجربة رقم ١١

الغرض من التجربة:

٣- تأثير تركيز أيون الهيدروجين على سرعة التفاعل الأنزيمى

تعتمد سرعة التفاعل الإنزيمى بدرجة كبيرة على الرقم الهيدروجينى للوسط المحيط به، حيث يكون نشاط الإنزيم أعلى ما يمكن فى الوسط المتعادل، إلا أن هناك بعض الإنزيمات تناسبها الأوساط الحامضية مثل أنزيم الببسين، والبعض الآخر تناسبه الأوساط القاعدية مثل إنزيم التربسين .

التجربة

المواد والأدوات المطلوبة:

سحاحة – دورق مخروطى سعة ١٠٠ مل – دورق معيارى ١٠٠ مل – أنابيب اختبار – سكروز – إنزيم الإنفرتيز- محلول فهلنج (أ)، (ب)- محلول (C)- محلول (D)- محلول (E)- دليل النشا.

خطوات العمل:

١-جهز عدد ٦ أنابيب إختبار نظيفة جافة،ورقم الأنابيب من رقم١- ٦.

٢- ضع فى كل أنبوبة من الخمسة الأولى ١ مل أنزيم الإنفرتيز +٣مل محلول سكروز .

٣-أضف إلى الأنبوبة الأولى رقم (١) ١مل من محلول ذات رقم هيدروجينى (pH=2).

٤- أضف إلى الأنبوبة الثانية رقم (٢) ١مل من محلول ذات رقم هيدروجينى (pH=4).

٥- أضف إلى الأنبوبة الثالثة رقم (٣) ١.٥١مل من محلول ذات رقم هيدروجينى (pH=6).

٦- أضف إلى الأنبوبة الرابعة رقم (٤) ١مل من محلول ذات رقم هيدروجينى (pH=8).

٧- ضع فى الأنبوبة الخامسة رقم (٥) ١مل من محلول ذات رقم هيدروجينى (pH=10).

٨- ضع فى الأنبوبة السادسة رقم (٦) ٥ مل ماء مقطر (بلانك).

٩- ضع الأنابيب جميعها فى حمام مائى عند درجة حرارة ٣٧-٤٢°م لمدة ١/٤ ساعة.

١٠- بعد انتهاء مدة ٤/١ ساعة ارفع درجة الحرارة حتى الغليان لمدة ٥ دقائق، وذلك لإيقاف عمل الإنزيم.

١١- أخرج الأنابيب وبرد جميعها بعناية تحت الصنبور.

١٢- أضف إلى كل أنبوبة من الأنابيب الخمسة ٥ مل من مخلوط محلول فهلنج (أ) + (ب) بنسبة ٢:٥ على الترتيب.

١٣- أنقل الأنابيب الخمسة إلى حمام مائى ساخن، وأستمر فى التسخين حتى الغليان، واترك الأنابيب الخمسة لمدة ١٥ دقيقة من بداية الغليان.

١٤- أضف إلى كل أنبوبة من الأنابيب الستة ٥ مل من محلول (C) متبوعة بـ ٥ مل من محلول (D)، ثم أترك الأنابيب ٥ دقائق حتى يتم التفاعل.

١٥- أخرج الأنابيب وبرد جميعها بعناية تحت الصنبور.

١٦- عاير الأنابيب السته مع ٠,٠١ عيارى ثيوكبريتات الصوديوم فى وجود النشا كدليل (نقطة البداية هى ظهور اللون الأزرق، والنهاية هى زوال هذا اللون الأزرق)،

١٧- أحسب الحجم المتفاعل من ثيوكبريتات الصوديوم ٠,٠١ع فى حالة الأنبوبة السادسة (بلانك)، وكذلك فى الأنابيب الخمسة المحتوية على محلول السكروز.

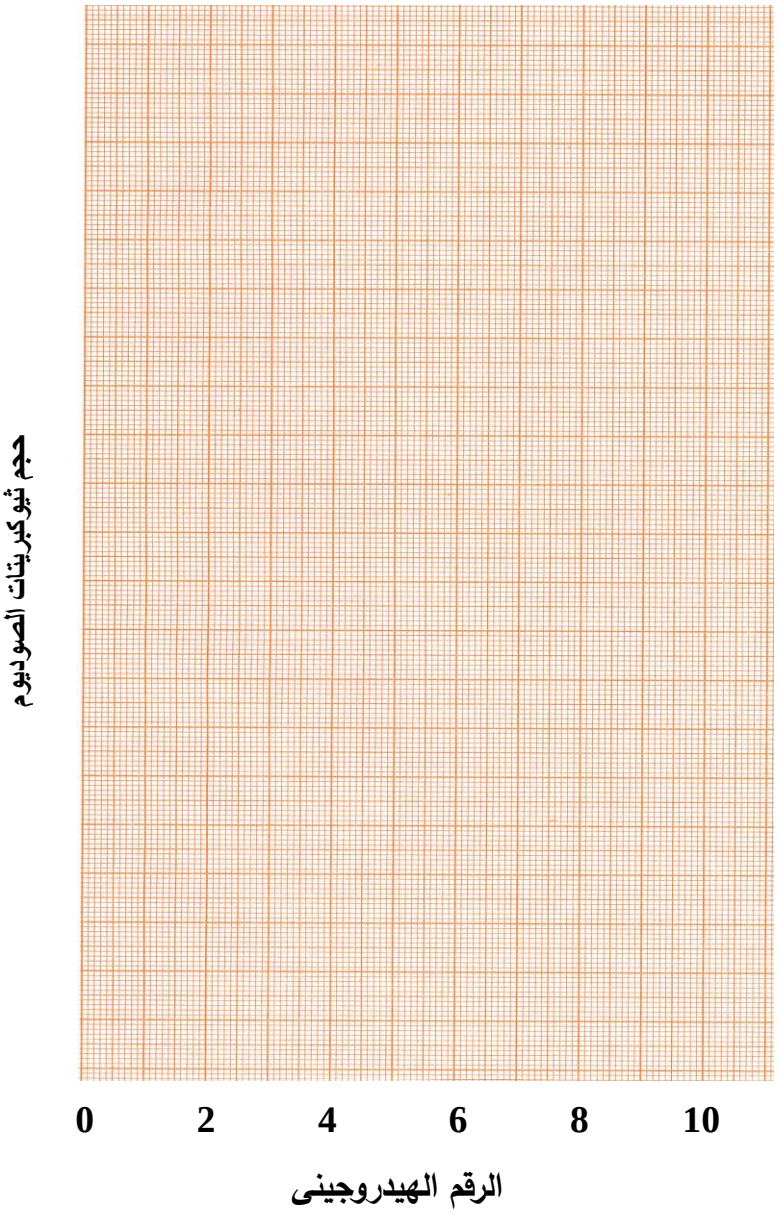
١٨- أرسم علاقة بيانية ممثلا لأرقام الأس الهيدروجينى (pH)٢،٤،٦،٨،١٠ المأخوذ على المحور السينى، والحجم المتفاعل من ثيوكبريتات الصوديوم على المحور الصادى.

١٩- أكتب تعليقا فسيولوجيا على هذه النتائج.

٢٠- يمكن تكرار هذه التجربة بواسطة انزيم الدياستيز ومحلول النشا.

النتائج

	الأنبوبة الأولى	الأنبوبة الثانية	الأنبوبة الثالثة	الأنبوبة الرابعة	الأنبوبة الخامسة	الأنبوبة السادسة (بلانك)
الأس الهيدروجينى(pH)	٢	٤	٦	٨	١٠	بلانك
محلول(pH) مل	١	١	١	١	١	–
انزيم الإنفرتيز(مل)	١	١	١	١	١	–
محلول سكروز(مل)	٢	٢	٢	٢	٢	–
ماء مقطر	–	–	–	–	–	٥
حجم الثيوكبريتات المكافئ لليود غير المستهلك						
حجم الثيوكبريتات المكافئ لليود المستهلك						


حجم ثيوكبريتات الصوديوم
0
2
4
6
8
10
الرقم الهيدروجينى

التعليق

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

تجربة رقم ١٢

الغرض من التجربة:

٤- تأثير تركيز درجة الحرارة على سرعة التفاعل الإنزيمى

ارتفاع درجة الحرارة تؤدى إلى زيادة سرعة التفاعل الإنزيمى. وكلما زادت درجة الحرارة عشرة درجات بدءا من الصفر تضاعفت تبعا لذلك سرعة عمل الإنزيم، وذلك حتى درجة الحرارة المناسبة لعمل الأنزيم والتى تتراوح مابين ٣٧ - ٥٠ °م، و يكون ذلك بسبب:-

١-زيادة الطاقة الحركية لكل من الإنزيم ومادة التفاعل.

٢-زيادة فرصة التصادم بين الإنزيم ومادة التفاعل.

وعند ارتفاع درجة الحرارة أعلى من ذلك، تقل سرعة عمل الإنزيم حتى تتوقف نهائيا عند درجة حرارة مابين ٥٥-٦٠ °م. وتسمى هذه الدرجة بالنهاية العظمى. وتختلف درجة الحرارة المثلى والعظمى من إنزيم إلى آخر ومن نبات الى آخر، حيث أن هناك قليل من الإنزيمات تتحمل درجات الحرارة العالية قد تصل إلى ١٠٠ °م، ولو لفترة قصيرة ودرجات الحرارة المرتفعة تؤدى إلى فقد الإنزيم لطبيعة Denaturated ويتوقف نشاط

الأنزيم إلى الأبد، حيث يحدث تخثر للإنزيم. أما درجات الحرارة المنخفضة، فإنها توقف نشاط الإنزيم مؤقتا ولا تقتل الإنزيم، وبالتالى يمكن للإنزيم أن يستعيد نشاطه مرة أخرى، عندما تتحسن درجة الحرارة، وبالتالى فإن انخفاض درجة الحرارة لا تمثل خطورة على الإنزيم كما يحدث من ارتفاع درجة الحرارة.

التجـــربة

المواد والأدوات المطلوبة:

سحاحة – دورق مخروطى سعة ١٠٠ مل – أنابيب اختبار – سكروز – إنزيم الإنفرتيز– نشا – إنزيم الدياستيز – محلول فهلنج (أ)، (ب)– محلول (C)– محلول (D)– محلول (E)– دليل النشا.

خطوات العمل:

١– جهز عدد ١٢ أنابيب إختبار نظيفة جافة، ورقم الأنابيب من رقم ١– ٦، من رقم ١′–٦′.

٢– ضع فى كل أنبوبة من الأنابيب الستة ١ مل أنزيم الإنفرتيز +٣مل محلول سكروز.

٣- يجب أن نعمل أنبوبة بلانك، وذلك لكل درجة حرارة على حده حتى تكون خاضعة لنفس الظروف، و تحتوى كل أنبوبة على ٣مل من محلول السكروز + ١ مل ماء مقطر أى يجب عمل ٦ أنابيب بلانك.

