**ورقة معمل (٥): الإنزيمـــــــات**

**أولا: اختبار النشاط الإنزيمي للبولي فينول أكسيديز**

١/ حضري 3 أنابيب اختبار ( أ، ب، ج) كما يلي:

**أنبوبة (أ):** 4 قطرات من المستخلص الإنزيمي + 4 قطرات من الكاتيكول

**أنبوبة (ب):** 4 قطرات من المستخلص الإنزيمي + 4 قطرات من الماء المقطر

**أنبوبة (ج):** 4 قطرات من الكاتيكول + 4 قطرات ماء مقطر

٢/ ضعي الأنابيب الثلاثة في حمام مائي37°C ، رجي كل أنبوبة 5 دقائق لتهويتها وذلك لإضافة الأوكسجين للمحلول. ثم دوني اللون الظاهر.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **زمن الانتظار بالدقائق** | **كثافة اللون - ، + ، ++ ، +++** | | |
| **أ** | **ب** | **ج** |
| **0** |  |  |  |
| **5** |  |  |  |
| **10** |  |  |  |
| **15** |  |  |  |
| **20** |  |  |  |
| **25** |  |  |  |

**ثانيًا: إختبار الطبيعة الكيميائية لإنزيم بولي فينول أكسيديز:**

١/ حضري 4 أنابيب ( أ، ب، ج ) كما يلي:

**أنبوبة (أ):** المحضرة سابقاً ، استخدميها كمقياس .

**أنبوبة (ب):** 4 قطرات من المستخلص الأنزيمي + 4 قطرات من ثلاثي كلورو حمض الخليك، رجي الأنبوبة جيداُ انتظري 5 دقائق ثم أضيفي 4 قطرات من الكاتيكول و ضعيها في حمام مائي 37°م لمدة 10 دقائق، قارني بأنبوبة (أ).

**أنبوبة (ج):** 4 قطرات من المستخلص الأنزيمي + بضعة بلورات من phenyl thiourea، استمري بالرج لمدة 5 دقائق ثم أضيفي 4 قطرات من الكاتيكول و ضعيها في حمام مائي 37°م لمدة 10 دقائق، قارني بأنبوبة (أ).

سجلي مشاهدتك بالجدول الخاص بالنتائج.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **الانبوبة** | **المادة المضافة** | **كثافة اللون - + ++ +++** |
| A | **مقياس** |  |
| B | **ثلاثي كلور حمض الخليك** |  |
| C | **Phenyl thiourea** |  |

**ثالثا: إختبار خصوصية مادة التفاعل لإنزيم بولي فينول أكسيديز:**

١/ حضري 3 أنابيب (أ، ب، ج) كما يلي:

**أنبوبة (أ):** 4 قطرات من المستخلص الإنزيمي + 4 قطرات من الكاتيكول، (**المحضرة سابقاً**)

**أنبوبة (ب):** 4 قطرات من المستخلص الإنزيمي + 4 قطرات من محلول الفينول.

**أنبوبة (ج):** 4 قطرات من المستخلص الإنزيمي + 4 قطرات من هيدروكينون.

٢/ رجي الأنابيب وضعيها في حمام مائي37 °C لمدة 5 دقائق.

٣/ افحصي الأنابيب ثم سجلي لون كل أنبوبة

|  |  |
| --- | --- |
| **الانبوبة** | **كثافة اللون - + ++ +++** |
| **كاتيكول** |  |
| **فينول** |  |
| **هيدروكينون** |  |

**رابعا: إختبار تأثير درجة الحرارة على النشاط إنزيم بولي فينول أكسيديز:**

١/ حضري 3 أنابيب (أ ، ب، ج).

٢/ أضيفي 4 قطرات من المستخلص الإنزيمي في كل الأنابيب، وضعيها في حمام مائي لمدة 10 دقائق عند درجات مختلفة

**أنبوبة (أ):** عند صفر درجة مئوية "وعاء به ثلج"

**أنبوبة (ب):** عند 37 م°

**أنبوبة (ج):** عند 70 م°

٣/ أضيفي 4 قطرات من محلول الكاتيكول في كل أنبوبة مع الرج بدون إخراجها من الحمام المائي.

٤/ انتظري 10 دقائق ثم افحصي كل أنبوبة بدون إخراجها من حمامها المائي وسجلي ملاحظاتك على .اللون في الجدول الخاص بالنتائج.

|  |  |
| --- | --- |
| **كثافة اللون - + ++ +++** | **الانبوبة** |
|  | **0** |
|  | **37** |
|  | **70** |

**خامسا: الكشف عن الطبيعة الكيميائية للإنزيمات:**

ضعي 1 مل (4 قطرات) من المستخلص الإنزيمي + 3 مل (12 قطره) من بيوريت.

|  |  |
| --- | --- |
| **الأنبوبة** | **الإستنتاج** |
| **المستخلص الإنزيمي + بيوريت** |  |