

תהליכי הפקת אנרגיה בשמרים מקובעים והכרת האינדיקטור פנול-פתלאין

מבוסס על בעיה 1 חלק ב, בחינת הבגרות המעשית בביולוגיה, קיץ 2005

בניסוי זו תעקוב אחר תהליך המתרחש בתאים חיים של שמרים.

בניסוי שתערוך תשתמש בשמרים מקובעים.

השמרים המקובעים הוכנו כך: הוסיפו תאי שמרים לאגר נוזלי בטמפרטורה גבוהה מ- 40°C . כאשר קיררו לטמפרטורת החדר את תרחיף האגר והשמרים, הוא נקרש. דרך הכנת השמרים המקובעים אינה פוגעת בתהליכי החיים בתאי השמרים.

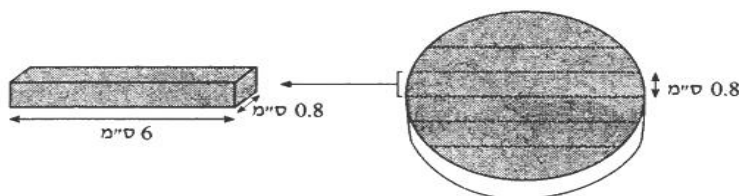
בשלב זה תעקוב אחר תהליך נשימה בשמרים מקובעים הנמצאים בתנאים שונים. השימוש בשמרים מקובעים מאפשר להפריד בין תאי השמרים לבין תוצרי תהליך הנשימה.

א. על שולחן צלחת פטרי גדולה, המסומנת במילים "שמרים מקובעים לשלב ב", ובה שמרים מקובעים באגר.

- בעזרת סכין, הפרד בין האגר ובין שולי הצלחת.

- הפוך את הצלחת עם האגר על פיסת נייר מילימטרי, והרם את הצלחת מהנייר. האגר יישאר על הנייר.

ב. היעזר בסכין ובנייר המילימטרי, וחתוך מהאגר ארבע תיבות – כל אחת ברוחב 0.8 ס"מ, ובאורך 6 ס"מ (ראה איור). כדי שהחיתוך יהיה ישר, היעזר בסרגל



ג. סמן ארבע מבחנות במספרים 1, 2, 3, 4.

- רשום: גלוקוז, על שתי פיפטות - פיפטה של 10 מ"ל, ופיפטה של 1 מ"ל.

- רשום: מים על פיפטת של 10 מ"ל.

ד. לרשותך כלי ובו תמיסת גלוקוז בריכוז 0.3M.

עליך להכין תמיסות גלוקוז בריכוזים שונים במבחנות 1-4, על פי הכמויות שבטבלה.

- קרא בעיון את ההוראות שבטבלה לפני הכנת התמיסות.

- תחילה הכנס למבחנות את המים, ואחר כך את תמיסת הגלוקוז.

המבחנה	מים	נפח תמיסת גלוקוז	הוראות
1	0	9 מ"ל מתמיסת גלוקוז 0.3M	
2	9 מ"ל	1 מ"ל מתמיסת גלוקוז 0.3M	לאחר שהכנת את התמיסה במבחנה 2 ערבב אותה. עבור להוראות להכנת התמיסה במבחנה 3
3	9 מ"ל	1 מ"ל מתמיסת הגלוקוז המהולה שבמבחנה 2	(1) השתמש בפיפטה של 1 מ"ל שסימנת להעברת התמיסה ממבחנה 2 למבחנה 3. (2) ערבב את התמיסה המהולה שהכנת במבחנה 3 הוצא ממנה 1 מ"ל לכלי פסולת.
4	9 מ"ל	0	

שים לב: לאחר הכנת התמיסות, נפח הנוזל בכל מבחנה הוא 9 מ"ל.

חשב את הריכוז של תמיסות הגלוקוז במבחנות 2-3.

ה. הכן אמבט חמים בטמפרטורה בטווח של 40°C - 43°C .