٣- ضع الأنبوبة رقم (١)، والأنبوبة بلانك الخاصة بها فى حمام مائى عند ٢٠°م.

٤- ضع الأنبوبة رقم (٢)، والأنبوبة بلانك الخاصة بها فى حمام مائى عند ٣٠°م.

٥- ضع الأنبوبة رقم (٣)، والأنبوبة بلانك الخاصة بها فى حمام مائى عند ٤٠°م.

٦- ضع الأنبوبة رقم (٤)، والأنبوبة بلانك الخاصة بها فى حمام مائى عند ٥٠°م.

٧- ضع الأنبوبة رقم (٥)، والأنبوبة بلانك الخاصة بها فى حمام مائى عند ٦٠°م.

٨- ضع الأنبوبة رقم (٦)، والأنبوبة بلانك الخاصة بها فى حمام مائى عند ٧٠°م.

٩- أترك الأنابيب جميعها فى الحمامات المائية المناظرة لها لمدة ١٠ دقائق.

١٠- بعد انتهاء مدة ١١الـ١٠ دقائق، ارفع درجة الحرارة حتى الغليان لمدة ٥ دقائق، وذلك لإيقاف عمل الإنزيم.

١١- أخرج الأنابيب وبرد جميعها بعناية تحت الصنبور.

١٢- أضف إلى كل أنبوبة من الأنابيب الخمسة ٥ مل من مخلوط محلول فهلنج (أ) + (ب) بنسبة ٢:٥ على الترتيب.

١٣- أنقل الأنابيب الخمسة إلى حمام مائى ساخن، وأستمر فى التسخين حتى الغليان، واتركهم لمدة ١٥ دقيقة من بداية الغليان.

١٤- أخرج الأنابيب وبرد جميعها بعناية تحت الصنبور.

١٥- أضف إلى كل أنبوبة من الأنابيب الستة ٥ مل محلول (C) متبوعة بـ ٥ مل محلول (D)، ثم أترك الأنابيب ٥ دقائق حتى يتم التفاعل.

١٦- عاير الأنابيب الخمسة مع ٠,٠١ عيارى ثيوكبريتات الصوديوم فى وجود النشا كدليل (نقطة البداية هى ظهور اللون الأزرق، والنهاية هى زوال هذا اللون الأزرق)،

١٧- أحسب الحجم المتفاعل من ثيوكبريتات الصوديوم ٠,٠١ع فى حالة الأنبوبة الأولى (بلانك)، وكذلك فى الأنابيب الأربعة المحتوية على محلول السكروز.

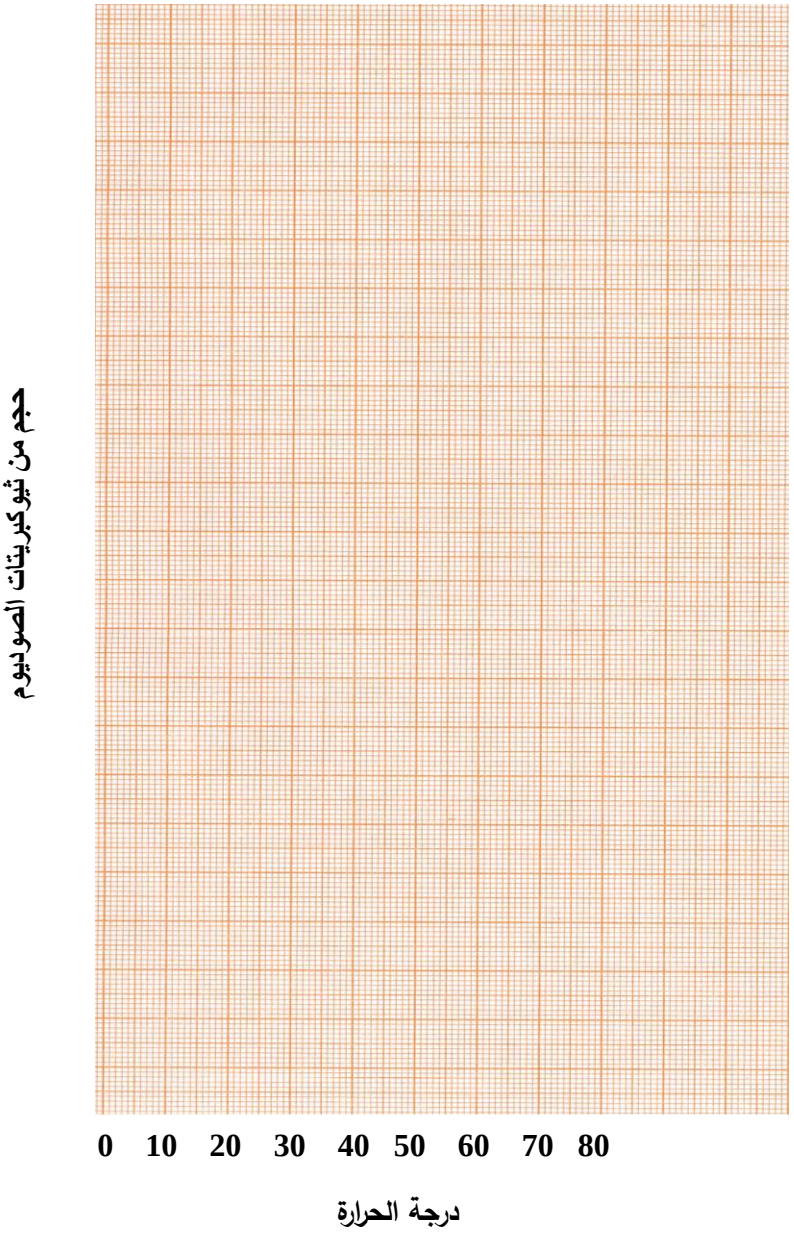
١٨- أرسم علاقة بيانية ممثلا درجات الحرارة على المحور االسينى، والحجوم المتفاعلة من ثيوكبريتات الصوديوم ٠,٠١ع والمناظرة لدرجات الحرارة على المحور الصادى.

١٩- أكتب تعليقا فسيولوجيا على هذه النتائج.

٢٠- يمكن تكرار هذه التجربة بواسطة إنزيم الدياستيز ومحلول النشا.

النتائج

	الأنبوبة الأولى	الأنبوبة الثانية	الأنبوبة الثالثة	الأنبوبة الرابعة	الأنبوبة الخامسة	الأنبوبة السادسة
درجة الحرارة	٢٠	٣٠	٤٠	٥٠	٦٠	٧٠
إنزيم الإنفرتيز(مل)	١	١	١	١	١	١
محلول سكروز(مل)	٣	٣	٣	٣	٣	٣
حجم الثيوكبريتات المكافئ لليود غير المستهلك						
حجم الثيوكبريتات المكافئ لليود المستهلك						


حجم من ثيوكبريتات الصوديوم
0 10 20 30 40 50 60 70 80
درجة الحرارة

التعليق

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

تجربة رقم ١٣

الغرض من التجربة:

تقدير درجة التصبن

درجة التصبن هى عبارة عن عدد المليجرامات من هيدروكسيد البوتاسيوم اللازمة لتصبن واحد جرام من الزيت.

التجـــربة

المواد والأدوات المطلوبة:

سحاحة – دورق مخروطى سعة ١٠٠ مل – أنابيب اختبار – سكروز – زيت طعام– دليل الفينول فيثالين– هيدروكسيد بوتاسيوم كحولى ٥, ٠ع – حمض هيدروكلوريك ٥, ٠ع.

خطوات العمل:

١- خذ ٢جم من زيت الطعام الى الى دورق مخروطى سعة ١٠٠مل.

٢- اضف ٢٥ مل من هيدروكسيد البوتاسيوم الكحولى ٥, ٠ع.

٣- اقفل الدورق بسدادة فلينية تنفذ منها ساق زجاجية مفتوحة او ضع قمع صغير.

٤- ضع الدورق فى حمام مائى يغلى حتى يتحول المحلول الى محلول متجانس (حدوث تصبن).

٥- برد الدورق المخروطى.

٦- عاير كمية هيدروكسيد البوتاسيوم الكحولى ٠,٥ ع (التى لم تتصبن) مع حامض الهيدروكلوريك ٠,٥ ع فى وجود دليل الفينول فيثالين.

٧- احسب حجم حامض الهيدروكلوريك ٠,٥ ع النازل من السحاحة، وهو يكافىء حجم هيدروكسيد البوتاسيوم الكحولى ٠,٥ع الزائد عن التفاعل وليكن (ح١).

٨- اعمل بلانك بنفس الخطوات السابقة ما عدا اضافة الزيت،اى اضف الى الدورق ٢٥ مل هيدروكسيد بوتاسيوم كحولى ٠,٥ع فقط.

٩- احسب حجم حامض الهيدروكلوريك النازل من السحاحة وهو يكافىء الـ ٢٥مل هيدروكسيد البوتاسيوم الكحولى وليكن (ح٢).

<u>ملحوظة</u>: قد لا تستطيع ان تأخذ ٢ جم من الزيت بالوزن ، وبالتالى يمكنك ان تحوله الى حجم وذلك بمعلومية كثافة الزيت وهى=٠,٨

الحجم = الوزن÷ الكثافة= ٢÷٠,٨ = ٢,٥ مل

طريقة الحساب والنتائج

١مل حمض هيدروكلوريك ٠,٥ ع ≡ ٢٨.٠٥مليجرام هيدروكسيد بوتاسيوم كحولى ٠,٥

نفرض ان حامض الهيدروكلوريك ٠,٥ ع النازل من السحاحة يكافىء ٢٨.٠٥مليجرام هيدروكسيد البوتاسيوم الكحولى ٠,٥ الزائد عن التفاعل =ح١=

نفرض ان حجم حامض الهيدروكلوريك ٠,٥ ع النازل من السحاحة المكافىء لـ ٢٥مل من هيدروكسيد البوتاسيوم الكحولى ٠,٥ (بلانك)=ح٢=

حجم حامض الهيدروكلوريك ٠,٥ ع الذى يناظر حجم هيدروكسيد البوتاسيوم الكحولى ٠,٥ المتفاعل = ح٢-ح١=ح٣=

$$\text{درجة التصبن} = \frac{\text{ح٣} \times ٢٨.٠٥}{\text{وزن الزيت}} =$$

تجربة رقم ١٤

تقدير الرقم اليودى Iodine Number

الرقم اليودى عبارة عن كمية اليود اللازمة للتفاعل مع ١٠٠ جرام من الزيت.

