الاستقصاء العملي ٣-١: الدورة الزمنية للتفاعل المحفز بالإنزيم.

الأهداف التعليمية

٣-٣ يشرح كيف يستقصي سير التفاعلات المحفّزة بالإنزيم عن طريق قياس سرعة تكوّن النواتج باستخدام الكتاليز وسرعة اختفاء المادّة المتفاعلة باستخدام الأميليز.

المدّة

يتطلب إجراء هذا النشاط ٤٠ دقيقة تقريبًا اعتمادًا على مدى إلمام الطلبة بالأجهزة والتقنيات. وتتطلب أسئلة التحليل والاستنتاج والتقويم من ٤٠ إلى ٦٠ دقيقة تقريبًا.

توجيهات حول الاستقصاء

- يجب أن يعرف الطلبة المصطلحات العلمية الآتية ويفهموها: المادة المتفاعلة، والناتج، ومعدل التفاعل. كما يجب أن يفهموا كيفيّة عمل الإنزيمات من حيث الاصطدامات العشوائيّة (فرص الارتباط) بين المادة المتفاعلة والموقع النشط للإنزيم.
- تستخدم هذه التجربة الكتاليز المستخلص من سيقان الكرفس، من دون إمكانية معرفة تركيز الإنزيم أو نشاطه؛ لذا قم بإعداد المستخلص واختباره بنفسك أو بمساعدة فنّي المختبر قبل بدء الحصة.

١. اقطع ساقًا كبيرة أو ساقَين من سيقان الكرفس إلى عدة قطع، وضعها في خلاط كهربائي. أضف 400 mL تقريبًا من الماء المقطر (دوّن كتلة الكرفس وحجم الماء المستخدَمَين، فقد يفيد ذلك لاحقًا). شغّل الخلاط لتكوين معلق من مستخلص الكرفس في الماء.

٢. ضع قطعة من الشاش في قمع ترشيح، وثبّت القمع في كأس زجاجية، ثم اسكب مستخلص الكرفس في القمع، واتركه حتى يمر الجزء السائل من المستخلص عبر الشاش. يمكنك الضغط عليه بلطف لتسريع العمليّة.

٣. صل أنبوبة اختبار كبيرة ذات ذراع جانبيّة مع محقن الغاز، وتأكد من تحرك مكبس محقن الغاز بحريّة. ثبّت أنبوبة الاختبار والمحقن على حامل الأنابيب باستخدام الملقط والمشبك.

٤. أضف 20 mL من بيروكسيد الهيدروجين إلى أنبوبة الاختبار.

٥. أضف 5 mL من مستخلص الكرفس إلى محلول بيروكسيد الهيدروجين وأعد السدادة بأسرع ما يمكن.

٦. عندما يبدأ غاز الأكسجين بالانطلاق، يتحرك مكبس محقن الغاز. لاحظ مدى سرعة هذا التحرك، وقرر مدى قدرة الطلبة على قياس حجم غاز الأكسجين في المحقن على فترات 15 أو 30 ثانية. من المحتمل أن يكون معدل إنتاج غاز الأكسجين أثناء المحاولات الأولى سريعًا جدًا بحيث يصعب قياسه. في هذه الحال، يمكنك محاولة تخفيف مستخلص الإنزيم، أو تخفيف محلول بيروكسيد الهيدروجين أو تقليل نسبة حجم مستخلص الإنزيم إلى حجم محلول بيروكسيد الهيدروجين. قد تحتاج إلى عدة محاولات قبل التحقق من أن تركيز الإنزيم وحجمه والمادة المتفاعلة يعطي معدلًا قابلًا للقياس. إذا كان معدل إنتاج الغاز بطيئًا جدًا، يمكنك محاولة تحضير إنزيم طازج باستخدام المزيد من الكرفس والقليل من الماء.

المعلم الإلكتروني الشامل

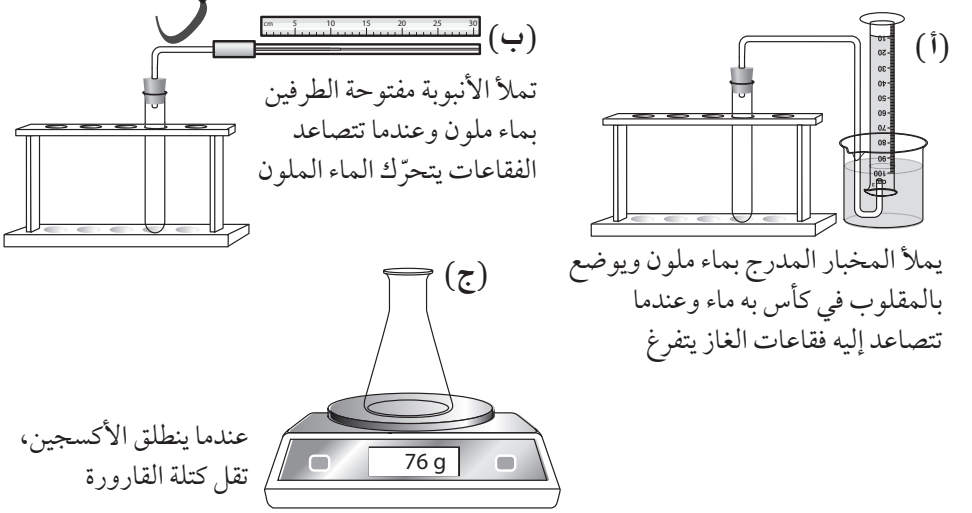
٧. كرر الخطوات من ٤-٧. جرّب تراكيز أو أحجام مختلفة من الإنزيم أو مستخلص الكرفس حتى تصبح واثقًا من قدرة الطلبة على أخذ قراءات لحجم غاز الأكسجين في المحقن على فترات 15 أو 30 ثانية.

ستحتاج إلى

المواد والأدوات	
• 5 mL من محلول مستخلص الكرفس المحضر	• ساعة إيقاف (أو مؤقت مثل الهاتف)
• 20 mL من محلول بيروكسيد الهيدروجين حجم 10	• حامل حديدي
• أنبوبة اختبار كبيرة، أو أنبوبة اختبار بذراع جانبيّة	• محقن 5 mL و 10 mL أو ماصتان مدرجتان.
• محقن غاز	• ماء مقطّر
• أنابيب لتكوين اتصال محكم بين أنبوبة الاختبار ومحقن الغاز	

ملاحظات وتوجيهات إضافية

- تحتوي أيّة مادة بيولوجية على الكتاليز. وإذا لم يتوافر الكرفس، فجرب مواد نباتيّة أخرى مثل البطاطس والجزر والتفاح أو غيرها من الفاكهة أو الخضار. يمكن أيضًا استخدام أنسجة حيوانيّة مثل الكبد، لكن الكتاليز في هذه المواد غالبًا ما يكون نشطًا، الأمر الذي يصعب جدًا معها قياس معدل التفاعل.
- إذا توافر محلول بيروكسيد الهيدروجين حجم 20 بدلًا من حجم 10، يمكن تخفيفه بنسبة 50 %.
- في حال عدم توافر خلاط كهربائي، يمكن طحن قطع من ساق الكرفس مع الماء باستخدام مدقة وهاون. وحتى لا يستغرق الأمر وقتًا طويلًا، تعامل مع كميّات صغيرة في كل مرة.
- تستخدم هذه الطريقة محاقن غاز لتجميع الغاز المتصاعد وهي الأبسط والأكثر دقة في قياس معدل تكوّن غاز الأكسجين. فإذا تمّ استخدام محاقن بلاستيكيّة "عاديّة"، يجب التأكد من أنها محكمة الإغلاق، وأن مكبس المحقن يتحرك بسلاسة.
- وفي حال عدم توافر المحقن المناسب يمكن تجربة إحدى الطرائق الموضحة في الشكل ٣-١.



