**ניסוי חקר – מסיסות קזאין במים (רמה II).**

**עיבדה: אורית מולווידון על בסיס ניסוי של ד"ר בת שבע כהן, מרים שטרן, שרה אליאס מלקט ניסויים בביוכימיה מכשירית.**

**הנחיות לתלמיד**

**הוראות כלליות**.

* קראו היטב את כל ההנחיות לפני תחילת ביצוע הניסוי.
* הרכיבו משקפי מגן ושמרו על כללי הבטיחות .
* הקפידו על :

מילוי מדויק אחר ההנחיות לבצוע הניסוי.

רישום תצפיות מפורטות, מדויקות ורבות ככל האפשר

דווח ברור ומאורגן של התצפיות (מומלץ לארגן את התצפיות בטבלה)

חלוקת תפקידים בתוך הקבוצה ושיתוף כל חברי הקבוצה בפעילות.

* בדקו שנמצאים ברשותכם כל הציוד והחומרים הדרושים לביצוע הניסוי.
* השתמשו בשפה מדעית מדויקת ונכונה במהלך כתיבת הדו"ח.
* הגישו דוח מאורגן, קריא ואסתטי.

**ציוד וחומרים:**

כוס כימית בנפח של 400 מ"ל סטופר

pH מטר או נייר pH אוניברסלי גיליון בריסטול שחור

פיפטת פסטר או ביורטה תמיסת 1M HCl

משורה תמיסת קזאין 0.25%

פלטת הבחישה מגנט

**שלב ראשון- ניסוי מקדים**:

1. כייל את מכשיר ה-pH מטר.
2. העבר כ-250 מ"ל תמיסת קזאין 0.25% לכוס כימית בנפח של 400 מ"ל. שים בתוכה בוחש מגנטי והעמד את הכוס על פלטת הבחישה.
3. טבול בתוך התמיסה את האלקטרודה של pH מטר. העמד מאחורי הכוס גיליון בריסטול שחור והפעל את הבחישה.
4. טפטף, בעזרת פיפטת פסטר או ביורטה, תמיסת 1M HCl לתוך תמיסת החלבון ושים לב לשינויים החלים בתמיסת החלבון. רשום תצפיות רבות, מפורטות ומגוונות.
5. המשך בטפטוף החומצה עד שיתקבל משקע שייראה כעכירות לבנה יציבה. רשום את ה- pH בנקודה זו ובלי להמתין יותר מ-15 שניות הוסף עוד טיפה או שתיים של תמיסת HCl 1M עד להיעלמות המשקע. רשום תצפיות רבות, מפורטות ומגוונות.

**שלב שני: מהלך חקר ותכנון הניסוי.**

* 1. שאלו שאלות רבות (לפחות 5) ומגוונות שקשורות לניסוי.

2. בחרו שאלה אחת שברצונכם לחקור ונסחו אותה כשאילת חקר.

3. העלו השערה מנומקת שמתאימה לשאלת חקר שניסחתם. נמקו את השערתכם על סמך ידע מדעי כולל חיפוש ברשת.

4. תכננו ניסוי שבודק את ההשערה ועונה על השאלה שבחרתם.

* הגדירו את המשתנה התלוי והבלתי תלוי.
* ציינו גורמים קבועים.
* הגדירו את הבקרה.
* רשמו מהלך מפורט של שלבי הניסוי. תציגו את שלבי הניסוי בצורה מפורטת ובסדר לוגי.
* הגישו רשימה מפורטת של חומרים וציוד לניסוי המתוכנן.
* הגישו למורה לאישור ואחר כך ללבוראנטית.

**השלב השלישי – ביצוע הניסוי והסקת המסקנות.**

5. בצעו את הניסוי שתכננתם כפי שאושר על ידי המורה.

* הקפידו על רישום מפורט, מדויק וברור של התצפיות.
* הציגו את התוצאות בצורה מאורגנת (טבלה, גרף, תרשים וכו')
* פרשו ונתחו את התוצאות בצורה גראפית.
* עבדו, במידת האפשר, את התוצאות בצורה גראפית.

6. הסיקו מסקנות על סמך כל התוצאות של הניסוי.

* הסבירו את מסקנותיכם על בסיס ידע מדעי רלוונטי ונכון.
* התייחסו לקשר שבין המסקנות לשאלת החקר והשערה.

7. בדיון המסכם הקבוצתי:

* התייחסו בביקורתיות לתוצאות (מגבלות, דיוק וכו')
* התייחסו בביקורתיות למסקנות (מידת ההתאמה בין המסקנה להשערה, תוקף מסקנות)
* במידת הצורך הצביעו על השינויים הרצויים בתהליך החקר (בניסוח השאלה, בתכנון הניסוי...)
* רשמו שאלות נוספות שהתעוררו בעקבות הניסוי כולו.

8. הגישו דוח מאורגן, אסתטי וקריא.

**עבודה נעימה.**

**חומר רקע למורה:**

חלבונים הם ביופולימרים וחומצות אלפא אמיניות הן מונומרים של חלבונים. חומצות אמיניות יכולות להתנהג כחומצה וכבסיס לכן הן חומרים בעלי תכונה של אמפותריות.

**pKa** מציין pH בו מחצית ממולקולות החומצה מסרה פרוטון ומחצית עוד לא מסרה פרוטון.

מטען החומצה, הפפטיד והחלבון משתנה עם שינויי ה- pH בהתאם ל-pKa של הקבוצות המתייננות.

**נקודה איזואלקטרית pI** של חומצה אמינית, של פפטיד או של חלבון מוגדרת כ- pHבו סכום המטענים השליליים שבו שווה לסכום המטענים החיוביים. כלומר, כאשר pH =pI מטען הכולל שעל החלבון שווה ל-0 .

**שינויים ב- pHמשפיעים על מסיסות החלבון:**

בתחום pH ששווה לנקודה איזואלקטרית מסיסות החלבון נמוכה ביותר בהשוואה למסיסותם בתחומי PH אחרים. כתוצאה מכך החלבון שוקע, כי ב- pH זה קבוצות - COO ּ  NH3 טעונות וכך נוצרים כוחות המשיכה בין שרשראות החלבון, השרשראות מתקרבות אחת לשנייה ולמולקולות המים קשה להפריד ביניהן.

כאשר pH לא שווה ל- pI המטען על השרשראות החלבון חיובי או שלילי ופועלים ביניהן כוחות הדחייה. השרשראות דוחות אחת את השנייה ולמים קל יותר לחדור בין השרשרות, ליצור אינטראקציות מתאימות ולהפריד בין השרשרות, כתוצאה מכך מולקולות החלבון מתפזרות בין מולקולות המים והוא מתמוסס.

ככל שהפרש בין ה- pH לבין pI גדול יותר המטען החשמלי גדול יותר (חיובי או שלילי), הדחייה בין שרשראות החלבון גדולה יותר והמסיסות טובה יותר.

p.I

pH

מסיסות

+-

**-**

- -

**+ +**

**גרף שמראה תלות בין מסיסות ל- pH:**