الغرض من التجربة:

يستخدم الرقم اليودي لمعرفة درجة عدم التشبع للأحماض الدهنية والزيوت، والتحكم في عملية الهدرجة، والكشف عن غش الزيوت حيث يعتبر من ثوابت الدهن أو الزيت، وبالتالى فكلما كانت قيمة الرقم اليودى عالية دل ذلك على ان الدهن او الزيت غنى بالأحماض الدهنية غير المشبعة.

التجـــربة

المواد والأدوات المطلوبة:

سحاحة – دورق مخروطى سعة ١٠٠ مل – أنابيب اختبار – كلوروفور – محلول اليود – زيت طعام– يوديد البوتاسيوم ١٠%– حمض الخليك المركز– ثيوكبريتات صويوم ١, ٠ع – دليل النشا.

خطوات العمل:

١- خذ ٠.٢جم من زيت الطعام فى زجاجة عينات نظيفة جافة.

٢- اضف ١٠ مل من الكلوروفورم.

٣- اضف ٢٥مل من محلول اليود (هانس ايودين، ويحضر محلول هانس بإذابة ١٣,٢ جم يود في لتر حامض خليك ثلجي على الساخن، ثم برد وأضف ٣ مل بروم) وغط الدورق مع الرج جيدا ثم ضعه في الظلام لمدة ٣٠ دقيقة مع رجه دائريا بين الحين والآخر.

٤- اضف ٢٠ مل من يوديد البوتاسيوم ١٠%.

٥- خفف الى ١٠٠ مل بالماء المقطر.

٦- عاير مع ثيوكبريتات الصوديوم ١, ٠ع فى وجود النشا كدليل. (نزل من السحاحة ثيوكبريتات الصوديوم ٠.١ع حتى يصبح لون المحلول اصفر خفيف ، بعد ذلك أضف ٢ مل من دليل النشا واستمر فى المعايرة حتى يزول اللون الأزرق.

٧- فى زجاجة اخرى اعمل بلانك بنفس الخطوات السابقة ما عدا اضافة الزيت.

طريقة الحساب والنتائج

١مل ثيوكبريتات الصوديوم ١, ٠ع ≡ ٠,٠١٢٧ جرام يود

نفرض ان ثيوكبريتات الصوديوم ١, ٠ع المكافىء لكمية اليود الغير متفاعل (العينة) = ح١=

نفرض ان ثيوكبريتات الصوديوم ١, ٠ع المكافىء لكل اليود الغير متفاعل (بلانك)=ح٢=

حجم ثيوكبريتات الصوديوم ١, ٠ع المكافىء لليود المتفاعل =ح٢-ح١=ح٣=

$$\text{درجة التصبن} = \frac{\text{ح٣} \times ٠,٠١٢٧ \times ١٠٠}{\text{وزن الزيت المأخوذ}}$$

كلية العلوم بقنا
قسم النبات

اسم الطالب:_____

الكلية_____ **الشعبة** _____

الفرقة_____ **السكشن** _____

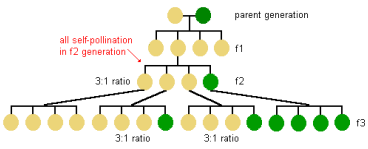
عدد الأسابيع	التاريخ	الدرس العملى	توقيع المعيد	توقيع المشرف
الأسبوع الأول	/ / ٢٠١	الأساس النظرى		
الأسبوع الثانى	/ / ٢٠١	تقدير الجلوكوز		
الأسبوع الثالث	/ / ٢٠١	تقدير السكروز		
الأسبوع الرابع	/ / ٢٠١	تقدير النشا		
الأسبوع الخامس	/ / ٢٠١	تقدير الجلوكوز والسكروز		
الأسبوع السادس	/ / ٢٠١	تقدير الجلوكوز والنشا		
الأسبوع السابع	/ / ٢٠١	تقدير السكروز باستخدام الإنزيمات		
الأسبوع الثامن	/ / ٢٠١	تقدير النشا باستخدام الإنزيمات		
الأسبوع التاسع	/ / ٢٠١	تأثير تركيز الإنزيم		
الأسبوع العاشر	/ / ٢٠١	تأثير تركيز مادة التفاعل		
الأسبوع الحادى عشر	/ / ٢٠١	تأثير الرقم الهيدروجينى		
الأسبوع الثانى عشر	/ / ٢٠١	تأثير درجة الحرارة		
الأسبوع الثالث عشر	/ / ٢٠١	تقدير رقم التصبن		
الأسبوع الرابع عشر	/ / ٢٠١	تقدير الرقم اليودى		

inprotected.com

بسم الله الرحمن الرحيم

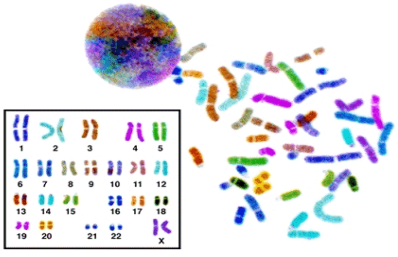
الدروس العملية في

الوراثة



اعداد

د/ هويدا زكي احمد



الميكروسكوب

Microscope

ادرس اجزاء الميكرسكوب وذلك بالاستعانة بالرسم الموجود امامك.

طريقة تجهيز عينة للفحص ميكروسكوبيا:

ضع نقطة ماء علي شريحة نظيفة ثم ضع العينة المراد فحصها علي نقطة الماء ثم امسك الغطاء **cover** بين الاصبعين في وضع مائل ثم تخفض تدريجيا حتي يلامس سطح نقطة الماء بحيث يكون مرتكزا علي جانبه لتلافي تكوين فقاعات هوائية.

ارشادات عامة لاستعمال الميكروسكوب:

١- قبل استعمال الميكروسكوب نظف جميع عدساته بورق البفره.

٢- دائما اجعل المسرح او المنصة نظيفا وجافا.

٣- حرك المرآة قبل الفحص للحصول علي احسن اضاءة.

٤- افحص العينة اولا بالقوة الصغري ثم الكبري ولا تستعمل القوة الكبري دون استعمال غطاء للشريحة.

٥- عند استعمال العدسة الكبري استعمل الضابط الصغير او الدقيق فقط.

٦- استعمل كلتا عيناك عند النظر في الميكرسكوب.

تركيب الميكرسكوب الضوئي

الانقسام الخلوي

Cell division

تنقسم الخلية النباتية الحقيقية النواة (Eukaryotic cell) بواسطة طريقتين:-

اولا-الانقسام الميتوزي (mitosis division)

هذا النوع من الانقسام يتم في الخلايا النباتية القادرة علي الانقسام (young cells) مثل الخلايا المريستيمية (meristematic cells) الموجودة في القمم النامية للجذور والسيقان (وسوف نختار هنا خلايا القمم النامية لجذور البصل لاجراء التجربة عليها لسهولة اعدادها ووضوح كروموسوماتها). وتعد دراسة الانقسام الميتوزي عند دراسة الوراثة امرا مهما وذلك للاهمية الوراثية للانقسام الميتوزي حيث يودي هذا النوع من الانقسام الي توزيع المادة الوراثية بالتساوي علي جميع خلايا الكائن الحي وبذلك تكون كل خلية من خلاياه قد حظيت بمجمل صفات هذا الكائن الحي دون نقصان, كما ان دراسة الانقسام الميتوزي تمكننا من حساب بعض الادلة الوراثية مثل الدليل الميتوزي (Mitotic index) الذي يعد مؤشرا دامغا علي تضاعف المادة الوراثية من عدمه وفيما يلي الخطوات المتبعة لدراسة الانقسام الميتوزي:-

١) تحضير الصبغة

وهناك صبغتان يمكن استخدامهما هما صبغة Basic fuchsin و صبغة الاسيتوكارمن ويمكن تحضير صبغة الاسيتوكارمن باذابة ٠,٥ جرام من مسحوق الكارمن في ١٠٠ سم^{٣} من حمض الخليك قوته ٤٥٪ ثم يغلي المحلول برفق لمدة ٥ دقائق ثم يرج المحلول ويترك ليبرد ثم يرشح ويوضع في زجاجة غامقة اللون لحين الاستعمال.

٢)اعداد العينة النباتية للفحص ميكروسكوبيا

- نختار ابصال ناضجة وسليمة ونقوم بغسلها بالماء ثم زراعتها علي قمة كؤوس مناسبة مملؤة بالماء النقي ويتم تغيير الماء مرة كل ١٢ ساعة وتوضع في الحضان عند ٢٠ درجة مئوية وعندما تنبت جذور البصل ويصل طولها من ٢ الي ٣ سم يتم قطعها لاجراء الفحص عليها.

- توضع الجذور المقطوعة فورا بعد تجفيفها من الماء علي ورق ترشيح في المحلول المثبت(Carnoy's solution)

وهويتكون من كحول ايثيلي وحمض خليك ثلجي بنسبة ٣:١ لمدة ٢٤ ساعة في الثلاجة.

- بعد عملية التثبيت تغسل الجذور المراد فحصها بالماء المقطر عدة مرات (اما الجذور المتبقية والمراد الاحتفاظ بها لحين

فحصها في وقت اخر او بعد مدة طويلة فيتم استبدال محلول التثبيت بمحلول حفظ وهو عبارة عن كحول ايثيلي ٧٠٪ وتوضع في الثلاجة مرة اخري).

- في حالة استخدام صبغة Basic fuchsin يتم تحطيم الجذر الخلوية للخلايا باستخدام حمض هيدروكلوريك N ١ لمدة ٨-١٠ دقائق في حمام مائي عند درجة ٥٨-٦٠ درجة مئوية.

- يعاد غسل الجذور مرة اخري بالماء المقطر عدة مرات ويتم تجفيفها من الماء علي ورقة ترشيح وتنقل الي زجاجة سوداء نظيفة وجافة تحتوي علي محلول الصبغة ويتم غمرها بالصبغة جيدا في مكان مظلم وتترك لمدة تتراوح من ٤٥ الي ٦٠ دقيقة.