الشكل ٣-١ ثلاث طرائق مختلفة لتجميع غاز الأكسجين المنطلق

المعلم الناجح وفي الشامل

⚠ احتياطات الأمان والسلامة

- يجب أن يقرأ الطلبة قسم إرشادات السلامة في بداية كتاب التجارب العمليّة والأنشطة، قبل إجراء هذا الاستقصاء.
- يجب اتّباع إجراءات السلامة المعيارية في المختبرات دائمًا.
- بيروكسيد الهيدروجين عامل مؤكسد قوي ومبيض، لذا يجب ارتداء نظارات واقية أثناء إجراء الاستقصاء. يتحلل بيروكسيد الهيدروجين ببطء طوال الوقت حتى بدون وجود عامل حفاز، لذا قد يتراكم غاز الأكسجين في القارورة التي يُحفظ فيها بيروكسيد الهيدروجين. فاحفظه في مكان مظلم وبارد، وتوخَّ الحذر عند فتح القارورة.
- إذا تصاعد غاز الأكسجين بسرعة كبيرة، قد يندفع مكبس المحقن بسرعة إلى مسافة بعيدة باتجاه أحد الاشخاص. ولتجنّب ذلك اربط المكبس في المحقن بخيط يمنعه من الاندفاع لمسافة بعيدة.

توجيهات حول إجراء الاستقصاء

- المشكلة الأكثر شيوعًا والتي تحدث أثناء إجراء التجربة هي أن لا يكون الجهاز محكم الإغلاق. تحقق من جميع الوصلات، وتأكد من استخدام أنابيب مطاطيّة بأقطار مناسبة لربط الأدوات الزجاجيّة. وإذا استمرت المشكلات فاستخدم الفازلين لإغلاق الوصلات الضعيفة. قد يكون استخدام الشمع المذاب (المنصهر) مفيدًا لهذا الغرض، لكن يصعب تنظيفه.
- من الصعب إعادة السدادة بالكامل إلى أنبوبة الاختبار بعد إضافة مستخلص الإنزيم إلى بيروكسيد الهيدروجين مباشرة، الأمر الذي يؤدي إلى تسرب بعض الغاز، وإلى انخفاض قياس الحجم انخفاضًا كبيرًا (هذا مصدر للخطأ على الطلبة تحديده والتعليق عليه أثناء إجابتهم عن السؤال ٨). يمكن تقليل التأخير الزمني لإعادة السدادة إذا عمل الطلبة في ثنائيات أو في مجموعات صغيرة.

قد يواجه بعض الطلبة صعوبات لغوية في صياغة إجاباتهم عن بعض الأسئلة، على سبيل المثال السؤالان ٢ و ٥، في هذه الحال يمكن تقديم جمل ناقصة ليكملوها، و/ أو تقديم قائمة بالمصطلحات والعبارات التي يمكن استخدامها في الإجابات.

السؤال ٧ ذو مستوى عالٍ من الصعوبة. يمكن الطلب إلى كل مجموعة منهم مناقشة السؤال، ثم عرض ما توصلت إليه على بقية الصف. ناقش إجاباتهم مع الصف ككل، ثم اطلب إلى كل طالب كتابة إجابته بأسلوبه الخاص.

من التمارين الإضافية تزويد الطلبة بطرائق مختلفة لجمع الغاز وقياس حجمه (يعرض الشكل ٣-١بعضها). يمكن تخصيص كل مجموعة بطريقة من هذه الطرائق، ثم مناقشة أي جهاز منها يحقق النتائج الأكثر دقة، وسبب ذلك. سيساعد هذا الأمر في تطوير فهم الطلبة لاتخاذ القرارات حول كيفيّة قياس المتغيّر التابع.

اطلب إلى الطلبة اقتراح كيفيّة استخدام هذه التقنية لمقارنة معدلات نشاط إنزيم الكتاليز المستخلص من نوعَين مختلفَين من الخضار، أو من سيقان الكرفس المحفوظة في ظروف مختلفة (مثلًا في الثلاجة وفي مطبخ دافئ). يمكنهم البدء بالتفكير في المتغيرات التي سيحاولون الحفاظ على ثباتها. كما يمكنهم عند توافر الوقت إجراء استقصاءاتهم الخاصة.

المعلم الإلكتروني الشامل

مفاهيم خاطئة شائعة

- المصطلحان «**محفز**» و«**حفاز**» متشابهان، ويستحقان تخصيص بعض الوقت لتوضيحهما للطلبة، وللتأكد من فهمهم لكل مصطلح.
- ربّما لا يدرك الطلبة في تفسيرهم للتمثيل البياني أن التفاعل قد توقف مع توقف ازدياد حجم غاز الأكسجين. قد يقرأون التمثيل البياني على أنه يوضح استمرار تحرير غاز الأكسجين، متوقعين وصول الخط إلى نقطة الصفر عند التوقف عن إنتاج المزيد.

عيّنة نتائج

انظر الجدول ٣-١

الزمن/ s	حجم غاز الأكسجين/mL
30	2.0
60	5.5
90	7.5
120	9.5
150	11.5
180	13.0
210	14.5
240	16.0
270	17.0
300	18.5
330	19.5
360	20.5
390	21.0
420	21.0
450	21.5
480	22.0
510	22.5

المعلم الإلكتروني الشامل

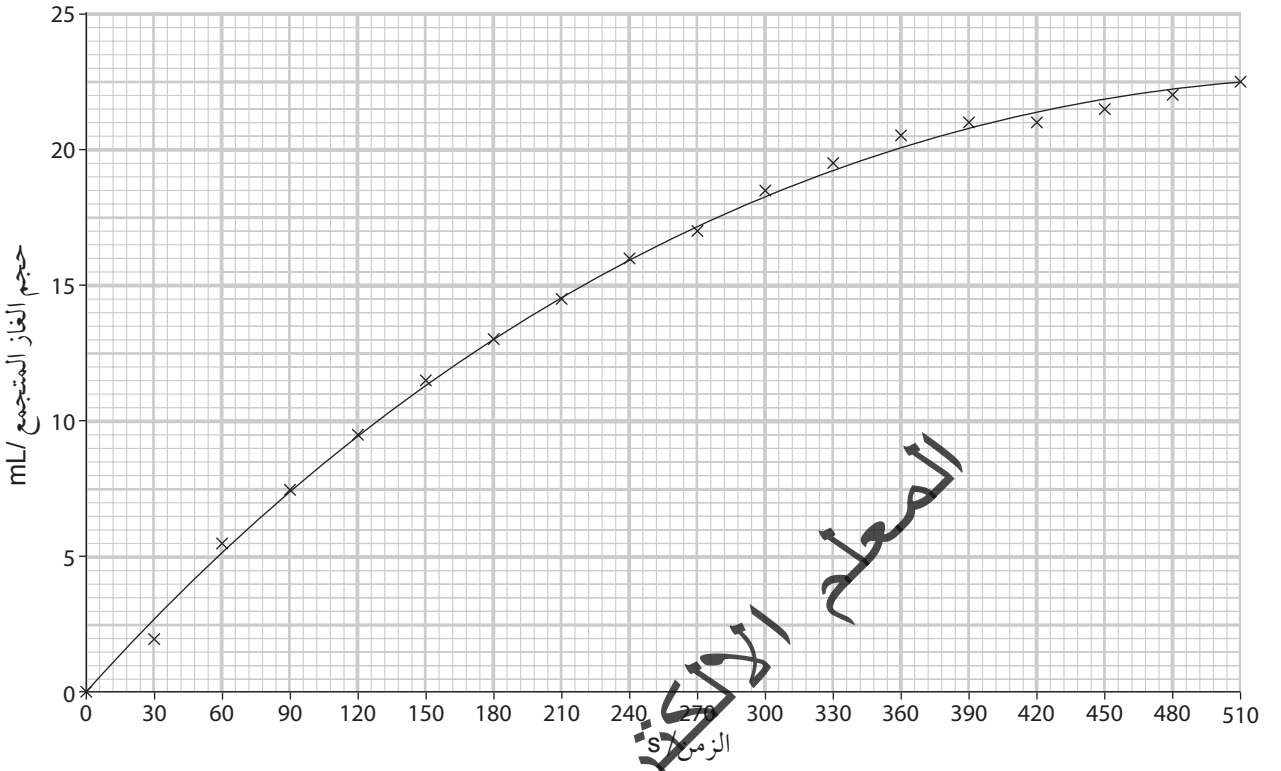
الجدول ٣-١ جدول النتائج للاستقصاء

إجابات أسئلة كتاب التجارب العملية والأنشطة (باستخدام عيّنة النتائج)

يفضل أن يستخدم الطلبة نتائجهم الخاصة عند الإجابة عن الأسئلة. في هذه الحال، عليك التحقق من إجاباتهم عن الأسئلة ١، ٢، ٣،٤، ٥، ٦ مقابل نتائجهم.

