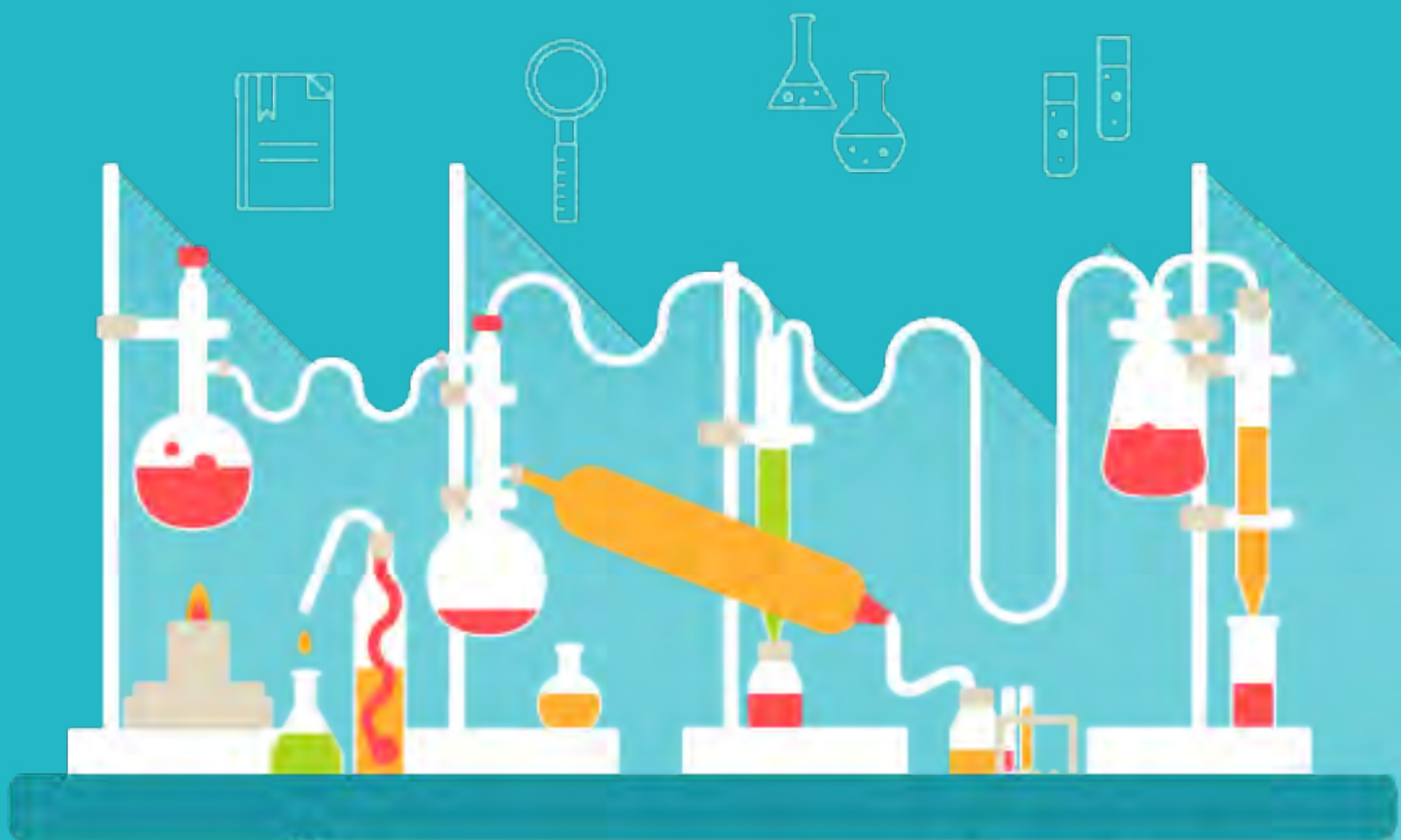


אוגדן מעבדות למורה בנושאי כימיה וביולוגיה לתלמידי מו"ט חט"ב



אוגדן מעבדות בנושאי כימיה וביולוגיה לתלמידי מו"ט חט"ב

פותח ע"י

ד"ר איתי ללזר ואביבה דויד.

עיצוב גרפי: מור מוריה-שיפוני

מרכז המורים מופעל על ידי מכון ויצמן למדע, עבור משרד החינוך במסגרת מכרז מס' 22/11.2020:
הקמה והפעלה של מרכזי מורים ארציים במקצועות הבאים: מדעים, טכנולוגיה ומתמטיקה



משרד החינוך
המזכירות הפדגוגית
אגף מדעים
הפיקוח על מדע וטכנולוגיה



מינהלת מל"מ
המרכז הישראלי לחינוך מדעי-טכנולוגי
ע"ש עמוס דה-שליט



7	מבוא.....
8	פרק 1: מברגים עד אנשים - מין בעולם החי.....
8	קשר לתוכנית הלימודים.....
8	מטרות היחידה.....
8	ידע קודם נדרש.....
8	רקע מדעי.....
9	עצים פילוגנטיים.....
9	עץ פילוגנטי או עץ דמיון?.....
13	שיעור 1: טקסונומיה למתחילים.....
13	פתיחה עם משחק.....
13	משימה שנייה.....
13	סיכום השיעור.....
14	שיעור 2: בונים עץ דמיון.....
14	מטרת השיעור.....
14	חלק שני:.....
16	מעבדה 3: תרגיל ביואינפורמטיקה.....
19	מעבדה 3: תוצאות למורה.....
21	פרק 2: מבעד למיקרוסקופ.....
21	קשר לתוכנית הלימודים.....
21	מטרות היחידה.....
22	מעבדה 4: צביעת תאים והתבוננות במיקרוסקופ.....
24	מעבדה 4: תוצאות למורה.....
25	מעבדה 5: מיטוזה בתאי שום.....
27	מעבדה 5: תוצאות למורה.....
28	מעבדה 6: מעבדה בנושא מבנה התא הצמחי.....
28	חלק ראשון: כלורופלסטים ופוטוסינתזה.....
28	חלק שני: פלסמוליזה בתאי אפידרמיס של בצל הגינה <i>Allium cepa</i>
29	מעבדה 6: תוצאות למורה.....
29	ניסוי 1: התבוננות בתאי אלודיאה.....
29	ניסוי 2: פלסמוליזה בתאי אפידרמיס.....
30	פרק 3: פוטוסינתזה.....
30	קשר לתוכנית הלימודים.....
30	מטרות היחידה.....
30	ידע קודם נדרש.....
30	מעבדה 7: פוטוסינתזה בצמח האלודיאה.....
30	השפעת פחמן דו-חמצני על קצב הפוטוסינתזה בצמח האלודיאה (<i>Elodea canadensis</i>).....
32	מעבדה 7: תוצאות למורה.....

פרק 4: ביוטכנולוגיה..... 33

- 33..... קשר לתוכנית הלימודים
- 33..... מטרות היחידה
- 33..... ידע קודם נדרש
- 33..... מעבדה 8: מעבדה בנושא זיהוי פחמימות
- 34..... ריאגנט בנדיקט
- 36..... דו"ח מעבדה: זיהוי זיהוי פחמימות
- 36..... מעבדה 8: תוצאות למורה
- 37..... מעבדה 9: תהליכים בהבשלת בננות
- 37..... ניסוי ראשון: בדיקת ריכוז סוכר בעזרת רפרקטומטר
- 38..... ניסוי שני: בדיקת כמות סוכר בעזרת ריאגנט בנדיקט
- 38..... ניסוי שלישי - בדיקת נוכחות עמילן
- 40..... מעבדה 10: חישוב כמות סוכר במשקאות קלים
- 40..... חלק ראשון: תזכורת מהי צפיפות?
- 40..... חלק שני: הכנת עקום כיוול
- 41..... חלק שלישי: מכינים עקום כיוול
- 41..... חלק רביעי: מחשבים ריכוזי סוכר
- 42..... מעבדה 10: תוצאות למורה

פרק 5: מיקרוביולוגיה..... 43

- 43..... קישור לתוכנית הלימודים
- 43..... מטרות היחידה
- 43..... רקע מדעי
- 44..... ידע קודם נדרש
- 44..... מעבדה 11: הכנת מצעים ומיהולים עשורניים
- 47..... מעבדה 12: השפעת הטמפרטורה על קצב גידול חיידקי אי. קולי E.coli
- 48..... מעבדה 12: תוצאות למורה

פרק 6: אנזימים..... 49

- 49..... קשר לתוכנית הלימודים
- 49..... ידע קודם נדרש
- 49..... בתום היחידה התלמיד ידע:
- 49..... רקע מדעי
- 50..... מעבדה 13: השפעת אתנול על פעילות אנזים קטלאז בתאי כבד
- 50..... ניסוי ראשון: דנטורציה של חלבון ביצה על ידי אתנול
- 51..... ניסוי שני: השפעת אתנול על אנזים קטלאז סינטטי
- 52..... ניסוי 3: השפעת אתנול על פעילות האנזים קטלאז מרקמת כבד
- 54..... מעבדה 13: תוצאות למורה
- 54..... תוצאות לניסוי 1: דנטורציה של חלבון ביצה על ידי אתנול
- 54..... תוצאות לניסוי 2: השפעת אתנול על פעילות אנזים קטלאז סינטטי
- 55..... תוצאות לניסוי 3: השפעת אתנול על פעילות האנזים קטלאז מרקמת כבד
- 56..... מעבדה 14: פירוק סוכרוז בעזרת שמרים

56.....	רקע מדעי.....
56.....	חלק א':.....
58.....	חלק ב': הכנת תסנין שמרים.....
59.....	מעבדה 14: תוצאות למורה.....
59.....	תוצאות הניסוי הראשון
59.....	תוצאות הניסוי השני.....
59.....	תשובות לשאלות.....
60.....	מעבדה 15: ניסויי חקר בעזרת שמרים.....
60.....	ניסוי מספר 1: בצק צף/שוקע.....
60.....	ניסוי 2: מהו הגז הנפלט בעת נשימת השמרים?
62.....	ניסוי 3: השפעת ריכוז השמרים על קצב תהליך הנשימה התאית.....
63.....	ניסוי 4: כיצד ריכוז הסוכר משפיע על קצב תסיסת השמרים?.....
64.....	ניסוי 5: השפעת הטמפרטורה על קצב תסיסת השמרים.....
65.....	ניסוי 6: צפיה בתרחיף שמרים במיקרוסקופ
65.....	מעבדה 15: תוצאות למורה.....
65.....	תוצאות ניסוי 1
65.....	תוצאות ניסוי 2
65.....	תוצאות ניסוי 3
66.....	תוצאות ניסוי 4
66.....	תוצאות ניסוי 5: השפעת טמפרטורה קל קצב תסיסת השמרים.....
66.....	תוצאות ניסוי 6
67	פרק 7: הצעה לעבודת חקר בנושא: השפעת ריכוז הסוכר על קצב תסיסת שמר האפייה.....
67.....	מטרת המחקר.....
67.....	שיטות וחומרים.....
67.....	הכנת התמיסות.....
67.....	בחירת ריכוז העבודה של החומרים.....
67.....	קביעת החזרות וקבוצות הביקורת.....
68.....	קביעת מהימנות סטטיסטית של תוצאות.....
68.....	מתחילים לעבוד.....
71.....	פרק 7: תוצאות למורה.....

בשנים האחרונות אנו עדים לקפיצה טכנולוגית משמעותית במחקר המדעי וההנדסי. יכולות המחשוב משתפרות בקצב מהיר, טכנולוגית הדפסה בתלת-מימד הופכת נגישה יותר, מזון מתורבת צפוי להפוך לנפוץ יותר, וכמובן טכנולוגיות ריצוף גנטי, פיתוח טכנולוגיית קריספר, חיסוני mRNA ועוד.

בלימודי מדע וטכנולוגיה בחטיבת הביניים מושם דגש גדול על למידה התנסותית. היבט אחד שלה היא ביצוע מעבדות באופן שוטף והתנסות בעבודת חקר בכיתה ט'. מעבדות ועבודות חקר הן דרך מצוינת לפיתוח חלק ממימוניות האוריינות המדעית כמו תכנון והערכת מחקר וניתוח נתונים וראיות כפי שמופיעות במסמך דמות הבוגר.

רוב המעבדות הנפוצות בחטיבת הביניים כמו גם בחטיבה העליונה, הן מעבדות בסיסיות, שתפקידן ללמד עקרונות מדעיים בסיסיים. למשל, פעמים רבות אנו שומעים, כי מעבדות חקר בנושאי הנבטת קטניות או תסיסת שמרים, הן "משעממות" או "פשוטות". אולם, מעבדות מחקר בכל העולם, מבצעות ניסויים מאד אלגנטיים ו"חכמים" תוך שימוש בצמחים, שמרים וחיידקים כחיות או צמחי מודל. אחת ממטרות אוגדן זה היא, להדגים כיצד גם מעבדה תוך שימוש בתאי שמרים יכולה להיות מסקרנת ומאתגרת. בהתאם נציע עקרונות מדעיים ודרכים לביצוע עבודות חקר ברמה גבוהה. לצד זאת, נציע פעילויות המבוססות על ניתוח מאגרי נתונים. התנסויות אלה חשובות מאד בעידן "נתוני-עתק" (Big-Data) בו אנו מצויים, עידן שבו כמות המידע הנוצרת בכל רגע נתון היא עצומה. כמו כן, נציע באוגדן זה רעיונות חדשים להתנסויות העושות שימוש במכשור. זאת כדי לגשר על הפער הטכנולוגי הקיים בין מעבדות בית הספר לבין המעבדות אותן יפגשו התלמידים בלימודיהם האקדמיים.

כדי להשיג מטרות אלה, סקרנו חומרים קיימים והתמקדנו בתחומים שמצאנו כי חסרים בהם התנסויות. לעיתים גילינו מעבדות נהדרות, שאינן מוכרות למורים, מאחר והן נכתבו בספרים ישנים. במקרים אחרים פיתחנו וכתבנו מעבדות מקוריות ובמקרים אחרים נעזרנו במקורות מידע ומאמרים.



קשר לתוכנית הלימודים

הנושא מגוון היצורים החיים נלמד מעט מאד, בחטיבת הביניים ובתיכון הוא נלמד בהקשר של יחידת הלימוד באקולוגיה ובסיוור הלימודי. יחד עם זאת, לאור המודעות הגוברת בנושאים סביבה וקיימות, ומשבר מגוון המינים המאפיין את התקופה בה אנחנו חיים, יש ערך רב ללמד נושא זה כבסיס להבנה של עולם החי. יתר על כן, מיומנות המיון, היא ערך חשוב בפני עצמו.

מטרות היחידה

בתום היחידה התלמיד ידע:

- להסביר מהם עקרונות הטקסונומיה.
- להדגים את חשיבות הטקסונומיה מבחינה מדעית, כלכלית, וחברתית.
- למיין ולארגן מידע מסוגים שונים.

ידע קודם נדרש

- חלוקת עולם החי לממלכות, הבדלים מרכזיים בין קבוצות שונות של יצורים חיים. מבנה תא חיידק, מבנה תא אאוקריוטי (תא צמח, תא בע"ח).

רקע מדעי

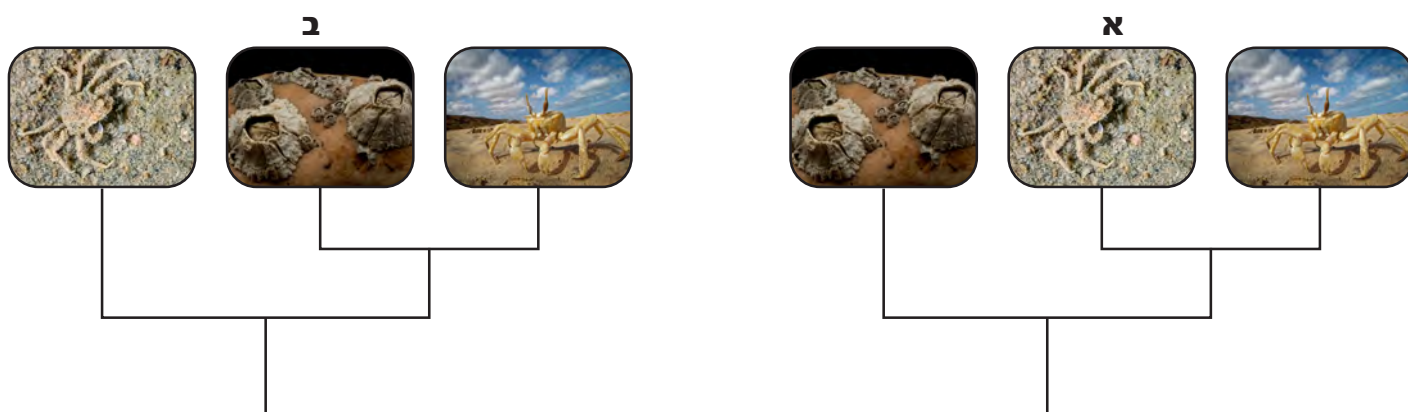
שוו בנפשכם שלכל היצורים והחפצים בעולם החי היה את אותו השם. היכולת שלנו לתקשר הייתה נפגעת בצורה משמעותית. המדע העוסק בנתינת שמות ליצורים חיים וסיווגם לקבוצות נקרא **טקסונומיה**. בבסיס הטקסונומיה עומדת ההנחה שליצורים הקרובים אחד לשני מבחינה גנטית יהיו תכונות התפתחותיות, צורניות (מורפולוגיות) וביוכימיות דומות, המבחינות בינם לבין יצורים אחרים. על בסיס הנחה זו טבע החוקר קרלוס לינאוס, במאה ה-18, את שיטת המיון המדעית למיון יצורים חיים, בה אנו משתמשים עד היום. מטרת המיון היא לקבץ את היצורים לקבוצות בעלות תכונות דומות וקירבה התפתחותית. הבסיס למיון הוא מורפולוגי בעיקרו והסתמך בעיקר על מאפיינים חיצוניים כמו גודל, צורה, צבע ועוד. לשם המיון הגדיר לינאוס רמות טקסונומיות שונות (טבלה 1).

טבלה 1: חלוקה טקסונומית של דבורת הדבש

kingdom	Animalia	בעלי חיים	ממלכה
Phylum	Invertebrates	פרוקי רגליים	מערכה
Class	Insecta	חרקים	מחלקה
Order	Hymenoptera	דבוראים	סדרה
Family	Apidae	דבוריים	משפחה
Genus	Apis	דבורה	סוג
Species	Apis mellifera	דבורת הדבש	מין

בעקבות מהפכת ה-DNA, שיטות מולקולריות מצטרפות היום לבחינת הקרבה בין מינים שונים. השימוש בשיטות אלה, מוסיפות מידע גנטי התומך בתיאורית האבולוציה. לשימוש בשיטות גנטיות לתיאור טקסונומי של יצורים יש יתרון נוסף כאשר עוסקים ביצורים כמו חיידקים שם הדמיון המורפולוגי בעל תועלת קטנה מאד.

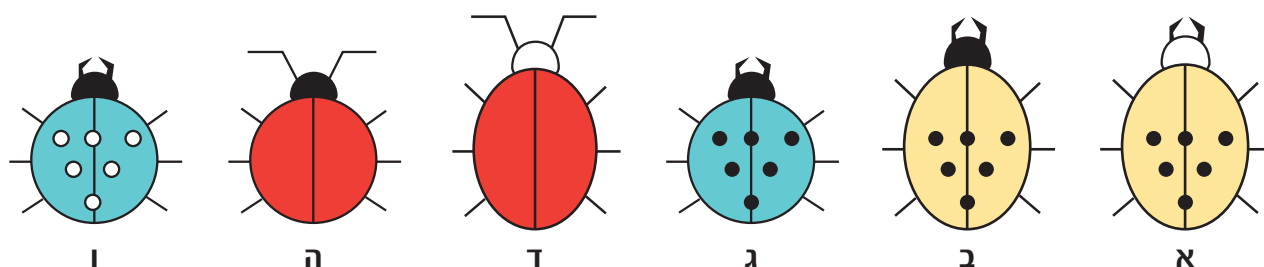
עץ פילוגנטי הוא ייצוג המציג את סדר האירועים האבולוציוניים, והקרבה הגנטית בין יצורים שונים (אך לא בהכרח את הזמן בו התרחשו). עץ מורכב מענפים (Branches) ומנקודות פיצול. אורך הענפים בעץ מתאר את המרחק של יצור אחד מייצור אחר, ככל שהענף ארוך יותר המרחק רב יותר. נקודות הפיצול (nodes), מייצגות נקודה תיאורטית בזמן בה נוצר מין חדש שהמשיך להתפתח במקביל למין הקיים. נתבונן למשל בשני העצים המוצגים בתמונה 1. בתמונה מתוארים יחסי הקרבה האבולוציוניים בין שלושה מינים של בעלי חיים. בלוט הים, צלחית וחולון החוף. לפי אפשרות א' מניחים כי לצלחית ולבלוט הים אב קדום משותף (לפי נקודת הפיצול), ואילו חולון החוף הוא פיצול מוקדם יותר. לפי אפשרות ב' דווקא חולון החוף חולק אב קדמון משותף עם בלוט הים. אז מה נכון? גם בלוט הים וגם חולון החוף הם סרטנים, ואילו הצלחית היא רכיכה, מכאן שהעץ המתאר בצורה טוב יותר את יחסי הקרבה בין שלושת יצורים אלו הוא ב'.



תמונה 1: עץ פילוגנטי המתאר את יחסי הקרבה בין שלושה מינים של בעלי חיים, צלחית, בלוט הים, וחולון החוף. העץ הנכון הוא עץ ב.

עץ פילוגנטי או עץ דמיון?

כדי ליצור עץ פילוגנטי, עלינו להכיר את "המשקל" האבולוציוני של התכונות השונות. למשל, האם התכונה "להיות בעל רגליים" היא תכונה שקדמה להופעת הרכיכות או שהופיע מאוחר יותר. אם אין לנו את המידע אז עלינו להתייחס לעץ כאל עץ דמיון שעוזר לנו להבחין במידת הדמיון בין יצורים שונים. למשל, בתמונה 2 מוצגות מספר חיפושיות, קל לראות שהן חולקות תכונות משותפות אחת עם השנייה. אולם מאחר ואנחנו לא יודעים האם לתכונות השונות, למשל, "מספר נקודות" יש ערך אדפטיבי עבור הפרט לא נוכל ליצור עץ פילוגנטי המתאר את יחסי הקרבה בין החיפושיות אבל כן נוכל ליצור עץ דמיון. אפילו במבט ראשון קל לראות שחיפושיות א ו-ב מאד דומות אחת לשנייה כמו גם חיפושית ג ו-ו.



תמונה 2: חיפושיות בעלות מאפיינים מורפולוגיים שונים.

נבחר את התכונות בעזרתן נרצה לתאר את החיפושיות.

נארגן בטבלה את "מצב" התכונה עבור כל אחת מהחיפושיות (טבלה 2).

טבלה 2: מאפיינים מורפולוגים של החיפושיות השונות.

יצור / מאפיין	צורת גוף	צבע גוף	צבע ראש	נקודות על הגוף	צבע נקודות	יש מחושים	רואים את גפי הפה
א	אליפסה	צהוב	לבן	יש	שחור	אין	כן
ב	אליפסה	צהוב	שחור	יש	שחור	אין	כן
ג	עגולה	תכלת	שחור	יש	שחור	אין	כן
ד	אליפסה	אדום	לבן	אין	לא רלוונטי	כן	לא
ה	עגולה	אדום	שחור	אין	לא רלוונטי	כן	לא
ו	עגולה	תכלת	שחור	יש	לבן	אין	כן

השלב הבא הוא לבנות מטריצת (טבלת) מרחקים המתארת בצורה כמותית את ההבדלים בין הפרטים השונים. לשם כך ניצור את הטבלה הבאה, ונמלא בתוכה את מספר ההבדלים בין כל זוג חיפושיות.

טבלה 3: טבלת מרחקים בין החיפושיות השונות.

	א	ב	ג	ד	ה	ו
א	0	1	3	5	7	4
ב		0	2	6	6	3
ג			0	7	5	1
ד				0	2	7
ה					0	5
ו						0

עכשיו עלינו להתחיל סדרה של חישובים פשוטים כדי "לפתור" את מטריצת המרחקים. נתאר זאת בשלבים. הפרטים א' ו-ב' (וגם ג' ו-ו') שונים זה מזה רק במאפיין אחד. בכל זאת עלינו לבחור באיזה זו לבחור כדי להתחיל את התהליך. נבחר בזוג א ו-ב'.

נבנה טבלה חדשה בה נאחד ביחד את חיפושית א+ב ואז נחשב מחדש את המרחקים (טבלה 4). חישוב לדוגמה: המרחק בין א' לבין ג' הוא 3 (לפי טבלה 3). והמרחק בין ב' לבין ג' הוא 2. סה"כ המרחק הוא 5 יחידות ואת זה מחלקים ב-2. את התוצאה 2.5 נכניס למקום הנכון בטבלה 5.

טבלה 4: מטריצת מרחקים שלב 2.

	א+ב	ג	ד	ה	ו
א+ב	0	2.5	5.5	6.5	3.5
ג		0	7	5	1
ד			0	2	7
ה				0	5
ו					0

נמשיך באותו האופן. כרגע, ניתן לראות שחיפושית ג' ו-ו' עדין הכי קרובות אחת לשנייה. נאחד אותן ונבנה טבלה חדשה (טבלה 5). חישוב לדוגמה: המרחק בין א+ב לבין ג' הוא 2.5. המרחק בין א+ב לבין ו' הוא 3.5, סה"כ המרחק שווה ל-6. נחלק ב-2 ונציב בטבלה 5.

טבלה 5: מטריצת מרחקים שלב 3.

ה	ד	ג+ו	א+ב	
6.5	5.5	3	0	א+ב
5	7	0		ג+ו
2	0			ד
0				ה

אנו רואים כי שני הפרטים שהכי קרובים זה לזה הם ד' ו-ה', נבנה טבלה חדשה בהתאם.

טבלה 6: מטריצת מרחקים שלב 4.

ד+ה	ג+ו	א+ב	
6	3	0	א+ב
6	0		ג+ו
0			ד+ה

עכשיו הקבוצות הקרובות הן (א+ב) ו-(ג+ו), נאחד ונבנה טבלה נוספת. זאת תהיה גם הטבלה האחרונה.

טבלה 7: מטריצת מרחקים שלב 5.