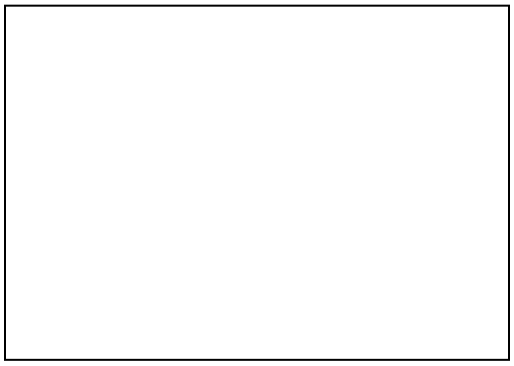
- بعد اتمام الضباغة وظهور خلايا القمة النامية باللون الاحمر الداكن يتم وضعها علي الشريحة وازالة الخلايا غير المصبوغة والجزء الامامي من القمة(القلنسوة) ثم نضع نقطة من حمض الخليك الثلجي ٤٥٪ ونغطي الشريحة بالغطاء والضغط عليها بحذر مع تجنب تحرك غطاء الشريحة فوق العينة في اي اتجاه حتي يتم بعثرة الخلايا عن بعضها ثم يتم فحصها بالقوة الصغري وعن التاكد من تمام توزيع الخلايا يتم فحصها بالقوة المتوسطة للمكروسكوب الضوئي

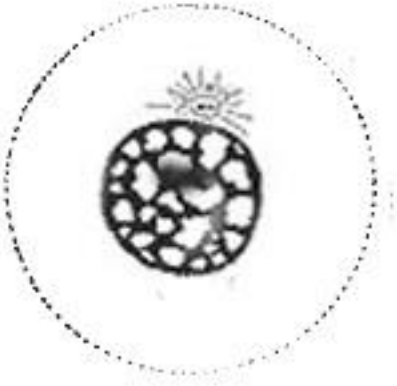
- اما في حالة استخدام صبغة الاسيتوكارمن توضع الجذور في

انبوبة اختبار محتوية علي القليل من الصبغة وتسخن عند درجة ٦٠ درجة مئوية لمدة ١٥-٢٠ دقيقة. ثم تنقل الخلايا علي الشريحة ونتبع السابق ماعدا وضع نقطة من صبغة الاسيتوكارمن بدلا من حمض الخليك الثلجي ٤٥٪.

٣)نتائج الفحص:-

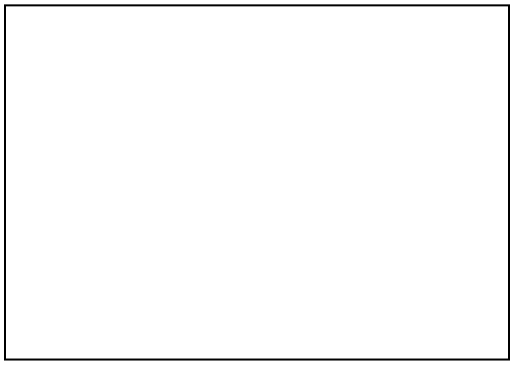
I. دراسة الطور البيني (Interphase) بوضوح تام والذي يبدو كما يلي :

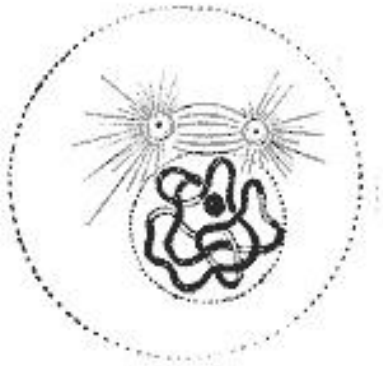




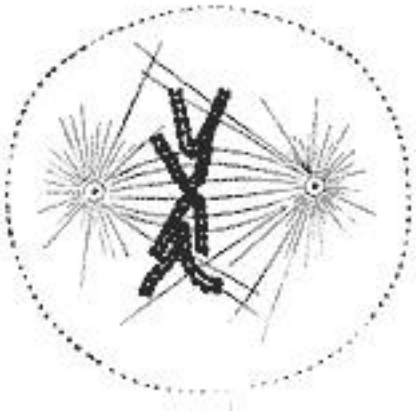
II. اطوار الانقسام الميتوزي المختلفة:-

الطور التمهيدي (Prophase)

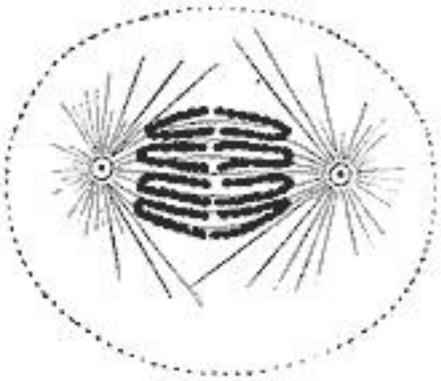




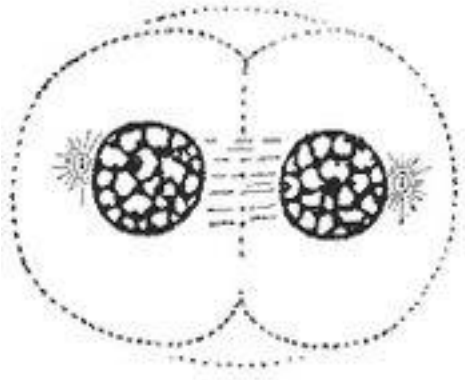
الطور الاستوائي (Metaphase)



الطور الانفصالي (Anaphase)



الطور النهائي (Telophase)



ثانيا – الانقسام الميوزي (Meiosis division)

ويحدث هذا النوع من الانقسام في الخلايا المتخصصة في انتاج الجاميطات في الكائنات الراقية الناضجة جنسيا والتي تحتوي علي العدد الثنائي من الكروموسومات diploid (2n) مما يؤدي الي اختزال عدد الكروموسومات الي النصف في الجاميطات الناتجة والتي تحتوي علي العدد الاحادي من الكروموسومات haploid(1n) ومن خلال عملية الاخصاب fertilization التي يتم فيها اندماج نواة الجاميطة المذكرة مع نواة الجاميطة المؤنثة يعود العدد الثنائي (2n) في الزيجوت zygote.وبذلك يصل احد كروموسومي كل زوج من الكروموسومات المتشابهة homologous pairs of chromosome الي الزيجوت من الجاميطة الذكرة male gamete والكروموسوم الاخر من الجاميطة المؤنثة female gamete. ويودي الانقسام الميوزي الي ثبات عدد الكروموسومات في كل نوع من النواع النباتية والحيوانية نتيجة لاختزال عددها الي النصف في الجاميطات ثم عودة العدد الثنائي في الزيجوت.

يتطلب دراسة الانقسام الميوزي دقة تامة لانه يستمر لفترة قصيرة نسبيا في حياة الكائن الحي وهي الفترة التي تسبق تكوين

الجاميطات مباشرة ولذلك يعتبر وقت اخذ العينات ذو اهمية قصوي. ويتم دراسة الانقسام الميوزي في متك البراعم الزهرية في ذوات الفلقة الواحدة بالخطوات التالية:-

١. توخذ العينات في الوقت المناسب وتوضع مباشرة في محلول التثبيت (Carnoy solution) وتوضع في الثلاجة لمدة ٢٤ ساعة.

٢. عند الدراسة نستخرج المتك في نقطة من صبغة الاسيتوكارمن وتهرس برفق ثم تزال بقايا المتك.

٣. تغطي الشريحة بالغطاء ثم يتم الفحص الميكروسكوبي لمشاهدة الاصوار المختلفة للانقسام الميوزي.

نتائج الفحص

يتم الانقسام الميوزي بانقسام النواة انقسامين متتالين تنقسم فيهما الكروموسومات مرة واحدة مما يؤدي الي انتاج اربعة انوية احادية العدد الكروموسومي وبذلك ينقسم الانقسام الميوزي الي مرحلتين هما:-

الانقسام الميوزي الاول Meiosis I

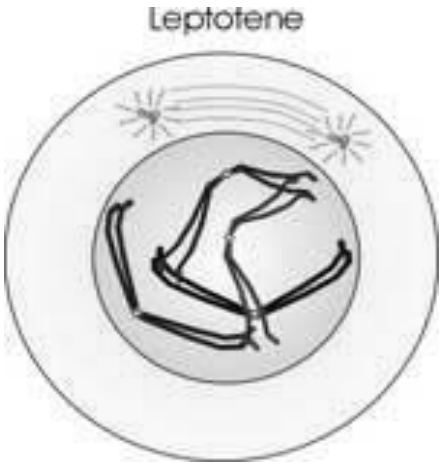
في الانقسام الميوزي الاول يحدث اختزال عدد الكروموسومات الي النصف حيث تنقسم النواة بدون انقسام الكروموسومات كما

يحدث فيه اهم الظواهر الوراثية علي الاطلاق وهو الارتباط والعبور crossing over.