تتعلق الإجابات الآتية بنتائج العيّنة في الجدول ٣-١.

١. انظر الشكل ٣-٢



الشكل ٣-٢

المعلم الإلكتروني الشامل

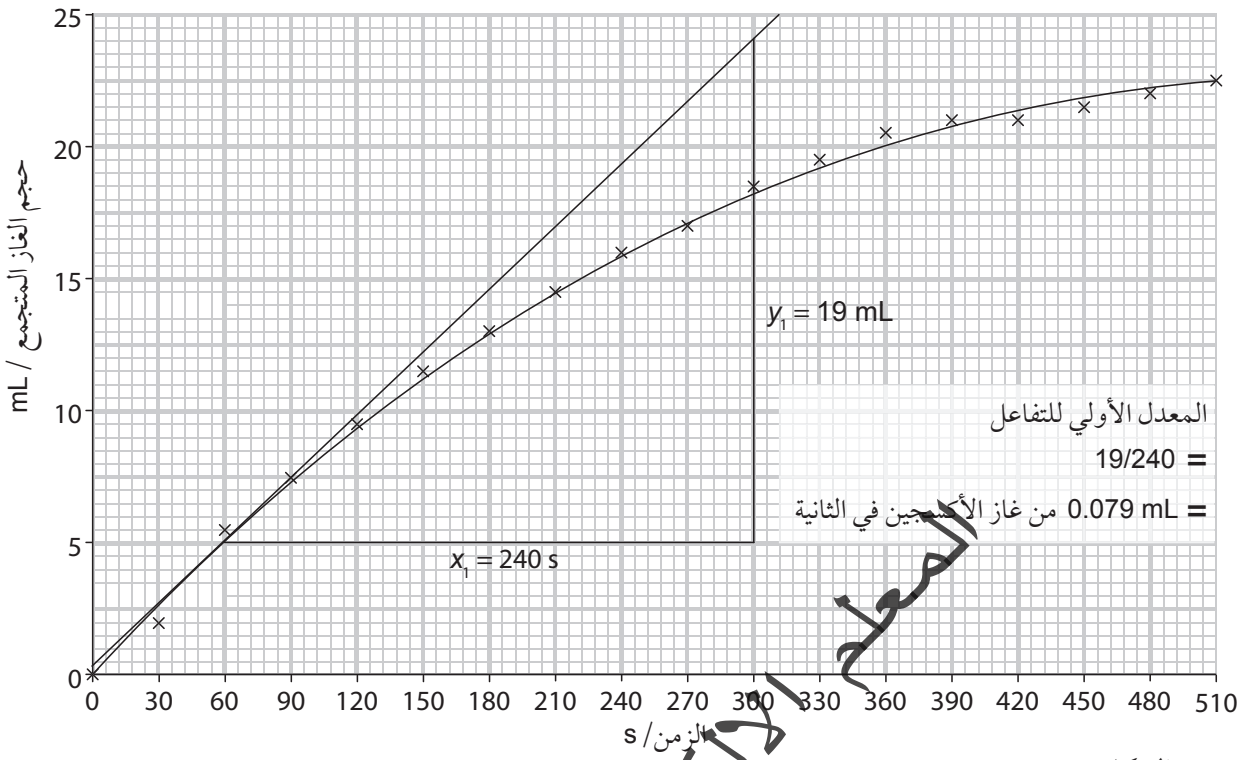
٢. يكون معدل التفاعل سريعًا في البداية، ويصبح أبطأ تدريجيًا بمرور الوقت.

٣. في الزمن صفر (0)، قبل أن يبدأ الإنزيم بتفكيك بيروكسيد الهيدروجين.

٤. لم يستقر التمثيل البياني، فلا يزال هناك بعض غاز الأكسجين يتحرر، الأمر الذي يعني أنه لا يزال هناك بعض المادة المتفاعلة التي لم يتم تفكيكها حتى بعد 510 ثوان.

٥. عند إضافة الكتاليز لأول مرة إلى بيروكسيد الهيدروجين، يكون تركيز المادة المتفاعلة هو الأعلى. ويكون تكرار التصادمات (زيادة فرص الارتباط) بين جزيئات الكتاليز وجزيئات بيروكسيد الهيدروجين، ومعدل تكوّن معقد الإنزيم- المادة المتفاعلة مرتفعًا. بمرور الوقت، يتناقص تركيز المادة المتفاعلة تدريجيًا بسبب تفكيكها (تكسرها) بفعل الإنزيم، وينخفض بالتالي تكرار الاصطدامات (تنخفض فرص الارتباط). وفي النهاية لن تبقى هناك مادة متفاعلة، لذا سيصبح معدل التفاعل صفرًا.

٦. انظر الشكل ٣-٣



الشكل ٣-٣

٧. ينخفض تركيز المادة المتفاعلة مع سير التفاعل. إذا أردنا استقصاء تأثير تركيز المادة المتفاعلة على معدل التفاعل، يكون تركيز المادة المتفاعلة هو المتغيّر المستقل، ونحن في حاجة إلى قياسه ومعرفة ماهيته. لا يمكن استقصاء ذلك إذا كان تركيز المادة المتفاعلة متغيّرًا. لذا يكون من الضروري قياس معدل التفاعل مباشرة في بداية التفاعل، وقبل أن ينخفض تركيز المادة المتفاعلة بشكل ملحوظ. عندها فقط يمكن التأكد من أن تركيز المادة المتفاعلة ثابت في جميع التجارب.

٨. **ب.** خطأ عشوائي. سيتسرب الغاز من أنبوبة الاختبار في بداية التفاعل. وعند إعادة السدادة إلى مكانها سيتوقف تسربه. لذلك يفقد بعض الغاز في البداية، ويكون الحجم الكلي للغاز المتجمع منخفضًا. وعند إعادة السدادة إلى مكانها، يمكن جمع كل الغاز ويكون التغيّر في الحجم صحيحًا.

ج. خطأ عشوائي. يمكن أن تؤخذ القراءة قبل الوقت المطلوب أو بعده بقليل. وقد يؤدي ذلك إلى ظهور نقاط لا تقع بدقة على المنحنى في التمثيل البياني، لأن النقطة الموضوعة عند 30 ثانية مثلًا تتبع في الواقع إلى 31 ثانية.

د. خطأ منهجي. إذا لم يكن المقياس صحيحًا تمامًا، فمن المحتمل أن تكون كل قراءة خارج القيمة في كل مرة. يمكن أن يعطي قراءة مرتفعة جدًا أو منخفضة جدًا تبعًا لطبيعة الخطأ في المقياس.

