

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 (לדוגמא 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.
- חזרו 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			

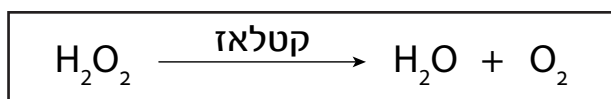
משוואה 1: חישוב ריכוז האתנול בתמיסה. אתנול מסחרי מגיע בריכוזים של 96% או 99%. שאלו את המורה לגבי ריכוז האתנול שקבלתם ובהתאם לכך חשבו את ריכוז האתנול בתמיסה.

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 שישמש 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 ההדגרה 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 ההדגרה 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. אנזים המזרז את תהליך פירוק סוכרוז (דו-סוכר) לגלוקוז ופרוקטוז (חד-סוכרים) הוא **האינברטאז**. אנזים זה מצוי במרבית הצמחים, בשמרים ובדבורים (משתמשות באנזים לצורך הפקת דבש מצוף). האנזים אינברטאז מצוי גם במעיים של יונקים ולאחר פירוק הסוכרוז תוצרי הפירוק יכולים להיספג לזרם הדם. האנזים 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 האנזים 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 פיפטת. 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.	

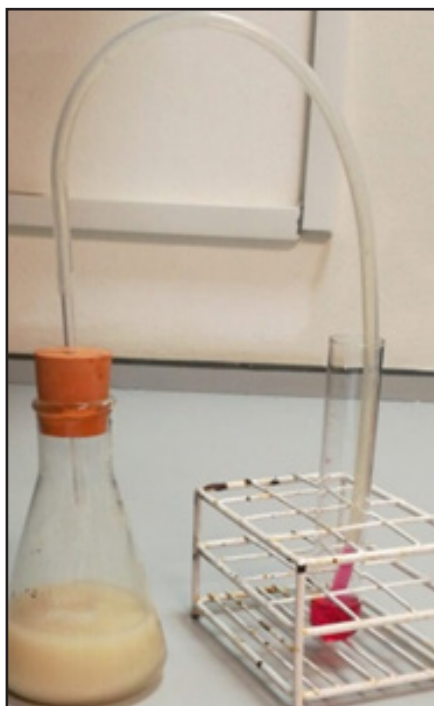
ניסוי 2: מהו הגז הנפלט בעת נשימת השמרים?

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 חמים
- 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	

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 10°C דקות בטמפרטורה של 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	

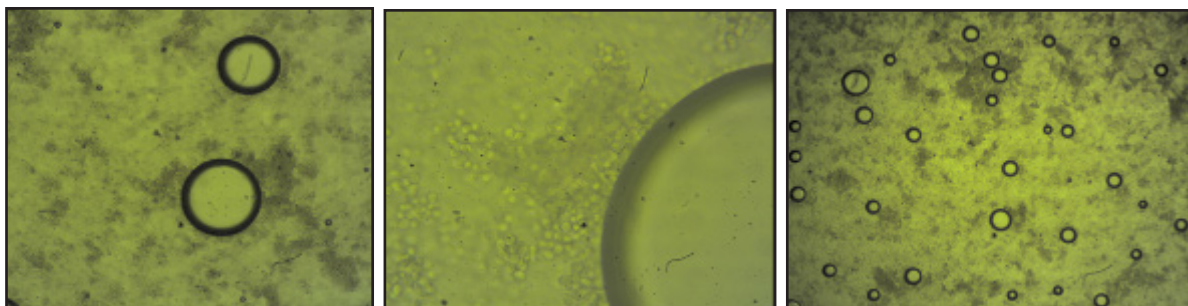
ככל שריכוז הסוכר היה גבוה יותר, קצב תסיסת השמרים היה מהיר יותר ובהתאם נפלט יותר פחמן דו-חמצני. הצטברות הגז במבחנה הובילה לעליה בלחץ מה שהוביל לבסוף לשחרור הפקק.

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).)