الطور التمهيدي الاول Prophase I

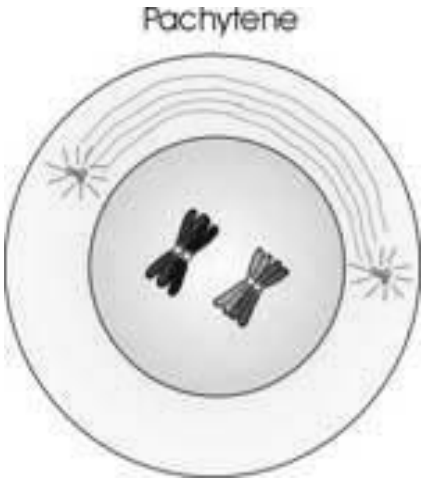
ويتم في خمس مراحل متتالية هي:-

١-الطور القلادي Leptotene

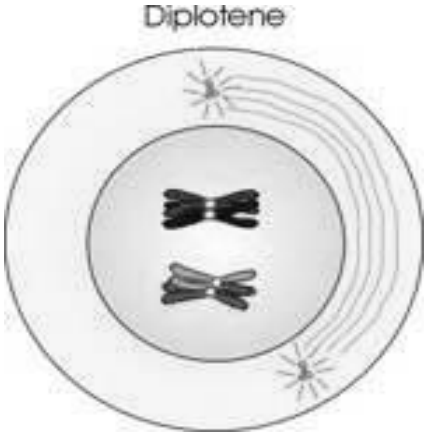


٢- الطور التزاوجي Zygotene

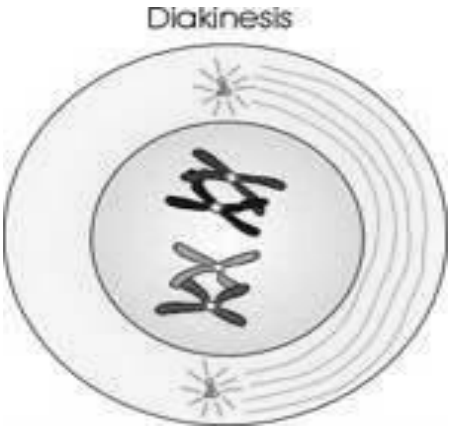
٣- الطور الضام Pachytene



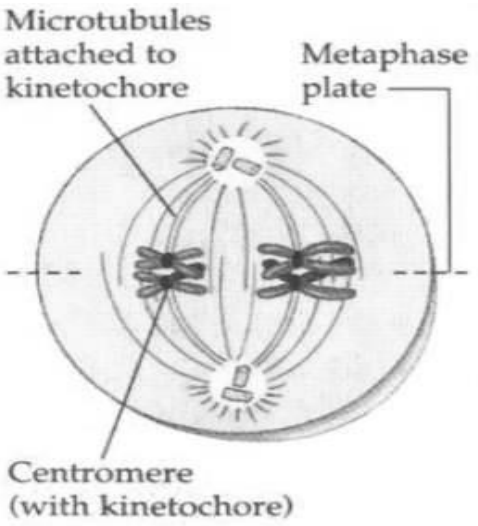
٤-الطور الانفراجي Diplotene



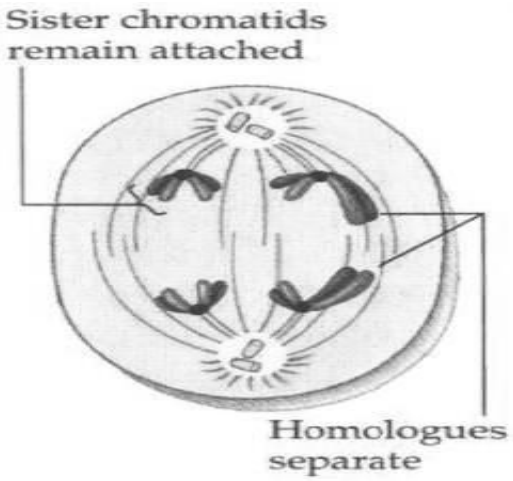
٥-الطور التشتتي Diakinasis



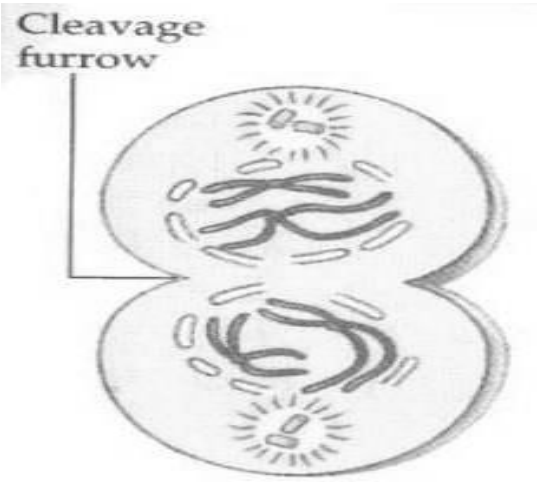
الطور الاستوائي الاول Metaphase I



الطور الانفصالي الاول Anaphase I



الطور النهائي الاول Telophase

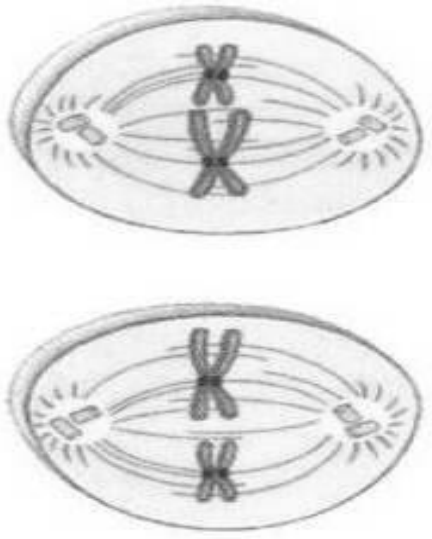


الانقسام الميوزي الثاني Meiosis II

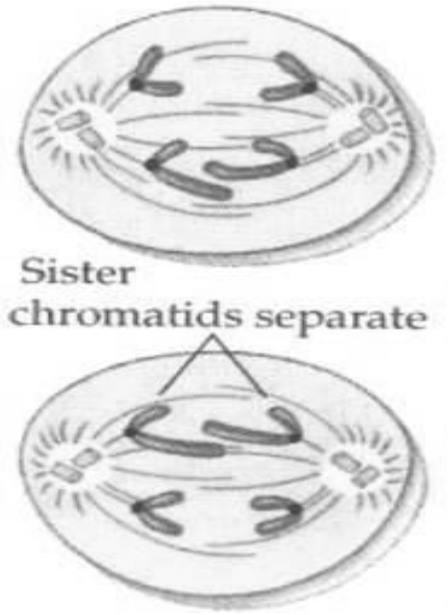
يمر الانقسام الميوزي الثاني بسرعة وبنفس اطوار الانقسام الميتوزي الا ان عدد الكروموسومات يكون احاديا.

الطور التمهيدي الثاني Prophase II

الطور الاستوائي الثاني Metaphase II



الطور الانفصالي الثاني Anaphase II



الطور النهائي الثاني Telophase II

الشذوذ الكروموسومية

Chromosomal abnormalities

عندما تتعرض الخلايا المنقسمة ميتوزيا او ميوزيا الي مؤثرا ضار فان الاطوار الحادثة داخل الخلايا يحدث بها بعض الشذوذ وسوف نقوم بدراسة بعض الشذوذ الكروموسومية التي تحدث في خلايا البصل والفول نتيجة لتاثير بعض المواد مثل المبيدات والكيماويات المختلفة.

I. الشذوذ الكروموسومية للطور البيني abnormal interphase

١-طور بيني ذو نواتين Binucleated interphase

٢-طور بيني معه نواة صغيرة Interphase with micronucleus

٣-طور بيني ذو فجوة Vacuolated interphase

٤-طور بيني عديد الكروموسومات Polyploide interphase

٥- طور بيني عديد الانوية multinucleated inerphase

II. الشذوذ الكروموسومية للطور التمهيدي abnormal prophase

١-طور تمهيدي غير منتظم Irregular prophase

٢-طور تمهيدي معه نواة صغيرة prophase with micronucleus

٣- طور تمهيدي متلزج Sticky prophase

III. الشذوذ الكروموسومية للطور الاستوائي abnormal metaphase

١-طور استوائي مبعثر(كولشسيني) C-metaphase

٢-طور استوائي متلزج sticky metaphase

٣-طور استوائي نجمي star metaphase

٤-طور استوائي به كسور metaphase with breaks

٥-طور استوائي به كروموسوم غير متجمع metaphase with non-cong. chromosome

٦-طور استوائي مائل diagonal metaphase

٧-طور استوائي مضطرب disturbed metaphase

٨-طور استوائي به كرموسوم حلقي metaphase with ring chromosome

IV. الشذوذ الكروموسومية للطور الانفصالي والنهائي abnormal anaphase

١- طور انفصالي مبعثر(كولشسيني) C-anaphase

٢- طور انفصالي متلزج sticky anaphase

٣- طور انفصالي نجمي star anaphase

٤- طور انفصالي به كسور anaphase with breaks

٥- طور انفصالي به كروموسوم حائر anaphase with lagging chromosome

٦- طور انفصالي مائل diagonal anaphase

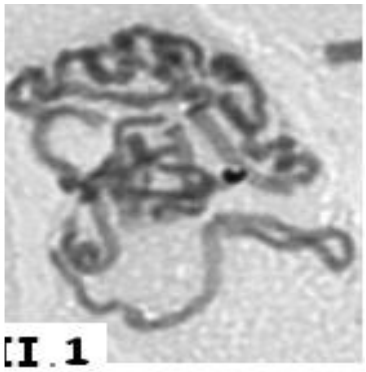
٧- طور انفصالي مضطرب disturbed anaphase

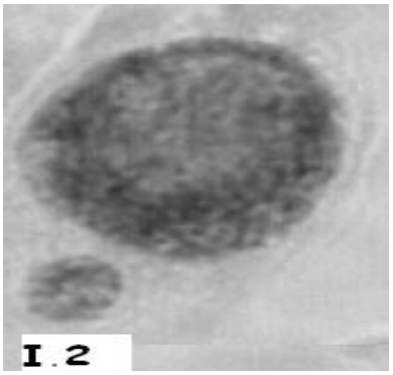
٨- طور انفصالي ذو قنطرة كروموسومية anaphase with chromosomal bridge

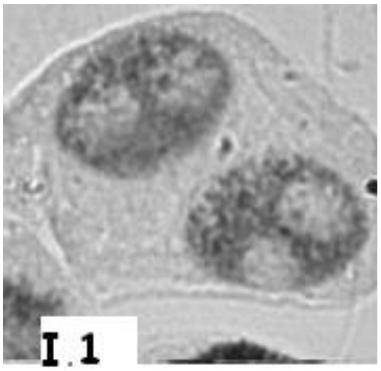
٩- طور انفصالي به كروموسوم حر anaphase with free chromosome

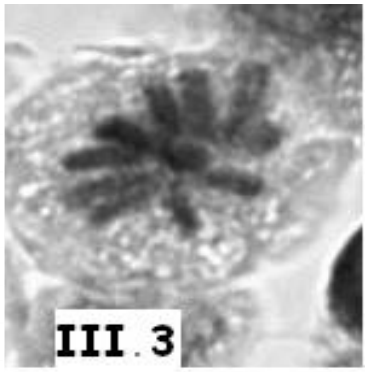
١٠- طور انفصالي عديد الاقطاب multipolar anaphase

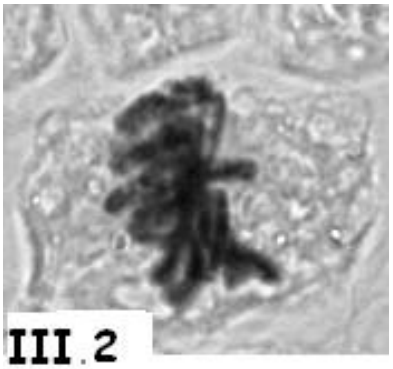
١١- طور انفصالي به كرموسوم حلقي ring chromosome at anaphase