هـ. خطأ عشوائي. إنه خطأ واحد يحدث مرة واحدة فقط. يجب رسم المماس بشكل قريب إلى الأصل قدر الإمكان، لكن يصعب ذلك، والمنحنى شديد الانحدار (خط مستقيم تقريبًا هنا). سيكون لرسم المماس في المكان الخطأ أو الزاوية الخطأ تأثير كبير على القيمة المحسوبة للمعدل الأولي للتفاعل، والذي يمكن أن يكون مرتفعًا جدًا (إذا رسم المماس عموديًا عند زاوية رأسيّة جدًا)، أو منخفضًا جدًا (إذا رسم المماس مائلًا جدًا إلى اليمين).

المعلم الالكتروني الشامل

استقصاء عملي ٣-٢: تأثير تركيز المادة المتفاعلة على معدل التفاعل المحفِّز بالإنزيم

الأهداف التعليمية

٣-٣ يشرح كيف يستقصي سير التفاعلات المحفّزة بالإنزيم عن طريق قياس سرعة تكوّن النواتج باستخدام الكتاليز وسرعة اختفاء المادّة المتفاعلة باستخدام الأميليز.

٣-٥ يستقصي ويشرح تأثير العوامل الآتية في سرعة التفاعلات المحفّزة بالإنزيم:

- تركيز الإنزيم
- تركيز المادة المتفاعلة
- تركيز المثبّط

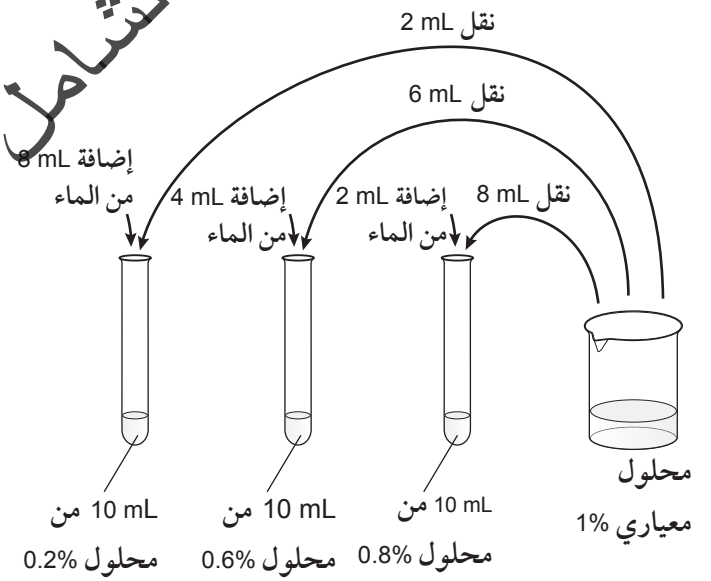
المعلم الإلكتروني الشامل

المدّة

يتطلب إجراء هذا النشاط ٤٠ دقيقة تقريبًا، ويعتمد ذلك جزئيًا على مدى سرعة الطلبة في تحديد كيفيّة تحضير تراكيز مختلفة من المادة المتفاعلة وكيفيّة إجراء ذلك. وتتطلب أسئلة التحليل والاستنتاج والتقويم ٣٠ دقيقة تقريبًا.

توجيهات حول الاستقصاء

- يجب أن يكون الطلبة قد أجروا الاستقصاء العملي ٣-١، لكي يكونوا ملمّين بالإنزيم وبتقنية قياس معدل التفاعل.
- ستقوم بنفسك أو بمساعدة فني المختبر بتحضير محلول مستخلص الكرفس (انظر النشاط العملي ٣-١ للإرشادات) وبالتخفيف التسلسلي لبيروكسيد الهيدروجين للحصول على التراكيز اللازمة (انظر الشكل ٣-٤).



الشكل ٣-٤ التخفيف التسلسلي

ستحتاج إلى

المواد والأدوات	
• 25 mL من محلول مستخلص الكرفس المحضر • 20 mL تقريبًا من محلول بيروكسيد الهيدروجين حجم 10 من كل من التراكيز 20%، 40%، 60%، 80%، 100% • كأسان سعة 250 mL • 5 كؤوس سعة 100 mL أو أيّة أوعية صغيرة • قلم للكتابة على الزجاج • أنبوبة اختبار كبيرة	• محقن غاز • أنابيب لتكوين اتصال محكم بين أنبوبة الاختبار ومحقن الغاز • ساعة إيقاف • حامل أنابيب، مشبك وملقط • محقن 5 mL أو 10 mL أو ماصتان مدرجتان. • ماء مقطّر

ملاحظات وتوجيهات إضافيّة

- انظر الاستقصاء العملي ٣–١ لتعرف اقتراحات لأدوات بديلة.
- قد يفضل استخدام محلول بيروكسيد الهيدروجين حجم 20، لأنه يوفِّر مجموعة كبرى من تراكيز المادة المتفاعلة المختلفة.

⚠ احتياطات الأمان والسلامة

- يجب أن يقرأ الطلبة قسم إرشادات السلامة الوارد في بداية كتاب التجارب العمليّة والأنشطة، قبل إجراء هذا الاستقصاء.
- يجب اتّباع إجراءات السلامة المعيارية في المختبرات دائمًا.
- بيروكسيد الهيدروجين عامل مؤكسد قوي ومبيض، لذا يجب ارتداء نظارات واقية أثناء إجراء الاستقصاء. يتحلل بيروكسيد الهيدروجين ببطء طوال الوقت حتى بدون وجود عامل حفاز، لذا قد يتراكم غاز الأكسجين في القارورة التي يُحفظ فيها بيروكسيد الهيدروجين. فاحفظه في مكان مظلم وبارد، وتوخَّ الحذر عند فتح القارورة.
- إذا تصاعد غاز الأكسجين بسرعة كبيرة، قد يندفع مكبس المحقن بسرعة إلى مسافة بعيدة باتجاه أحد الأشخاص. ولتجنّب ذلك اربط المكبس في المحقن بخيط يمنعه من الاندفاع إلى مسافة بعيدة.

توجيهات حول إجراء الاستقصاء

- انظر النقاط الموضحة في الاستقصاء العملي ٣–١.
- إذا بدأ الطلبة العمل بالتركيز الأكثر انخفاضًا من المادة المتفاعلة، فقد يجدون أن التفاعل يندر حدوثه، وقد يخسرون كثيرًا من الوقت في مراقبة أجهزتهم لرصد تحرير كمية من الغاز يمكن قياسها، لذلك يفضل الطلب إليهم البدء بالتركيز الأعلى، والعمل بشكل منهجي باتجاه التركيز الأقل.

يمكن للطلبة الذين يحتاجون إلى المزيد من التحدي، والذين توصلوا إلى الحصول على مجموعة من النتائج قابلة للتمثيل البياني، استخدام التمثيل البياني هذا لحساب ثابت ميكاليس–مينتين K_m. يتضمن النشاط ٣–٢ الوارد في كتاب التجارب العمليّة والأنشطة إرشادات حول كيفيّة إجراء ذلك. ويقدم الشكل ٣–٤ مثالًا على كيفيّة تحضير الطلبة لتراكيز مختلفة.

المعلم الإلكتروني الشامل

نتائج عيّنة

انظر الجدول ٣-٢.