ד+ה	א+ב+ג+ו	
6	0	א+ב+ג+ו
0		ד+ה

עכשיו עלינו לצייר את עץ הדימיון שלנו. המרחק בין פרטים א' ו-ב' הוא 1. לכן נצייר קו באורך 1 ס"מ ביניהם. אותו הדבר עבור פרטים ג' ו-ו'. וכן הלאה. שימו לב שהאורך היחסי במרחק בין פרטים ד' ו-ה' הוא 2 ולכן הוא כפול מזה של א' ו-ב'.

ו	ה	ד	ג	ב	א	
4	7	5	3	1	0	א
3	6	6	2	0		ב
1	5	7	0			ג
7	2	0				ד
5	0					ה
0						ו

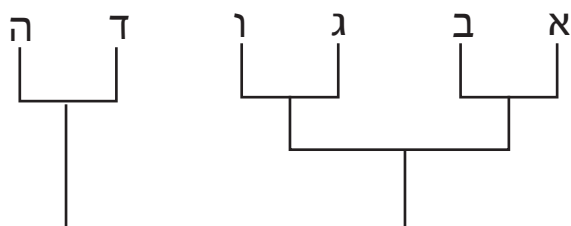
ו	ה	ד	ג	ב+א	
3.5	6.5	5.5	2.5	0	ב+א
1	5	7	0		ג
7	2	0			ד
5	0				ה
0					ו



ו	ה	ד	ג+ו	ב+א	
6.5	5.5	3	0		ב+א
5	7	0			ג+ו
2	0				ד
0					ה



ה+ד	ג+ו	ב+א	
6	3	0	ב+א
6	0		ג+ו
0			ה+ד



ה+ד	ו+ג+ב+א	
6	0	ו+ג+ב+א
0		ה+ד

תמונה 3: פתרון מטריצת המרחקים ושלבים לציור עץ הדמיון.

הערה: העץ שיצרנו הוא פתרון אחד אפשרי ופשטני למטריצת המרחקים. כדי ליצור עץ מדויק יותר, נצטרך ללמוד שיטות אנליזה מתקדמות שהן מעבר למטרות היחידה.

שיעור 1: טקסונומיה למתחילים

פתיחה עם משחק

בוחרים תלמיד שעומד עם הגב אל הלוח. על הלוח מוקרנת תמונה של בעל חיים. על התלמיד לגלות מהו בעל החיים שתמונתו מוקרנת על הלוח על ידי קבלת רמזים מתלמידי הכיתה.

רמזים אפשריים: אני ניזון מ..., יש לי 4 רגליים, יש לי מקור וכו'. צריך לבקש מהתלמידים לא לתת רמזים מסגירים, כמו קולות של צפרדע.

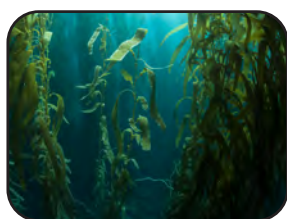
סיכום

- מסכמים על הלוח את המאפיינים העיקרים שהתלמידים השתמשו בהם ודנים בשאלה מה היה קשה יותר להגדיר.
- האם יש דרך למיין את היצורים החיים לקבוצות? צריך להגיע עם התלמידים להבנה שאנו משתמשים במגוון של תכונות כדי להבחין בין מינים שונים.

משימה שנייה

מסמך עם התמונות ניתן למצוא [בקישור](#).

1. לפניכם תמונות של יצורים שונים. היעזרו בשמות המינים, וחפשו מידע במידת הצורך ונסו לסווג את המינים המוצגים בהן לקבוצות דומות, (נסו ליצור 5 קבוצות).
2. עבור כל קבוצה של יצורים, ארגנו בטבלה את המאפיינים המשותפים הבולטים ביותר שלה.



Kelp



Galeocerdo cuvier



Clematis cirrhosa



Musca domestica



Escherichia coli



Borrelia



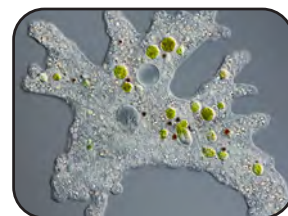
Cyanobacteria



Olea europaea



Saccharomyces cerevisiae



Amoeba



Apis mellifera



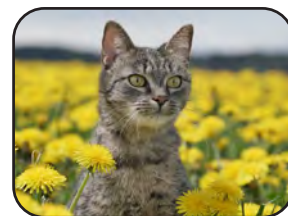
Eristalinus taeniops



Penicillium



Amanita muscaria



Felis lybica domestica

תמונה 4: תמונות יצורים עבור משימת מיון עולם החי.

סיכום השיעור

בשלב הזה יציג המורה לתלמידים את חלוקת עולם החי לממלכות, ואת שיטת המיון הלינאית.

שיעור 2: בונים עץ דמיון

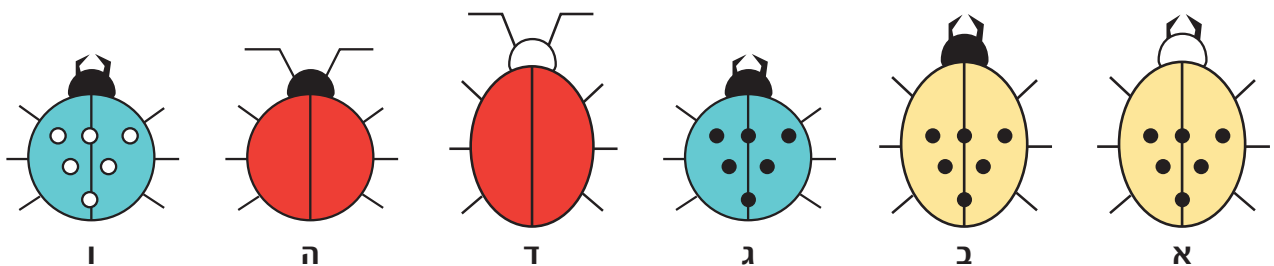
מטרת השיעור

- התלמיד יבין את ההבדל בין עץ פילוגנטי לבין עץ דמיון.
 - התלמיד יתנסה בבניה של עץ דמיון על בסיס שיטות מורפולוגיות.
 - אנו מציעים את החלק הראשון לבצע ביחד עם התלמידים. לאחר מכן יקבלו התלמידים אפשרות להתנסות בעצמם.
- ידע קודם נדרש: טקסונומיה, תכונה, תכונה מורפולוגית. אבולוציה (עקרונות בלבד).

חלק ראשון: הצגת השיעור

הציגו לתלמידים את מטרת השיעור ואת חומר הרקע שידרשו לו. ולאחר מכן פתרו ביחד אתם את המשימה הראשונה כפי שעשינו בדוגמה שלנו.

לפניכם 6 חיפושיות. מלאו בטבלה עבור כל תכונה האם היא נמצאת או לא.



מאפיין/יצור	צורת גוף	צבע גוף	צבע ראש	נקודות על הגוף	צבע נקודות	יש מחושים	רואים את גפי הפה
א							
ב							
ג							
ד							
ה							
ו							

חלק שני:

כדי להמשיך את האנליזה, נהוג ליצור מטריצה המתארת בצורה כמותית את ההבדלים בין הפרטים השונים. לשם כך ניצור את המטריצה הבאה, ונמלא בתוכה את מספר ההבדלים, על פי התכונות שזיהינו בין כל זוג יצורים.

	א	ב	ג	ד	ה	ו
א						
ב						
ג						
ד						
ה						

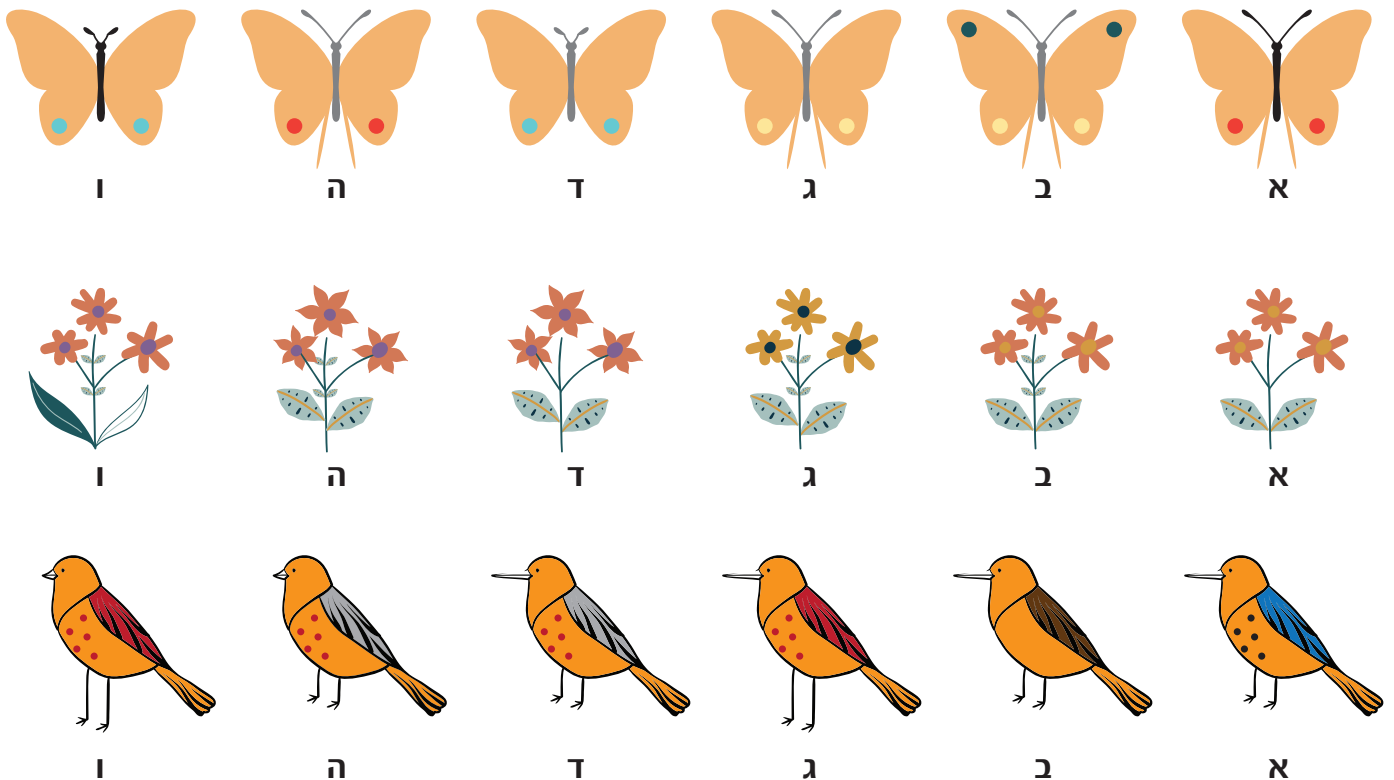
חלק שלישי: יוצרים עץ דמיון

המשיכו עם התלמידים בהתאם לדוגמה שמופיעה בתחילת היחידה. אתם יכולים להכין טבלאות ריקות מראש או לפתוח גליון אקסל ולהקריין אותו על הלוח. הציגו לתלמידים את הפתרון.

חלק רביעי: תרגול עצמי

חלקו לכל קבוצה את אחת התמונות ותנו להם להתנסות בפתרון מטריצת המרחקים וציור של עץ הדמיון.

להורדת קובץ איורים [לחצו כאן](#).



מעבדה 3: תרגיל ביואינפורמטיקה

הימים ימי קורונה ואתם תלמידי כיתה ט' בבית הספר הממלכתי "אומיקרון". כדי לעזור למדינה להתמודד עם משבר הקורונה, קיבלתם רשות לבחון את מאגרי המידע של חולי הקורונה בבית החולים. אמנם, וירוסים הומניים (כאלו התוקפים בני אדם) הם לא ממש כוס התה החביבה עליכם, אבל לפחות הם קטנים ושוברים שגרה, לא? לצורך ביצוע המחקר, שובצתם לעבודה במעבדת מחקר תחת מנהל המעבדה.

מטרת המחקר

לבחון את מאגר המידע של חולי הקורונה ולמצוא קשר אפשרי בין חולים לבין חומרת המחלה.

שימו לב: במשימה זו תשתמשו במספר קבצים. את הקבצים המורה יעלה לדרייב או ישלח אליכם לפני תחילת המשימה. (חשוב לזכור כי מדובר בתרגיל דמיוני והנתונים שתראו בקבצים הינם מומצאים ואינם של אנשים אמיתיים).

משימה ראשונה

1. פתחו את קובץ האקסל: [קורונה נתונים 1](#)
2. אפיינו את הקובץ. מהם המאפיינים המצויים בו? אילו בדיקות נעשו?
3. כדי להתקדם, סכמו את הטבלה כך שאתם מחלקים את הנתונים השונים לפי: דרגות המחלה, (גיל ממוצע, שכיחות (מספר או אחוז) של מין החולה, סימפטומים לא רגילים, ביצוע בדיקות שונות, נוכחות סמנים לדלקת חיידקית. בתום העבודה עליכם להגיע לטבלה כמו זו:

טבלה 8: מאפייני חולים בדרגות מחלה שונות.

חומרת המחלה	מספר מקרים	נשים	גברים	גיל ממוצע	תסמינים לא רגילים	מחלות רקע	בדיקות דם	משטח גרון	בדיקת צואה	בדיקת שתן	זיהום חיידקי
קלה											
בינונית											
חמורה											
מוות											
סה"כ											

האם מצאתם בין הנתונים נתון שנראה לכם מעניין או יוצא דופן? מהו?

משימה שנייה

שמתם לב שמתוך 21 חולים במחלה חמורה, 19 היו חיובים לזיהום חיידקי. הצגתם את התוצאות למנהל המעבדה. הוא עיקם את האף, אבל הסכים שהמעבדה תערוך מבדקים בקטריאליים (בדיקות לנוכחות זיהום על ידי חיידקים), לחולים חדשים. מאחר וידוע שרוב מקרי התמותה מקורונה הם כתוצאה מכשל מערכות כללי הנגרם מסערת ציטוקינים (זה באמת מה שחושבים, לא רק לצורך התרגיל...).

1. קראו על סערת ציטוקינים [באתר הבא](#)
2. מנהל המעבדה אישר לכם לבדוד חיידקים ממשטחי גרון של חולים טריים. לשם זיהוי חיידקים ממשטח גרון יש לגדלם על מצע גידול מתאים. תהליך זה נקרא העשרה. קבוצות החיידקים להם ניתן לעשות העשרה (במצע העשרה מתאים) במעבדה המיקרוביולוגית בבית החולים הן: סטפילוקוקוס, סטרפטוקוקוס, סלמונלה, שיגלה והליקובטקט. אולם, מנהל המעבדה אישר לכם לבדוד רק חיידקי סטפילוקוקוס וסלמונלה, ממשטח גרון של חולים טריים.

1. פתחו את קובץ האקסל "[קורונה נתונים 2](#)". בקובץ מוצגות התוצאות המעבדה לנוכחות סטפילוקוס במשטחי גרון, או סלמונלה בבדיקות צואה. 'ס' מתאר תוצאה שלילית ו-'1' מתאר תוצאה חיובית.

א. הציגו את התוצאות בגרפים מתאימים, ותארו את הקשר בין דרגת המחלה לאחוז החולים החיוביים לכל אחד מהחיידקים.

ב. האם מצאתם קשר בין דרגת המחלה לבין נוכחות אחד מהחיידקים?

משימה שלישית

מנהל המעבדה מתחיל להיות מעט יותר מרוצה. הוא מסכים שיש שיעור גבוה של *Staphylococcus spp.* בחולים קשים, אך מעלה את השאלה הבאה:

1. לקהילה המדעית מוכרים זנים רבים של חיידקים מהסוג סטפילוקוקוס, האם יתכן שלחולים בדרגות מחלה שונות יש זנים שונים של סטפילוקוקוס? כדי לענות על השאלה מנהל המעבדה אישר בדיקה של זהות החיידקים החשודים. לשם כך הוא אישר לכם:

א. להפיק DNA מהתבדידים (תבדיד - מושבה שמקורה בחיידק בודד). של חיידקי הסטפילוקוקוס שבודדתם במשימה 2.

ב. לשלוח את דוגמאות ה-DNA לריצוף גנטי של הגן המקודד ל-16S rRNA.

• בשלב הזה עליכם לשמוע הסבר מהמורה על הגן המקודד ל-16S rRNA ומדוע משתמשים בו לצורך מיון טקסונומי של חיידקים.

משימה רביעית

כפי שכבר הבנתם עד כה, מנהל המעבדה עובד עם תקציב מוגבל. לכן עד כמה שהוא היה רוצה לשלוח לריצוף דוגמאות מכל 40 החולים החיוביים לסטפילוקוקוס, ואפילו עבור מכל חולה לשלוח לריצוף מספר תבדידים (כדי לתקף את תוצאות הריצוף). בפועל עליכם לבחור 24 דוגמאות בלבד.

1. פתחו את קובץ האקסל "[קורונה נתונים 3](#)", הלשונית דוגמאות לריצוף מכילה את כל הדוגמאות.

2. סמנו את הדוגמאות שהייתם רוצים לשלוח לריצוף.

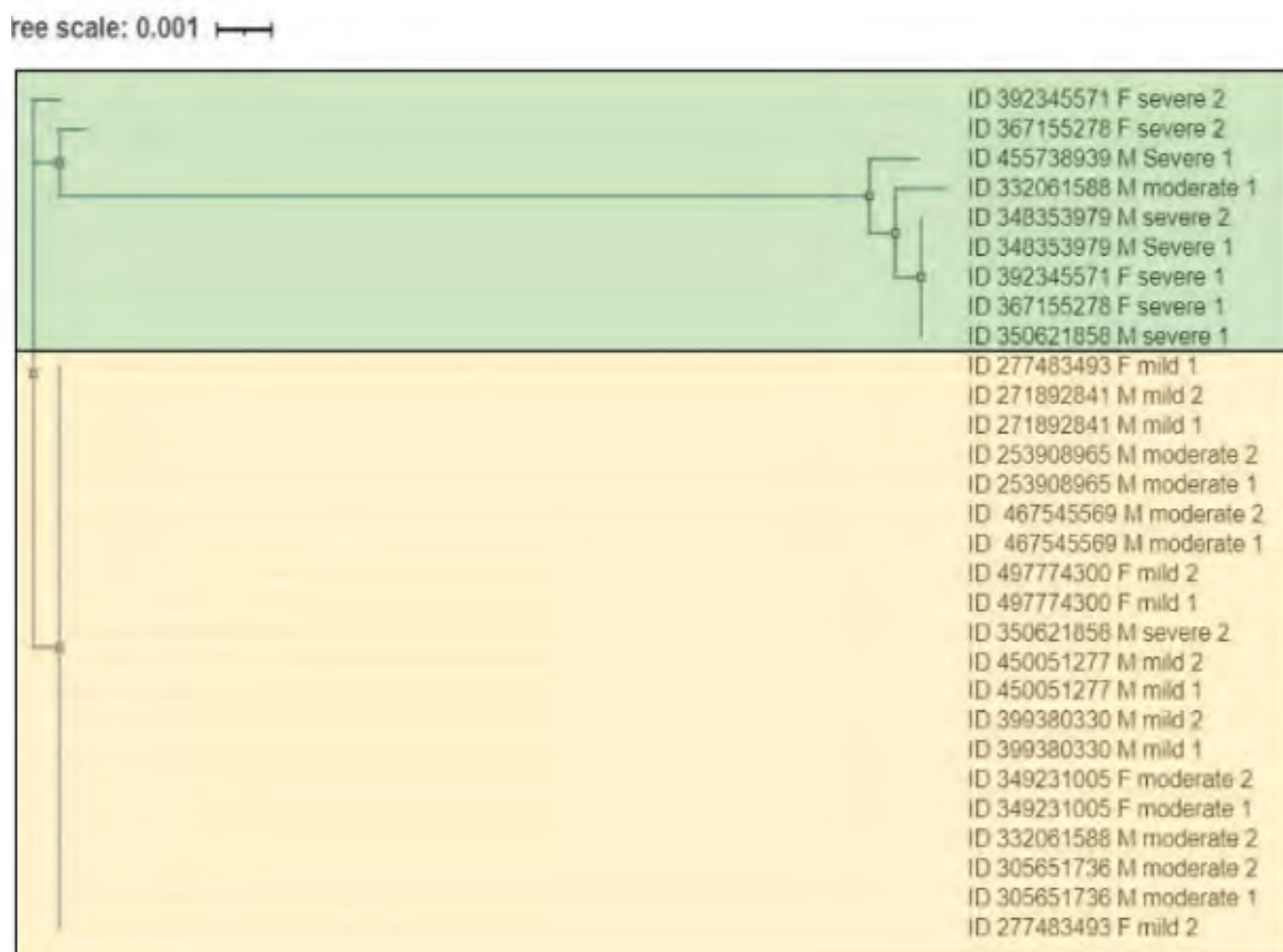
3. כתבו מה היו השיקולים בבחירת הדוגמאות, וארגנו בעזרת טבלה את מאפייני הדוגמאות שבחרתם. חלק זה של בחירת דוגמאות הוא מרכיב מאד חשוב בתכנון הניסוי. שליחת דוגמאות שאינן מייצגות תקשה על הסקת מסקנות. למשל, אם תחליטו לשלוח לריצוף רק דוגמאות של חולים קשים או רק של חולים קלים, לא תהיה לכם נקודת השוואה טובה. לכן חשוב שתשקיעו מחשבה בחלק הזה של הניסוי.

משימה חמישית

1. קבלו ממנהל המעבדה את מאפייני החולים שאת הדוגמאות שלהם הוא החליט לשלוח לריצוף, והשוו לבחירה שלכם (קובץ נתוני קורונה מספר 4). הדוגמאות שנשלחו לריצוף מודגשות בצהוב.

2. מנהל המעבדה בקש מכם לרצף שני תבדידים מכל צלחת. הרי יכולתם במקום זאת לרצף מספר דוגמאות כפול. מה היו לדעתכם השיקולים של מנהל המעבדה?

הדוגמאות נשלחו לריצוף והרצפים עברו שתי אנליזות גנטיות. הראשונה בעזרת אלגוריתם Blast לצורך זיהוי חידקים הדוגמאות נשלחו לריצוף והרצפים עברו שתי אנליזות גנטיות. הראשונה בעזרת אלגוריתם Blast לצורך זיהוי חידקים. על בסיס מקטע מהגן המקודד ל-16S rRNA בכלי SINA לצורך זיהוי חידקים ובנייה של עץ פילוגנטי. תוצאות האנליזה מוצגות בתמונה 5.



תמונה 5: עץ פילוגנטי של הגן המקודד ל-16S rRNA של חיידק הסטפילוקוק שבודד מחולים בדרגות מחלה שונות. ניתן לראות כי הרצפים בחלק העליון של העץ שייכים כמעט כולם לחולים במחלה קשה. לעומת זאת, בחלק התחתון של העץ נין למצוא רצפים קל ובינוני.

שאלת סיכום

התבוננו בעץ הפילוגנטי המתואר בתמונה 5. האם התוצאה המוצגת בעץ תמוכת בהשערתכם? נמקו.

מעבדה 3: תוצאות למורה

משימה 1

במשימה זו נדרשים התלמידים לרכז בטבלה אחת קובץ אקסל די גדול. כדאי להראות לתלמידים כיצד ניתן למיין נתונים בטבלאות אקסל כך שהם יגיעו לטבלה הבאה. כמוכן שאם יש תלמידים מתקשים, ניתן מראש לתת להם את הטבלה.

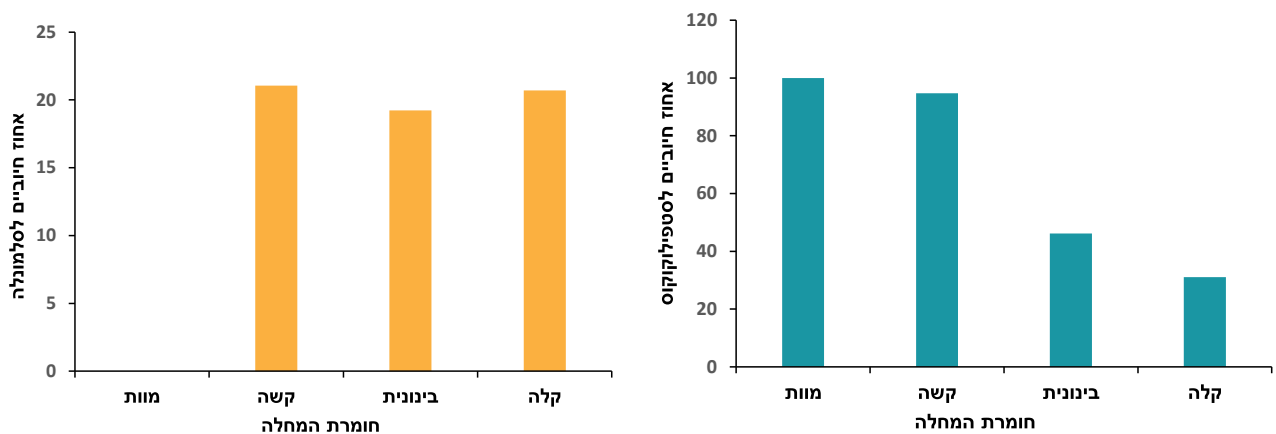
טבלה 8: מאפייני חולים בדרגות מחלה שונות - סיכום נתוני קורונה

חומרת מחלה	מספר מקרים	נקבות	זכרים	גיל ממוצע	גיל (סטיית תקן)	תסמינים לא רגילים	מחלות רקע	בדיקת דם	משטח גרון	בדיקת צואה	בדיקת שתן	זיהום חיידקי
קלה	37	20	17	78.4	14.6	10	18	37	37	10	37	6
בינונית	32	16	16	74.2	15.4	8	12	32	32	8	32	8
חמורה	22	10	12	80.0	13.3	3	9	22	22	3	22	19
מוות	2	1	1	92.5	3.5	0	1	2	2	0	2	2
סה"כ	93	47	46	77.6	14.6	21	53	93	93	21	93	35

משימה 2

גם במשימה זו נדרשים התלמידים לעבד טבלה, הפעם כדי ליצור תרשים. ניתן לבצע משימה זו ביחד עם התלמידים. הנה תרשים לדוגמה (ראו [קובץ פתרון](#)).