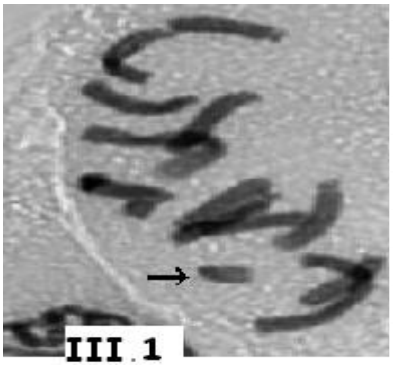

II.1

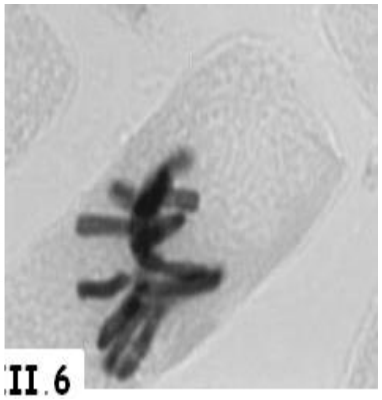

I.2


I.1

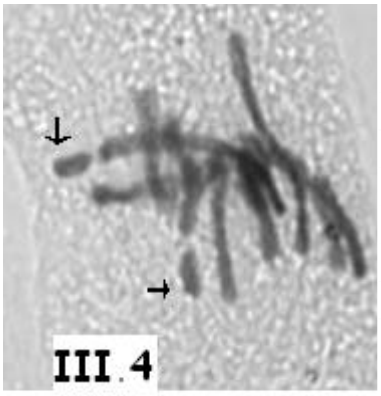

III.3

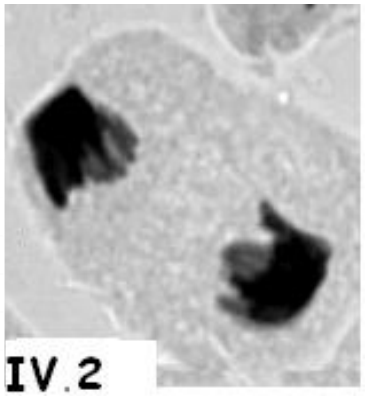

III.2

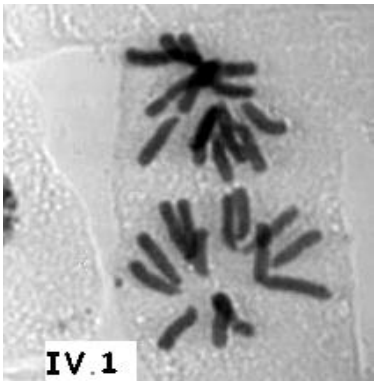

III.1

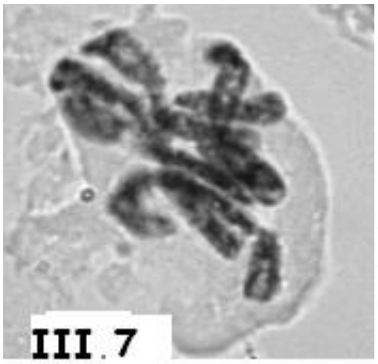

II.6

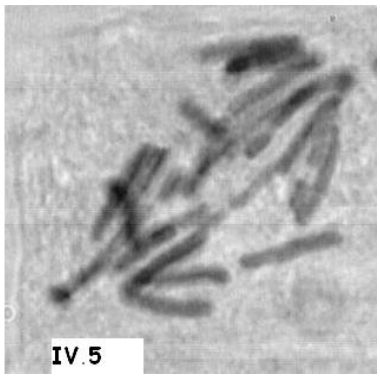
III.5

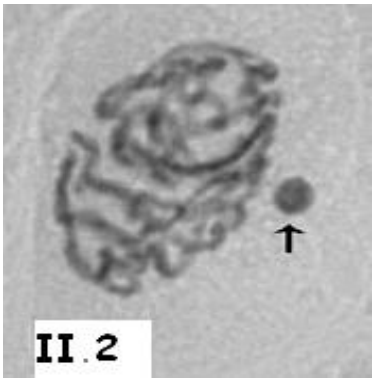

III.4


IV.2

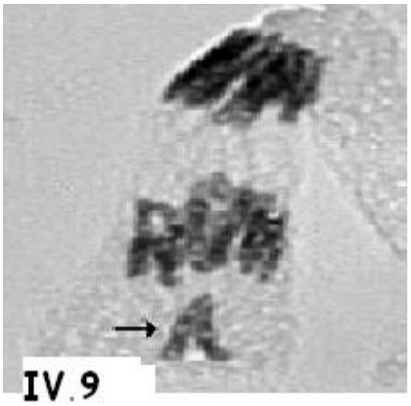

IV.1


III.7





multipolar mitosis



الادلة الوراثية

Genetic indicators

١- معدل الانقسام الميتوزي **mitotic index(MI)** وهو يساوي

$$MI = \frac{\text{العدد الكلي للخلايا المنقسمة}}{\text{عدد الخلايا الكلي}} X\ 100$$

٢- معدل انقسام الطور **mitotic stage index (M.S.I)**

$$M.S.I = \frac{\text{عدد خلايا الطور المنقسمة}}{\text{عدد الخلايا الكلي}} X\ 100$$

٣- نسبة الشذوذ الكروموسومية الكلية **total chromosomal abnormalities**

$$\text{Total abn.} = \frac{\text{العدد الكلي للخلايا الشاذة}}{\text{عدد الخلايا المنقسمة}} X\ 100$$

٤- نسبة الشذوذ الكروموسومية في الطور **stage chromosomal abnormalities**

$$\text{stage abn.} = \frac{\text{عدد خلايا الطور الشاذة}}{\text{عدد الخلايا المنقسمة}} X\ 100$$

وللحصول علي تلك القيم نقوم بفحص الشرائح والتعويض في الجدول التالي:

Total cell No.	interphase			prophase			metaphase			Ana-telophase		
	NO.	nor.	abn.	NO.	nor.	abn.	NO.	nor.	abn.	NO.	nor.	abn.

الوراثة المندلية

Mendelian Genetics

تجارب مندل وقوانينه في الوراثة

كان جريجور مندل Gregor Johan Mendel (1822) دائم الاهتمام بموضوع الوراثة مما قاده إلى القيام بسلسلة من التجار ب على النباتات .وقد اختار نبات البازلاء موضوعا لدراسته . وذلك لوجود العديد من الصفات الواضحة والمتضادة في هذا النبات فساق النبات طويل أو قصيرة ولون الإزهار فيه ملون أو أبيض والبذور ملساء أو مجعدة ... الخ .كما أن زهرة البازلاء خنثى ؛أي أنها تحتوي على أعضاء تناسليه ذكرية وأخرى أنثوية الأمر الذي يسمح بإمكانية تلقيحها ذاتيا أو خلطيا.

وقد بدأ مندل دراسته باختيار إحدى الصفات المتضادة في البازلاء. وبناء على تجاربه وضع مندل استنتاجاته في قانون يعرف **بقانون مندل الأول للانعزال segregation law** وهو ينص علي " اذا تزاوج فردان يختلفان في زوج واحد من الصفات المتفارقه او الاليليه فان افراد الجيل الاول تحمل صفة الاب السائد وفي الجيل الثاني تنعزل الصفتان بنسبة ٣:١ لكل من السائد والمتنحي علي الترتيب".

قانون مندل الثاني:

لم يكتف مندل بدراسته لصفة واحدة في نبات البازلاء ، بل تابع تجاربه واختار صفتين معا لدراسة كيفية توارثهما ووضع القانون الثاني الذي يعرف **بقانون التوزيع الحر independent assortment law** وينص علي " اذا تزاوج

فردان يختلفان عن بعضهما في اكثر من زوج من الصفات المتفارقه او الاليليه فان افراد الجيل الاول تحمل صفة الاب السائد وفي الجيل الثاني ينعزل كل زوج من الصفات مستقلا عن الاخر بنسبة ٣:١ لكل من السائد والمتنحي علي الترتيب".

<u>التلقيح التجريبي او الاختباري</u> test cross

أن التلقيح التجريبي وسيلة تستخدم للتأكد من نقاوة صفة معينة عند كائن حي ما ، وتتم كما يلي: عادة يكون الفرد الخاضع للدراسة يحمل صفة سائدة مجهولة الطراز الجيني (متماثل أم غير ذلك) ، في هذه الحالة يتم مزاوجة هذا الفرد مع آخر يحمل الصفة المضادة (المتنحية) ، لأنها نقية (متماثلة) الطراز الجيني ، وعند ظهور الأفراد تحكم على مدى نقاوة الصفة ، حيث يوجد احتمالات لذلك : -

الأول : أن يكون الفرد نقياً = ودليل ذلك أن جميع الأفراد الناتجة تحمل الصفة السائدة وبالرموز يمكن تمثيلها كما يلي :

الطراز الجيني للأبوين : bb X BB

الطراز الجيني للجاميتات : b X B

الطراز الجيني للأفراد الناتجة : Bb ----- جميع الأفراد تحمل الصفة السائدة ، فإذا كانت هذه هي النتيجة فان الفرد المراد فحص النقاوة العرقية لصفته يكون نقياً.

الثاني : أن يكون الفرد هجيناً = ودليل ذلك أن أحد الأفراد الناتجة على الأقل يحمل الصفة المتنحية ، وبالرموز يمكن توضيح ذلك كما يلي:-

الطراز الجيني للأبوين : bb X Bb

الطراز الجيني للجاميتات : b X Bb

الطراز الجيني للأفراد الناتجة : bb , Bb

***** تطبيقات ومسائل محلولة**

١-إذا تم تلقيح بين نبات بازلاء طويل الساق أحمر الأزهار,ونبات بازلاء آخر قصير الساق أبيض الأزهار.فما صفات نباتات الجيل الأول والثاني ,علماً بأن صفة الطول سائدة على صفة اللون الأبيض؟ وما نسبة الأفراد لكل زوج من أزواج الصفات المضادة في الجيل الثاني؟

الحل

الطراز المظهري: ساق طويلة أحمر الأزهار ساق قصير أبيض اللون

الطراز الجيني: TTRR ttrr

الأمشاج : Tr TR

الجيل الأول: TtRr

الأمشاج: tr tR Tr TR الجيل الثاني :

	TR	Tr	tR	tr
TR	TTRR ساق طويلة أحمر الأزهار	TTRr ساق طويلة أحمر الأزهار	TtRR ساق طويلة أحمر الأزهار	TtRr ساق طويلة أحمر الأزهار
Tr	TTRr ساق طويلة أحمر الأزهار	TTrr ساق طويلة أبيض الأزهار	TtRr ساق طويلة أحمر الأزهار	Ttrr ساق طويل أبيض الأزهار
tR	TtRR ساق طويلة أحمر الأزهار	TtRr ساق طويلة أحمر الأزهار	ttRR ساق قصير أحمر الأزهار	ttRr ساق طويلة أحمر الأزهار
Tr	TtRr ساق طويلة أحمر الأزهار	Ttrr ساق طويلة أبيض اللون	ttRr ساق قصيرة أحمر الأزهار	Ttrr ساق قصيرة بيضاء

٢- عندما تم تلقيح نبات بازيلاء طويل الساق أحمر الأزهار مع آخر طويل الساق ابيض الأزهار ، لم تظهر صفة اللون الأبيض في أي من أفراد الجيل الناتج ، بينما ظهرت صفة قصر الساق في بعض الأفراد . المطلوب - :

أ - الطرز الجينية للآباء ب - الطرز الجينية الشكلية المحتملة لأفراد الجيل الناتج

ج - النسب بين الطرز الشكلية لأفراد الجيل الناتج ؟

الحل

- لم تظهر صفة اللون الأبيض في الأزهار يعني أن صفة اللون الأحمر سائدة ونقية
- بعض النباتات كانت قصيرة ، إذا صفة الطول سائدة وكانت بشكل خليط.