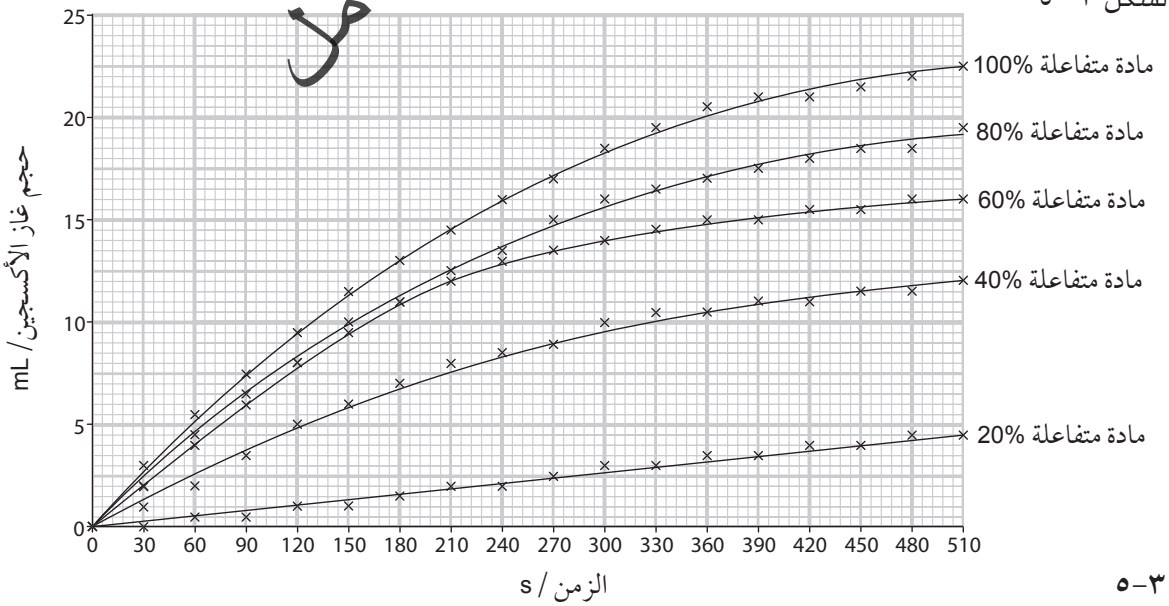
الزمن/ s	حجم غاز الأكسجين/ mL				
	مادة متفاعلة 100%	مادة متفاعلة 80%	مادة متفاعلة 60%	مادة متفاعلة 40%	مادة متفاعلة 20%
0	0	0	0	0	0
30	2.0	3.0	2.0	1.0	0
60	5.5	4.5	4.0	2.0	0.5
90	7.5	6.5	6.0	3.5	0.5
120	9.5	8.0	8.0	5.0	1.0
150	11.5	10.0	9.5	6.0	1.0
180	13.0	11.0	11.0	7.0	1.5
210	14.5	12.5	12.0	8.0	2.0
240	16.0	13.5	13.0	8.5	2.0
270	17.0	15.0	13.5	9.0	2.5
300	18.5	16.0	14.0	10.0	3.0
330	19.5	16.5	14.5	10.5	3.0
360	20.5	17.0	15.0	10.5	3.5
390	21.0	17.5	15.0	11.0	3.5
420	21.0	18.0	15.5	11.0	4.0
450	21.5	18.5	15.5	11.5	4.0
480	22.0	18.5	16.0	11.5	4.5
510	22.5	19.0	16.0	12.0	4.5

الجدول ٣-٢

المعلم الإلكتروني الشامل

إجابات أسئلة كتاب التجارب العملية والأنشطة (باستخدام عيّنة النتائج)

١. انظر الشكل ٣- ٥



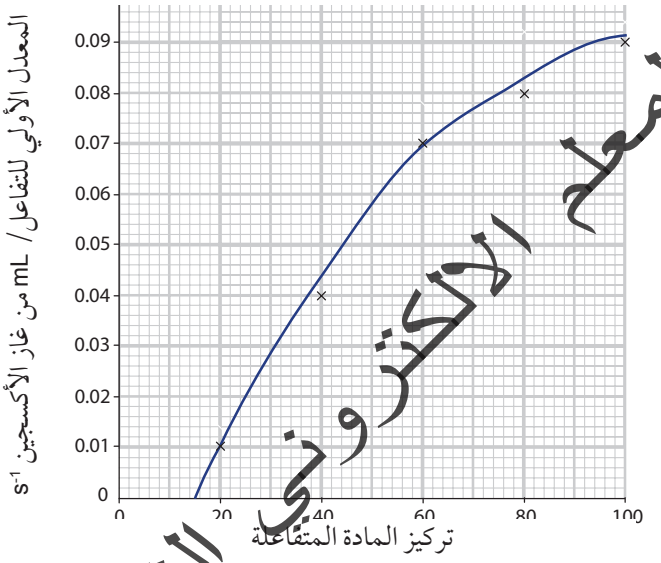
الشكل ٣-٥

٢. النتائج الواردة في الجدول ٣-٣ تقريبيّة. وتعتمد كثيرًا على مدى دقة مكان المماس على المنحنى وكيفيّة رسمه.

تركيز المادة المتفاعلة (%) للمحلول الأصلي	المعدل الأولي للتفاعل /mL من غاز الأكسجين s^{-1}
100	0.09
80	0.08
60	0.07
40	0.04
20	0.01

الجدول ٣-٣

٣. انظر الشكل ٣-٦



الشكل ٣-٦

المعلم الالكتروني الشامل

٤. بيّنت النتائج الأولية في الجدول ٣-٢ أن حجم غاز الأكسجين الناتج بعد 30 ثانية مع تركيز المادة المتفاعلة 80% (3 mL) أكبر من حجمه مع تركيز المادة المتفاعلة 100% (2 mL). (انظر الدائرة الحمراء في الجدول ٣-٢).

٥. كلما زاد تركيز المادة المتفاعلة زاد معدل التفاعل الأولي.

قد يجد بعض الطلبة أن مستويات التمثيل البياني عندهم تستقر عند تراكيز المادة المتفاعلة العليا، بينما يجب أن يكون استنتاجهم هو الآتي:

كلما زاد تركيز المادة المتفاعلة زاد معه معدل التفاعل الأولي. وعند تراكيز المادة المتفاعلة المرتفعة جدًا يتم الوصول إلى معدل التفاعل الأقصى.

٦. كلما زاد تركيز المادة المتفاعلة زاد عدد جزيئات بيروكسيد الهيدروجين في أي جزء من حجم الخليط المتفاعل. ويزيد ذلك من فرصة اصطدام جزيء بيروكسيد الهيدروجين بالموقع النشط لإنزيم الكتاليز، مكوّنًا معقدات إنزيم-مادة متفاعلة. وكلما كانت الاصطدامات (فرص الارتباط) أكثر تكرارًا كان معدل التفاعل أسرع.

(لاحظ أن المهم هو تواتر الاصطدامات، وليس عدد الاصطدامات).

في التراكيز العالية جدًا من المادة المتفاعلة، قد يتم إشغال جميع المواقع النشطة طوال الوقت، بحيث لا تزيد أيّة زيادة في تركيز المادة المتفاعلة من معدل التفاعل.

٧. اختر أيًا من الآتي:

- سيتسرّب بعض غاز الأكسجين من أنبوبة الاختبار (المنزوعة السدادة) في بداية الاستقصاء ما يؤدي إلى أن يكون حجم غاز الأكسجين الذي يتم جمعه صغيرًا (أصغر من الحجم الصحيح)، ولكن عند إعادة السدادة إلى أنبوبة الاختبار يتوقف التسرب؛ ويكون حجم غاز الأكسجين المتجمع أقرب إلى الحجم الصحيح عند السرعة في إعادة السدادة إلى مكانها.
- يمكن أن تؤخذ القراءة قبل الوقت المطلوب أو بعده بقليل. وقد يؤدي ذلك إلى ظهور نقاط لا تقع بدقة على المنحنى في التمثيل البياني، لأن النقطة الموضوعة عند 30 ثانية مثلًا تتبع في الواقع إلى 31 ثانية.
- إذا لم يكن المقياس صحيحًا تمامًا، فمن المحتمل أن تكون كل قراءة خارج القيمة في كل مرة. ويمكن أن يعطي قراءة مرتفعة جدًا أو منخفضة جدًا تبعًا لطبيعة الخطأ في المقياس.
- يجب رسم المماس بشكل قريب إلى الأصل قدر الإمكان، لكن يصعب ذلك، والمنحنى شديد الانحدار (خط مستقيم تقريبًا هنا). سيكون لرسم المماس في المكان الخطأ أو الزاوية الخطأ تأثير كبير على القيمة المحسوبة للمعدل الأولي للتفاعل، والذي يمكن أن يكون مرتفعًا جدًا (إذا رسم المماس عموديًا عند زاوية رأسيّة جدًا)، أو منخفضًا جدًا (إذا رسم المماس مائلًا جدًا إلى اليمين).
- خلال إجراء التخفيف التسلسلي لمحلول بيروكسيد الهيدروجين، قد يحدث خطأ بسيط عند تحضير أحد المحاليل، الأمر الذي يؤثر على التخفيفات اللاحقة.
- أي خطأ سيؤثر على النتائج اتساقًا أو ثباتًا للمتغيرات المعيارية.