ו. סמן מבחנה נקייה במספר 5. למבחנה זו הכנס 4 מ"ל תמיסת גלוקוז בריכוז 0.3M.

ז. הכנס את מבחנות 1-4 ואת מבחנה 5 לאמבט המים שהכנת.
- הקפד שגובה המים באמבט יהיה גבוה מעט מגובה הנוזל במבחנות.
- המתן 3 דקות.

ח. הוצא את מבחנה 1 מהאמבט, והכנס לתוכה אחת מהתיבות של השמרים המקובעים באגר שהכנת (בסעיף ב). פקוק את המבחנה, והחזר אותה לאמבט המים.
- חזור על פעולות אלה עם מבחנות 2-4.

ט. רשום את השעה _____, והמתן 10 דקות.
הקפד לשמור על הטמפרטורה באמבט בטווח של 40°C - 43°C במהלך כל הניסוי.

בזמן ההמתנה ענה על שאלות 1-2א, וקרא בעיון את ההוראות בסעיפים י-יז.
על שאלה 2ב ענה רק לאחר שתבצע את ההוראה בסעיף טז.

י. 10 דקות לאחר שהכנסת את המבחנות לאמבט המים, הוצא את כל המבחנות 1-5 מהאמבט והעבר אותן למבחנות.

יא. סמן ארבע כוסות לשימוש חד-פעמי במספרים 1-4.

בסעיפים יב-יג תפריד בין כל אחת מתיבות השמרים המקובעים לבין הנוזל שבו הושרתה.

יב. הצב משפך בכוס 4. שפוך את התכולה של מבחנה 4 למשפך – הנוזל יישפך לכוס, ותיבת האגר תישאר במשפך.
- השלך את תיבת האגר לכלי פסולת.

- בעזרת אותו משפך, חזור על פעולות אלה עם מבחנות 2, 3 ו-1 ועם כוסות 2, 3, 1 בהתאמה.

יג. בעזרת פיפטה נקייה של 5 מ"ל, החזר 4 מ"ל נוזל מכוס 4 למבחנה 4.
- בעזרת אותה פיפטה חזור על פעולה זו עם כוסות 2, 3 ו-1 ועם מבחנות 2, 3, 1 בהתאמה.

פנול פתלאין הוא אינדיקטור לזיהוי חומצה/בסיס. בתמיסה חומצית וניטרלית פנול פתלאין חסר צבע, ובתמיסה בסיסית צבעו ורוד-סגול. לידיעתך: פחמן דו-חמצני המומס במים יוצר תמיסה חומצית.

- יד. הוסף 2 טיפות פנול פתלאין לכל אחת מחמש המבחנות 1-5.
- טו. באמצעות פיפטת פסטר, הוסף טיפה אחת של תמיסת בסיס הנתרן (NaOH) למבחנה 5. טלטל את הנוזל במבחנה במשך כחצי דקה. אם לא התקבל צבע ורוד-סגול, הוסף עוד טיפה של NaOH, וטלטל שוב במשך כחצי דקה. הצבע במבחנה זו צריך להיות ורוד-סגול.
- טז. באמצעות פיפטת פסטר, טפטף טיפה אחר טיפה של NaOH למבחנה 4 וספור את הטיפות עד שצבע הנוזל יהיה ורוד-סגול – זְקָה לצבע הנוזל במבחנה 5. טלטל את המבחנה כחצי דקה. אם צבע הנוזל אינו יציב, המשך לטפטף NaOH ולספור את הטיפות, עד שיתקבל צבע יציב שאינו משתנה כחצי דקה.
- חזור על פעולות אלה, עם מבחנות 3, 2, 1.
- יז. סכם את מערך הניסוי ואת תוצאותיו בטבלה.

על לוח, במהלך ההשתלמות, נברר את הבסיס לביולוגי והכימי לאופן הבדיקה.

ב ה צ ל ח ה !