الطرز الشكلية للنباتين = طويل الساق احمر الأزهار X طويل الساق ابيض الأزهار

أ - الطرز الجينية للجاميتات= Ttrr X TtRR

الطرز الجينية للجاميتات= Tr,tr X TR,tR

ب - الطرز الجينية للأفراد= TTRr, TrRr,TtRr , ttRR

قصير الساق احمر الأزهار طويل الساق احمر الأزهار

ج - النسب بين الطرز الشكلية للأفراد الناتجة:- ٢٥ %نباتات قصيرة الساق حمراء

الأزهار

75 % نباتات طويلة الساق حمراء الأزهار

3 : 1 قصير : طويل

100% احمر الأزهار

٣-تم تهجين نباتين أحدهما طويل الساق أملس البذور اصفر القرون وآخر طويل الساق أجعد البذور اخضر القرون إذا علمت أن جين الطول (T) سائداً على جين القصر (t) ، وجين البذور الملساء (R) سائداً على جين البذور المجعدة (r)وجين اللون الأصفر Y سائدا على جين اللون الأخضر (Y) وكانت النتائج كما يلي - :

37.5% نبتة طويلة الساق ملساء البذور صفراء القرون

37.5% نبتة طويلة الساق مجعدة البذور خضراء القرون

12.5% نبتة قصيرة الساق ملساء البذور صفراء القرون

12.5% نبتة قصيرة الساق مجعدة البذور خضراء القرون

المطلوب :-

١- ما سبب ظهور هذه النسبة ؟

٢- اكتب الطرز الجينية لكلا النباتين ولجميع الأفراد الناتجة من هذا التهجين

الجواب

١- أ - النسبة بين صفتي الطول والقصر هي ٣ : ١ وهذا يعني أن كلا النباتين يحمل

الصفة السائدة بشكل خليط.

ب - النسبة بين صفتي البذور ولون القرون هي ١ : ١ وهذا يعني أن هاتين الصفتان

مرتبطتان ولم يحدث بينهما عبور.

٢- الطراز الشكلي للنباتين = طويلة الساق ملساء البذور صفراء القرون X طويلة

الساق مجعدة البذور خضراء القرون.

الطراز الجيني للنباتي= Tt rr yy X Tt Rr Yy

الطرز الجينية للجاميتات: Try , try X TRY, Try, tRY, try

الطرز الجينية والشكلية للأفراد الناتجة : ٣ طويل أملس اصفر ,TTRrYy TtRrYy, TtRrYy,

3طويل أتجعد اخضر Ttry, Ttrryy, Ttrryy

1قصير اصفر أملس tt RrYy

1قصير أتجعد اخضر ttrryy

٤-صفة لون القرون في إحدى النباتات خضراء أو صفراء ، يحددها زوج من الجينات (G, g) كما يحدد وجود الأشواك أو عدمها في هذا النبات زوج آخر من الجينات (R, r) ، اجريت على هذا التجارب التالية : -

الأول = تم تهجين نبات اخضر القرون مع نبات آخر اصفر القرون فكانت جميع الأفراد الناتجة خضراء القرون

الثانية = تم تهجين نبات ذي أشواك مع آخر عديم الأشواك فكانت جميع الأفراد الناتجة ذات أشواك

الثالثة = تم تهجين نبات اخضر القرون وذو أشواك مع آخر اصفر القرون عديم الأشواك فظهرت النتائج التالية :-

٣٧ نبتة خضراء القرون ذات أشواك ، ٣٤ نبتة صفراء القرون ذات أشواك ، ٣٩ نبتة صفراء القرون عديمة الأشواك, ٣٥ نبتة خضراء القرون عديمة الأشواك ،

المطلوب : -

أ- حدد الصفات السائدة الصفات المتنحية ب - ما الطرز الجينية لكل من الأبوين في التجارب الثلاث مستهلا الحرف الكبير الصفة السائدة والحرف الصغير للتنحية.

الحل

التجربة الأولى : - اخضر القرون X اصفر القرون ----- اخضر القرون ---- فهي سائدة

التجربة الثانية :- ذات أشواك X عديمة الأشواك --- ذات أشواك --- فهي سائدة

RR X rr --------- Rr

التجربة الثالثة : - النسبة بين الطرز الشكلية للأفراد الناتجة ١ : ١: ١: ١ – أحد الأبوين سائد الصفتين بشكل خليط والآخر متنح الصفتين

اخضر القرون ذو أشواك GgRr اصفر القرون عديمة الأشواك ggrr

تطبيقات مربع كاي علي قوانين مندل

"Chi square test"

يستخدم مربع كاي في العديد من الحالات منها :

١- اختبار مدي مطابقة النسب المشاهدة للانعزالات الوراثية مع النسب المتوقعة.

٢- اختبار مدي استقلالية النتائج مثل اختبار ما اذا كانت نسبة النباتات المصابة تختلف جوهريا عن نسبة النباتات غير المصابة ام لا.

٣- اختبار ما اذا كانت مجموعة من العينات تنتمي الي عشيرة واحدة ام لا.

وفي مجالنا هذا يستخدم مربع كاي لمعرفة ما اذا كانت النسب المشاهدة للانعزالات الوراثية مطابقة للنسب المتوقعة ام تختلف عنها. واذا كانت مختلفة فهل هذا الاختلاف غير معنوي non-significant ام معنوي significant ؟

ولمعرفة الاجابة عن هذه الاسئلة يتم حساب قيمة مربع كاي X^2 من المعادلة:

$$X^2 = \Sigma\ (O_1-E_1)^2 / E_1 + (O_2-E_2)^2 / E_2 + (O_3-E_3)^2 / E_3 + \ldots\ldots\ldots$$

حيث ان :

O = القيمة المشاهدة observed

E = القيمة المتوقعة expected

Σ = مجموع قيم مربع كاي لكل الفئات

ونلاحظ الاتي من المعادلة السابقة:-

١- عندما تكون القيم المشاهدة متطابقة مع القيم المتوقعة فان الانحراف $(O_1 - E_1)^2$ يساوي صفر وبذلك تكون قيمة مربع كاي X^2 = صفر.

٢- عندما تختلف القيم المشاهدة عن القيم المتوقعة فاننا نحصل علي قيمة لمربع كاي وعندئذ تقارن قيمة مربع كاي المحسوبة X^2 بقيمة مربع كاي الجدولية (انظر الجدول) عند درجات الحرية n-1 وعند مستوي معنوية (0.05) و(0.01) ويلاحظ الاتي:

a) اذا كانت قيمة X^2 المحسوبة اقل من قيمة X^2 الجدولية عند مستوي ٠,٠٥ فان الفرق يكون غير معنوي non-significant ويرجع للصدفة فقط وعندئذ تقبل النظرية الفرضية التي تفترض ان القيم المشاهدة تتفق مع القيم المتوقعة.

b) اذا كانت قيمة X^2 المحسوبة اكبر من قيمة X^2 الجدولية عند مستوي ٠,٠٥ فان الفرق يكون معنوي significant وترفض النظرية الفرضية حيث لا تتفق القيم المشاهدة مع القيم المتوقعة.

c) اذا كانت قيمة X^2 المحسوبة اكبر من قيمة X^2 الجدولية عند مستوي ٠,٠١ فان الفرق يكون معنوي جدا highly significant وكذلك ترفض النظرية الفرضي.

مثال

عند تلقيح الجيل الاول لنبات البسلة ذاتيا,كان النسل الناتج من الجيل الثاني ١٧٠ نبات ذات ازهار قرمزية و٣٠ نبات ازهار بيضاء, فهل بيانات الجيل الثاني تتفق مع النسبة المتوقعة ٣:١ ؟

الحل

١- النظرية الفرضية: نبات البسلة خليط في زوج واحد من الجينات الخاصة بلون الازهار والنسبة المتوقعة هي ٣ قرمزي : ١ ابيض.

٢- حساب قيمة مربع كاي:

classes	O	E	O-E	$(O-E)^2$	$(O-E)^2/E$
W	170	$\frac{3}{4}(200)=150$	20	400	2.67
ww	30	$\frac{1}{4}(200)=50$	-20	400	8
Σ	200	200	0		$X^2=10.67$

٣- ايجاد قيمة مربع كاي الجدولية: وسوف تكون عند درجة الحرية **n-1** = ١ ومستوي المعنوية ٠,٠٥ و٠,٠١ هي ٣,٨٤ و ٦,٦٤ علي الترتيب.

وعلي ذلك فان قيمة X^2 المحسوبة اكبر من قيمة X^2 الجدولية عند مستوي المعنوية ٠,٠١ وبذلك فان الفرق بين القيم المشاهدة والمتوقعة معنوي جدا وترفض النظرية الفرضية.

تمارين

١- في الفاصوليا يسبب الجين T نمو الازهار في اباط الاوراق ويسبب الجين t نمو الازهار في قمة الساق وتكون الازهار ملونة بفعل الجين R وعديمة اللون بفعل الجين r وضح بالتحليل الوراثي نسب الاشكال الظاهرية والتراكيب الوراثية للنسل الناتج من التلقيحات التالية:-

a) نبات ذو ازهار ابطية بيضاء مع اخر ذو ازهار طرفية حمراء.

b) نبات ذو ازهار طرفية بيضاء مع اخر ذو ازهار ابطية حمراء.

٢-عند تلقيح نباتات بسلة مستديرة البذور مع اخري مجعدة البذور كانت نباتات الجيل الثاني تتكون من ٣٦٤٥ نبات ذو بذور مستديرة , ١١٩٨ نبات ذو بذور مجعدة, باستخدام الرمز W للاليل المستدير والرمزw للاليل المتنحي اذكر الاتي:-

١- الطراز الوراثي للابوين وانواع الجاميطات التي يعطيها كل منهما.

٢- الشكل الظاهري والتركيب الوراثي لنباتات الجيل الثاني.

٣- نسب الشكل الظاهري والطراز الوراثي للنباتات الناتجة من التلقيح الاختباري لنباتات الجيل الاول

٣-في تجارب مندل علي الحمص لوحظ ٣١٥ من البذور الصفراء مدورة , ١٠٨ خضراء مدورة , ١٠١ صفراء مجعدة, ٣٢ خضراء مجعدة, فاذا علمت ان التوزيع النظري لهذه الانواع بموجب نظرية الوراثة يكون وفقا للنسب ٩:٣:٣:١ فالمطلوب معرفة ما اذا كان اي اختلاف يوجب الشك في النظرية الوراثية اذا كان مستوي الدلالة ١٪.