٨. أي مقترحين مرتبطين بمصدري خطأ، مثلًا:

- أُخذت القراءات على أوقات زمنيّة غير صحيحة تمامًا، لذلك يفضل استخدام أجهزة تسجيل البيانات لجمع القراءات بدلًا من الاعتماد على الأشخاص، وذلك لتجنب الخطأ.
- إجراء التخفيف التسلسلي لم يكن صحيحًا تمامًا، فإما الحصول على محاليل جاهزة التحضير بالتراكيز الصحيحة والاستغناء عن القيام بإجراء التخفيف التسلسلي، أو التأكد أن أدوات قياس الكميات المستخدمة في التخفيف التسلسلي دقيقة (مثلًا استخدام محاقن ذات دقة عالية لقياس الحجوم بدلًا من استخدام الكؤوس الزجاجية).

المعلم الإلكتروني الشامل

استقصاء عملي ٣- ٣: تأثير تركيز الإنزيم على معدّل التفاعل المحفّز بالإنزيم

الأهداف التعليمية

٣-٣ يشرح كيف يستقصي سير التفاعلات المحفّزة بالإنزيم عن طريق قياس سرعة تكوّن النواتج باستخدام الكتاليز وسرعة اختفاء المادّة المتفاعلة باستخدام الأميليز.

٣-٥ يستقصي ويشرح تأثير العوامل الآتية في سرعة التفاعلات المحفّزة بالإنزيم:

- تركيز الإنزيم
- تركيز المادة المتفاعلة
- تركيز المثبّط.

المعلم الإلكتروني الشامل

المدّة

يتطلب إجراء هذا النشاط ٤٠ دقيقة تقريبًا، وتتطلب أسئلة التحليل والاستنتاج والتقويم٣٠ دقيقة تقريبًا.

توجيهات حول الاستقصاء

- من المفيد إجراء الاستقصاءَين العمليَّين ٣-١و ٣-٢ قبل إجراء هذا الاستقصاء. إذ على الطلبة أن يعرفوا كيفيّة تحضير مجموعة من التراكيز من خلال التخفيف، وأن يكونوا قادرين على تحديد الأخطاء العشوائيّة والمنهجيّة.
- الأميليز المتوافر في محلات بيع الأجهزة والمواد المختبريّة يكون مستخلصًا عادة من الفطريات أو البكتيريا. وقد تتوافر معه معلومات عن هذا الأميليز توضح مثلًا درجة الحرارة المثلى (والتي قد تكون مرتفعة حتى 80°C). إلّا أنه، عليك اختبار نشاط الإنزيم بنفسك والتحقق منه. حضّر محلول الأميليز 1% (أذب 1 g من الأميليز في قليل من الماء البارد، ثم أكمل إضافة الماء حتى 100 mL)، ومحلول النشا 5 % القابل للذوبان (أضف 1 mL من محلول الأميليز إلى 1 mL من محلول النشا، واخلط جيدًا. خذ كل دقيقة أو نحو ذلك عيّنات للتحقق من استمرار وجود النشا. من الناحية المثاليّة، قد ترغب، أن يختفي كل النشا خلال فترة 15-5 دقيقة. إذا اختفى بسرعة كبيرة فحاول تخفيف محلول الأميليز، وإذا اختفى ببطء شديد، فخفّف محلول النشا.
- لا تقترح التعليمات توحيد الرقم الهيدروجيني pH. من الناحية المثاليّة، يجب أن يكون هذا الرقم متغيّرًا معياريًا، ويمكن الحفاظ على ثباته باستخدام محلول منظم يطابق الرقم الهيدروجيني pH الأمثل للإنزيم. ومع ذلك، عمليًا، لن يختلف الرقم الهيدروجيني pH، لذلك قد يكون من الأفضل تجاوز هذه الخطوة واستخدام الماء المقطر ببساطة.

ستحتاج إلى

المواد والأدوات	
• 10 mL محلول إنزيم الأميليز محضر من كل من التراكيز 1%، 0.8%، 0.6%، 0.4%، 0.2%	• ساعة إيقاف
• 50 mL تقريبًا من محلول النشا 5% (أو أي تركيز مناسب).	• محقنان 5 mL أو 10 mL أو ماصتان مدرجتان 10 mL
• كأسان زجاجيتان 250 mL	• محلول اليود، مع قطارة
• 5 كؤوس زجاجية 100 mL أو أوعية صغيرة أخرى	• بلاطة بيضاء عدد 2، ويفضّل استخدام بلاط به تجاويف
• قلم للكتابة على الزجاج	• ورق تنظيف العدسات (خال من النشا) لتنظيف السيقان الزجاجية
• 12 أنبوبة اختبار نظيفة	• ماء مقطر
• ساق زجاجيّة عدد 6	• حمام مائي يمكن التحكم فيه حراريًا

ملاحظات وتوجيهات إضافيّة

- إذا لم يتوافر حمّام مائي يمكن التحكم فيه حراريًا، يستطيع الطلبة إعداد حمّام مائي عن طريق ملء كأس زجاجيّة كبيرة بالماء على درجة حرارة الغرفة. يمكنهم قياس درجة الحرارة على فترات طوال التجربة للتأكد من بقائها ثابتة. من الناحية العمليّة، لا يمكن الحفاظ على ثبات درجة الحرارة مطلقًا، لذلك سيكون هذا مصدرًا مهمًا للخطأ تجدر مناقشته.

⚠ احتياطات الأمان والسلامة

- يجب أن يقرأ الطلبة قسم إرشادات السلامة الوارد في بداية كتاب التجارب العمليّة والأنشطة، قبل إجراء هذا الاستقصاء.
- يجب اتّباع إجراءات السلامة المعيارية في المختبرات دائمًا.
- على الرغم من أن جميع الإنزيمات يمكن أن تسبب ردود فعل تحسسيّة لدى عدد قليل من الطلبة، إلّا أنه من غير المحتمل أن يسبّب تركيز الأميليز المستخدم في هذا الاستقصاء أية مخاطر مهمة.

توجيهات حول إجراء الاستقصاء

- توصف هذه التجربة بأنها غير دقيقة، فقد يفشل الأميليز أحيانًا في هضم النشا بشكل كامل، أو قد يهضمه بسرعة كبيرة بحيث لا يمكن قياس أيّة اختلافات في المعدل بين التراكيز المختلفة. من الضروري أن تختبر هذه التجربة قبل أن تطلب إلى الطلبة إجراءها، في محاولة لإيجاد التركيز المناسب للإنزيم والمادة المتفاعلة.
- يجب أن يتكوّن محلول النشا من نشا قابل للذوبان. لكن قد تواجهك مشكلة في الحصول على نشا قابل للذوبان يتفاعل بشكل مناسب مع محلول اليود. تأكد من أن محلول النشا المستخدم يعطي نتيجة إيجابيّة قويّة (لون أزرق قاتم، حاد) عند اختباره بمحلول اليود.