התלמידים צריכים להגיע למסקנה שיתכן ויש קשר בין אחוז החולים החיוביים לחיידק הסטפילוקוק לבין חומרת מחלת הקורונה שלהם. לעומת זאת, ניתן לראות שאין קשר בין אחוז החיוביים לסלמונלה לבין חומרת המחלה.



תמונה 6: הקשר בין אחוז החולים החיוביים לסלמונלה או לסטפילוקוקוס לבין חומרת המחלה.

משימה שלישית

הסבר על מבנה 16S rRNA ועקרונות הריצוף נמצא ב[ממצגת המצורפת](#).

משימה רביעית

חלק זה של בחירת דוגמאות הוא מרכיב מאד חשוב בתכנון הניסוי. שליחת דוגמאות שאינן מייצגות תקשה על הסקת מסקנות. למשל, אם תחליטו לשלוח לריצוף רק דוגמאות של חולים קשים או רק של חולים קלים, לא תהיה לכם נקודת השוואה טובה. לכן חשוב שתשקיעו מחשבה בחלק הזה של הניסוי.

בחרנו לשלוח לריצוף דוגמאות של החולה שנפטר, ומספרים זהים יחסית של חולים בדרגות חומרה שונות. בפועל ניתן להגיד לתלמידים שיכולות להתרחש תקלות. וגם אם נשלח את כל 40 הדוגמאות לריצוף יתכן וחלק מהדוגמאות תלכנה לאיבוד, בחלק אחר איכות ה-DNA לא תהיה טובה, ובאחרות יתכן והריצוף לא יצליח. תקלות מסוג אלה עלולות להשאיר אותנו עם מדגם לא מייצג של דוגמאות. לכן תמיד כדאי לרצף כמה שיותר, עם כמה שיותר חזרות. וגם חשוב לשמור על התבדידים המקוריים, לצורך הפקת DNA נוספת במידת הצורך.

משימה שישית

הדוגמאות נשלחו לריצוף והרצפים עברו שתי אנליזות גנטיות. הראשונה בעזרת אלגוריתם Blast לצורך זיהויי חיידקים על בסיס מקטע מהגן המקודד ל-16S rRNA. והשנייה בכלי SINA לצורך זיהויי חיידקים ובנייה של עץ פילוגנטי. גם כאן, יש מצגת הסבר למורה שיכול לפי שיקוליו להחליט אם להסביר את אופן עבודת הכלים לתלמידיו.

תשובה לשאלת סיכום

לפי העץ הפילוגנטי שיצרנו, ניתן לראות שהדוגמאות מסווגות לשתי קבוצות. קבוצה אחת כוללת חולים בדרגות חומרה שונות, וקבוצה אחת כוללת את כל החולים קשה ורק חולה אחד בדרגת חומרה בינונית. מכאן, שנראה, שלכל החולים קשה בקורונה יש זן של סטפילוקוק שמאד שונה מהזן שנמצא אצל שאר החולים.



מאז המצאת מיקרוסקופ האור במאה ה-16, השתכללו המיקרוסקופים השונים בצורה משמעותית. לצד שיפור באופטיקה של מיקרוסקופ האור, עומדים לרשות החוקרים, מיקרוסקופים מסוגים שונים. אלה כוללים את: המיקרוסקופ הקונפוקלי, מיקרוסקופ האלקטרונים ועוד. לצד היופי הנגלה לעינינו בעת ההתבוננות מבעד למיקרוסקופ

הרי שצפייה במיקרוסקופ מאפשרת השגת עדויות מדעיות שלא ניתן היה לקבלן בדרכים אחרות.

קשר לתוכנית הלימודים

לאורך הלימודים בחטיבת הביניים נדרשים התלמידים להתבונן במבנים של תאים, ויצורים חיים, לעיתים בעזרת מיקרוסקופ אור ולעיתים בעזרת בינוקולר (stereomicroscope). שימוש באמצעים אופטיים הוא חלק בלתי נפרד מעבודתם של חוקרים רבים מתחומי המדעים וההנדסה. מעבר לכך, הצפייה באברונים, יצורים חיים בהגדלה מעורר פליאה בקרב תלמידים רבים ועל כן ערכו החינוכי רב.

מטרות היחידה

בתום היחידה התלמיד ידע:

- להשתמש בבינוקולר או במיקרוסקופ אור.
- לצייר מתקן מיקרוסקופ לצורך דיווח תוצאות.
- להסביר כיצד פועל מיקרוסקופ האור.
- להסביר מדוע משתמשים בצביעות כימיות. מהו מנגנון הפעולה של צבענים שונים ומהן הביקורות הנדרשות.
- ידע קודם נדרש

להוראת הנושא אין צורך בידע קודם ולכן אנו מציעים להתחיל את השימוש באופטיקה בשיעורי מדעים מוקדם ככל שניתן. מעבר לכך ששיעורים אלו מעוררים פליאה רבה אצל רוב התלמידים. לפני תחילת העבודה יש צורך בהיכרות בסיסית בשימוש נכון במכשירים, וההבדלים ביניהם. לעיתים תלמידים מתקשים בצפייה בעזרת שתי העיניים - זו מימנות נרכשת. בכיתה ז' כדאי להתחיל בהיכרות בסיסית עם המכשיר והתבוננות במתקני מיקרוסקופ מוכנים, אותם ניתן לרכוש אצל הספקים המוכרים. בהמשך ובהתאם לכיתה, ניתן להדגים צביעה בעזרת צבענים שונים, להסביר מהו מנגנון פעולתם, ולהסביר שלעיתים הצביעה יכולה להיות בלתי ספציפית, כלומר, יצבעו אברונים או מרכיבים בתא שלא ציפינו שיצבעו.

מבוא

צביעה (Staining) היא שיטת עבודה בסיסית לסימון או זיהוי של חומר ביולוגי כגון מאקרו-מולקולות, אברונים ותאים. בחקר התא משמשים בצביעה לרוב על מנת לסמן מבנים תאיים לזיהוי במיקרוסקופ. לדוגמא, צביעה של מיטוכונדריה מאפשרת לזהות את מיקומם וארגונם בתא. צביעה יכולה לשמש גם כמבדק ביולוגי. לדוגמא, צביעת חיות היא צביעה בחומר המוכנס לתא באופן פעיל ולכן צובע רק תאים חיים. כאשר קישור או כניסת הצבע תלויים באופן ישיר בכמות או מידת הפעילות של החומר הביולוגי ניתן לכמת את הצביעה. דוגמא לכך היא למשל קביעה של ריכוז חלבון על ידי שימוש בחומר המזהה קשרים פפטידיים בחלבונים ולכן עוצמת הצביעה היא יחסית לכמות החלבון.

המיטוכונדריה

ביצורים אאוקריוטים תהליך הפקת האנרגיה מגלוקוז בתנאים אירוביים (בנוכחות חמצן) מתבצע במיטוכונדריון (מיטוכונדריה - ברבים), (ביוונית, גרגר דמוי סיב). תהליך זה הנו בעצם שורת תהליכי חימצון-חיזור. בסופם של תהליכים אלו, מחומצנת לגמרי מולקולת גלוקוז לפחמן דו-חמצני ומים ובתהליך נוצרות מולקולות ATP המשמשות כמטבע אנרגיה בתא. העדות להתרחשות תהליכי חימצון-חיזור באברונים אלה התגלתה בראשית המאה הקודמת. צביעה של תאים חיים בצבע Janus green גורמת לחיזור הצבע לתרכובת חסרת צבע. בתאים מתים המיטוכונדריה נשארת צבועה. המיטוכונדריון מכיל DNA מעגלי קטן המקודד כ-20% מחלבוני הממברנה הפנימית שלו. קיומו של גנום קטן זה, תומך בהשערה שבעבר ההיסטורי הקדום, חיידק פרוקריוטי או תא אאוקריוט ללא מיטוכונדריה בלע בתהליך פאגוציטוזה חיידק אארובי הכרחי והתוצאה היא סימביוזה ארוכת שנים שהוביל למבנה התא האאוקריוטי כפי שאנו מכירים אותו כיום. נקודה מעניינת הקשורה למיטוכונדריה היא העובדה שדרך ההורשה שלה היא אמהית, שכן בתאי הזרע של הזכר מיטוכונדריה. כמו כן, אנחנו יודעים היום כי מחלות נירודגנרטיביות מסוימות כמו אלצהיימר ופרקינסון קשורות לפגיעה בתפקוד המיטוכונדריה.

מטרת המעבדה

1. נבחן האם השכבה החיצונית של תאי אפיתל מלחי אדם מורכבת מתאים מתים או חיים. לצורך כך נעשה שימוש בצביעה עם טריפן כחול החודר רק לתאים מתים.
2. (לפני ביצוע המעבדה יש לבדוק את הנחיות הבטיחות העדכניות, נכון לכתיבת אוגדן זה, חל איסור על שימוש בתאי לחי בניסויי מעבדה).
3. שימו לב! טריפן כחול, יאנוס ירוק, וקומסי כחול, אינם מותרים לשימוש מעבדה. בימים אלה מתבצע תהליך אישור חומרים חדשים לשימוש מעבדה והחומים יכללו ברשימה המאושרת. יש לבדוק את הימצאות החומר בטבלאות שימוש החומרים המעודכנות.
4. נערוך תצפית על מבני התא השונים בעזרת מספר שיטות צביעה, המסמנות מולקולות או אברונים שונים בתא.
5. נתמקד באברון המיטוכונדריה ונלמד על תפקידו בתהליך הנשימה התאית.

תאי אפיתל:

תאי אפיתל בונים רקמה צפופה של תאים צמודים המצפה חללים ומשטחים פנימיים או חיצוניים בגוף, לדוגמא, תאי העור ותאי הריאה, ובכך יוצרים הפרדה מהסביבה. תאי אפיתל, על פי רוב, מאורגנים במבנה שכבתי כאשר שכבת התאים הראשונה יושבת על רקמת חיבור (ללא מגע ישיר עם כלי הדם). תאי אפיתל מתחלקים מהר ובכך מחדשים את הרקמה.

ציוד לזוג

- מקל חד פעמי (סטרילי). או קיסמי שיניים סטריליים
- זכוכיות נושאות/מכסה ארבע מכל זכוכית
- לק שקוף
- פיפטות פסטר
- כוס כימית ריקה לפסולת
- נייר סופג
- צלחת קטנה

חומרים לזוג

- (PBS) Phosphate Buffer Saline: תמיסה המכילה מומסים בריכוז דומה לזה שבתוך התא.
- Trypan blue
- Janus green
- Methylene blue

צבעים

Trypan blue: חומר לזיהוי תאים מתים. חומר צבע החודר לתוך תאים מתים וצובע את הציטופלסמה ומספר אברונים. הצבע אינו חודר את ממברנת התא החי ולכן משמש לזיהוי ספציפי של תאים מתים.

Janus green: חומר לזיהוי מיטוכונדריה. חומר צבע החודר לתוך תאים וצבעו שקוף כאשר הוא מחוזר וירוק-כחול כאשר הוא מחומצן. מאחר ובממברנה הפנימית של מיטוכונדריה יש אנזימים מחמצנים (cytochrome oxidase) רק מיטוכונדריה נראות צבועות.

Methylene blue: חומר לזיהוי DNA. חומר צבע בעל מטען חיובי הנקשר לשלד החיצוני של מולקולת ה-DNA שטעונה שלילית (בגלל קבוצות הפוספט). הצבע צובע את הגרעין בצבע כחול.

Coommassie blue: חומר לזיהוי חלבונים. חומר צבע הנקשר באופן בלתי ספציפי לחלבונים. הצבע נקשר בעיקר לשיירים של חומצות אמינו ארומטיות בתנאים חומציים. לכן הצבע צובע את הציטופלסמה בכחול בהיר עם נקודות כהות של צבר של חלבונים. בנוסף הצבע צובע את קרום הגרעין ובתוך הגרעין את הגרעינון וחלבונים קושרי כרומטין. לעיתים ניתן לראות את אזור ה-endoplasmic reticulum. בשביל צביעה זו יש צורך לקבע את התאים ולהגביר את חדירות הממברנה.

מהלך העבודה (עבודה בזוגות)

א. איסוף תאים

1. בעזרת פיפטת פסטר טפטפו מספר טיפות של PBS לתוך הצלחת הקטנה.
2. בעזרת מקל גרדו בעדינות את דופן הלחי הפנימית.
3. מספר רב של תאים ייצמד למקל. טבלו בעדינות את המקל בתמיסת ה-PBS בצלחת על מנת להסיר את התאים מהמקל לתוך התמיסה. ניתן להבחין בעכירות התמיסה לאחר הוספת התאים.

1. רשמו על הקצה של זכוכית נושאת את האות T עבור צביעת טריפן כחול, J עבור יאנוס ירוק ו-M עבור מתילן כחול. הקפידו על סימון נכון של הזכוכיות על מנת לא לבלבל בין הצביעות השונות.
2. בעזרת פיפטת פסטר טפטפו טיפה של תמיסת תאים על זכוכית נושאת.
3. טפטפו שתי טיפות של תמיסת הצבע המתאימה (לפי סימון הזכוכיות) על התאים ומדדו 5 דקות.
4. ספגו את תמיסת הצבע על ידי נייר סופג. שימו לב לא לגעת בתאים. הצמידו את הנייר הסופג לצד הטיפה והניחו לכוח הנימיות לספוג את הנוזל.
5. טפטפו שתי טיפות של PBS.
6. ספגו את התמיסה על ידי נייר סופג.
7. הניחו בעדינות זכוכית מכסה מעל הטיפה. מרחו לק שקוף על דפנות הזכוכית המכסה על מנת לאטום את הדוגמא.
8. הדוגמא מוכנה לצפייה במיקרוסקופ. הניחו על המגש והמשיכו בעבודה.

ג. התבוננות במיקרוסקופ

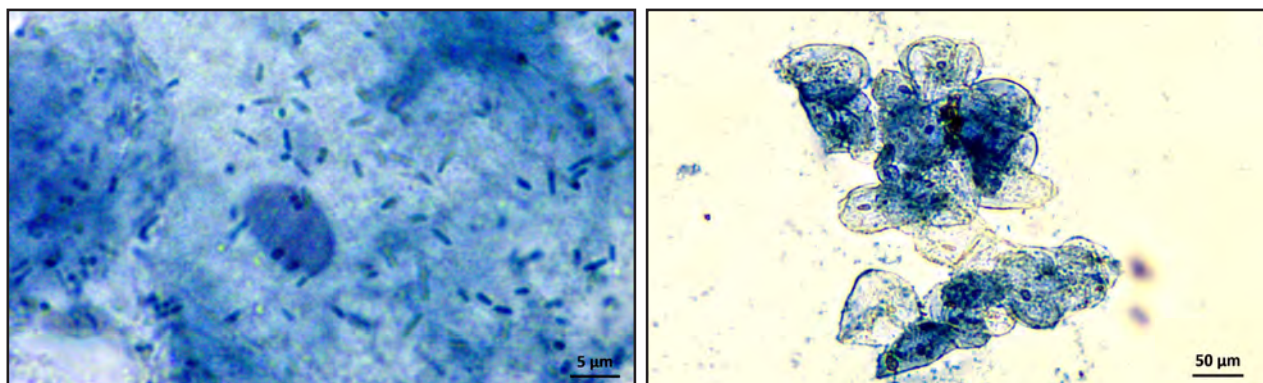
התבוננו בתאים הצבועים במיקרוסקופ. התייחסו לנקודות הבאות:

1. אילו אברונים נצבעו בכל צביעה?
2. האם הצביעה הייתה בהתאם למצופה?
3. מה התוצאה של מבדק החיות, האם תאי הלחי חיים או מתים?

מעבדה 4: תוצאות למורה

1. אילו אברונים נצבעו בכל צביעה?
 - א. **טריפן כחול** - חודר רק לתאים מתים, כך שמצופה שתאי לחי חיים לא יצבעו בצבע שכן ממברנת התא החי אינה חדירה לטריפן הכחול.
 - ב. **קומסי כחול** - נקשר לחלבונים וצפוי לראות גרגרו כחול בתוך התא. ככל שכמות החלבון גבוהה יותר כך צפוי לראות יותר גרגור.
 - ג. **יאנוס ירוק** - הצבען חודר לאברוני המיטוכונדריה ובנוכחות חמצן מחומצן לצבע ירוק. במידה והתאים מתים צבעו צפוי להיות ורדרד.
2. מה התוצאה של מבדק החיות, האם תאי הלחי חיים או מתים?

תאי הלחי החיצוניים ביותר אינם חיים, הם התאים שמתחלפים בקצב המהיר ביותר. כאשר אנחנו לוקחים דגימה של תאי לחי בעזרת מטוש, אנחנו מגרדים תאים משכבות אפיתל שונות. מכאן סביר להניח שחלק מהתאים חיים וחלק לא. בתאים חיים תאי המיטוכונדריה מחמצנים את הצבען יאנוס-ירוק - לצבע ירוק, בתאים מתים צבעו נשאר שקוף.



תמונה 7: תאי לחי צבועים במתילן כחול ויאנוס ירוק.

מעבדה 5: מיטוזה בתאי שום

בשיעור היום אתם תתארו את שלבי המיטוזה שהוא השלב הרביעי במחזור התא (שלב ה-M), בשורשים של שום (*Aliium cepa*). לפניכם פרוטוקול מעבדה להכנת מתקן מיקרוסקופ של כרומוזומים משורשים של שום. קראו את הפרוטוקול טרם תחילת העבודה וודאו ששלבי העבודה ברורים לכם.

מטרות המעבדה

1. התלמיד יכין מתקן מיקרוסקופ של תאים של שורש שום.
2. התלמיד יצייר ויתאר מילולית תאים שנמצאים בשלבי חלוקה שונים.
3. התלמיד יארגן את רצף אירועי המיטוזה כפי שהוא חושב שהוא מתרחש.
4. התלמיד ידע להסביר את חשיבות כל שלב בתהליך.

הנחיות מיוחדות

- המעבדה דורשת מיקרוסקופ אור בעל עדשה $\times 100$ וניסיון בעבודה עם שמן אימריסיה.
- מומלץ להכין לק שקוף לשם הדבקות מתקני המיקרוסקופ.
- מומלץ לחלק את הכיתה לשתי קבוצות של 15 תלמידים לפי חלוקה של שלושה תלמידים למיקרוסקופ.

שימו לב!

החומר אצטוקרמין אינו מותר לשימוש מעבדה. בימים אלה מתבצע תהליך אישור חומרים חדשים לשימוש מעבדה והחומר יכלול ברשימה המאושרת. יש לבדוק את הימצאות החומר בטבלאות שימוש החומרים המעודכנות. גם לאחר אישור החומר, הוא יאושר תחת הגבלות של גיל התלמידים וכמות החומר המותרת לשימוש. אנא הקפידו לקרוא את ההנחיות לשימוש בחומר לפני ביצוע הניסוי. אפשר גם לנסות לצבוע במתילן כחול.

הוראות בטיחות

חומצה מלחית מרוכזת עלולה לפגוע בריריות ובעור על כן הקפידו לעבוד עם משקפי מגן והיזהרו בעת השימוש בה. סקלפל היא סכין מנתחים מאד חדה, עבדו אותה בזהירות רבה והניחו אותה על השולחן בגמר השימוש.

חלק א': הכנת מתקן מיקרוסקופ של שורשי שום - חלק זה יבוצע על ידי הלבורנט.

1. לפניך שום בעל שורשים שגדלו בין 3-5 ימים. חתוך בעדינות 5 מ"מ מהקצה של מספר שורשים.
2. הנח את השורשים בכוס זכוכית קטנה וכסה אותם בחומצה הידרוכלורית 1M HCl, בגובה 5 מ"מ בערך.
3. הנח את כוס הזכוכית הקטנה בכלי עם מים חמים בטמפרטורה של 60°C , למשך 6-7 דקות.
4. הוצא את הכוס מהמים והעבר את השורשים בעדינות, בעזרת פינצטה, לזכוכית נושאת (השתדל לא לגעת בקצה השורש, אלא לתפוס בצידו הנגדי).
5. בעזרת פיפטה, טפטף מעט מים מזוקקים על השורשים וספוג את הנוזלים בעזרת נייר סופג. חזור על פעולה זו מספר פעמים עד שהחומצה תישטף. יבש את השורשים מבלי לגעת בהם.
6. בעזרת סקלפל, קצר את השורש לאורך 2 מ"מ, שמור על קצה השורש והשלך את השאר.
7. בעזרת סקלפל קצוץ בעדינות את הקצוות להפרדת התאים. הקפד להשאיר את מבנה השורש בצורתו המוארכת ככל שניתן. הקצוות אמורים להיקצץ בקלות. אם לא, יש לחזור על טיפול החומצה.
8. צבע את הרקמה בעזרת טיפה אחת של אצטו-כרמין וחכה 2 דקות. (אצטו כרמין, נקשר לחומר התורשתי ומקנה לו צבע אדום).

9. כסה את השורשים בזכוכית מכסה.

10. לשטיפת עודפי הצבע, טפטף כמה טיפות של מים מזוקקים מצד ימין של הזכוכית המכסה וספוג אותן בעזרת נייר

סופג מצד שמאל של הזכוכית. חזור על הפעולה מספר פעמים עד שכל הצבע העודף יישטף.

11. מרח שכבה עדינה של לק שקוף מסביב לזכוכית המכסה כדי לחתום את המתקן. המתן מספר דקות לייבוש הלק.

12. מתקן המיקרוסקופ אמור להציג את שלבי חלוקת התא בשלב ה-M. כדי לוודא שהמתקן שלכם תקין הציגו אותו

למורה. במידה ולא, תקבלו מתקן שהוכן מראש.

חלק ב': צפייה במיקרוסקופ

1. צפו בתאים תחת מיקרוסקופ. התחלו בהגדלות קטנות $\times 4$ ועברו להגדלה $\times 40$

2. היעזרו במורה ועברו להגדלה גדולה - $\times 100$. בהגדלה זו יש צורך לטפטף על הזכוכית המכסה שמן אימרסיה. כמו

כן, בהגדלה זו יש להשתמש רק בכוון העדין של המיקרוסקופ, לצורך מיקוד התמונה.

3. התבוננו במתקן שהכנתם וציירו תאים הנראים בצורה שונה

4. הוסיפו תיאור מילולי לכל איור שציירתם.

5. היעזרו בספר הלימוד ובתרשים הסכמטי המצורף למעבדה ושערו מהם המרכיבים הנראים בתאים שציירתם.

6. נסו לסדר את התמונות שציירתם לפי סדר התרחשות וכתבו תיאור מילולי לכל התהליך.

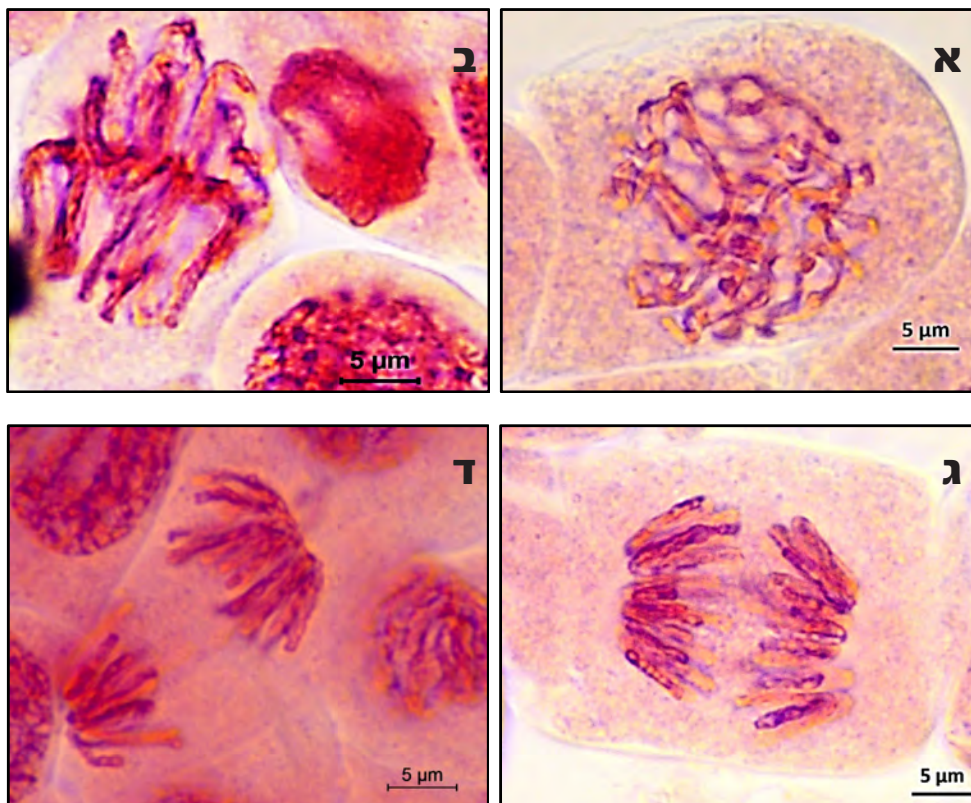
7. הציגו את התוצאות למורה.

8. קבלו מהמורה, ערכת ציורים והגדרות. השוו בין ערכת המורה לציורים ולהגדרות שלכם.

מעבדה 5: תוצאות למורה

התפקיד הבסיסית ביותר של מחזור התא הוא להכפיל בצורה מדויקת את תכולת ה-DNA בכרומוזומים ואז להפריד את העותקים לשני תאי בת זיהם. תהליך זה נקרא מיטוזה. המיטוזה היא רק אחד משלבי מחזור התא. מחזור התא מתחיל עם היווצרותו של תא חדש ומסתיים כאשר אותו התא משלים את חלוקתו. פרק הזמן שבין החלוקות נקרא אינטרפאזה בשלב הזה התא מגדיל את מסתו, מגדיל את מרכיבי הציטופלסמה ובסוף מכפיל את ה-DNA. הכפלת ה-DNA מתרחשת בשלב ה-S, שלב זה לוקח 10-12 שעות שמהווים מחצית ממחזור התא. לאחר מכן הפרדת כרומוזומים וחלוקת התא מתרחשות בשלב ה-M (מיטוזה). באופן יחסי הזמן שלוקח להכפיל את ה-DNA הוא קצר יותר מהזמן הדרוש להגדיל את מסת החלבונים בתא ולהכפיל את כמות האברונים. על כן התפתחו שני שלבי ביניים בתוך מחזור התא. שלב G1 בין שלב ה-M לשלב ה-S. ושלב G2, בין שלב ה-S למיטוזה. על כן באופן כללי מחזור התא האאוקריוטי מחולק לארבעה שלבים: G1, S, G2, M. השלבים G1, S, G2, נקראים ביחד אינטרפאזה. בתא חי ממוצע, החי בתרבות, שלב האינטרפאזה יכול להוות 23 מתוך 24 שעות של מחזור תא ושעה אחת למיטוזה.