٤-في احدي تجارب الطماطم نتج في الجيل الثاني ٣٦٢٩ ثمار حمراء, ١١٧٥ ثمار صفراء, وكانت النسبة المتوقع الحصول عليها هي ١:٣, هل الفرق بين الاعداد المشاهدة والمتوقعة فرق المعنوي؟ في نفس التجربة ظهر ٦٧١ نبات ذات اوراق خضراء, ٥٦٩ ذات اوراق صفراء وذلك في احد التلقيحات الرجعية وكانت النسبة المتوقعة هي ١:١, اختبر هذه الاعداد باستخدام مربع كاي مع التوضيح؟

٥-بعد اجراء التلقيح الذاتي للجيل الاول لنبات البسلة تم الحصول في الجيل الثاني علي اربعة فئات مظهرية هي :-

٥٥٠ بذور صفراء مستديرة ٢٠٥ بذور صفراء مجعدة

١٧٥ بذور خضراء مستديرة ٧٨ بذور خضراء مجعدة

هل بيانات الجيل الثاني تتفق مع النسب المتوقعة؟

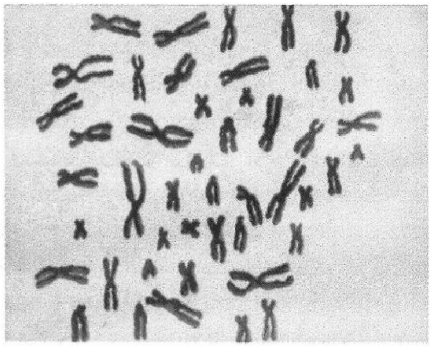
الهيئة الكروموسومية

karyotype

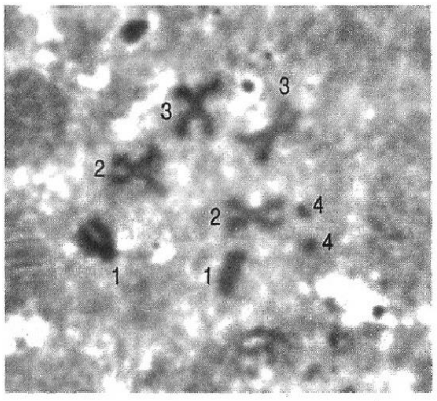
يتميز كل كائن حي بعدد ثابت من الكروموسومات يميزه عن اي كائن اخر ففي البصل ١٦ كروموسوم والذرة الشامية ٢٠ كروموسوم والانسان ٤٦ كروموسوم , وللكروموسومات اشكال مختلفة يرجع هذا الاختلاف في موقع السنترومير علي طول الكروموسوم. فعندما يكون السنترومير في وسط الكروموسوم يسمي كروموسوم وسطي metacentric ويكون الكروموسوم متساوي الذراعين isobranchial وياخذ شكل حرف V. اما عندما يكون السنترومير قريب من وسط الكروموسوم submetacentric فيكون الكروموسوم غير متساوي الذراعين heterobranchial وياخذ شكل حرف L ,واذا كان السنترومير في طرف الكروموسوم terminal فيكون الكروموسوم وحيد الذراع monobranchial وياخذ شكل حرف I.

الهيئة الكروموسومية هي مجموعة كروموسومات نواة الخلية او الكائن الحي. وغالبا مايشير هذا التعبير الى تنظيم او ترتيب كروموسومات المرحلة الاستوائية في تتابع قياسي طبقا لاطوالها .

اوهي صورة فوتغرافية لكروموسومات المرحلة الاستوائية المرتبه في ترتيب قياسي طبقا لاطوالها كما بالشكل. ويمكن اعدادها ببعثرة كروموسومات الطور الاستوائي وذلك بمعاملة الخلايا اولا بمادة تقوم ببعثرة الكروموسومات مثل مادة الكولشيسين colchicines واتباع خطوات اعداد العينة للفحص ميكروسكوبيا.



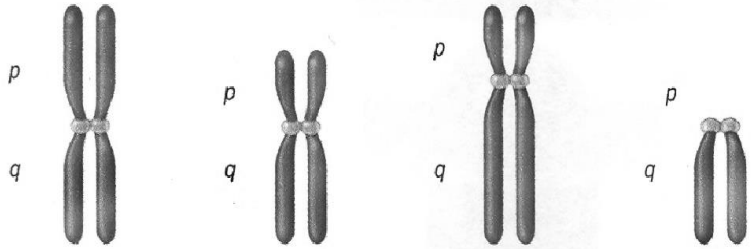
Human



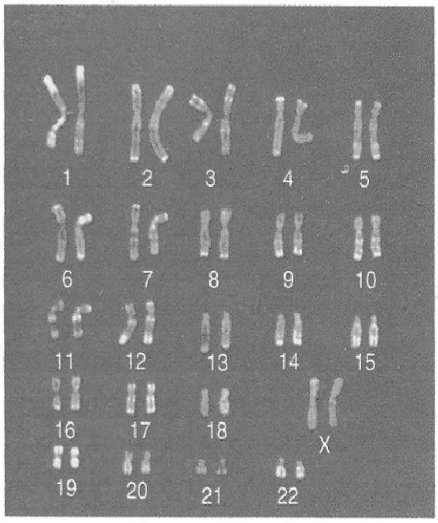
Fruit fly

Corn

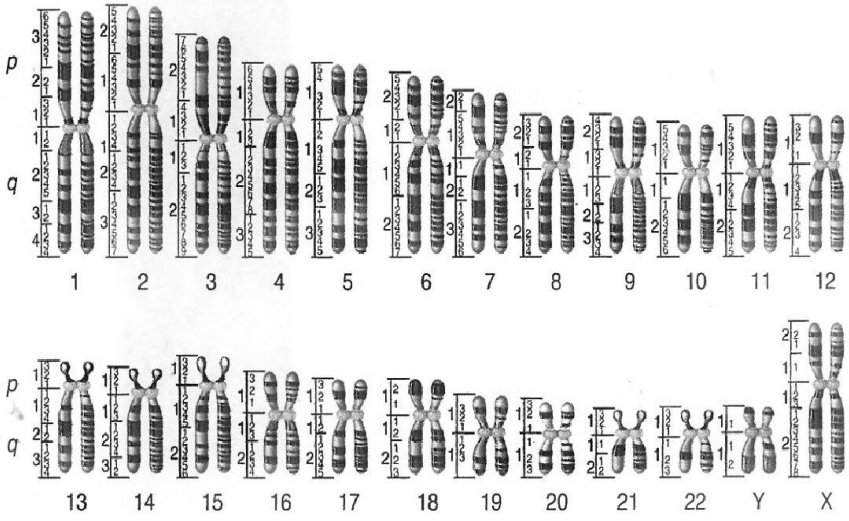
(a) Micrographs of metaphase chromosomes



(b) A comparison of centromeric locations



(c) Giemsa staining of human chromosomes



(d) Conventional numbering system of G bands in human chromosomes

FIGURE **Features of normal chromosomes.** (a) Micrographs of chromosomes from humans, fruit flies, and corn. (b) A comparison of centromeric locations. Centromeres can be metacentric (roughly in the middle), submetacentric (slightly off center), acrocentric (near one end), or

فصل الأحماض النووية

Isolation of Nucleic Acid

تطحن الأنسجة المراد إستخلاص الأحماض النووية منها على درجة حرارة منخفضة (أقل من٤٠ درجة م) وذلك بعد إضافة محلول مائي للفينول المركز وصوديوم لورايل سلفات (أو أي مادة اخرى مناسبة لتقليل الجذب السطحي) إليها . بعد هذه المعاملة يتغير التركيب الطبيعي للبروتينات الموجودة بالأنسجة وتصبح غير ذائبة في المحلول المائي وترسب بينما نجد أن الأحماض النووية تظل ذائبة في المحلول المائي. وبترك المطحون المتجانس الناتج ينفصل إلى طبقتين سائلتين ويمكن الإسراع بفصل الطبقتين بإجراء عملية طرد مركزي على درجة حرارة منخفضة.

حيث يتم بعدها فصل الطبقة العليا المائية (والمحتوية على الأحماض النووية جميعها) عن الطبقة السفلى الأخرى الغنية بالفينول والتي يستغنى عنها. ترسب الأحماض النووية من الطبقة المائية المفصولة وذلك بإضافة كحول الإيثيل اليها بعد ذلك يفصل الراسب المتكون بواسطة الطرد المركزي . وتنقى الأحماض النووية به بإذابته في الماء ثم إعادة ترسيبه بالكحول كما سبق وفصله بالطرد المركزي على صورة نقية.

ويمكن فصل كل من الحمضين النووين DNA و RNA كل على حدة بعد ذلك إما بمعاملته بإنزيم ريبونيوكليز (Ribonucleasa) وذلك لتكسير الحمض النووي

RNAوتحويله إلى جزيئات صغيره ذائبة مع ترك الحمض النووي DNA كما هو بدون التأثير عليه . أو بمعاملة الخليط بإنزيم ديؤكسي ريبونيوكليز (Deoxyribonuclease)حيث تتكسر جزيئات الحمض النووي DNA تاركاً الحمض النووي RNA بدون تأثر . وبعد التخلص من أحد الحمضين النوويين يضاف محلول مائي للفينول وذلك لترسيب وإزالة ماتبقى من بروتين ثم تفصل الطبقة المائية المحتوية على الحمض النووي المراد الحصول عليه بالطرد المركزي حيث بضاف لها بعد ذلك كحول الإيثيل لترسيب الحمض النووي. وحيث أن الحمض النووي DNA على صورته الطبيعية عبارة عن لولب حلزوني طويل فإن إضافة كحول الإيثيل إليه ينتج عنه ترسيب DNA على هيئة راسب طويل ليفي حيث يمكن الحصول عليه من المحلول بلفه حول محرك زجاجي حيث يوضع بعد ذلك في مذيب مناسب مثل الأسيتون لتجفيفه حيث يسهل إزالته جافاً عن المحرك الزجاجي ويحفظ جافاً في زجاجات على درجة حرارة – ٢٠ درجة م. وعند استخدام الطريقة السابقه للحصول على الحمض النووي RNA فإننا نحصل على خليط غير متجانس من الأنواع المختلفة للحمض النووي الرايبونيوكلتيدي RNA, وهم الحمض النووي الناقل tRNA والحمض النووي الرسول mRNA والحمض النووي الرايبوسومي . rRNA ولإجراء فصل لكل نوع في هذا الخليط عن الآخر يستخدم لذلك الفصل الكروماتوجرافي على أعمدة من الكيزلجهر المغطى بطبقة من ميثايل الألبومين (MAK) أو بالطرد المركزي على

محلول سكروز متدرج التركيز (Sucrose Gradient) وبإستعمال هذه الطرق يفصل الخليط الى مكونات تبعاً لنوع النسيج الذي استخلصت منه.

"تمت بحمد الله"

الفهرس

الموضوع	الصفحة
الميكروسكوب microscope	٢
الانقسام الخلويcell division	4
-الميتوزي mitosis	4
-الميوزي meiosis	10
الشذوذ الكروموسومية chromosomal abnormalities	18
الادلة الوراثية genetic indicators	24
الوراثة المندلية mendelian genetics	26
تطبيقات مربع كاي علي قوانين مندل chi square test	33
تمارين	36
الهيئة الكروموسومية karyotype	38
فصل الاحماض النووية isolation of nucleic acids	40