**تقرير (7)**

**الإنزيمـــــــات**

**أولا: انزيم بولي فينول أكسيديز**

1. **اختبار النشاط الإنزيمي للبولي فينول أكسيديز**

1- حضري 3 أنابيب اختبار ( أ، ب، ج) كما يلي:

أنبوبة (أ):

15 قطرة من المستخلص الإنزيمي + 15 قطرة من الكاتيكول

أنبوبة (ب):

15 قطرة من المستخلص الإنزيمي + 15 قطرة من الماء المقطر

أنبوبة (ج):

15 قطرة من الكاتيكول + 15 قطرة ماء مقطر

2- 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** |  |  |  |

1. **إختبار الطبيعة الكيميائية لإنزيم بولي فينول أكسيديز:**

حضري 4 أنابيب ( أ، ب، ج، د ) كما يلي:

**أنبوبة (A):**

المحضرة سابقاً ، استخدميها كمقياس .

**أنبوبة (B):**

15 قطرة من المستخلص الأنزيمي + 15 قطرة من ثلاثي كلورو حمض الخليك، رجي الأنبوبة جيداُ انتظري

5 دقائق ثم أضيفي 15 قطرة من الكاتيكول و ضعيها في حمام مائي 37°م لمدة 10 دقائق، قارني بأنبوبة (أ).

**أنبوبة (C):**

15قطرة من المستخلص الأنزيمي + بضعة بلورات من phenyl thiourea، استمري بالرج لمدة 5 دقائق

ثم أضيفي 15 قطرة 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** |  |

1. **إختبار خصوصية مادة التفاعل لإنزيم بولي فينول أكسيديز:**

1- حضري 3 أنابيب (أ، ب، ج) كما يلي:

**أنبوبة (أ):**

15 قطرة من المستخلص الإنزيمي + 15 قطرة من الكاتيكول، (**المحضرة سابقاً**)

**أنبوبة (ب):**

15 قطرة من المستخلص الإنزيمي + 15 قطرة من محلول الفينول.

**أنبوبة (ج):**

15 قطرة من المستخلص الإنزيمي + 15 قطرة من هيدروكينون.

2- رجي الأنابيب وضعيها في حمام مائي37 °C لمدة 5 دقائق.

3- افحصي الأنابيب ثم سجلي لون كل أنبوبة

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

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

1- حضري 3 أنابيب (أ ، ب، ج).

2- أضيفي 11 قطرة 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°

3- أضيفي 15 قطرة من محلول الكاتيكول في كل أنبوبة مع الرج بدون إخراجها من الحمام المائي.

4- 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** |

**5) الكشف عن الطبيعة الكيميائية للإنزيمات:**

ضعي 1 مل من المستخلص الإنزيمي + 3 مل من بيوريت.

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