במעבדה זו צפינו בתאים של שורשים של שום. הסיבה לבחירה זו היא חלוקת התאים המהירה בעת גידול הצמח שמבטיחה הימצאותם של תאים בשלבי חלוקה שונים (תמונה 8).



תמונה 8: שלבי מיטוזה בתאי שורש של שום. א) הדנ"א בגרעין מתחיל להידחס עד למצב הכי דחוס שלו ככרומוזומים. ממברנת הגרעין מתחילה להיקרע ולהפוך לבועיות גדולות. ב) הכרומוזומים נעמדים זה מול זה, כל כרומוזום והבן זוג שלו. ממברנת הגרעין נעלמת כליל. הכרומוזומים עומדים בדיוק בקו המשווה של התא כשכל כרומוטידה מהכרומוטידות האחיות בכרומוזום פונה לקוטב אחר. ג) הכרומוטידות נפרדות זו מזו וכל אחת נמשכת אל הקוטב שלה. ד) הכרומוטידות הגיעו אל הקטבים וכל מבנה החלוקה מתפרק. הכרומוזומים מתפזרים, כל אחד בקצה שלו. הבועיות של ממברנת הגרעין מתאחות שוב סביב הכרומוזומים בקטבים. דופן חדשה נוצרת ומפרידה בין התאים.

מעבדה 6: מעבדה בנושא מבנה התא הצמחי

במעבדה זו תחקרו את מבנה העלה של צמחים שונים. המעבדה תתמקד במבנים התאיים הבאים:
תאי אפידרמיס של בצל הגינה והדגמת תהליך פלסמוליזה ודפלסמוליזה.

התבוננות בכלורופלסטים בתאים של צמח האלודיאה

במהל העבודה אתם תתבקשו לצייר תאים מסוגים שונים. ציירו אותם אך ורק בעזרת עפרון ועל דף מחברת. הקפידו לציין את שם המתקן, סוג ההגדלה ומבנים תאיים חשובים.

חלק ראשון: כלורופלסטים ופוטוסינתזה

הציטופלסמה בתא החי מהווה בדרך כלל שכבה דקה ושקופה המקיפה את החלולית ומרפדת את הדופן של התא. בתא החי נמצאת הפלסמה בתנועה מתמדת שניתן לראותה על ידי התבוננות בתנועת גופים צבעוניים או שוברי אור המצויים בה.

לפניכם [סרטון](#) המדגים תנועה של כלורופלסטים.

1. **אלודיאה קנדית** (*Elodea Canadensis*) הוא צמח שקוע במים שעליו דקים ודו-שכבתיים. העלה חסר פיוניות.
א. בדוק בהגדלה קטנה עלה של אלודיאה עד שתמצא תאים שבהם נראית זרימה של הפלסמה. האם זיהית את האברונים הזזים?
ב. צייר תא אחד בהגדלה $\times 40$.

חלק שני: פלסמוליזה בתאי אפידרמיס של בצל הגינה *Allium cepa*

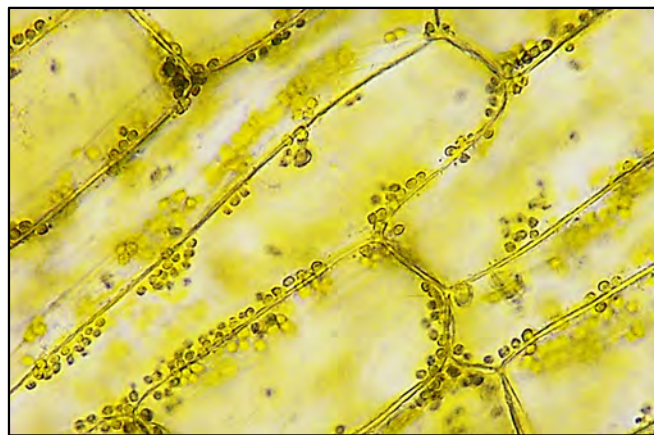
1. ממברנת התא מהווה גבול בעל חדירות בררנית לחומרים שונים בדרכם אל ומחוץ לתא. כדי ללמוד מקרוב אל חשיבותה לשלמות התא נבצע ניסוי קצר. כפי שאתם זוכרים מלימודיכם הקודמים דיפוזיה היא תנועה ספונטנית ואקראית של חלקיקים ממקום שבו ריכוזם גבוה לעבר מקום שבו ריכוזם נמוך. שימו לב שגם כאשר הריכוזים הגיעו לשיווי משקל עדין מתרחשת תנועה!
2. הכינו מתקן של אפידרמיס חיצוני מגלד של בצל סגול. חפשו תאים שלא נפגעו בחיתוך ועדין מכילים את הפיגמנט הסגול - אנתוציאנין. ציירו תא בהגדלה.
3. טפטפו טיפה של תמיסת סוכרוז $0.1M$ ליד אחת מהצלעות של הזכוכית המכסה וספגו בעזרת נייר סופג. חזרו על הפעולה מספר פעמים.
4. ברגע שמתחילה הפלזמוליזה (התרחקות הציטופלזמה מהדופן של התא) העבירו להגדלה גדולה. ציירו תא בשלבים שונים של התהליך.
5. לאחר שנסתיימה הפלסמוליזה העבר להגדלה קטנה וטפטפו מים מזוקקים ליד אחת מצלעות הזכוכית המכסה. ציירו ציורים של תהליך הדפלזמוליזה.

מעבדה 6: תוצאות למורה

במעבדה זו חוקרים התלמידים היבטים שונים של כניסה ויציאה של מומסים אל תוך התא הצמחי. חשוב לבצע את המעבדה לאחר שלתלמידים יש מושג בסיסי עם המושגים בהם עוסקת המעבדה. כל תא שומר על סביבה פנימית יחסית קבועה זה כולל את ריכוז המומסים שנמצא בציטופלסמה בהשוואה לריכוזם מחוץ לתא. כאשר תא מוכנס לסביבה בה ריכוז המומסים גבוה מזה שנמצא בתא, מים יצאו החוצה בכיוון מפל הריכוזים בתהליך שנקרא פלסמוליזה. העברת התא לסביבה בה ריכוז המומסים מאד נמוך, מים מזוקקים למשל, תוביל לכניסה של מים אל התא בתהליך הנקרא דפלסמוליזה. בתאים צמחיים בעלי דופן תא יציאה וכניסה של מים משנה בעיקר את הלחץ האוסמוטי בתוך התא הצמחי. תאים אנימליים כמו כדוריות דם אדומות שיכנסו לסביבה של מים מזוקקים צפויים להתמלא במים ולבסוף להתפוצץ.

ניסוי 1: התבוננות בתאי אלודיאה

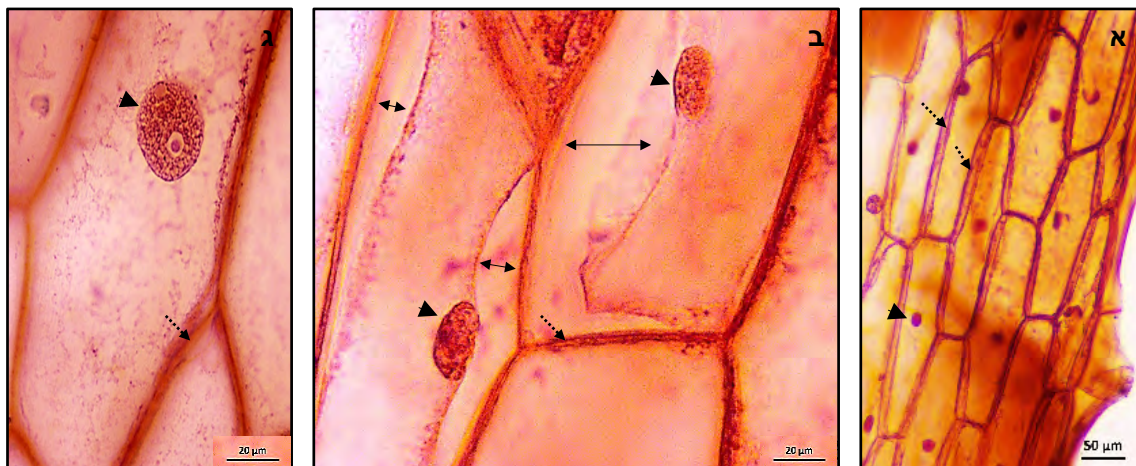
אחד הדברים שיפה להראות לתלמידים הוא את הכלורופלסטים שנמצאים קרוב לדופן התא. לאחר מספר דקות מתחת למיקרוסקופ, בציטופלסמה מתחממת וניתן לראות אותם נעים בתוך התא.



תמונה 9: כלורופלסטים בתאי אלודיאה.

ניסוי 2: פלסמוליזה בתאי אפידרמיס

ניסוי זה מעט מורכב יותר ומצריך גישה למיקרוסקופ אור טוב. לפחות הגדלה פי 400. אפשר לבקש מהלבורנטית להכין מספר דוגמאות מבעוד מועד למקרה ולא יצליח לתלמידים.



תמונה 10: תאי בצל (Allium cepa) צבועים באדום ניטרלי (Natural red). תאי בצל הגינה נצבעו באדום ניטרלי חומר צבע החודר לתוך חלולית של תאים חיים. התאים נצפו במיקרוסקופ אור וצולמו במצלמת Zeiss Axiocam. (א) תאי בצל, הגדלה 40X (ב) פלסמוליזה בתאי בצל ששהו בתמיסת סוכרוז 0.8M. ניתן לראות את כיווץ החלולית עקב יציאת מים מהתא המסומנת בחיצים כפולים, הגדלה 400X (ג) דפלסמוליזה של תאי הבצל לאחר שהוכנסו לתמיסת מים מזוקקים הגדלה 400X. ניתן לראות כי החלולית ממלאת את כל נפח התא. ראש חץ - גרעין תא, חיצים מקווקווים - דופן תא.

קשר לתוכנית הלימודים

פוטוסינתזה הוא אחד התהליכים הביוכימיים החשובים ביותר לקיום של כל עולם החי. הבנה של התהליך וחשיבותו האקולוגית מצריכה פיתוח של חשיבה מערכתית והיכרות עם נושאים מגוונים כמו: מבנה הצמח, ספקטרום האור הנראה, תהליכים אנזימטיים ועוד. הנושא נלמד מזוויות שונות לאורך שנות החטיבה. המורה מוזמן לעיין באוגדן "שינויי אקלים" שפורסם על ידי מרכז המורים שם ימצא רעיונות נוספים להוראת נושא הפוטוסינתזה. באוגדן זה בחרנו להוסיף מעבדה נוספת המדגימה השפעת גורמים שונים על תהליך הפוטוסינתזה.

מטרות היחידה

- בתום היחידה התלמיד ידע
- להסביר את החשיבות של פוטוסינתזה.
- להסביר את חשיבותו האקולוגית של התהליך.
- לבחון השערות על בסיס בדיקות עצמיות שהוא בצע.
- לנסח את משוואת הפוטוסינתזה כהלכה ללא היסוס.

ידע קודם נדרש

מחזור הפחמן, יצרנים, צרכנים, הבדל בין נשימה תאית לבין פוטוסינתזה. מבנה התא הצמחי, תהליכים אנזימטיים, ספקטרום האור הנראה. המעבדה מומלצת לתלמידים בכיתה ט'.

מעבדה 7: פוטוסינתזה בצמח האלודיאה

שכבת גיל: כיתה ט'.

השפעת פחמן דו-חמצני על קצב הפוטוסינתזה בצמח האלודיאה (*Elodea canadensis*)

בניסוי זה תבדוק את השפעת פחמן דו-חמצני על קצב הפוטוסינתזה בצמח האלודיאה.

שימו לב!

החומר נטריום די-תיאונט אינו מותר לשימוש מעבדה. בימים אלה מתבצע תהליך אישור חומרים חדשים לשימוש מעבדה והחומר יכלל ברשימה המאושרת. יש לבדוק את הימצאות החומר בטבלאות שימוש החומרים המעודכנות.

לפניך החומרים הבאים:

- 15 מ"ל של תמיסה בריכוז 2% (0.1M), של החומר נטריום די-תיאונט $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$
- אבקת סודה לשתייה NaHCO_3
- אינדיגוקרמין
- ענפים של צמח מים מסוג אלודיאה
- טפי
- פיפטור

בנוסף: לכל קבוצה שני כלים זהים (עדיף מבחנות 50 מ"ל), עם 40 מ"ל של מים מאחד מהטיפולים הבאים:
 א. מים מזוקקים מורתחים (כדי להבטיח שעובדים עם מים המכילים ריכוז CO_2 נמוך, רצוי להשתמש באוטוקלאב ואם אין, אז להרתיח במיחם לזמן ארוך ואז לקרר את המים בכלי סגור. הרתחה בקומקום אינה מניבה את התוצאה הרצויה).

ב. מי ברז עם ממש מעט סודיום בי-קרבונט.

ג. מי ברז ללא סודיום ביקרבונט

שאלות מקדימות

1. שערן כיצד ריכוז הפחמן הדו-חמצני המומס במים (בהתאם להרכב המים בכלים א-ג) צפוי להשפיע על קצב הפוטוסינתזה. נמקו.

2. כיצד תדעו שתהליך הפוטוסינתזה מתרחש? (רמז: קרא על החומר אינדיגוקרמין).

הציגו את התוצאות למורה ורק אז עברו לחלק המעשי.

מהלך הניסוי

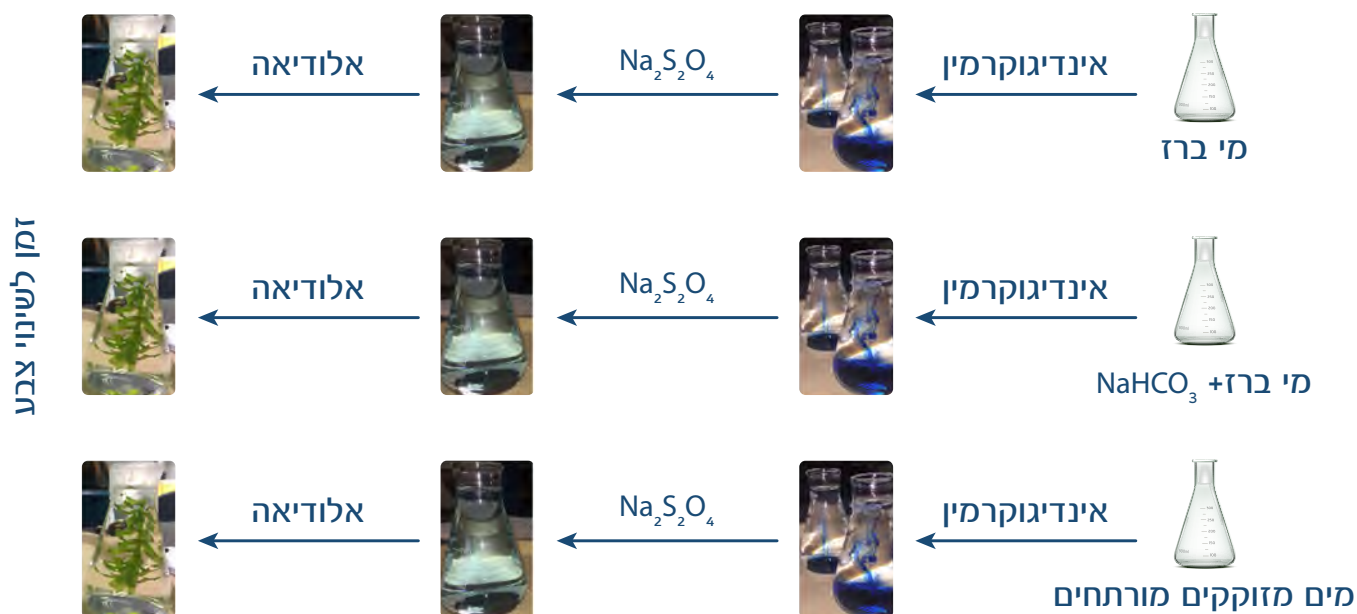
1. הוסף מעט אינדיגוקרמין לכל אחד מהכלים שלפניך. התמיסה תהיה כחולה שזה המצב המחומצן של אינדיגוקרמין (תמונה 11).

2. בעזרת פיפטת פסטר מזכוכית או פיפטור, הוסף טיפה אחר טיפה של תמיסת $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$, לאחר כל טיפה הקפד לערבב. ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ הוא חומר מחזר חזק, לאחר הוספתו האינדיגוקרמין יחזור לצבע צהוב בהיר).

3. הקפד להוסיף טיפה אחר טיפה בדיוק עד לשינוי הצבע. לאחר שינוי הצבע הוספת טיפת מים צריכה להראות פסים כחולים.

4. הוסף צמח אלודיאה לכל אחד מהכלים וסגור את הכלים ללא השארת אוויר. שטוף במים ויבש את הכלי מבחוץ.

5. הקרן את שני הכלים באור והתבונן במתרחש כל 5 דקות למשך חצי שעה. תעד את התוצאות. שים לב לשינוי בצבע התמיסה וצלם את התמיסה.



תמונה 11: מבנה הניסוי. ניתן לראות את התמיסות צבועות בכחול לאחר הוספת האינדיגוקרמין ולאחר הטיטור עם $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ הן שוב בצבע שקוף.

מעבדה 7: תוצאות למורה

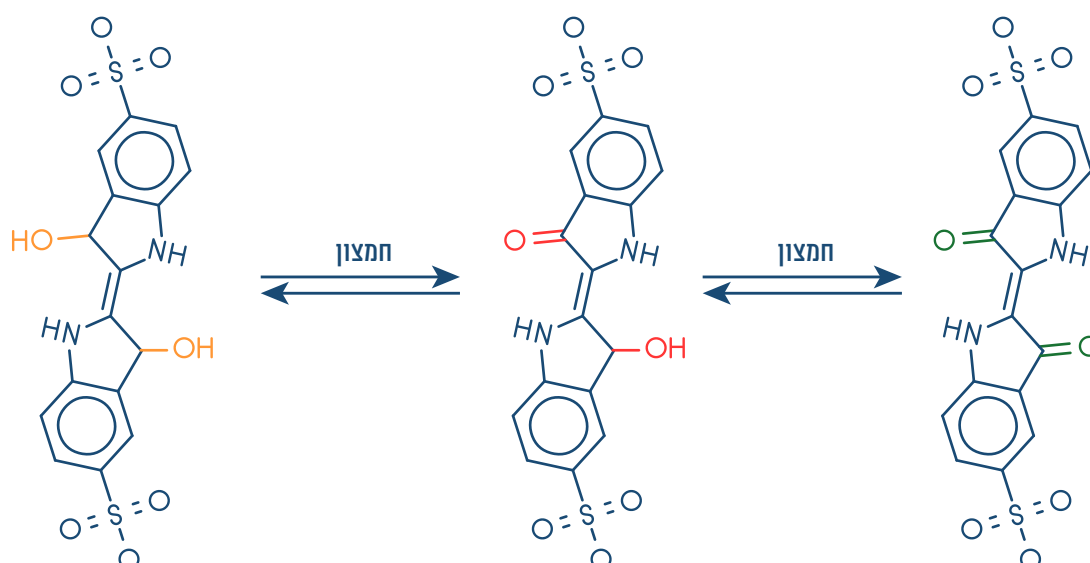
מדובר בניסוי שמצריך הכנה מדוקדקת מראש מצד המורה. חשוב שהאבקות והתמיסות תהינה טריות, ולוודא בבוקר הניסוי שהניסוי עובד. תהליך הטיטור מורכב ויש שונות גדולה בעבודה של התלמידים. לכן כדאי כי כל זוג תלמידים יבצע שתי חזרות של טיפול אחד בלבד. מאחר והתלמידים מודדים זמן לשינוי צבע, ניתן לאסוף את הנתונים מהקבוצות השונות ולסכמן.

קצב הפוטוסינתזה המהיר ביותר נמדד בכלים שהכילו מי ברז ותוספת של סודה לשתייה. וקצב הפוטוסינתזה האיטי ביותר נמדד בכלים שהכילו מים מזוקקים מורתחים. ניתן היה לראות את השינוי בצבע התמיסה באזורים שונים בכלי (תמונה 12).

אינדיגוקרמין (Indigo carmine) הוא אינדיקטור pH. המולקולה בתמיסה מימית מחליפה את צבעה בהתאם לדרגת החמצון שלה. כאשר היא מחוזרת וה - pH=13 צבעה צהוב. בחמצון מלא, וכאשר ה - pH=11.4 צבעה ירוק (תמונה 13).



תמונה 12: חימצון אינדיגוקרמין מצבע שקוף לצבע כחול. ניתן לראות את האזורים הכחולים בסמוך לענף האלודיאה, עדות לפליטת חמצן, ואת האזורים השקופים הרחוקים יותר מהעלים.



תמונה 13: השפעת דרגת החמצון של התמיסה על הצבע של מולקולת האינדיגוקרמין. בדרגת **חימצון** מקסימלית צבע האינדיקטור **ירוק**, בדרגת **ביניים** צבע האינדיקטור **אדום** ובדרגת **חיזור** מקסימלית צבע האינדיקטור **צהוב**.

קשר לתוכנית הלימודים

ביוטכנולוגיה הוא לא נושא הנלמד באופן ישיר בחטיבת הביניים. יחד עם זאת, מקצוע המדעים מוגדר כמדע וטכנולוגיה. כמו כן, משרד החינוך מעודד שילוב של הוראה מבוססת STEM במסגרת לימודי המדעים, מכאן שממצאנו לנכון להציג מספר מעבדות תחת המסגרת של ביוטכנולוגיה. כדי להציג לתלמידים את התחום ניתן להראות להם אתר של מחלקה לביוטכנולוגיה באוניברסיטה כלשהי ודרך האתר להציג את תחומי המחקר המגוונים שכלולים תחת הגדרה זו.

מטרות היחידה

בתום היחידה התלמיד ידע:

- להשתמש בחומרים כימיים שונים לצורך זיהוי סוגים שונים של סוכרים.
- לדעת מהו מנגנון הפעולה של ריאגנט בנדיקט.
- להכין עקום כיוול ולהשתמש
- כיצד להשתמש ברפרקטומטר.
- לכתוב ולהגיש דו"ח מעבדה.

ידע קודם נדרש

מבנה סוכרים, הבדלים בין חד-סוכר, דו סוכר ורב-סוכר.

מעבדה 8: מעבדה בנושא זיהוי פחמימות

מעובד מתוך אוגדן הניסויים בביוטכנולוגיה של אורה הירש ושרה ורטהימר

שכבת גיל מומלצת: כיתה ט'.

רקע מדעי למעבדה

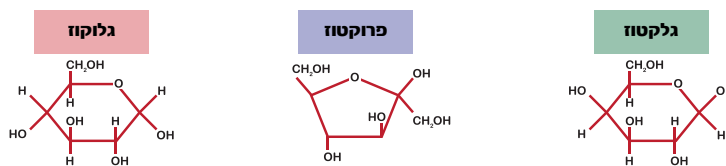
פחמימות (תמונה 14) הן תרכובות המכילות את היסודות פחמן, מימן וחמצן, ומכאן גם מקור שמן - פחמימות. אבני

הבניין של מולקולות הפחמימות הן מולקולות חד-סוכר. לפיכך ניתן לחלק את הפחמימות לשלוש קבוצות:

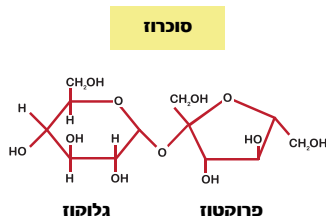
- חד-סוכרים - לדוגמא: גלוקוז, פרוקטוז
 - דו-סוכרים - לדוגמא: סוכרוז, מלטוז, לקטוז
 - רב-סוכרים - לדוגמא: עמילן, תאית, גליקוגן.
- מולקולות רב-סוכר בנויות מיחידות רבות של חד-סוכרים הקשורות בקשר כימי. כמו מולקולות עמילן או גליקוגן הבנויות מאלפי יחידות גלוקוז.

פחמימות

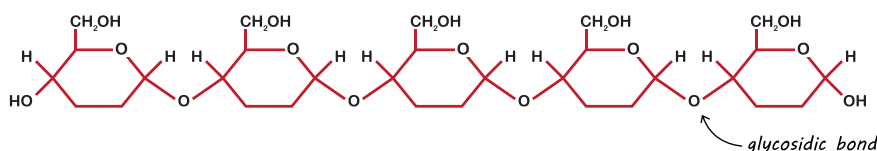
חד סוכרים - מונומר יחיד של סוכר



דו סוכרים - דימרים של חד סוכרים



רב סוכרים - פולימרים של חד סוכרים



פולימרים של גלוקוז:

עמילן



חומר תשמורת בצמחים

גליקוגן



חומר תשמורת בבעלי חיים

תאית



מרכיב דופן תא צמחי

תמונה 14: מבנה פחמימות. פחמימות הן מולקולות המורכבות מאטומי פחמן מימן וחמצן. יחידת המבנה הפשוטה ביותר של הפחמימות היא החד סוכר. כמו כן ניתן למצוא פחמימות מורכבות יותר כדוגמת דו-סוכרים, שהן מולקולות המורכבות משני חד סוכרים, וכמובן רב סוכרים, כמו עמילן, תאית וגליקוגן, שהן פולימרים של החד-סוכר גלוקוז.

הכנסו ל**סרטון** ובו הסבר על פחמימות ועל הפקת סירופ סוכר מעמילן תפוח אדמה.

ריאגנט בנדיקט

תגובת בנדיקט היא תגובה כימית המאפשרת זיהוי של גלוקוז ופרוקטוז (אך לא מבחינה בין שניהם). (למעשה התגובה מזהה סוכרים מחזרים (סוכרים שבסביבה בסיסית יצרו אלדהיד בעל המבנה הכימי - CHO). ריאגנט בנדיקט מכיל את היון Cu^{2+} שהופך בסביבה בסיסית ליון Cu^+ בנוכחות סוכר מחזר. בתהליך נוצר משקע שכימתו תלויה בריכוז הסוכר. בריכוז סוכר נמוך צבע המשקע ירוק ובריכוזים גבוהים צבעו צהוב, כתום, ואדום. חשוב להדגיש, שבדיקה זו איכותית ולא ניתן להעריך על פי הצבע את ריכוז הסוכר.