المعلم الالكتروني الشامل

- أحد المصادر الشائعة للمشكلات تلويث الطلبة للمحاليل بامتزاج بعضها ببعض. قد يفشلون في تنظيف ساق زجاجية كانت على تلامس مع محلول ما ثم أعيد استخدامها مع محلول آخر. بحيث قد يمنع الحصول على أيّة نتائج مفيدة. قد يكون التنظيف بمنشفة ورقيّة غير كاف، ولا سيما إذا كانت المناشف الورقيّة تحتوي على النشا (اختبر واحدة مع اليود لتعرف ذلك). يُنصح باستخدام ساق زجاجية جديدة لاختبار كل محلول، مع غسلها جيدًا بماء نظيف بعد كل اختبار. وإذا تمّ استخدام الورق لتجفيف أو تنظيف السيقان الزجاجيّة، فيجب أن يكون من النوع الخالي من النشا تمامًا.
- من الصعب جدًا، إن لم يكن مستحيلًا، تحديد وقت توقّف محلول اليود عن إعطاء نتيجة إيجابيّة مع النشا. يمكن أن يفيد وجود بقعتين (نقطتين) مرجعيتَين من محلول اليود، تضاف إلى إحداهما قطرة من محلول النشا، وإلى الأخرى قطرة من الماء.

قد يواجه بعض الطلبة صعوبة في فهم كيفيّة تفسير تغيّر لون محلول اليود في التفاعل. حاول استخدام الأسئلة لمساعدتهم في ذلك. على سبيل المثال، إذا ظهر لون برتقالي- بنّي عند إضافة عيّنة إلى بقعة محلول اليود، يمكن أن تسأل: علامَ يدل هذا اللون؟ وإذا كنت قد أجريت هذا الاختبار قبل إضافة الإنزيم، فاسأل: ما اللون الذي كنت ستحصل عليه؟ ولماذا؟ إذًا، أين اختفى النشا؟ وكيف يمكن معرفة المدة التي استغرقها النشا ليختفي؟ وإذا اختفى بسرعة، فعلام يدل ذلك بخصوص معدل التفاعل؟

يمكن الطلب إلى الطلبة الذين يكملون الاستقصاء بسرعة ونجاح اقتراح سبب اعتبار طريقة إضافة محلول اليود إلى الخليط المتفاعل ومراقبة تغيّر اللون، بدلًا من أخذ عيّنات وإضافة قطرات من محلول اليود طريقة غير جيدة (الإجابة: يمكن أن يؤثر وجود جزيئات اليود في معدل التفاعل).

مفاهيم خاطئة شائعة

لا شكّ أن فهم نتائج هذا الاستقصاء العملي يكون أكثر صعوبة من تلك التي تتضمن الكتاليز. فبالنسبة إلى الكتاليز يمكن رؤية الناتج وقياس حجمه. في حين لا يحدث للأميليز تغيير مرئي عندما يتحلل النشا إلى مالتوز؛ حيث يبدأ بمحلول عديم اللون، وينتهي بمحلول عديم اللون، مع عدم وجود غاز منبعث. فاختفاء اختفاء المادة المتفاعلة (النشا) يتطلّب خطوة إضافيّة، والتي يصعب على بعض الطلبة فهم ما يحدث بالضبط.

عيّنة نتائج

انظر الجدول ٣- ٤

تركيز محلول الإنزيم (%)	الزمن الذي استغرقه النشا لكي يختفي /s
1.0	بداية الاختبار الأول
0.8	60
0.6	120
0.4	120
0.2	180
0	0

الجدول ٣- ٤

المعلم الإلكتروني الشامل

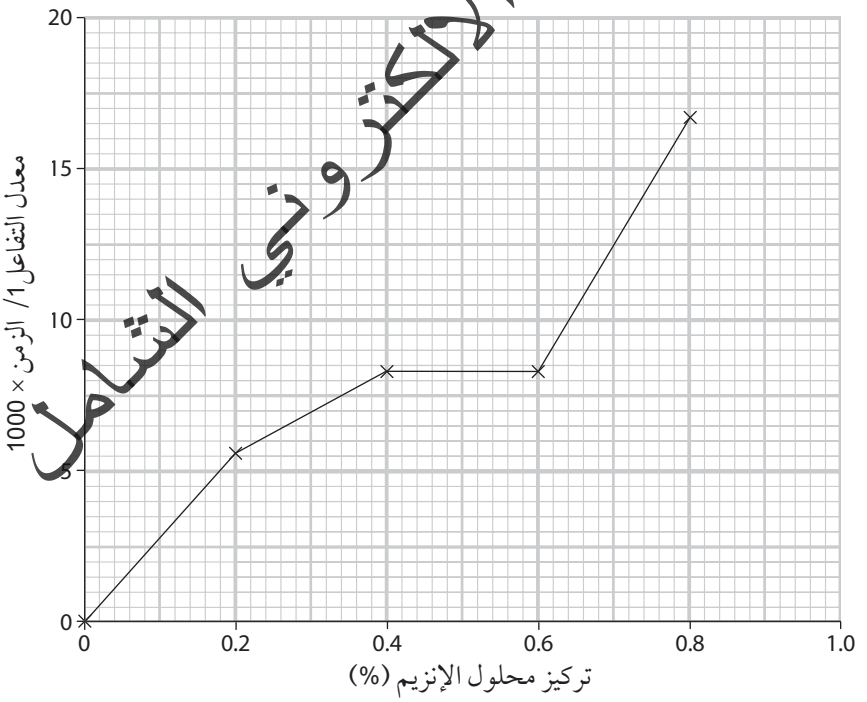
إجابات أسئلة كتاب التجارب العملية والأنشطة (باستخدام عيّنة النتائج)

١. انظر الجدول ٣– ٥

تركيز محلول الإنزيم (%)	الزمن الذي استغرقه النشا لكي يختفي /s	معدل التفاعل 1/الزمن X 1000
1.0	بداية الاختبار الأول	غير قابل للقياس
0.8	60	16.7
0.6	120	8.3
0.4	120	8.3
0.2	180	5.6
0	0	0.0

الجدول ٣–٥

٢. انظر الشكل ٣– ٧



الشكل ٣–٧

٣. كلما زاد تركيز الإنزيم زاد معدل التفاعل (قد يجد الطلبة أنه عند التراكيز العالية جدًا للإنزيم لا يزيد معدل التفاعل مع زيادة تركيز الإنزيم).

المعلم الإلكتروني الشامل

٤. كلما زاد تركيز الإنزيم زادت فرصة اصطدام جزيء النشا بالموقع النشط لجزيء الأميليز. وكلما زاد تكرار هذه الاصطدامات (فرص الارتباط) كان معدل تكوين معقد الإنزيم-المادة المتفاعلة أسرع، ومعدل التفاعل أسرع.

(لاحظ أن تكرار الاصطدامات هو المهم وليس عدد الاصطدامات).

٥. درجة الحرارة وتركيز المادة المتفاعلة. قد يذكر الطلبة أيضًا الرقم الهيدروجيني pH على الرغم من أنه لا يمكن التحكم فيه.

٦. و ٧. من المحتمل أن "يعيد" الطلبة استخدام مصادر الخطأ من الاستقصاءات العملية ٣-١، ٣-٢، ٣-٣. احرص على أن يختاروا مصادر الخطأ التي تنطبق على هذا الاستقصاء، والتي عليهم إعادة صياغتها عند الضرورة.

تشمل الإجابات المحتملة ما يأتي:

- قد يكون الجهاز المستخدم لقياس الحجم غير مناسب؛ على سبيل المثال، إذا تمّ استخدام الأسطوانة المدرجة أو المحقنة فعدّل نسبك عند استخدام ماصة مدرّجة.
- إذا تفاوت الرقم الهيدروجيني pH أثناء التفاعل، فعدّل نسبك بإضافة الحجم نفسه من المحلول المنظم نفسه لكل خليط متفاعل.
- أخذت العيّنات على فترات متباعدة من دقيقة واحدة، لذا لا يمكننا الحكم على وقت اختفاء النشا إلّا إلى أقرب دقيقة (يمكن أن يفسر ذلك الوقت الذي يسجل في نتائج العيّنة لمحلولَين مختلفَين من الأميليز)، وإجراء تعديل بأخذ عيّنات أكثر تواترًا.
- الحكم على لون محلول اليود. عدّل من خلال المقارنة مع مجموعة من المعايير أو لوحة الألوان.