במעבדה זו נלמד כיצד ניתן לזהות סוכרים שונים בעזרת ריאגנט בנדיקט.

ודאו כי יש לכם את הציוד הבא:

- אמבט מים רותחים
- מעמד למבחנות
- 11 מבחנות רגילות
- 6 פיפטות של 5 מ"ל
- זכוכית נושאת

- מים מזוקקים
- כוס כימית קטנה
- 10 מ"ל מכל אחת מהתמיסות הבאות בריכוז 0.5M כל אחת: גלוקוז, פרוקטוז, סוכרוז,
- 5 מ"ל תמיסת HCl בריכוז 0.1M בבקבוק טפי.
- 5 מ"ל תמיסת NaOH בריכוז 0.1M בבקבוק טפי
- 5 מ"ל תמיסת עמילן 1% בבקבוק טפי

מהלך הניסוי:

1. העבר לכל אחת מהמבחנות את החומרים בהתאם לכתוב בטבלה 9.

טבלה 9: סוג התמיסה בכל אחת ממבחנות הניסוי.

מבחנה	נפח מים במ"ל	נפח תמיסת גלוקוז במ"ל	נפח תמיסת פרוקטוז במ"ל	נפח סוכרוז	בנדיקט (5 טיפות)	HCl קירור NaOH בנדיקט
1	5	0	0	0	+	
2	0	5	0	0	+	
3	4.5	0.5	0	0	+	
4	0	0	5	0	+	
5	0	0	0	5	+	
6	0	0	0	0	+	
7	0	0	0	5	-	+

2. הוסף 5 טיפות ריאגנט בנדיקט לכל אחת מהמבחנות 1-6.

3. הכנס את המבחנות לאמבט מים רותחים לאחר מספר דקות כאשר חל שינוי בצבע של אחת מתמיסות, הוצא את

המבחנות מהאמבט ורשום את הצבע של כל אחת מהמבחנות.

4. למבחנה 7 הוסף 5 טיפות חומצה מרוכזת HCl והכנס לאמבט מים רותחים למשך 5 דקות.

5. הוצא את המבחנה מהמים והמתן לצינון התמיסה

6. הוסף 5 טיפות מתמיסת NaOH בריכוז 0.1M לתמיסה שבמבחנה

7. הוסף 5 טיפות ריאגנט בנדיקט וחמם במים רותחים. רשום את שינוי הצבע שהתקבל.

שאלות סיכום

1. הסבירו את חשיבות הבדיקה שבוצעה במבחנה 1.

2. אילו חומרים ניתן לזהות על ידי ריאגנט בנדיקט וחימום? מהו צבע התמיסה המתקבל?

3. מבחנות 2 ו-3 כוללות תמיסת גלוקוז:

א. מהו ההבדל בין התמיסות שבמבחנות אלה?

ב. האם ניכר שוני בצבע שהתקבל בתגובת בנדיקט בין שתי התמיסות?

4. מדוע דרך זו של שימוש בריאגנט בנדיקט אינה כמותית? כיצד ניתן לדעתך להפוך שיטה זו לכמותית?

5. מה למדת מהבדיקות שבצעת במבחנות 5-7?

הגישו דו"ח סיכום במבנה הבא

- שם הניסוי/מעבדה
- שם התלמיד
- תאריך המעבדה
- מטרת המעבדה
- רקע מדעי קצר על נושא הניסוי.
- מבנה ומהלך הניסוי: בחלק זה עליכם לפרט את שלבי הניסוי רצוי להוסיף סכמה או טבלה.
- שיטות וחומרים
- תוצאות: תארו את תוצאות המעבדה במילים
- תשובות לשאלות הסיכום.
- התבוננות אישית: כתבו פסקה אישית המתארת מה למדתם מהניסוי, כיצד הרגשתם בעבודה עם חברי הקבוצה? מה הייתה תרומתכם להצלחת הניסוי?

מעבדה 8: תוצאות למורה

תשובות למורה

1. הסבירו את חשיבות הבדיקה שבוצעה במבחנה 1.
- מבחנה מספר 1 היא מבחנת ביקורת. משמשת להדגים כי ריאגנט בנדיקט לא משנה את צבעו ללא נוכחות סוכר.
2. אילו חומרים ניתן לזהות על ידי ריאגנט בנדיקט וחומרים? מהו צבע התמיסה המתקבל?
- בעזרת ריאגנט בנדיקט ניתן לזהות סוכרים מחזרים. ככל שריכוז הסוכר גבוה יותר צבע התמיסה משתנה מירוק, לצהוב ועד אדום.
3. מבחנות 2 ו-3 כוללות תמיסת גלוקוז:
- א. מהו ההבדל בין התמיסות שבמבחנות אלה? הריכוז של תמיסת הגלוקוז במבחנה 2 גדול פי 3 מהריכוז במבחנה 3.
- ב. האם ניכר שוני בצבע שהתקבל בתגובת בנדיקט בין שתי התמיסות? לא ניכר הבדל בצבע התמיסות, יתכן שהפרש הריכוזים צריך להיות גדול יותר.
4. מדוע דרך זו של שימוש בריאגנט בנדיקט אינה כמותית? כיצד ניתן לדעתך להפוך שיטה זו לכמותית?
5. מה למדת מהבדיקות שבצעת במבחנות 5-7?
- במבחנה 5 הוספנו סוכרוז שהוא אינו סוכר מחזר ולכן לא היה צפוי להגיב עם ריאגנט בנדיקט. במבחנה 7 כן התקבלה תגובה בין סוכרוז לבנדיקט מהסיבה הבאה: החומצה שהוספנו עשת הידרוליזה למולקולת הסוכרוז ופרקה אותן לחד-סוכרים. מאחר ובנדיקט לא עובד בסביבה חומצית הוספנו את הבסיס NaOH. לאחר מכן התקבלה תגובה עם ריאגנט בנדיקט.

מעבדה 9: תהליכים בהבשלת בננות

במעבדה זו נחקור את התהליכים המתרחשים בעת הבשלת הבננה. בעזרת ניסויים פשוטים נענה על השאלות הבאות:

1. מתי הבננה היא המתוקה ביותר?
 2. למה הבננה משחירה?
 3. מהו החומר הכימי האחראי להבשלת הבננה?
 4. האם ניתן לייצר את ריח הבננה באופן מלאכותי?
- במעבדה תעבדו עם בננות בדרגות הבשלה שונות בהתאם לתמונה 15.



תמונה 15: בננות בדרגות הבשלה שונות.

בתהליך ההבשלה של הבננות, ריכוז הסוכר בתחילה עולה הסיבה לכך היא שבהתחלה העמילן שבבננה מתפרק לחד-סוכרים דבר שגורם לעליה בריכוז הסוכר בבננה (הרי הבננה צריכה להאכל על ידי בעלי חיים). לאחר זמן מתחיל ריכוז הסוכר לרדת, בשל תהליך הנשימה התאית נצרך הסוכר ורמתו יורדת. ריכוז העמילן בבננה בוסר גבוה יותר מאשר בבננה בשלה מאד.

ראגנט פהלינג מזהה נוכחות של אלדהידים אך לא של קטונים, על ידי חיזור התמיסה הכחולה של הנחושת למשקע אדום של נחושת-חמצנית. הבדיקה היא לא ספציפית רק לסוכרים אלדהידים. למשל, פרוקטוז נותן תוצאה חיובית לריאגנט פהלינג.

ציוד למעבדה

- תמיסות לראגנט פהלינג
- תמיסות לריאגנט בנדיקט.
- בננות בדרגות הבשלה שונות.
- רפרקטומטר

ניסוי ראשון: בדיקת ריכוז סוכר בעזרת רפרקטומטר

מעך מעט בננה על זכוכית הרפרקטומטר ומצא את מידת ה-Brix. °Bx מייצג את כמות הסוכר בתמיסה. דרגה אחת של בריקס מייצגת 1 גרם של סוכרוז ב-100 גרם מים. אם התמיסה מכילה מומסים נוספים מדד הבריקס מתאר את ריכוז הסוכר רק באופן חלקי (תמונה 16).



תמונה 16: רפרקטומטר

ניסוי שני: בדיקת כמות סוכר בעזרת ריאגנט בנדיקט

1. סמן 2 מבחנות באותיות א ו-ב.
2. סמן 2 צלחות באותיות א ו-ב.
3. העבר לצלחת א פרוסה בעובי של כ-2 ס"מ מבגנט הבוסר. חתוך אותה, בעזרת הסכין, לחתיכות קטנות ככל האפשר, והמשך לרסק את החתיכות בעזרת מזלג. הוסף 5 מ"ל מים ורסק עוד כדקה. הוסף עוד 5 מ"ל מים והמשך לרסק עד לקבלת עיסה אחידה ככל האפשר.
4. העמד משפך בתוך מבחנה א, רפד אותו בארבע שכבות גזה וסנן לתוך המבחנה את הרסק.
5. הכן באותו אופן, בצלחת ב, רסק מפרוסה של הבגנה הבשלה מאוד, וסנן אותו לתוך מבחנה ב.
6. הכן אמבט מים חמים מאוד (רותחים או כמעט רותחים).
7. סמן 3 מבחנות בספרות 1, 2, 3, והכנס לכל אחת מהמבחנות 5 מ"ל תמיסת בנדיקט.
8. טפטף למבחנה 1-5 טיפות מהתסנין שבמבחנה א; למבחנה 2-5 טיפות מהתסנין שבמבחנה ב; למבחנה 3-5 טיפות מים.
9. טלטל בעדינות את המבחנות לערבוב תוכנן. הכנס את המבחנות לאמבט המים החמים שהכנת.
10. צפה במבחנות ורשום את צבע התמיסה בכל אחת מהמבחנות לאחר 2 דקות.
11. הערך את כמות הסוכר בכל אחת מהבגנות על-פי טבלה 10.

טבלה 10: הערכת כמות הסוכר בבדיקת בנדיקט

הצבע	כמות הסוכר
ירוק צהוב כתום-אדום	מעטה מאוד בינונית רבה

שאלות סיכום

1. מהי מסקנתך מהבדיקה שערכת?
2. למה משמשת מבחנה 3? הסבר.
3. האם לבדיקות שערכת חשוב להשתמש בפרוסות בגנה שמשקלן זהה ולרסק אותן בכמות זהה של מים? נמק.

ניסוי שלישי - בדיקת נוכחות עמילן

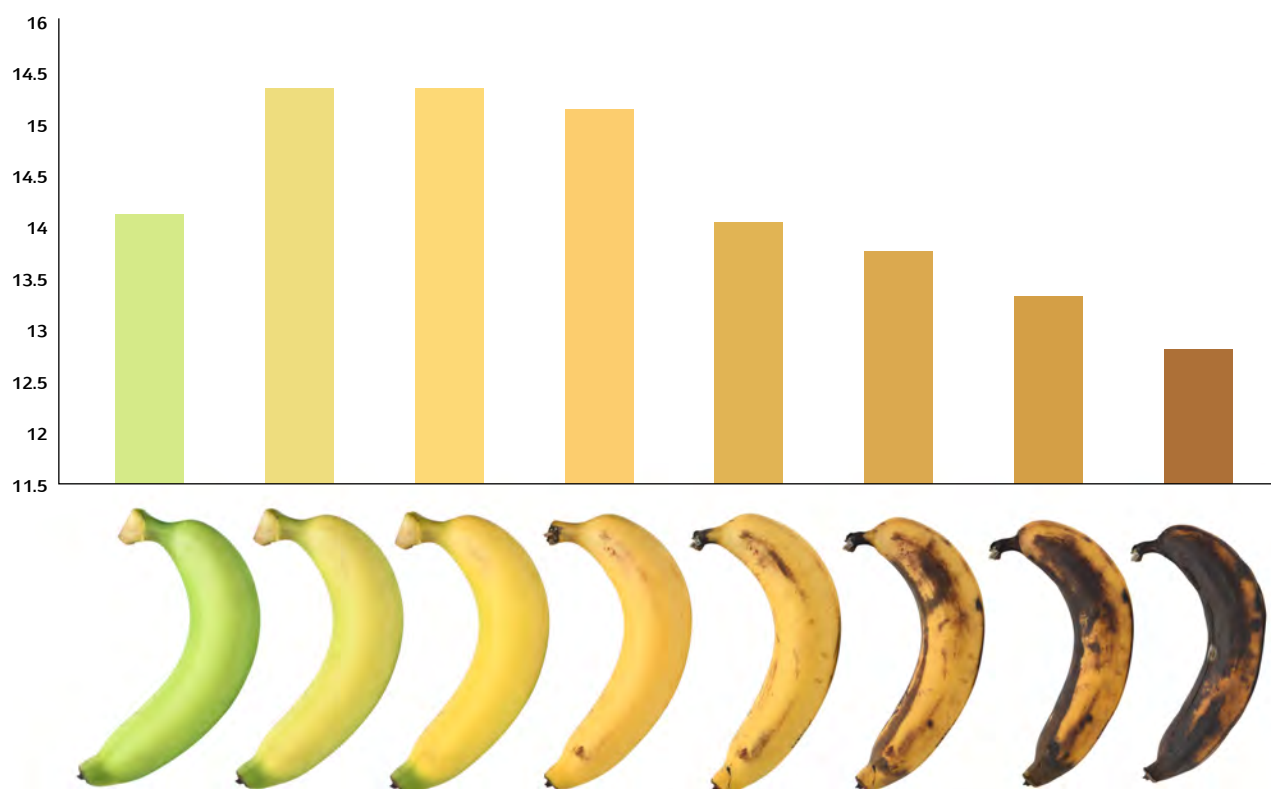
תמיסת יוד (I₂/KI) הנה אינדיקטור לעמילן. בנוכחות עמילן צבע האינדיקטור משתנה מצהבהב לכחול-שחור.

1. טפטף שתי טיפות מים בקצוות של זכוכית נושאת.
2. גרד אל תוך טיפת המים מעט מן מכל אחד מחתיכות הפרי של הבגנה בעזרת פינצטה (מלקטת) או בעזרת מחט מתקן.
3. הנח על התכשיר זכוכית מכסה. גע קלות בזכוכית המכסה לפיזור החומר בתכשיר וספוג עודפים במידת הצורך.
4. צפה במיקרוסקופ בתכשיר מהבגנה הבשלה מאוד.
5. צייר תא אופייני אחד, וסמן את חלקי התא שאתה מזהה. רשום את ההגדלה ותן כותרת לציור. על סמך תצפיותך במיקרוסקופ, ציין הבדל בולט אחד בין שתי דוגמאות הבגנה שבחנת.

6. הוסף למתקן טיפה אחת של תמיסת יוד (I₂/KI). עשה זאת כך: הרם בזהירות את הזכוכית המכסה והוסף לתכשיר טיפה של תמיסת יוד. החזר את הזכוכית המכסה וספוג עודפי נוזל במידת הצורך.
7. בדוק את התכשיר במיקרוסקופ, ותאר את תצפיתך. צייר תא אופייני אחד, וסמן את חלקי התא שאתה מזהה. רשום את ההגדלה ותן כותרת לציור.
8. מה הם הגרגרים שבפרי הבננה? נמק.
9. נסה לצלם את המתקן שהכנת בעזרת הטלפון הנייד.
10. חתוך פרוסה בעובי של כ-0.5 ס"מ מכל אחת מהבננות שלרשותך והנח את הפרוסות בצלחת. טפטף טיפה של תמיסת יוד על כל אחת משתי הפרוסות.
11. רשום את התגובה שהתקבלה מיד עם הוספת הטיפה. האם תוצאות הבדיקה תואמות את התצפית במיקרוסקופ? פרט.

שאלות סיכום

לפניכם תוצאות של אחוז הסוכר בבנות בדרגות הבשלה שונות, כפי שבוצעו על ידי תלמידים בבית ספר "מתוק לי" (תמונה 17).



תמונה 17: תדרגת הסוכר בבננות בדרגות הבשלה שונות.

1. השוו את התוצאות שלכם לתוצאות של התלמידים. האם קבלתם תוצאות דומות?
2. תארו את התוצאות.
3. הציעו הסבר לשינוי באחוז הסוכר בהתאם לדרגת הבשלת הבננה.

מעבדה 10: חישוב כמות סוכר במשקאות קלים

עובד ע"י רותי שטנגר ע"פ רעיון שהופיע בעיתון ChemMatters, October 2004, p.5.

פחמימות (סוכרים) הן מקור האנרגיה העיקרי שלנו. הן מורכבות מאוסף של אטומי פחמן מימן וחמצן. למרות חשיבותו הרבה של הסוכר עודף סוכר עלול להיות מזיק לבריאות. במעבדה זו נבדוק בצורה כמותית מהי כמות הסוכר שנמצאת במשקאות שונים.

חלק ראשון: תזכורת מהי צפיפות?

צפיפות היא תכונה פיזיקלית של החומר.

1. העזרו בספר הלימוד או במרשתת והגדירו מהי צפיפות.

2. כיצד מודדים צפיפות?

3. הפעילו את [הסימולציה](#).

בניסוי הוירטואלי שבאתר, בחרו בשלושה מבין החפצים האפשריים. מדדו את המסה שלהם ואת נפחם וחשבו את צפיפותם. "זרקו" את החפצים לאמבט המים (צפיפות המים 1 גר'/סמ"ק). האם הם שקעו או צפו? נמקו מדוע.

החפץ	מסה (גרם)	נפח (סמ"ק)	צפיפות (גרם/סמ"ק)	שקף או צף במים?	מדוע?
עץ					
קרח					
לבנת בטון					

פתיחה

כאשר ממיסים מומס כלשהו במים, צפיפות התמיסה הנוצרת גבוהה מצפיפות המים הטהורים. הסוכר הוא המומס העיקרי במשקאות הקלים שאינם דיאטטיים, ולכן הוא הגורם העיקרי המשפיע על צפיפות המשקה. ע"י קביעת צפיפות המשקה, ניתן לקבוע את תכולת הסוכר במשקאות קלים שונים.

צפו [בסרטון](#) על צפיפות של פחיות קולה והתרשמו מהשפעת הסוכר על צפיפות הקולה.

חלק שני: הכנת עקום כיוול

עקום כיוול מאפשר לנו למדוד כמות של משתנה לא ידוע באמצעות מדידה של משתנה אחר שכמותו ידועה. דוגמאות:

- מדידת עצמת הבליעה באורך גל מסוים של סדרת מבחנות המכילות ריכוזים ידועים הולכים ועולים של אנזים מסוים. לאחר מכן מודדים את עצמת הבליעה של דגימה אחרת המכילה ריכוז אנזים נעלם ומשווים לתוצאות שהתקבלו בניסוי הראשון.
- מודדים עכירות של תמיסות חיידקים בריכוזים ידועים. ככל שהעכירות גבוהה יותר הריכוז גבוה יותר. לאחר מכן מודדים עכירות של תמיסה שריכוז החיידקים בה אינו ידוע. את תוצאות העכירות משווים לגרף הראשון ומוצאים את ריכוז החיידקים.

1. לפניכם תמיסות סוכר בריכוזים הולכים ועולים. התמיסות הוכנו על ידי המסת כמות הסוכר המתאימה והשלמת תמיסה לנפח סופי של 100 מ"ל מים.

תמיסה	כמות סוכר (גרם)	נפח תמיסה סופי (במ"ל)	ריכוז (באחוזים)
א	3.42	100	3
ב	10.26	100	10
ג	17.1	100	17
ד	23.94	100	24
ה	30.78	100	31

2. שימו על המאזניים כוס כימית ריקה בנפח 100 מ"ל ואפסו את המאזניים.
3. מדדו במשורה 10 מ"ל מן התמיסה הראשונה (שריכוזה כ-3%), הוסיפו לכוס ורשמו את המסה.
4. אפסו את המשקל
5. חזרו על התהליך עבור שאר התמיסות.
6. הקפידו לאפס את המשקל בין תמיסה לתמיסה. והקפידו להתחיל בתמיסה בעלת הריכוז הקטן ביותר
7. חשבו את הצפיפות של כל אחת מן התמיסות ומלאו את הנתונים בטבלה המצורפת.

ריכוז התמיסה (%)	מסת התמיסה (גרם)	נפח התמיסה (סמ"ק)	צפיפות התמיסה המחושבת (גרם/סמ"ק)
3		10	
10		10	
17		10	
24		10	
31		10	

חלק שלישי: מכינים עקום כיוול

1. הכינו תרשים בעזרת תכנת Excel המתאר את הקשר בין צפיפות התמיסה לריכוז הסוכר. לשם כך בחרו בהוספת תרשים מסוג פיזור XY.
2. הגדירו את המשתנים של ציר ה-Y להיות צפיפות התמיסה.
3. הגדירו את המשתנים של ציר ה-X להיות ריכוז הסוכר.
4. הוסיפו קו מגמה והציגו את משוואת הישר על התרשים.

חלק רביעי: מחשבים ריכוזי סוכר

1. בחרו לפחות שלושה משקאות קלים כרצונכם. משקאות מוגזים יש למזוג מספר פעמים מכוס לכוס ולהשאיר מספר שעות מראש בכלי פתוח להוצאת הגזים.
2. שימו על המאזניים כוס כימית ריקה בנפח 100 מ"ל ואפסו את המאזניים.
3. מדדו במשורה 50 מ"ל מן המשקה שבחרתם הוסיפו לכוס ורשמו את המסה.
4. אפסו את המשקל.
5. חזרו על התהליך עבור שאר המשקאות שבחרתם.

6. הקפידו לאפס את המאזניים בין תמיסה לתמיסה. והקפידו להתחיל בתמיסה בעלת ריכוז הסוכר הנמוך ביותר.

7. חשבו את הצפיפות של כל אחת מן התמיסות ומלאו את הנתונים בטבלה המצורפת.

שם המשקה	נפח המשקה (מ"ל)	מסת המשקה (גרם)	צפיפות המשקה (מסה/נפח)	ריכוז הסוכר המחושב על ידי הצבת הצפיפות במשוואת קו הישר שהתקבלה
	50			
	50			
	50			
	50			

שאלות סיכום

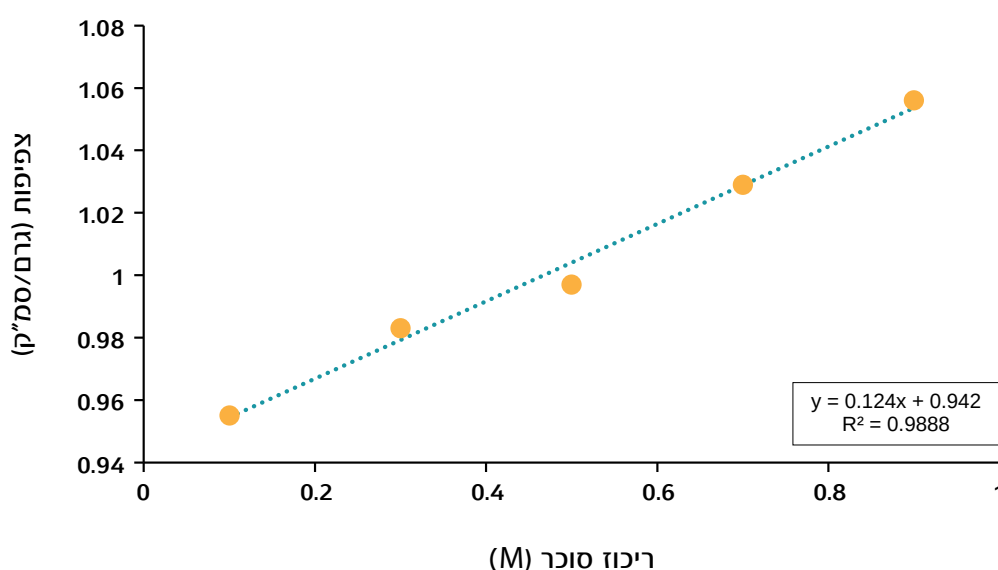
- השוו בין ריכוז הסוכר שחישבתם בעזרת עקום הכיול לבין ריכוז הסוכר כפי שמופיע על בקבוק השתייה.
- האם, לדעתכם, ריכוז הסוכר כפי שחשבתם במשקאות הקלים הוא מדויק? רשמו לפחות שני גורמים שעלולים לגרום לטעות במציאת ריכוז הסוכר, והסבירו במפורט כיצד הם עשויים לשנות את התוצאות (להגדיל או להקטין אותן).

מעבדה 10: תוצאות למורה

לפניכם טבלה עם נתוני הצפיפות המחושבת עבור תמיסות בריכוז סוכר הולכים ועולים.

ריכוז התמיסה (M)	נפח (מ"ל)	מסה (גרם)	צפיפות
0.1	10	9.55	0.995
0.3	10	9.83	0.983
0.5	10	9.97	0.997
0.7	10	10.29	1.029
0.9	10	10.56	1.056

נתונים אלו שמשו להכנת עקום הכיול הבא:



תמונה 18: עקום כיול המתאר את הקשר בין ריכוז הסוכר לצפיפות המשקה. על ידי הצבת ערך הצפיפות המחושב במשוואת קו הישר, ניתן למצוא את X המייצג את ריכוז הסוכר. שימו לב, בחרנו להציג כאן את הריכוזים ביחידות של מולר. 1 מולר מוגדר כמסה המולרית של החומר בגרמים, בתוך ליטר מים. המסה המולרית של סוכרוז היא 324, מכאן שאם נשקול 324 גרם לתוך ליטר מים נקבל תמיסה בריכוז 1 מולר. בהתאם אם נשקול 3.24 גרם סוכרוז ונוסיף ל-100 מ"ל מים נקבל תמיסת סוכרוז בריכוז מולרי של 0.1 מולר.

קישור לתוכנית הלימודים

נושא המיקרואורגניזמים אינו נלמד בחטיבת הביניים כנושא ראשי. אולם, לאורך שנות החטיבה נחשפים התלמידים להיבטים שונים של עולם מרתק זה. בדרך כלל דרך ניסויי חקר בעזרת שמרים או חיידקים בכיתה ט'. כדי להעמיק את הבנת התלמידים על ייחודם וחשיבותם של מיקרואורגניזמים ובמיוחד לאחר תקופת הקורנה, יש לדעתנו חשיבות בהקניית מידע על תחום זה. לצורך הוראת המעבדות נדרשת הכנה של המורה, כמו כן רצוי להעביר לתלמידים שיעור מבוא בנושא מבנה תא חיידק, ההבדל בין חיידק לבין נגיף, ואופן הגידול האקספוננציאלי של חיידקים.

מטרות היחידה

בתום היחידה התלמיד ידע:

- לתאר את שלבי הגידול של חיידקים במצע מזון נוזלי.
- להכין מצע מזון נוזלי, ומצע גידול מוצק לחיידקים.
- להשתמש בספקטרופוטומטר כדי למדוד קצב גידול חיידקים.
- להכין ולהשתמש בעקום כיוול לצורך חישוב קצב גידול חיידקים.

רקע מדעי

ספקטרופוטומטר

במעבדה זו נעשה שימוש נרחב במכשיר הספקטרופוטומטר, שהינו מכשיר למדידת בליעת אור של חומר נבדק. הספקטרופוטומטר שולח לעבר הדוגמא הנבדקת אלומת אור בעלת טווח צר של אורכי גל. כאשר קרן האור מגיעה לדוגמא חלקה נבלע ע"י החומרים השונים בדוגמא, החלק שאיננו נבלע ושבעצם עובר את הדוגמא מזוהה ע"י גלאי. הגלאי מחשב את היחס בין עוצמת האור שעברה את הדוגמא לעוצמה שנכנסה אליה.

אנו מעוניינים למדוד בליעה של חומר מסוים אך עלינו לזכור שחומר זה נמצא בתערובת עם חומרים אחרים. אותם חומרים עשויים לבלוע קרינה אף הם ולכן יש לקזז את השפעתם. הקיזוז הנ"ל נעשה ע"י תמיסת הבלנק (Blank). תמיסה אשר מכילה את כל המרכיבים הנמצאים בדוגמא הנבדקת מלבד החומר שאת בליעתו רוצים למדוד. על כן לפני כל מדידה בספקטרופוטומטר עלינו לאפס את המכשיר עם תמיסת הבלנק.

על מנת למדוד את ערך הבליעה של חומר מסוים עלינו להעביר אותו לקיווטה. הקיווטה בעלת שתי דפנות מחוספסות ושתיים שקופות. יש להחזיק את הקיווטה רק בדפנות המחוספסות ולהכניס למכשיר כך שהדפנות השקופות מופנות לכיוון קרן האור.

הערכה כמות החיידקים באמצעות ספירת מושבות

כאשר זורעים חיידקים על מצע מזון מוצק, נוצרת מושבה מכל חיידק בודד. כל חיידק שנגע בקרקע המזון מתחיל להתחלק. כל צאצאיו של החיידק נשארים בקרבת מקום ויוצרים מושבה (בניגוד לתרבית נוזלית בה כל החיידקים מצויים בתרחיף). בתרבית הגידול הנוזלית יש בדרך כלל מיליוני חיידקים, לכן לפני הזריעה יש למהול את תרחיף החיידקים באופן מבוקר וידוע (ראו הכנת מיהולים עשורניים בהמשך). זורעים דגימה מכל אחד מהמיהולים ומאפשרים למושבות לצמוח. באמצעות ספירת המושבות וחישוב המיהול ניתן להעריך את מספר החיידקים בדגימה המקורית.

מבנה תא חיידק, מחזור גידול של חיידקים, מרכיבי מצע המזון של חיידקים, גורמים המשפיעים על קצב גידול חיידקים.

מעבדה 11: הכנת מצעים ומיהולים עשרוניים.

הנחיות ללבורנט (אפשר ומומלץ לעשות עם התלמידים)

הכנת מצע גידול נוזלי לחיידקים (LB) - הכן שני בקבוקים:

1. לתוך בקבוק פקק כחול שקול את החומרים הבאים:

- 2.5g - Difco Bacto tryptone
- 1.25g - Difco Yeast extract
- 1.25g - NaCl
- מים מזוקקים - 250ml

2. הכנס את הבקבוק לאוטוקלאב שכוון מראש לטמפרטורה של 121°C למשך 20 דקות.

הכנת סטרטר של חיידקים

1. הוסף לשתי מבחנות בנפח 15 מ"ל 3 מ"ל של תרחיף LB.

2. העבר באמצעות לופה (מקל סטרילי להעברת חיידקים), מעט מתרבית חיידקי אי קולי.

3. הדגר למשך הלילה ב- 37°C .

הכנת מיהולים עשרוניים

עקוב אחר ההנחיות כדי למהול את התמיסה המרוכזת של החיידקים לסדרה של מבחנות כך שבכל מבחנה ריכוז

התמיסה הסופי יהיה קטן פי 10. לשם כך היעזר בתמונה 19.

1. סמן 9 מבחנות בנפח של 15 מ"ל בספרות 1-9.

2. העבר מתרחיף החיידקים שגדל במשך הלילה 2 מ"ל למבחנה מספר 1 (אנו מעריכים כי במבחנה זו ריכוז

החיידקים הוא לפחות 910 חיידקים למיקרוליטר).

3. הוסף 9 מ"ל LB למבחנות 2-11.

4. העבר 1 מ"ל ממבחנה מספר 1 למבחנה מספר 2

5. העבר 1 מ"ל ממבחנה מספר 2 למבחנה מספר 3

6. העבר 1 מ"ל ממבחנה מספר 3 למבחנה מספר 4

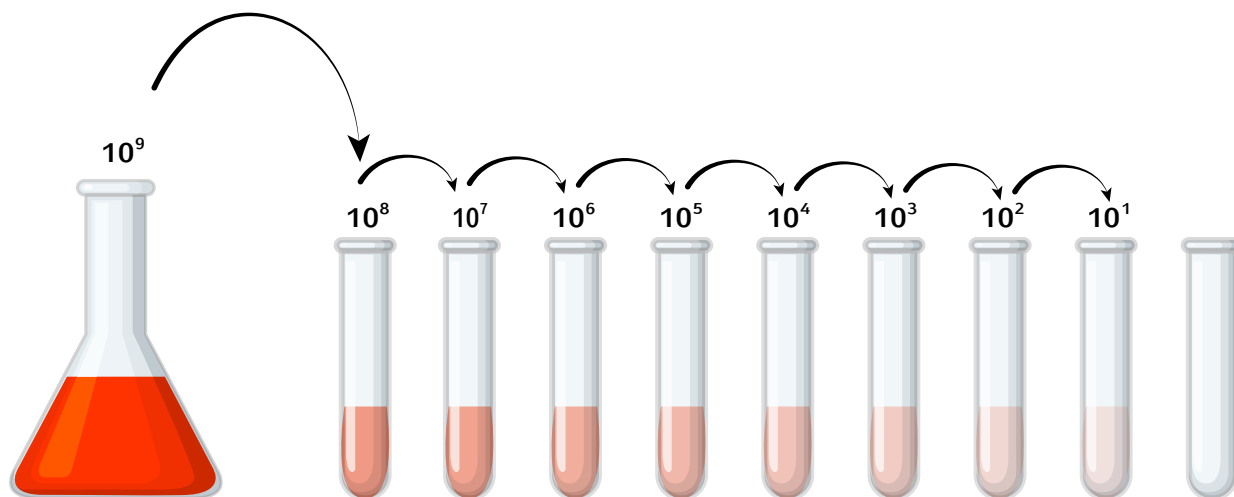
7. העבר 1 מ"ל ממבחנה מספר 4 למבחנה מספר 5

8. העבר 1 מ"ל ממבחנה מספר 5 למבחנה מספר 6

9. העבר 1 מ"ל ממבחנה מספר 6 למבחנה מספר 7

10. העבר 1 מ"ל ממבחנה מספר 7 למבחנה מספר 8

11. העבר 1 מ"ל ממבחנה מספר 8 למבחנה מספר 9



תמונה 19: תרשים המתאר כיצד להכין מיהולים עשרוניים. מתחילים מהתמיסה המרוכזת ביותר, ומעבירים ממנה נפח ידוע למבחנה חדשה. משלימים עם 9 חלקים של תרחיף ללא חיידקים לקבלת מיהול פי 10. חוזרים על התהליך כ-10 פעמים.

הכנת מיהולים

יתכן שמיהול פי 10 יהיה יותר מידי, ואז מספר המושבות שנקבל יהיה קטן מידי. לכן נרצה להכין מספר מבחנות בהן המיהול יהיה קטן פי 2. לשם כך, מהל פי 2 כל אחת מהמבחנות 1-5 סמן אותן באופן הבא: 1.1, 2.1, 3.1, 4.1, 5.1

זריעה על מצע גידול מוצק

1. קח באמצעות פיפטור וטיפ סטרילי 100 מיקרוליטר של תרחיף חיידקים מהול ממבחנה מספר 4. זרע את התרחיף באמצעות מקל דרגלסקי חד פעמי על 2 צלחות פטרי שונות.
2. כתוב על כל צלחת: שם, תאריך, מספר המיהול (6-10 עבור מבחנה מספר 4), מספר סידורי רציף.
3. חזור על שלבים ד-ה עבור מבחנות 5-9.
4. הדגירו את הצלחות בטמפרטורה של 37°C למשך הלילה.

חישוב ריכוז התרבית בעזרת ספקטרופוטומטר

1. הוצא מ"ל 1 של תמיסת LB מכל אחת מהמבחנות 1.1-5.1 ומהמבחנות 6-9.
2. קרא בספקטרופוטומטר באורך גל של 600nm את עצמת הבליעה - של כל אחת מהמבחנות.
3. ספור את מספר המושבות שהתפתח בצלחת בה התפתחו בין 20 ל-200 מושבות. במהלך הספירה נוח לסמן בנקודה, על גבי תחתית הצלחת, כל מושבה שנספרה, על מנת לא לחזור ולספור את אותה מושבה שוב ושוב.
4. לאחר הספירה הכפל את מספר המושבות בפקטור המיהול, והכפל שוב ב-10.

מספר המושבות	X	10	X	פקטור המיהול פי כמה מהלנו	=	מספר החיידקים ב-1 מ"ל של התרבית המקורית
--------------	---	----	---	------------------------------	---	--

שימו לב! ההכפלה פי 10 בנוסחה שלעיל היא משום שזרענו 0.1 מ"ל. יש להתאים את החישוב לדרך העבודה.

דוגמת חישוב:

אם קבלנו 159 מושבות בצלחת שבה נזרעו 0.1 מ"ל מתרבית במיהול של 10^{-3} (מבחנה מספר 7) החישוב ייעשה כך:
מאחר והתרבית שנזרעה על הצלחת הצמיחה 159 מושבות, הרי שבכמות התרבית שנזרעה היו 159 חיידקים. מאחר
שזרענו 0.1 מ"ל, הרי שב-1 מ"ל של התרבית שנזרעה בצלחת היו 1,590 חיידקים.
מכיוון שלזריעת צלחת זו השתמשנו בתרבית במיהול 10^{-3} : הרי שבמ"ל אחד של התרבית המקורית היו:

$$159 \times 10 \times 10^{-3} = 1,590,000$$

שהם 1.59×10^6 חיידקים ב-1 מ"ל תרחיף!

הכנת עקום כיול:

כדי למצוא את הקשר בין עצמת הבליעה (כפי שמדדנו בשלב מס' 5) לבין כמות החיידקים בדגימה עלינו לעשות את
הדבר הבא:

1. הכניסו לגליון אקסל את הנתונים הבאים: מספר מבחנה, מספר המיהול, מספר המושבות בצלחת ואת קריאת ה
OD עבור כל אחד מהמיהולים לפני הזריעה.

2. שרטטו עקום כיול של הבליעה האופטית (קריאה של הספקטרופוטומטר) כנגד כמות החיידקים בכל אחד
מהמיהולים שונים.

מעבדה 12: השפעת הטמפרטורה על קצב גידול חיידקי אי. קולי E.coli

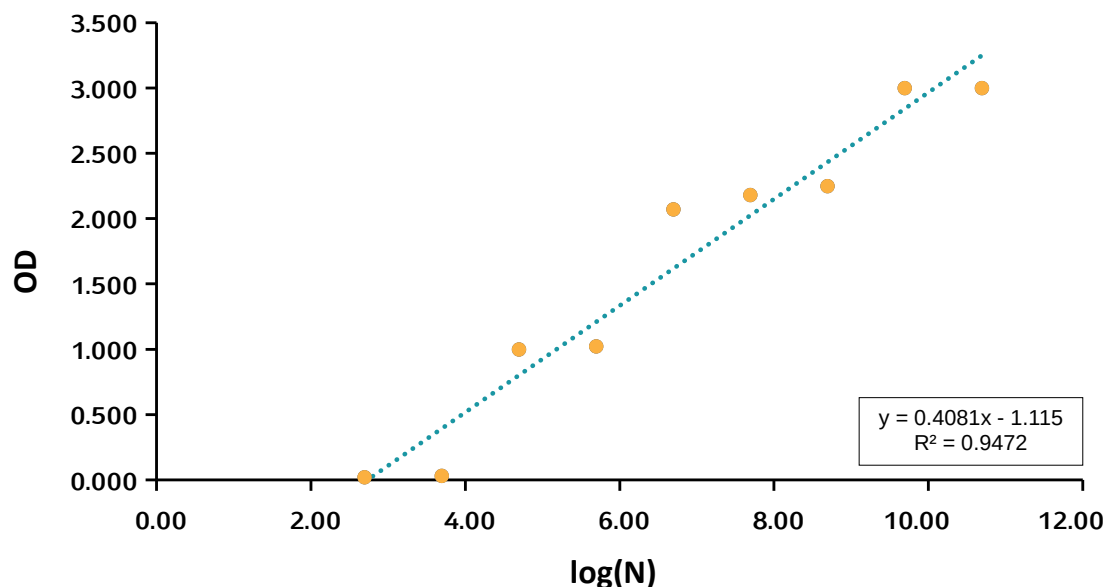
1. סמן במספרים 1-9, ארלנמיירים בנפח של 250 מ"ל.
 2. הוסף לכל אחד מהארלנמיירים 30 מ"ל של תמיסת LB מעוקרת. (וודא כי התמיסה סטרילית).
 3. הוסף לכל אחד מהכלים 200 מיקרוליטר של תרחיף חיידקי אי קולי שגודלו למשך הלילה בטמפרטורה של 37 מעלות צלסיוז.
 4. הדגר את הכלים בטמפרטורות שונות לפי הפירוט בטבלה 11.
- טבלה 11: הטיפולים השונים של הניסוי.

מספר ארלנמיייר	נפח מצע גידול במ"ל	טמפרטורה	נפח תרחיף חיידקים (מיקרו ליטר)
1	30	25	200
2	30	25	200
3	30	25	200
4	30	37	200
5	30	37	200
6	30	37	200
7	30	42	200
8	30	42	200
9	30	42	200

מעקב אחר התוצאות הניסוי

1. מיד בתחילת הניסוי הוציאו מ"ל של תמיסת LB מכלי מספר 1, וקראו בספקטרופוטומטר באורך גל של 600nm את עצמת הבליעה.
2. חזרו על הבדיקה עבור כל שאר הכלים.
3. חזרו על שלבים א-ב כל שעה במשך 6 שעות. (מאחר ויום הלימודים קצר, אפשר לבקש עזרה מהמורה או הלבורנט לקרוא חלק מהתוצאות. מומלץ לקבל טווח של 8 שעות אם מתאפשר).
4. רכזו את התוצאות בטבלה.

מעבדה 12: תוצאות למורה



OD	כמות חיידקים בסקלה לוגריתמית $\log(N)$	כמות חיידקים	מבחנה
300	10.70	500000000000	1
3	9.70	50000000000	2
2	8.70	5000000000	3
2	7.70	500000000	4
2	6.70	50000000	5
1	5.70	500000	6
1	4.70	50000	7
0	3.70	5000	8
0	2.70	500	9

לפניכם תוצאות של קריאת הצפיפות האופטית של החיידקים במבחנות עם תרחיף החיידקים, כך שמבחנה מספר 1 היא מבחנת המקור וממבחנה מספר 9 מייצגת מיהול של פי 10^9 . מאחר וקבלנו קריאה אופטית של כל אחד מהמיהולים אנחנו יכולים לקשר בין ריכוז החיידקים לצפיפותם האופטית. לעבוד עם מספרים גדולים זה לא נוח לכן הוספנו עמודה של צפיפות החיידקים בסקלה לוגריתמית. השתמשנו בנתוני הטבלה כדי לבנות את עקום הכיול. שימו לב שלפי הבדיקה שלנו ערכי ה-OD במקרים מסוימים זהים, יתכן בגלל בדיקה לא טובה או חוסר רגישות של המכשיר.

איך משתמשים בעקום הכיול?

- לוקחים את ערך הקריאה האופטית בזמן כלשהו לאורך הניסוי ומציבים את ערך זה במשוואת הישר שקבלנו בעקום הכיול, במקום משתנה Y כמובן.
- מקבלים ערך X כלשהו, לשם הדוגמה נניח ש-X יצא שווה ל 7.78.
- עלינו לזכור שציר ה-X שלנו מבטא בסולם לוגריתמי לפי בסיס 10 כלומר:
- במקום לכתוב $X=7.78$ עלינו לכתוב $\log(N)=7.78$. הפתרון של N הוא $10^{7.78} = 60,255,958$. כדי שיהיה לנו נוח ניתן לכתוב זאת גם כך: 6.02×10^7 .

אפשר להכין לתלמידים תבנית בטבלת אקסל שבה יהיה עליהם להזין את ערך הקריאה האופטית, והחישובים יתבצעו באופן אוטומטי על ידי התכנה. כדאי מאד לעזור לתלמידים בחלקים המתמטיים של הניסוי כדי שזה לא ירתיע אותם. תבנית לטבלת אקסל כזו תמצא באתר מוטנ"ט.

קשר לתוכנית הלימודים

אנזימים נלמדים באופן נרחב בכיתה ט' בפרקים העוסקים במערכת העיכול, נשימה תאית, תורשה ועוד. לאור חשיבותם בפעילות התקינה של יצורים חיים בחרנו להציע מספר מעבדות ושיטות מחקר כדי להעמיק את הבנת התלמידים בנושא. היחידה התמקדנו שני אנזימים, קטלאז ואינברטאז.

ידע קודם נדרש

התלמיד צריך להכיר את המושגים הבאים: דנטורציה, אנזים, מצע, תוצר ומדידת קצב תגובה אנזימתית. למעבדות בנושא שמרים עליו להכיר בנוסף את מבנה תא השמר, תהליך התסיסה, נשימה תאית ודיפוזיה. מטרת היחידה

בתום היחידה התלמיד ידע:

- להסביר מהו אנזים ומהם הגורמים המשפיעים אל תפקודו.
- להסביר את חשיבותו של האנזים קטלאז הפועל בכבד.
- לתאר את אופן פעולתם של האנזימים קטלאז ואינברטאז.
- להסביר את הגורמים המשפיעים על פירוק סוכרים אל ידי תאי שמרים.

רקע מדעי

הכבד הוא איבר גדול בבטן ומשקלו בממוצע אצל אדם בוגר הוא בסביבות 1400 גרם. לכבד תפקידים רבים הכוללים בין השאר: יצור והפרשת מרה, חילוף חומרים של סוכרים (גליקוגן וגלוקוז), חילוף חומרים של שומנים (כולסטרול, פוספוליפידים ועוד), חילוף חומרים של חלבונים (לדוגמה אלבומין ושתנן), יצור פקטורי קרישה, אגירה של ויטמינים שונים, ניטרול חומרים רעילים ועוד. אחד מחומרי הרעל העוברים פירוק בכבד הוא אתנול (C_2H_6O). האנזימים האחראים על פירוק אתנול שייכים לקבוצה של אלכוהול דהידרוגנזות (Alcohol dehydrogenase - ADH). מספר אנזימים המפרקים את האתנול בכבד לאלדהידים וקטונים. בשלב הראשון של פירוק האתנול נוצר חומר הביניים אצטאלדהיד, שהוא רעיל יותר מהאתנול עצמו. לאחר מכן האנזים Acetaldehyde dehydrogenase, הופך את האצטאלדהיד לחומצה אצטית שאינה טוקסית, המשתלבת במעגל קרבס, ובסופו של תהליך מתפרקת ל פחמן דו חמצני ולמים (תמונה 20).



בניגוד לחומרים אחרים המתפנים מהדם בקצב העומד ביחס ישר לריכוזיהם, הרי שכמויות טיפוסיות של אלכוהול מובילות לרעילות של האנזימים המעורבים בפירוקו ולכן קצב פירוקו יחסית קבוע. כמו כן קיים קשר בין גיל, מגדר, משקל ועוד על קצב פירוק האתנול. בגוף שלנו נוצרים באופן טבעי חומרי ביניים רעילים אותם הגוף צריך לנטרל.

אחד מהם הוא החומר מי-חמצן (H_2O_2). האנזים שאחראי על פירוקם נקרא קטלאז והוא נמצא בכמויות גדולות בכבד. כדי להדגים את ההשפעה השלילית של אתנול על פעילותם של אנזימים נבחן כיצד תוספת אתנול תשפיע על פירוק מי חמצן על ידי האנזים קטלאז.

[קישורים](#) למידע נוסף.

מעבדה 13: השפעת אתנול על פעילות אנזים קטלאז בתאי כבד.

מבנה המעבדה

למעבדה שלושה ניסויים בכל אחד מהם נבחן היבט אחר של התהליך.

- ניסוי 1: השפעת אתנול על חלבון ביצה - הדגמה של תהליך הדנטורציה.
- ניסוי 2: נדגים את השפעת אתנול על פעילות אנזים קטלאז סינתטי.
- ניסוי 3: נדגים את השפעת אתנול על פעילות האנזים קטלאז בכבד.

אמצעי זהירות: כפפות חד פעמיות ומשקפי מגן, לוודא שאין בכיתה תלמידים רגישים לאתנול. עבודה בהתאם לכללי הבטיחות בעבודה עם מי חמצן

ניסוי ראשון: דנטורציה של חלבון ביצה על ידי אתנול.

כדי להוכיח שאתנול גורם לדנטורציה של חלבונים נבחן את השפעת אתנול על חלבון ביצה. האתנול הוא חומר בעל חדירות גדולה לתאים. בנוסף לכך הוא פוגע בחדירות קרום התא (הבנוי מחלבונים ופוספוליפידים) והורס חלבונים על ידי דהידרציה (העלמת מולקולות של מים המשתתפות בקשרים חיוניים למבנה החלבון).

כלים וחומרים (הכמות לקבוצה)

- 3 מבחנות עם 5 מ"ל חלבון ביצה
- 15 מ"ל אתנול 96%
- 15 מ"ל מים מזוקקים.
- סטופר.
- מעמד למבחנות
- 3 מבחנות רחבות
- 2 משורות בנפח של 10 מ"ל.

מהלך המעבדה

- סמנו את המבחנות בספרות 1-3 והוסיפו לכל מבחנה נוזלים בהתאם למופיע בטבלה 12.
- שפכו את התמיסה שבמבחנה 1 למבחנה עם חלבון ביצה.
- מדדו את הזמן בעזרת סטופר עד להשתנות הצבע של החלבון.
- חיזרו על השלבים 2,3 עם שתי המבחנות הנוספות.

טבלה 12: מרכיבים למבחנות הניסוי

מבחנה מספר	אתנול (מ"ל)	מים מזוקקים (מ"ל)	ריכוז אתנול בתמיסה	זמן לשינוי צבע	שינויים נוספים
1	10	0			
2	5	5			
3	0	10			

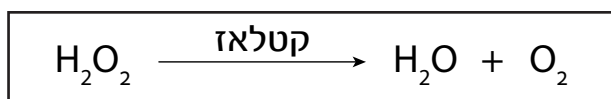
משוואה 1: חישוב ריכוז האתנול בתמיסה. אתנול מסחרי מגיע בריכוזים של 96% או 99%. שאלו את המורה לגבי ריכוז האתנול שקבלתם ובהתאם לכך חשבו את ריכוז האתנול בתמיסה.

1. ארגנו את התוצאות בטבלה 13.

2. מהי המסקנה מהניסוי?

ניסוי שני: השפעת אתנול על אנזים קטלאז סינטטי

מרבית התהליכים הכימיים בגוף שלנו מתווכים על ידי אנזימים. רוב רובם של אנזימים אלו הם חלבונים שתפקידם העיקרי הוא לזרז תגובות כימיות. מכאן, שפגיעה במבנה המרחבי של האנזים צפויה לפגוע בתפקודו. בניסוי זה תבחנו כיצד תוספת אתנול תשפיע על קצב פעילות האנזים קטלאז. אנזים זה מזרז את תגובת הפירוק של מי חמצן למים ולחמצן (תהליך 1). בתהליך זה נפלט חמצן ונוצר קצף שישימש אותנו במדד לקצב התגובה.



תהליך 1: פירוק מי-חמצן למים ולחמצן על ידי האנזים קטלאז

כלים וחומרים (הכמות לקבוצה)

- 15 מ"ל אתנול (96%)
- 3 מ"ל תמיסת קטלאז 0.3%
- 15 מ"ל מים מזוקקים.
- 3 מבחנות פקוקות עם 3 מ"ל מי חמצן בריכוז 5%
- 3 משורות זכוכית בנפח 50 מ"ל.
- 2 משורות בנפח של 10 מ"ל.
- פיפטת פסטר 1 מ"ל.
- סטופר
- טוש לסימון
- ניתן להוסיף צבע מאכל לכל מבחנה

מהלך הניסוי

1. סמנו את המשורות בספרות 1-3 והוסיפו לכל משורה נוזלים בהתאם לטבלה הבאה:

טבלה 13: הרכב משורות הניסוי.

משורה מספר	אתנול (מ"ל)	מים מזוקקים (מ"ל)	ריכוז האתנול	כמות הבועות	זמן עד להופעת הבועות
1	10	0			
2	5	5			
3	0	10			

$$\text{ריכוז האתנול} \times \text{נפח האתנול שהוסף} = \text{ריכוז אתנול בתמיסה} \times \text{נפח כולל של התמיסה}$$

2. הוסיפו לכל משורה 1 מ"ל תמיסת קטלאז והדגירו במשך 30 דקות בטמפרטורה של 37°C.

3. למשורה מס' 1 הוסיפו 3 מ"ל מי חמצן (5%) ומדדו את משך זמן הופעת הבועות.