٨. تأكد أن الإجابات ذات صلة بهذا الاستقصاء، ولا تقترح اختبار إنزيمات أو متغيّرات أخرى.

- كرر ثلاث مرات مع كل تركيز إنزيم، واحسب متوسط القيمة للوقت الذي يستغرقه النشا ليختفي (ملاحظة: لا يكفي إجراء التكرار فقط، بل يجب أيضًا حساب المتوسط).
- استخدم نطاقًا أوسع من تراكيز الإنزيم، وقيمًا متوسطة أكثر (أي فترات أقصر من المتغيّر المستقل) للحصول على مزيد من النقاط على التمثيل البياني، وبالتالي صورة أوضح لشكله.
- الناتج في هذا التفاعل هو المالتوز. لا توجد طريقة سريعة لقياس تكوّنه. ستكون هناك حاجة إلى إجراء اختبار بندكت الكمّي والذي يستغرق وقتًا طويلًا. من الأسهل بكثير قياس وقت اختفاء النشا، إذ يمكن اختباره بسرعة وسهولة باستخدام محلول اليود.

٩. الأكسجين هو المادة الناتجة من تفاعل الكتاليز، وهو غاز ينطلق من وعاء التفاعل، ويمكن جمعه وقياسه بسهولة. لن يكون من السهل قياس اختفاء المادة المتفاعلة، إذ لا يوجد اختبار سهل لبيروكسيد الهيدروجين.

المعلم الإلكتروني الشامل

إجابات أسئلة نهاية الوحدة لكتاب التجارب العملية والأنشطة

١. أ. أيّة إجابتَين من: على سبيل المثال، درجة الحرارة، الرقم الهيدروجيني pH، تركيز الإنزيم.

ب. ١. 1M: $\frac{\text{التغيّر في (ص)}}{\text{التغيّر في (س)}}$

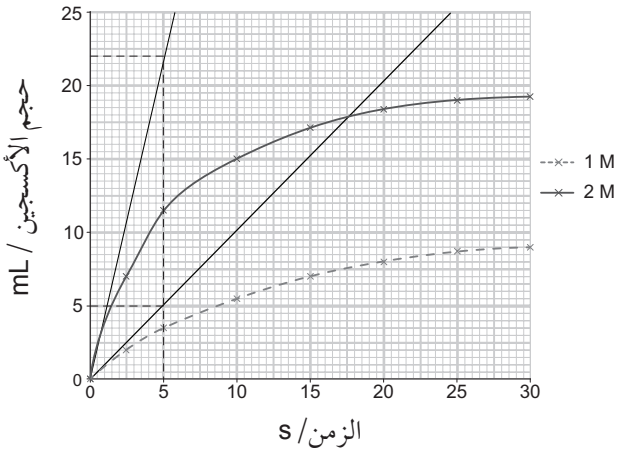
= 5 mL/5 s = 1 mL/s^{-1} أو s/mL

(اقبل الإجابات بين 0.8 mLs^{-1} و1.3 mLs^{-1} اعتمادًا على خطوط المماس المرسومة).

٢. 2M: $\frac{\text{التغيّر في (ص)}}{\text{التغيّر في (س)}}$

= 22 mL/5 s^{-1} = 4.4 mLs^{-1} أو (mL/s)

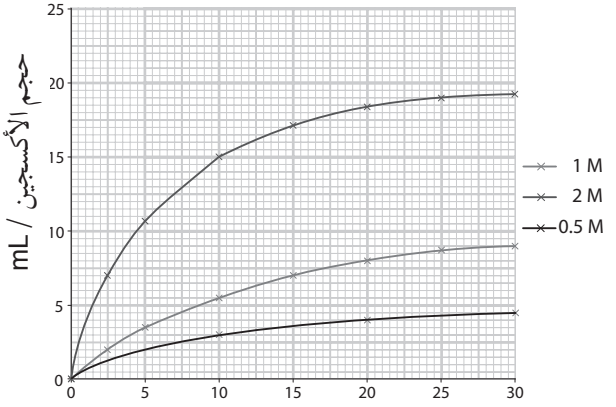
(اقبل الإجابات بين 3.5 mL s^{-1} و5.5 mLs^{-1} اعتمادًا على خطوط المماس المرسومة والقيم المختارة).



ج. أي ثلاثة من الإجابات الآتية: يحتوي محلول 2M من بيروكسيد الهيدروجين على كمية أكثر من المادة المتفاعلة أكثر مما يحتويه محلول 1M. وبالتالي يوجد تكرار الاصطدامات (فرص الارتباط) بين جزيئات المادة المتفاعلة والإنزيم، وسيدخل المزيد من جزيئات المادة المتفاعلة الموقع النشط، لذا سيتكوّن المزيد من الناتج خلال الفترة الزمنية نفسها.

د. المنحنى المرسوم تحت 1M الذي يبدأ عند 0 وينتهي تقريبًا عند 4.5 mL (نصف حجم غاز الأكسجين المنتج باستخدام 1M).

يجب أن يظهر معدل تفاعل أكبر قبل الوصول إلى مستوى مسطح تقريبًا.



٢. أ. هذا ما يـ الزمن/s ي لا يتم إنتاجه بواسطة نشاط اليوريز.

ب. ينتشر في الدم (من المعدة)، يذوب في بلازما الدم، يُنقل في الأوعية الدمويّة إلى الرئتَين، ينتشر من الدم إلى الحويصلات الهوائيّة (ويخرج مع هواء الزفير).

ج. يكون التغيير في $^{13}CO_2$ دائمًا أعلى عند الشخص (أ) منه عند الشخص (ب). يرتفع التغيير في $^{13}CO_2$ عند (أ) إلى ذروة 21 وحدة تقديرية، لكن الشخص (ب) لا يرتفع عنده التغيير بتاتًا فوق 0، يرتفع التغيير في $^{13}CO_2$ عند الشخص (أ) حتى 20 دقيقة ثم يهبط، بينما عند الشخص (ب) يتذبذب التغيير بشكل بسيط.

د. هذا إجراء غير جراحي/ سريع ويسهل إجراؤه.

المعلم الإلكتروني الشامل

٣. أ. إن نشاط البكتينيز المثبت هو أعلى من نشاط البكتينيز الحر في جميع الحالات، إذ ينخفض نشاط الإنزيم المثبت إلى 50% تقريبًا من نشاطه الأولي بعد 30 يومًا، فيما يهبط نشاط البكتينيز الحر إلى 10%، تدل هذه الأرقام أنه وبعد 30 يومًا من التخزين، فقد الإنزيم المثبت حوالي 50% من نشاطه فقط مقارنةً بالإنزيم الحر الذي فقد 90% من نشاطه.

ب. درجة الحرارة، تركيز الإنزيم، تركيز المادة المتفاعلة، الرقم الهيدروجيني.

ج. يحتفظ البكتينيز المثبت بفاعلية أعلى بعد التخزين مقارنة بالإنزيم الحر، يسمح بزيادة الاستقرار خلال التخزين الطويل عند انتظار نضج المحاصيل مثلًا أو تسليم المحاصيل من الحقول إلى المعامل، هدر **أقل للإنزيم حيث يستمر في الاحتفاظ بالنشاط بعد فترات تخزين أطول.**

د. يمكن إعادة استخدام الإنزيم عدة مرات (تقليل تكاليف شراء الإنزيم)، عدم تلوث المنتج بالإنزيم (تقليل تكاليف التنقية)، يمكن استخدام الإنزيم في درجات حرارة أعلى.

المعلم الالكتروني الشامل