4. רשמו בטבלה את עצמת התסיסה - כמות הבועות, משך זמן הופעת הבועות.

5. חיזרו על שלב 3 עם משורות 2,3.

שאלות לסיכום ניסוי 2

1. כתבו במחברת את התגובה האנזימטית בין קטלאז לבין מי חמצן.
2. מה הייתה השערת הניסוי?
3. מה הייתה העדות להתרחשותה של התגובה האנזימטית?
4. כיצד תוספת אתנול השפיעה על התגובה האנזימטית?
5. מדוע הדגירו את האנזים 30 דקות עם האתנול?
6. הציעו ניסוי נוסף שיתמוך במסקנתכם מהניסוי.

ניסוי 3: השפעת אתנול על פעילות האנזים קטלאז מרקמת כבד

בשני החלקים הראשונים של המעבדה הוכחנו כי אתנול גורם לדנטורציה של חלבונים ופוגע בפעילות של אנזים קטלאז סינטטי. כעת נרצה לבחון מה תהיה ההשפעה של הדגרה של רקמת כבד באתנול על פעילות האנזים קטלאז המצוי בה בכמות גבוהה.

כלים וחומרים (החומרים לקבוצה)

- 20 גרם כבד בקר/ עוף טחון
- 24 מ"ל אתנול (96%)
- שלוש משורות זכוכית זהות בנפח של 100 מ"ל
- שלוש מבחנות פקוקות עם 3 מ"ל מי חמצן (5%)
- טוש סימון
- כפית
- שעון עצר
- עלי ומכתש + כפית (רק אם הכבד לא טחון)
- מאזניים דיגיטליות
- שלושה מקלות לערבוב (או שיפודים)

מהלך המעבדה

1. קצצו את הכבד עם עלי ומכתש. (או בקשו מהמורה כבד טחון מראש).
2. סמנו את המשורות במספרים 1,2,3.
3. הניחו על המאזניים הדיגיטליות משורה מספר 1 ואפסו את המאזניים.
4. הוסיפו 5 גרם כבד הקצוץ למשורה 1, השתדלו שהכבד לא יגע בדופן המשורה, אלא יכנס לתחתית.
5. חזרו על התהליך עם משורות 2-3.
6. לכל משורה הוסיפו 16 מ"ל נוזלים בהתאם לטבלה 14.
7. השרו את הכבד עם הנוזלים למשך 20-30 דקות.

טבלה 14: הרכב משורות הניסוי.

המשורה	אתנול (מ"ל)	מים (מ"ל)	ריכוז האתנול	גובה פני הקצף.
1	16	0		
2	8	8		
3	0	16		

לאחר 30 דקות

1. תארו את צבע הכבד בסיום ההדגרה בכל אחת מהמשורות.
2. הוסיפו 3 מ"ל מי חמצן (5%) לכל משורה.
3. עקבו אחרי המתרחש במשורה. סמנו בעזרת טוש סימון את קו גובה הקצף הסופי.
4. רכזו את התוצאות של גובה פני הקצף בטבלה 14.

שאלות לסיכום ניסוי 3

1. מה היה צבע הכבד כל אחת מהמשורות?
2. על מה מעיד השינוי בצבע?
3. כיצד השפיע אתנול על פעילות האנזים קטלאז ברקמת הכבד?
4. שערו כיצד הדגרה של הכבד לזמן ארוך יותר תשפיע על תוצאות הניסוי.
5. מה התפקיד של משורה 3?
6. מהי מסקנת הניסוי?

מעבדה 13: תוצאות למורה

הערות כלליות:

- ניתן לתת לתלמידים טבלה לארגון תוצאות או לבקש מהם לבנות אותה בעצמם.
- חלק מהניסויים יכולים להתבצע בהדגמה.

תוצאות לניסוי 1: דנטורציה של חלבון ביצה על ידי אתנול

טבלה 15: השפעת ריכוז האתנול על דנטורציה של חלבון ביצה.

מבחנה	ריכוז אתנול (%)	הזמן עד להשתנות הצבע (שניות)	שינויים נוספים
1	96	30	הסמיכות גדלה
2	48	46	הסמיכות גדלה מעט
3	0	ללא שינוי	ללא שינוי

תוספת אתנול לחלבון ביצה הובילה לשינוי צבע החלבון ללבן והתגבשותו, עדות לדנטורציה שעבר החלבון. ככל שריכוז האתנול היה גבוה יותר קצב הדנטורציה היה מהיר יותר.

תוצאות לניסוי 2: השפעת אתנול על פעילות אנזים קטלאז סינטטי

טבלה 16: השפעת ריכוז האתנול כל קצב פעילות אנזים קטלאז.

המשורה	נפח אתנול (מ"ל)	נפח מים (מ"ל)	ריכוז האתנול	כמות הבועות	משך זמן להופעת הבועות (בדקות)
1	10	0	96	מעטה	10
2	5	5	48	בינונית	6
3	0	10	0	חזקה מאוד	3

תשובות לשאלות:

- מהי התגובה המבוצעת ע"י האנזים קטלאז?

$$\text{H}_2\text{O}_2 \xrightarrow{\text{קטלאז}} \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$$
- מה הייתה השערת הניסוי?
 - ככל שריכוז האתנול יהיה גבוה יותר קצב פעילות האנזים קטלאז יקטן.
- מה הייתה העדות להתרחשותה של התגובה האנזימטית?
 - הופעת בועות בתמיסה כתוצאה מתוצר הפירוק שהוא גז החמצן.
- כיצד תוספת אתנול השפיעה על התגובה האנזימטית בכל אחת מהמשורות?
 - האתנול גרם לדנטורציה של האנזים קטלאז ולכן פעילותו האנזים פחתה כאשר ריכוז האתנול עלה. במשורה מספר 3, שלא הכילה אתנול, התגובה האנזימטית של הקטלאז עם מי החמצן הייתה מהירה (תוך 3 דקות) וחזקה כפי שבא לידי ביטוי בכמות בועות גדולה. לעומת זאת, הוספה של אתנול למבחנות 2 ו-3 הובילה לעיכוב בפעילות האנזים קטלאז ובהתאם הזמן עד לתחילת הופעת הבועות התארך (10-6 דקות) ומספר הבועות היה קטן מאד.
- מדוע הודגר האנזים למשך 30 דקות עם האתנול לפני הוספת מי החמצן?
 - תהליך הדנטורציה לוקח זמן. ההדגרה של 30 דקות גרמה לאנזים לעבור דנטורציה.
- הציעו ניסוי נוסף שיתמוך במסקנתכם מהניסוי.
 - ניתן לבדוק את פעילותו של אנזים קטלאז מורתח על מי חמצן.

תוצאות לניסוי 3: השפעת אתנול על פעילות האנזים קטלאז מרקמת כבד.

טבלה 17: השפעת אתנול על קצב פעילות האנזים קטלאז.

המשורה	נפח אתנול (מ"ל)	נפח מים (מ"ל)	ריכוז האתנול	נפח הקצף (מ"ל)
1	16	0	96	50
2	8	8	48	80
3	0	16	0	90

תשובות לשאלות:

1. תארו את צבע הכבד בריכוזי אתנול שונים.
- במשורה 1 הכבד הפך לכתום, משורה 2 אדום חלש. משורה 3 אדום - בורדו.
2. על מה מעיד השינוי בצבע?
- השינוי בצבע יכול להעיד על דנטורציה של חלבונים בדומה לחלק א' שבו ראינו שינוי בצבע של חלבון ביצה בתגובה לאתנול.
3. כיצד השפיע אתנול על פעילות האנזים קטלאז ברקמת הכבד?
- האתנול גרם לדנטורציה של האנזים קטלאז שהוא חלבון. ככל שריכוז האתנול היה גבוה יותר הפגיעה היתה גדולה יותר, נפלט פחות חמצן ולכן גובה הקצף היה נמוך יותר.
4. שערו כיצד הדגרה של הכבד לזמן ארוך יותר תשפיע על תוצאות הניסוי.
- תהליך הדנטורציה של האנזים לוקח זמן. ככל שזמן ההדגרה יהיה ארוך יותר הפגיעה תהיה משמעותית יותר וכך ייווצר פחות תוצר. מעבר לזמן הדגרה מסוים כל האנזים יעבור דנטורציה ולא תתרחש תגובה אנזימטית כלל.
5. מה התפקיד של משורה 3?
- משורה 3 משמשת לביקורת לוודא שתוספת האתנול היא זו שפגעה בפעילות האנזים ולא עצם הוספת הנוזל.
6. מהי מסקנת הניסוי?
- הוספה של אתנול בריכוזים גבוהים פוגעת באנזים קטלאז ומעכבת את פעילותו.

המלצות מעשיות

1. המעבדה מתאימה לשיעור כפול.
2. ניסויים 2,3 זמן הדגרה של 20-30 דקות. מומלץ טכנית להתחיל מחלקים אלו ואז לחזור לניסוי 1.
3. ניתן לטחון בבלנדר את הכבד לכל הכיתה. לחלק לכל קבוצה 20 גרם כבד מרוסק. למרות שבפועל משתמשים רק ב-15 גרם מאחר שחלק מהכבד הטחון נדבק לדפנות הכלי. ניתן גם לטחון עם עלי ומכתש במסגרת הקבוצה. ניתן להשתמש גם בכבד קפוא שהופשר.
4. ניתן לחלק את המשימות שכל קבוצה מבצעת סעיף אחד מתוך ניסוי 3
5. ניתן גם לבצע זיהוי של הגז החמצן שנוצר בתהליך האנזימטי ע"י הבערת קיסם עומם.
6. ניתן להוסיף ניסוי המשך הדומה לניסוי בחלק ג' עם משקאות אלכוהוליים שונים (ריכוז שונה של אלכוהול). לאחר ביצוע / במקביל לניסוי עם האתנול ניתן לבצע הדגמה של מערכת ניסוי הכוללת כבד בקר עם משקאות שונים. בדיון שיערך בכיתה נזכיר את ריכוז האלכוהול המצוין על הבקבוק. כמו כן משקאות אלכוהוליים עלולים להכיל חומרים אחרים שונים שמשפיעים על פעילות האנזים. בדיון נזכיר את השפעת צריכה מתמשכת של אלכוהול עד כדי פגיעה בלתי הפיכה בכבד וברקמות נוספות. קישור לחישוב רמת אלכוהול בדם.
7. ניתן לבצע את הניסוי עם מקורות אחרים לאנזים קטלאז: שמרים. תפוזי א' וכו' אך צריך להתאים את ערכות הניסוי בהתאם.

מעבדה 14: פירוק סוכרוז בעזרת שמרים

במעבדה זו תחקרו את הגורמים המשפיעים על פירוק סוכרים בעזרת תאי שמרים. קראו את הרקע המדעי לפני תחילת המעבדה.

רקע מדעי

שמרים, שם משותף לסוגים רבים של פטריות מיקרוסקופיות, חד תאיות, הגורמות לתסיסת פחמימות בחומרים שונים. בטבע נפוצים השמרים במגוון רחב של בתי גידול ימיים ויבשתיים, בקרקע ועל גבי צמחים. מבחינה טקסונומית, משתייכים רוב השמרים למחלקת פטריות הנאדית (Ascomycotina), ומיעוטן - לפטריות הבסיסה (Basidiomycotina). תא השמרים עטוף בקרום חיצוני חדיר למחצה. קרום זה הוא המאפשר תנועה של חומרי מזון אל תוך התא וכן הפרשת פסולת החוצה ממנו. השמרים מורכבים מכ-50% חלבונים וכ-30% פחמימות, והם עשירים בוויטמיני B, בניאצין (חומצה ניקוטינית) ובחומצה פולית.

בתנאים אנארוביים (ללא חמצן) יכולים השמרים לבצע נשימה תאית בתהליך שנקרא תסיסה. בתהליך זה מחומצנים הסוכרים השונים באופן חלקי ותוצרי התהליך כוללים פחמן דו-חמצני אלוהול ועוד. תודות ליכולת זו, שמרי הבירה *Saccharomyces cerevisiae*, משמשים כמרכיב חשוב בתעשיית האפייה כמתפיחי בצק או בתעשיית המשקאות החריפים. כמו כן מינים שונים של שמרים משמנים כאורגניזם מודל בתחומים שונים של ביולוגיה של התא. אנזימים המזרזים את תהליך פירוק סוכרוז (דו-סוכר) לגלוקוז ופרוקטוז (חד-סוכרים) הוא **האינברטאז**. אנזימים זה מצוי במרבית הצמחים, בשמרים ובדבורים (משתמשות באנזימים לצורך הפקת דבש מצוף). האנזימים אינברטאז מצוי גם במעינים של יונקים ולאחר פירוק הסוכרוז תוצרי הפירוק יכולים להיספג לזרם הדם. האנזימים אינברטאז מצוי בדופן תא השמר והוא יכול להגיע לסביבה החיצונית של התא.

פירוק סוכרוז על ידי תאי שמרים: היכולת של שמרים לפרק דו-סוכרים כמו סוכרוז לחד סוכרים תלויה ביכולתם להפריש אל מחוץ לתא את האנזימים אינברטאז. לאחר מכן עליהם לקלוט אל תוך התא את החד סוכרים שנוצרו כמו הגלוקוז. **מטרת המעבדה:** להדגים פירוק סוכרוז על ידי שמרים ולהדגים תנועה דרך קרום חדיר למחצה.

חלק א':

ציוד וחומרים לקבוצה:

- כ-500 מ"ל מים מזוקקים
- 0.5 גרם שמרים יבשים
- 0.5 גרם סוכרוז
- שלוש שקיות דיאליזה באורך של 15 ס"מ
- כוס עם מי ברז לריכוך השקיות
- שלושה תופסנים
- שלוש כוסות כימיות 250 מ"ל
- אמבט 370 מתאים ל-שלוש כוסות
- מד טמפ'
- טוש סימון
- שלושה מקלונים לבדיקת גלוקוז
- שלוש פיפטות של 1 מ"ל (פסטר)
- משורה בנפח 10 מ"ל
- שלוש מבחנות ושני פקקים
- מעמד למבחנות
- סטופר

1. טבול את השקיות דיאליזה כ-30 שניות בתוך כוס עם מי ברז לריכוך השקית.
2. הכנת תמיסות:
 - א. סמן שתי מבחנות בעזרת בטוש בספרות 1-2
 - ב. הכן תמיסת סוכרוז במבחנה 1 על ידי הוספת 0.5 גרם סוכרוז והשלם לנפח סופי של 10 מ"ל בעזרת מי ברז. סגור עם פקק וערבב.
 - ג. הכן תרחיף שמרים במבחנה 2 על ידי הוספת 0.5 גרם שמרים יבשים והשלם לנפח סופי של 10 מ"ל בעזרת מי ברז. סגור עם פקק וערבב.
 - ד. תסנין שמרים על ידי הכנת תרחיף שמרים
3. סמן שלוש כוסות כימיות בכיתוב "כוס 1", "כוס 2", ו-"כוס 3".
4. מלא בכל אחת מהכוסות כ-150 מ"ל מים מזוקקים בטמפ' של 37°C.
5. קשור חזק את קצהו האחד של כל אחת משקיות הדיאליזה ששטפת בתחילת המעבדה.
6. הכנס לכל שקית דיאליזה תמיסות בהתאם לטבלה 18.
7. שטוף את שקית הדיאליזה משאריות חיצוניות על ידי טבילתה בכוס עם מי ברז. הקפד שלא יכסנו נוזלים לתוך השקית.
8. הכנס כל אחת משקיות הדיאליזה לתוך הכוס המתאימה (טבלה 18). הקפד שהנוזלים לא ישפכו לתוך המים שבכוס. סגור את השקית עם התופסן והצמד לדופן הכוס.
9. הכנס את הכוסות לאמבט של 37°C.
10. הכנס לכל כוס מקלון בודק גלוקוז והשאר אותו בכוס.
11. בנוכחות גלוקוז צבע המקלון משתנה מצהוב (ללא גלוקוז) לירוק (נוכחות גלוקוז). ככל שצבע הירוק כהה יותר ריכוז הגלוקוז בתמיסה גדול יותר. עקוב אחרי שינוי הצבע של המקלון לאורך זמן.
12. השלם את טבלת התוצאות ותן כותרת לטבלה.

טבלה 18:

מספר כוס	התמיסות בתוך שקית הדיאליזה	צבע המקלון בזמן 0	צבע המקלון לאחר 4 דקות	צבע המקלון לאחר 12 דקות
כוס 1	1 מ"ל מי ברז + 1 מ"ל תמיסת סוכרוז			
כוס 2	1 מ"ל מי ברז + 1 מ"ל תרחיף שמרים			
כוס 3	1 מ"ל תמיסת סוכרוז + 1 מ"ל תרחיף שמרים			

ציוד וחומרים:

- 0.5 גרם שמרים יבשים
- 10 מ"ל מי ברז
- תמיסת סוכרוז שהכנת בחלק א'
- 150 מ"ל מי מזוקקים.
- 2 מבחנות + פקק, כן מבחנות
- משורה 10 מ"ל
- נייר סינון בקוטר 15 ס"מ
- משפך
- שקית דיאליזה באורך של 15 מ"ל
- כוס עם מי ברז לריכוך השקיות
- תופסן
- כוס כימיות 250 מ"ל
- אמבט 37°C
- מד טמפ'
- טוש סימון
- מקלון לבדיקת גלוקוז
- 2 פיפטות של 1 מ"ל
- סטופר

מהלך העבודה

1. רכך את שקית הדיאליזה בכוס עם מי ברז.
2. סמן מבחנה בספרה 4 עם טוש סימון.
3. הכנס לתוך מבחנה אחרת 0.5 גרם שמרים ו-10 מ"ל מי ברז ב- 37°C . סגור עם פקק וערבב היטב.
4. המתן 5 דקות.
5. הכנס נייר סינון לתוך משפך וסנן את תרחיף השמרים לתוך מבחנה 4.
6. סמן כוס כימית בספרה "4".
7. הכנס לתוך הכוס כ-150 מ"ל מים מזוקקים בטמפ' של 37°C .
8. קשור קשר חזק בקצה שקית הדיאליזה.
9. הכנס לתוך שקית הדיאליזה תמיסות בהתאם לטבלה. מדוד עם פיפטה. הקפד לא לערבב בין התמיסות. שטוף את השקית חיצונית.
10. הכנס את השקית דיאליזה לתוך כוס מספר 4. הקפד שהנוזלים לא ישפכו לתוך המים שבכוס. סגור את השקית עם התופסן והצמד לדופן הכוס.
11. הכנס את הכוס לאמבט של 37°C .
12. הכנס לכוס מקלון בודק גלוקוז והשאר אותו.
13. עקוב אחרי הצבע של המקלון לאורך זמן. השלם תוצאות בטבלה:

זמן מתחילת הניסוי (דקות)					
18	12	4	0	התמיסות בתוך שקית הדיאליזה	
				1 מ"ל תסנין שמרים + 1 מ"ל תמיסת סוכרוז.	כוס 4

שאלות סיכום

1. באילו כלים השתנה צבע המקלון ועל מה מעיד שינוי הצבע?
2. מהו ההסבר לכך שהופיע גלוקוז בחלק מהכלים?
3. למה משמשות כוסות 1,2?
4. כיצד תסבירו את ההבדל בין זמני הופעת הגלוקוז בכוסות שהכילו שמרים לעומת תסנין שמרים?

מעבדה 14: תוצאות למורה

תוצאות הניסוי הראשון

מספר כוס	הרכב שקית הדיאליזה	צבע המקלון בזמן 0	צבע המקלון לאחר 4 דקות	צבע המקלון לאחר 12 דקות
כוס 1	1 מ"ל מים + 1 מ"ל תמיסת סוכרוז.	צהוב	צהוב	צהוב
כוס 2	1 מ"ל מים + 1 מ"ל תרחיף שמרים.	צהוב	צהוב	צהוב
כוס 3	1 מ"ל תמיסת סוכרוז + 1 מ"ל תרחיף שמרים	צהוב	צהוב בשוליים ירוק	ירוק

תוצאות הניסוי השני

זמן מתחילת הניסוי				הרכב שקית הדיאליזה	מספר כוס
18	12	4	0		
ירוק	צהוב- בשוליים ירוק	צהוב	צהוב	1 מ"ל תסנין שמרים + 1 מ"ל תמיסת סוכרוז.	4

תשובות לשאלות

1. שינוי צבע המקלון לירוק מעיד על נוכחות גלוקוז בתמיסה. גלוקוז הופיע בכוסות הכימיות שלתוכן הוכנסה שקית דיאליזה שהכילה שמרים או תסנין שמרים (כוס 3 או כוס 4).
2. הסוכרוז התפרק לגלוקוז ופרוקטוז ע"י האנזים אינברטאז המיוצר על ידי תאי השמרים. חלק מהגלוקוז שנוצר בתוך שקית הדיאליזה עבר דרך קרום השקית אל הכוס הכימית בתהליך הפעפוע. תסנין השמרים הכיל אף הוא את האנזים אינברטאז ולכן הופיע גלוקוז גם בכוס 4.
3. כוסות 1,2 משמשות כביקורת בניסוי. כוס מספר "1" מדגימה שסוכרוז לא הופך ספונטנית לגלוקוז. כוס מספר "2" מדגימה שמקור הגלוקוז הוא לא מתאי השמרים.
4. הזמן להופעת גלוקוז היה קצר יותר בכוס הכימית שהכילה שמרים בהשוואה לכוס שהכיל תסנין שמרים, מאחר וכמות האנזים בשקית הדיאליזה עם תסנין השמרים הייתה קטנה יותר

הערות כלליות:

- ניתן להכין את תסנין השמרים ישר בחלק א' ולבצע את המעבדה כניסוי אחד.
- מומלץ להדגים בכיתה את השימוש במקלון גלוקוז בתמיסת גלוקוז ותמיסת סוכרוז בריכוזים שונים.
- חשוב למנוע ערבוב בין התמיסות השונות ע"י שימוש בפיפטות נפרדות להעברת התמיסות.
- ניתן השתמש באנזים סינטטי כדי להדגים פירוק סוכרוז.
- ניתן לבדוק את השפעת הטמפרטורה על תהליך פירוק הסוכרוז.

מעבדה 15: ניסויי חקר בעזרת שמרים.

במעבדה זו תחקרו היבטים שונים של תהליך הנשימה התאית של שמר האפיייה *Saccharomyces cerevisiae*.

ניסוי מספר 1: בצק צף/שוקע.

- הכינו שני סוגי בצק בהתאם למתואר בטבלה 19.
- צרו מספר גושי בצק באותו המשקל מכל אחד מהבצקים שהכנתם.
- העבירו את גושי הבצק לקערה המכילה מים פושרים (כל בצק לקערה נפרדת).
- צפו במתרחש ותארו את התוצאות כל 5 דקות במשך חצי שעה.
- הסבירו את התוצאות.

טבלה 19: הנחיות להכנת בצק.

בצק א	בצק ב
1 כוס קמח	1 כוס קמח
1 כפית סוכר	1 כפית סוכר
1/2 כוס מים פושרים	1/2 כוס מים פושרים
1 כף שמרים יבשים.	

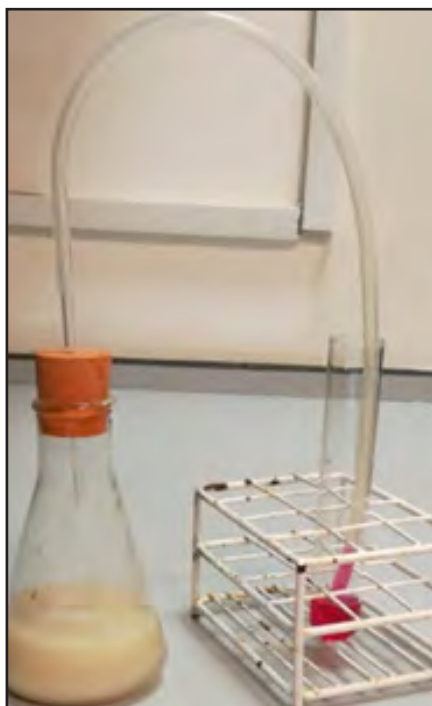
ניסוי 2: מהו הגז הנפלט בעת נשימת השמרים?

בטיחות: חשוב להסביר לתלמידים שלא לשאוף או לשתות את הפנול האדום. יש לבדוק את הנחיות בטיחות המעבדה העדכניות בנוגע לשימוש בפנול אדום לפני ביצוע הניסוי.

ציוד וחומרים: (לכל תלמיד)

- מבחנה בנפח 15 מ"ל ובתוכה 0.5 מילילטר פנול אדום
- קשית חד פעמית
- ארלנמיייר בנפח 250 מ"ל עם פקק המחובר לצינורית גומי
- שתי מבחנות עם שלושה מיליליטר פנול אדום בכל אחת מהן
- מעמד מבחנות
- 1 גרם שמרים
- 1 גרם סוכר
- 50 מיליליטר מים חמימים

1. הכנס את הקשית לתוך המבחנה המכילה פנול אדום.
2. נשוף נשיפה ארוכה לתוך הפנול אדום שנמצא במבחנה (הקפד שלא לשאוף את הנוזל!).
3. השווה את הצבע של הפנול האדום לאחר הנשיפה לזה של הפנול האדום לפני הנשיפה.
4. הוסף לארלנמייר: 1 גרם שמרים, 1 גרם סוכר, 50 מ"ל מים וערבב היטב. סגור את הארלנמייר בפקק עם צינור גומי.
5. הכנס את הקצה השני של הצינור גומי לתוך מבחנה אחרת המכילה 3 מיליליטר פנול אדום. הקפד שפתח הצינורית יהיה בתוך הנוזל (תמונה).
6. המתן כ-20 דקות ותאר את שינוי צבע הפנול (מידי פעם ערבב את תרחיף השמרים שבתוך הארלנמייר).
7. השווה את הצבע שהתקבל בניסוי עם השמרים לזה שהתקבל לאחר שנשפת לתוך המבחנה. האם התוצאות היו זהות?



תמונה 21: חיבור תרחיף השמרים למבחנה המכילה פנול אדום.

שאלות סיכום:

1. פנול אדום הוא אינדיקטור לחומצה בסיס. צבעו אדום בתנאים בסיסיים והוא משנה את צבעו כאשר ה-pH הופך לחומצי. מדוע אם כך, השתנה צבע המבחנה שהכיל פנול אדום בכל אחד מהניסויים שבצעת?
2. הרכב האוויר כולל גם פחמן דו-חמצני. מדוע אם כך, לא השתנה הצבע של המבחנה שהכילה פנול אדום, ללא טיפול?

ציוד וחומרים (לקבוצה)

- מי ברז
- 9 גרם סוכר
- 1 גרם שמרים
- 3 מבחנות רחבות, 3 פקקים מתאימים, כן מבחנות
- אמבט למים חמימים
- טוש לסימון
- מאזניים דיגיטליות
- 2 משפכים
- משורה 10 מ"ל

הוראות עבודה

1. סמן שלוש מבחנות בספרות 1-3.
2. הוסף לכל מבחנה את החומרים בהתאם למתואר בטבלה 1. סגור בפקק ונער היטב.
3. הוצא את הפקק והלבש על פתח המבחנה בלון.
4. הכנס את המבחנות לאמבט עם מים שחוממו מראש לטמפרטורה של 37°C .
5. עקוב אחר המתרחש במשך 20 דקות לקבלת תוצאות. ציין בטבלה את הזמן שלקח לבלון להתנפח עד הזדקפות.

שאלות סיכום:

1. השלם את התוצאות בטבלת התוצאות.
2. מהי מסקנתך מהניסוי?

טבלה 20: השפעת ריכוז השמרים על הזמן לניפוח הבלון/מידת ניפוח הבלון.

מבחנה מספר	סוכר (גרם)	שמרים (גרם)	מים (מ"ל)	נפח הבלון
1	3	0	10	
2	3	1.5	10	
3	3	3	10	

ניסוי 4: כיצד ריכוז הסוכר משפיע על קצב תסיסת השמרים?

ציוד וחומרים

- מי ברז
- 4.5 גרם סוכר
- 9 גרם שמרים
- 3 מבחנות רחבות, 3 פקקים מתאימים, מעמד מבחנות
- אמבט למים חמים
- טוש לסימון
- מאזניים דיגיטלים
- 2 משפכים
- משורה 10 מ"ל
- סטופר

מהלך הניסוי

1. סמן 3 מבחנות בספרות 4-6.
 2. הוסף לכל אחת מהמבחנות חומרים בהתאם לפירוט בטבלה 1.
 3. כדי שנפח הנוזל הסופי יהיה 10 מ"ל. הוסף את החומרים היבשים ו-5 מ"ל מים. ערבב היטב והשלם הקפד להשלים לנפח סופי של 10 מ"ל מים.
 4. סגור בפקק ונער היטב. השאר את הפקק
 5. הכנס את המבחנות לאמבט עם מים שחוממו מראש לטמפרטורה של 37°C .
 6. הפעל את שעון העצר ומדוד הזמן עד לשחרור הפקק.
- הערת בטיחות:** זהירות מפגיעה בעת שחרור הפקק. הרחק את המבחנות לקצה השולחן. הניסוי עלול להיות מלכלך.

שאלות סיכום:

1. השלם את התוצאות בטבלת התוצאות.
2. כיצד תסביר את ההבדל בזמני שחרור הפקק במבחנות השונות?

טבלה 21: השפעת ריכוז הסוכר על קצב תסיסת השמרים.

מבחנה	סוכר (גרם)	שמרים (גרם)	מים (מ"ל)	הזמן עד לשחרור הפקק
4	0	3	10	
5	1.5	3	10	
6	3	3	10	

ניסוי 5: השפעת הטמפרטורה על קצב תסיסת השמרים.

ציוד וחומרים

- 150 מ"ל מי ברז בטמפרטורות שונות (0°C , 37°C , 100°C), בתוך כוסות כימיות
- 9 גרם סוכר
- 9 גרם שמרים
- 3 מבחנות רחבות, 3 פקקים מתאימים, מעמד למבחנות
- אמבט מים
- טוש לסימון
- מאזניים דיגיטליות
- שלושה מדי טמפרטורה
- 2 משפכים
- משורה בנפח 10 מ"ל
- סטופר

מהלך הניסוי

1. סמן שלוש מבחנות בספרות 7-9.
2. הוסף לכל אחת מהמבחנות חומרים בהתאם לפירוט בטבלה 1.
3. כדי שנפח הנוזל הסופי יהיה 10 מ"ל. הוסף את החומרים היבשים ו-5 מ"ל מים. ערבב היטב. הקפד להשלים לנפח סופי של 10 מ"ל מים. הוסף מים בהתאם לטמפרטורה בטבלה.
4. סגור בפקק ונער היטב. הסר את הפקק לאחר הערבוב.
5. הכנס את המבחנות לכוסות כימיות עם מים בטמפרטורות המתאימות לפי הטבלה.
6. סמן את הגובה ההתחלתי של התרחיף בכל מבחנה.
7. המתן כ-20 דקות וסמן בטוש את גובה פני הנוזל.
8. רשום את התוצאות בטבלה.
9. לאחר 20 דקות, העבר את כל המבחנות לאמבט מים שחומם מראש לטמפרטורה של 37°C . עקוב במשך 10 דקות נוספות אחר השינויים בגובה הקצף.
10. השלם את השינויים בטבלה.

טבלה 22

מבחנה	טמפרטורות המים ($^{\circ}\text{C}$)	סוכר (גרם)	שמרים (גרם)	גובה הנוזל לאחר 20 דקות	גובה הנוזל לאחר העברת כל המבחנות לטמפרטורה של 37°C .
7	0	3	3		
8	37	3	3		
9	80-100	3	3		

שאלות סיכום:

1. תאר את תוצאות הניסוי.
2. הצע הסבר להבדל בגובה תרחיף השמרים לאחר ההדגרה הראשונית בטמפרטורות השונות.
3. הצע הסבר להבדלים בגובה התרחיף לאחר העברת כל המבחנות ל 37°C .

ציוד וחומרים:

- 10 מ"ל מים בטמפרטורה של 37°C.
- 0.3 גרם שמרים
- 0.6 גרם סוכר.
- מבחנה ומעמד מבחנות.
- משורה
- טפטפת, זכוכית נושאת, זכוכית מכסה
- וידאופלקס או מיקרוסקופ

מהלך הניסוי:

1. הכן תרחיף שמרים על ידי ערבוב מים, שמרים וסוכר.
2. המתן כ-5 דקות ואז הכן תכשיר לצפייה בעזרת מערכת צילום המורכבת על המיקרוסקופ.
3. טפטף 2 טיפות תרחיף שמרים על זכוכית נושאת, כסה בזכוכית מכסה.
4. צפה בעזרת המצלמה בהגדלות שונות ועקוב אחרי המתרחש במשך כ-15 דקות.
5. צייר שינויים מרכזיים בתרחיף.

מעבדה 15: תוצאות למורה.

תוצאות ניסוי 1

הבצק עם השמרים תפח ולכן צף למעלה. הבצק ללא השמרים לא תפח ולא נשאר למטה.

תוצאות ניסוי 2

1. בתהליך תסיסת השמרים נפלט הגז פחמן דו-חמצני. בתמיסה מימית פחמן דו-חמצני ומים יוצרים חומצה פחמתית שהיא המקור לסביבה החומצית בתמיסה.
2. אמנם גם באוויר נמצא פחמן דו-חמצני, אך ריכוזו מאד נמוך. יתכן שבהינתן זמן ארוך דיו, גם פנול אדום שעומד בחדר ישנה את צבעו כתוצאה מדיפוזיה של פחמן דו-חמצני מהאוויר.

תוצאות ניסוי 3

טבלה 20: השפעת ריכוז השמרים על הזמן לניפוח הבלון/מידת ניפוח הבלון.



מבחנה	סוכר (גרם)	שמרים (גרם)	מים (מ"ל)	נפח הבלון לאחר 20 דקות.
1	3	0	10	ללא שינוי
2	3	1.5	10	בינוני
3	3	3	10	גדול

ככל שריכוז השמרים היה גדול יותר, קצב תסיסת השמרים היה מהיר יותר, נפח פחמן דו-חמצני שנפלט היה גדול יותר והבלון התנפח מהר יותר.

טבלה 21: השפעת ריכוז הסוכר על קצב תסיסת השמרים.

מבחנה	סוכר (גרם)	שמרים (גרם)	מים (מ"ל)	הזמן עד לשחרור הפקק
4	0	3	10	
5	1.5	3	10	
6	3	3	10	

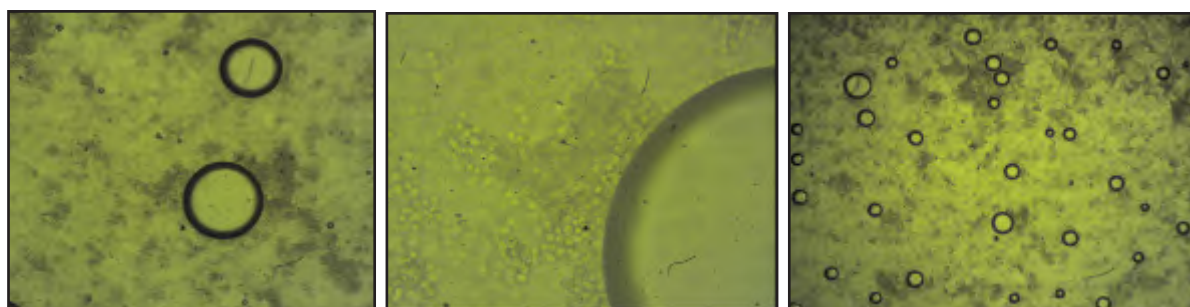
ככל שריכוז הסוכר היה גבוה יותר, קצב תסיסת השמרים היה מהיר יותר ובהתאם נפלט יותר פחמן דו-חמצני. הצטברות הגז במבחנה הובילה לעליה בלחץ מה שהוביל לבסוף לשחרור הפקק.

תוצאות ניסוי 5: השפעת טמפרטורה קל קצב תסיסת השמרים.

1. כדי לבדוק את השפעת הטמפרטורה על קצב תסיסת השמרים, הודגרו תאי שמרים בטמפרטורות שונות. בטמפרטורה של 0°C וגם בטמפרטורה הקרובה לטמפרטורת רתיחה לא התרחש תהליך תסיסה וגובה פני הנוזל לא השתנה. בטמפרטורה של 37°C התרחש תהליך תסיסה כפי שהתבטא בעלייה בגובה תרחיף השמרים. לאחר העברת כל המבחנות לטמפרטורה אחידה של 37°C , שמרים במבחנה 8 שמראש היו באותה הטמפרטורה המשיכו את תהליך התסיסה וגובה פני הנוזל המשיך לעלות. אולם, שמרים שהיו במבחנה 7 בטמפרטורת קפאון ועברו לטמפרטורה של 37°C , החלו לבצע תסיסה וגובה פני הנוזל עלה. לעומתם, שמרים ממבחנה 9, שהיו במקור בטמפרטורת רתיחה, לא בצעו תהליך תסיסה גם לאחר שעברו לטמפרטורה של 37°C .
2. תהליך התסיסה הוא תהליך אנזימתי. לאנזימים הלוקחים חלק בתהליך יש טווח טמפרטורות בו הם יכולים לתפקד באופן אופטימלי. בטמפרטורת קפאון קצב פעולתם מאד אטי אך המבנה המרחבי שלהם לא נהרס. לאחר העברה של תאים אלו לטמפרטורה של 37°C חוזרים האנזימים לפעול ותהליך התסיסה יכול להתחיל. לעומת זאת, בטמפרטורה הקרובה לטמפרטורת רתיחה, חלק מתאי השמרים מתפוצצים ולכן מאבדים את היכולת לבצע נשימה תאית. כמו כן, בתאים ששרדו, אנזימים עצמם עלולים לעבור דנטורציה ולאבד מכושר תפקודם. לראיה, מעבר שלהם לטמפרטורה של 37°C לא שיחזר את יכולתם לבצע נשימה תאית.

תוצאות ניסוי 6

תאי שמרים צולמו לאורך תהליך התסיסה. ניתן לראות את בועות האוויר במרכז התמונה המייצגות פליטה של פחמן דו חמצני על ידי תאי השמר.



תמונה 22: תאי שמרים בעת תהליך תסיסה. לאורך הזמן נפלט פחמן דו-חמצני אותו רואים במיקרוסקופ כבועית עגולה ושקופה. תמונות מימין לשמאל) הגדלה פי 40, הגדלה פי 100, הגדלה פי 400. (צילום: אביבה דויד).

פרק 7: הצעה לעבודת חקר בנושא: השפעת ריכוז הסוכר על קצב תסיסת שמר האפייה

תלמידים יקרים, לפניכם הנחיות לביצוע ניסוי חקר בעזרת שמר האפייה. בניסוי זה תבצעו עבודת חקר פשוטה יחסית אבל כזו שעונה על כל הדרישות מניסוי מדעי מבוקר. תוך כדי העבודה תתנסו ותלמדו מהם שלבי המחקר המדעי.

מטרת המחקר

לבדוק כיצד שינוי בריכוז הסוכר ישפיע על קצב תסיסת שמר האפייה *Saccharomyces cerevisiae*.

שאלת המחקר: האם שינוי בריכוז הסוכר או סוג הסוכר ישפיע על קצב תסיסת שמר האפייה?

שימו לב! שאלת מחקר חייבת להסתיים בסימן שאלה, כמו כן, חייבים להגדיר בתוך השאלה את משתני הניסוי (המשפיע והמושפע). במקרה שלנו (ריכוז סוכר וקצב תסיסת השמרים). לעיתים יש התנגדות לניסוח שאלה המתחילה במלה האם, ומעדיפים להשתמש במילה כיצד, באיזה אופן וכיוצא באלה. זאת נשאר לשיקולכם, יחד עם זאת ניתן להשתמש בשאלה זו אם כך אתם מעדיפים.

שיטות וחומרים

בחלק זה מתאר החוקר כיצד הוכנו התמיסות השונות, מהיכן נרכשו החומרים, באיזה ריכוזים השתמשו, ובאיזה כלים נעשה שימוש. חלק זה חשוב מאד שכן, מי שלא בצע את הניסוי אמור להיות מסוגל לשחזר את הניסוי בהתבסס על השיטות והחומרים שכתבתם.

הכנת התמיסות

מאחר ובניסוי נרצה לשנות את ריכוז הסוכר, אך לשמור על ריכוז שמרים קבוע, חשוב שנמצא דרך נוחה ומדויקת לעשות זאת. אפשרות אחת היא לשקול כל פעם כמויות שונות של חומרים. דרך זו מסורבלת ועלולה להוביל לטעויות. במיוחד בשקילה של כמויות קטנות מאחר וסטייה קטנה בשקילה עלולה להוביל לסטייה גדולה מבחינה אחוזית:

- אם במקום לשקול 1 גרם גלוקוז נשקול בטעות 0.9 גרם אזי הסטייה היא 10%. אך אם נכין תמיסה מרוכזת ובמקום לשקול 100 גרם נשקול 99 גרם, הרי הסטייה היא של 1% בלבד. לכן במעבדה נהוג להכין תמיסות מרוכזות ואז למהול אותן לריכוז העבודה הסופי. נפעל במעבדה זו באותו האופן.

בחירת ריכוז העבודה של החומרים

בכל עבודת מחקר, על החוקר לבחור את ריכוזי העבודה של החומרים. בחירה זו נעשית בדרך כלל בהתאם לקריאה מקדימה של מאמרים מדעיים והסקה מה יהיה הטווח הנכון של הריכוזים. במעבדה זו בחרנו לעבוד בריכוזי הגלוקוז הבאים: 0%, 18%, 1.8% ו-0.18%. שימו לב שבחרנו לעבוד בריכוזים הקטנים זה מזה פי 10. הבדלים של פי 10 אחד מהשני נקראים "סדר גודל". כלומר, כאשר חוקר מתאר שינוי של שני סדרי גודל בפעילות של אנזים מסוים, הוא מתכוון שהיה שינוי של פי 100, וכן הלאה.

קביעת החזרות וקבוצות הביקורת

כדי לבדוק את השפעת ריכוז הסוכר על קצב תסיסת השמרים, ניתן לבחור ארבע מבחנות ובכל אחת מהן להוסיף סוכר בהתאם לריכוז שבחרנו. אולם, דרך זו הינה מהימנה מבחינה מדעית ועל כן מקובל נהוג לבצע חזרות "טכניות" בכל ניסוי. כלומר, עבור כל סוג "טיפול" (ריכוז גלוקוז במקרה שלנו), נכין מספר מבחנות זהות. לאחר מכן נוכל לבצע ממוצע של התוצאות עבור כל מבחנה, לחשב את סטיית התקן והשונות של הנתונים, ובכך להגדיל את מהימנות התוצאות שלנו.

כדי לבחון האם התוצאה שקבלנו תלויה בטיפול שבצענו, למשל "ריכוז הסוכר", עלינו למצוא דרך באמצעותה נוכל לתקף את התוצאות. ברשות החוקר עומדים כלים רבים לעשות זאת. במחקר זה נכיר את הבסיסיים שבהם.

ממוצע

חישוב ממוצע של חזרות "טכניות" מהווה שלב ראשון בניתוח הנתונים. הממוצע יאפשר לנו לבחור כיצד כל אחד מהנתונים שלנו שונה מהממוצע. נתבונן למשל בטבלה 23. בשני המקרים, ממוצע התוצאות הוא 3. אבל שימו לב שבניסוי השני השונות בין כל אחת מהחזרות הייתה מאד גבוהה. יתכן וזאת המציאות, אך יתכן וגם מדובר על סטייה שמקורה בהכנה לא נכונה של התמיסות. ככלל נשאף לשונות קטנה בין החזרות, אך זה מאד תלוי במערכת הניסוי שלנו.

טבלה 23: השפעת ריכוז הגלוקוז על קצב פעילות האנזים X.

מבחנה	ניסוי 1	ניסוי 2
1	3	1
2	3	1
3	3	7
ממוצע	3	3

שונות

השונות היא המרחק (הריבועי) הממוצע של כל ערך מהממוצע של כל הערכים. כלומר, אם השונות היא אפס, כל הערכים זהים. ככל שהערך של השונות עולה, כך הערכים "מפוזרים" יותר. בדוגמה שלנו, השונות בניסוי הראשון היא "0", ואילו בניסוי השני היא "12"(!).

סטיית תקן

סטיית תקן מתארת אף היא את פיזור התוצאות סביב הממוצע, ומבחינה מתמטית ערכה הוא השורש הריבועי של השונות.

מובהקות סטטיסטית

מדד המשמש את החוקר לבחון מהי ההסתברות שהתוצאות שהתקבלו הן תוצאה של הטיפול שבוצע ולא תוצאות שיכלו באותה מדה להתרחש במקרה. לדוגמה: ההנחה היא שאם נטיל מטבע 10 פעמים, בחמישים אחוז מהמקרים נקבל "עץ" ובשאר המקרים נקבל "פלי". לעומת זאת, אם נצפה צד אחד של המטבע בציפוי כלשהו ונחזור על הניסוי, אך הפעם נקבל בעשרים אחוזים מהמקרים "עץ" ובשאר המקרים "פלי", תוצאה שהיא מאד שונה מהתוצאה הסטטיסטית הצפויה, נוכל להסיק, שלציפוי המטבע הייתה השפעה על התוצאה.

מתחילים לעבוד

הכנת תמיסות:

1. הרחיפו 40 גרם שמרי שמרית ב-50 מ"ל מים מזוקקים פושרים וערבבו היטב. השלימו לנפח סופי של 100 מ"ל.
- שימו לב! ריכוז התמיסה שהכנו הוא 40%. 40 גרם שמרים בתוך נפח סופי של 100 מ"ל מים. למושג נפח סופי יש חשיבות רבה בהכנת תמיסות. אם הייתם מוסיפים 100 מ"ל מים ל-40 גרם שמרים הנפח הסופי של התמיסה היה גדול מ-100 מ"ל ובהכרח הריכוז שהכנתם היה נמוך מכך. בכל הכנה של תמיסה חשוב לקבוע את הריכוז הסופי שלה ולדאוג שהנפח הסופי של התמיסות השונות יהיה זהה.

2. המיסו 36 גרם גלוקוז ב-50 מ"ל מים מזוקקים והשלימו לנפח סופי של 100 מ"ל מים.

3. בחרנו לעבוד בארבעה ריכוזים של גלוקוז, כמו כן, נבצע שלוש חזרות לכל ריכוז. מכאן שסה"כ עלינו להכין 12 מבחנות. את הניסוי נבצע במזרקים כך שנוכל לעקוב אחר שינוי במיקום הבוכנה של המזרק לאורך הניסוי. טבלה 24 היא דוגמה לאופן שבו עלינו לרכז את הנתונים עבור כל קבוצת טיפול. קראו אותה בעיון לפני שתתחילו להכין את המבחנות.

טבלה 24: השפעת ריכוז הגלוקוז על קצב פעילות האנזים X.

מבחנה מספר	נפח (במ"ל) תרחיף שמרים שהוסף מתמיסה בריכוז 40% (גרם למ"ל)	נפח גלוקוז שהוסף (במ"ל) מתמיסה בריכוז 36% (גרם למ"ל)	נפח מים שהשלים לנפח סופי של 10 מ"ל	ריכוז גלוקוז סופי במולר	ריכוז גלוקוז סופי (%)
1	5	0	5	0	0
2	5	0	5	0	0
3	5	0	5	0	0
4	5	5	0	1	18%
5	5	5	0	1	18%
6	5	5	0	1	18%
7	5	0.5	4.5	0.1	1.8%
8	5	0.5	4.5	0.1	1.8%
9	5	0.5	4.5	0.1	1.8%
10	5	0.05	4.95	0.01	0.18%
11	5	0.05	4.95	0.01	0.18%
12	5	0.05	4.95	0.01	0.18%

מנתחים את הטבלה:

היתרון בשימוש בטבלה מסוג זה הוא שהיא מאפשרת לראות בצורה מרוכזת את כל קבוצות הטיפול וזה כלי נהדר לארגון של מידע. אחד הדברים שהטבלה מלמדת אותנו הוא אילו נפחים עלינו לקחת מכל תמיסה כדי לקבל את ריכוזי העבודה שבחרנו. קחו בחשבון שחישוב ריכוזים היא משימה מאד מסובכת להרבה אנשים בכלל זה לסטודנטים מנוסים. נעבור ביחד על החישובים.

1. חישוב ריכוז השמרים: ריכוז תמיסת המקור שלנו הוא 40%. מתמיסה זו לקחנו 5 מ"ל והשלמנו בעזרת מים לנפח סופי של 10 מ"ל. מכאן שמהלנו את התמיסה פי-שניים. כך שהריכוז הסופי הוא 20%.

2. חישוב ריכוז הגלוקוז במבחנות 4-6: ריכוז תמיסת המקור של הגלוקוז הוא 36% למבחנות 4-6 הוספנו 5 מ"ל גלוקוז והשלמנו לנפח סופי של 10 מ"ל עם תרחיף שמרים. מכאן שמהלנו את תמיסת הגלוקוז פי שניים ולכן ריכוז הגלוקוז במזרקים אלו הוא 18%.

3. דרך מתמטית לחישוב ריכוזים: $C_1 V_1 = C_2 V_2$

$$C_1 = \text{ריכוז התמיסה המקורית}$$

$$V_1 = \text{נפח התחלתי}$$

$$C_2 = \text{ריכוז סופי}$$

$$V_2 = \text{נפח סופי}$$

$$36\% \times 5\text{ml} = C_2 \times 10\text{ml}$$

$$C_2 = 18\%$$

מהלך הניסוי:

1. סמנו 12 מזרקים בספרות 1-12.
 2. הוסיפו לכל אחד מהמזרקים את התמיסות המתאימות בהתאם למתואר בטבלה 25.
 3. לחצו על בוכנת המזרק עד שהתמיסה תגיע לפתח היציאה של המזרק וסגרו את פתח המזרק בעזרת פקק. ודאו כי כל הבוכנות נמצאות כעת בגובה 10 מ"ל, שכן זה נפח הנוזל הסופי שהוספנו לכל מזרק.
 4. הכניסו כל שלושה מזרקים מאותו הטיפול לכוס כימית עם מים בטמפרטורה של 37°C .
 5. העבירו את ארבע הכוסות הכימיות לאמבט מים שחומם לטמפרטורה זהה.
 6. עקבו אחר שינוי גובה בוכנת המזרק כל 5 דקות במשך 30 דקות.
 - שימו לב! לעיתים הבוכנה יכולה לעוף החוצה, הזהרו מפגיע בעיניים או במכשירים במעבדה.
 7. ארגנו את התוצאות בטבלה שתכינו מראש כמו טבלה 22.
- טבלה 25: השפעת ריכוז הגלוקוז על קצב תסיסת השמרים. התוצאות בטבלה מתארות את נפח הנוזל בכל אחד מהמזרקים לאורך 30 דקות.

זמן מתחילת הניסוי								
30	25	20	15	10	5	0	טיפול	מזרק מספר
								1
								2

ניתוח תוצאות

הקלידו את הנתונים בגליון אקסל ועבור על טיפול חשבו את ממוצע גובה הבוכנה בכל 5 דקות. הציגו את הנתונים בתרשים מתאים.

דיון ומסקנות

בחלק הזה עליכם לסכם את התוצאות באופן מילולי, להסתמך על התוצאות שקבלתם ולהסביר אותן בהתאם להשערת המחקר ולספרות המקצועית. למשל, האם התוצאות שלכם עולות בקנה אחד עם המצופה, אם לא מדוע? וכו'.

טבלה 24: השפעת ריכוז הגלוקוז על קצב תסיסת שמרים - תוצאות

שינוי גובה הבוכנה מתחילת הניסוי						מספר	טיפול	ניסוי מס'
דקות 25	דקות 20	דקות 15	דקות 10	דקות 5	זמן 0			
7	7	7	7	7	10	1	ללא סוכר	1
6	6	6	6	6	10	2	ללא סוכר	1
6	6	6	6	6	10	3	ללא סוכר	1
40	40	35	31	17	10	4	1M	1
36	35	31	20	15	10	5	1M	1
45	40	40	35	28	10	6	1M	1
27	27	24	19	13	10	7	0.1M	1
28	27	25	23	14	10	8	0.1M	1
27	24	24	20	14	10	9	0.1M	1
13	13	12	11	11	10	10	0.01M	1
14	13	11	13	13	10	11	0.01M	1
14	14	13	12	13	10	12	0.01M	1

