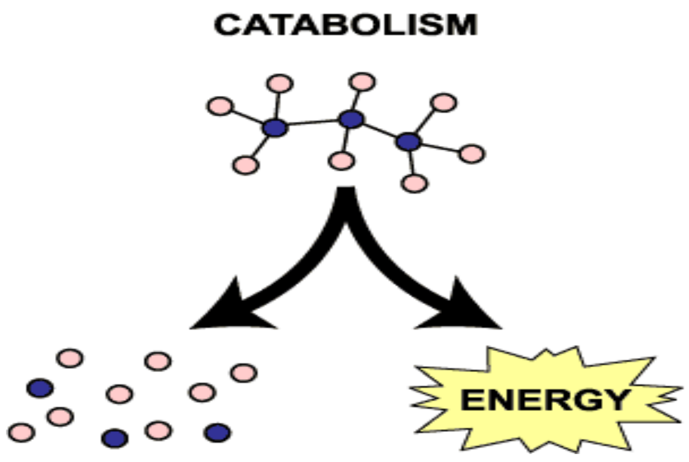
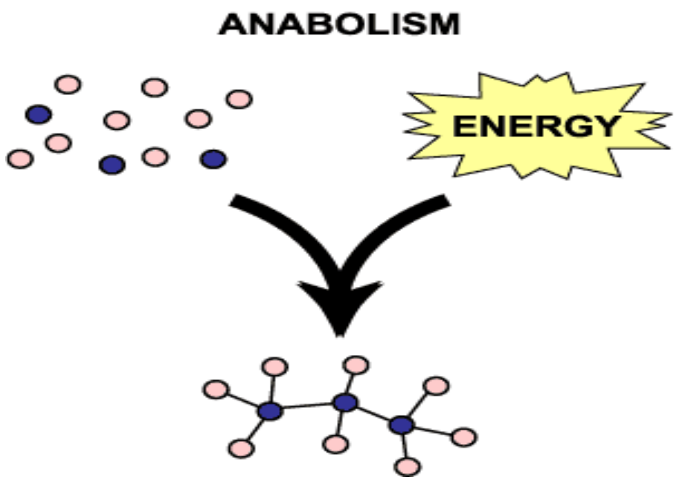
(5)
الإنزيمات
Enzymes

ما هي الإنزيمات (Enzymes) ؟

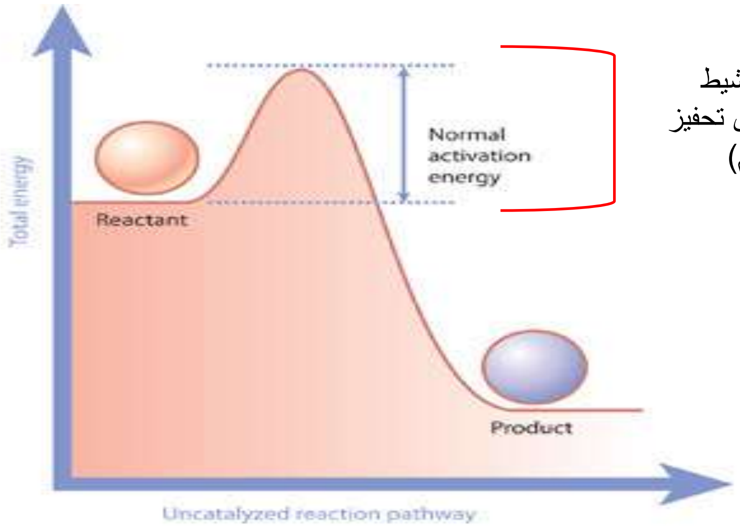
- **الوظيفة الأساسية** التي تقوم بها الخلايا الحية في الكائن الحي هي إنشاء مركبات معقدة من مواد بسيطة والعكس ، أي تفكيك تلك المركبات المعقدة إلى مواد أبسط.
- إن هذه القدرة التي تتمتع بها الخلايا على تكوين مواد عضوية معقدة من مواد أخرى أبسط تركيباً (أو العكس) تحتاج لعدد كبير من التفاعلات الكيميائية المختلفة، وتخضع هذه التفاعلات لآليات تتحكم في سرعتها واتجاهها عن طريق جزيئات متخصصة تسمى **الإنزيمات.**



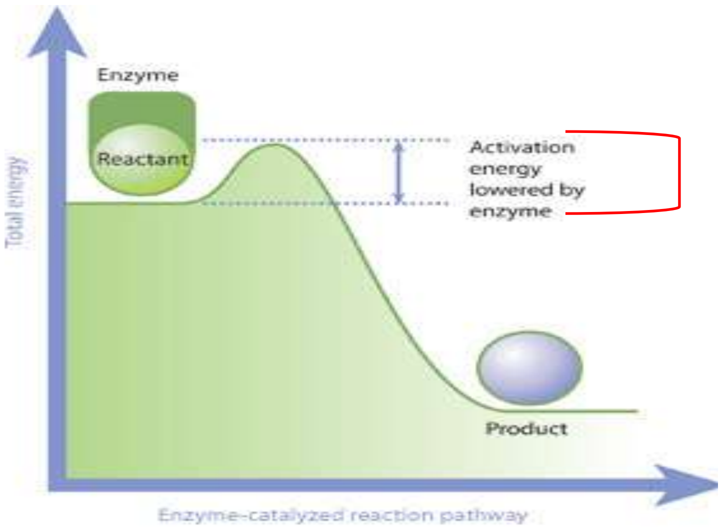


ما هي الإنزيمات (Enzymes) ؟

- الإنزيمات نوع من أنواع **البروتينات** تعمل على **تسريع** التفاعلات الكيميائية داخل الخلية **وتنظيمها بدقة** بحسب حاجة الخلايا.

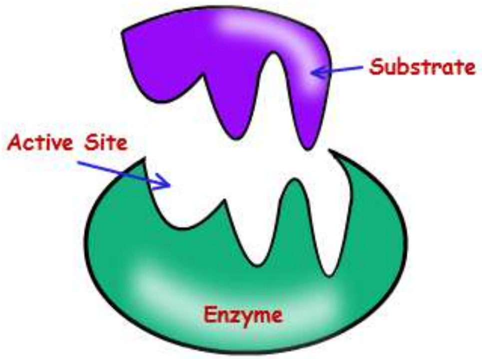


طاقة التنشيط
للتفاعل (دون تحفيز
الإنزيم)



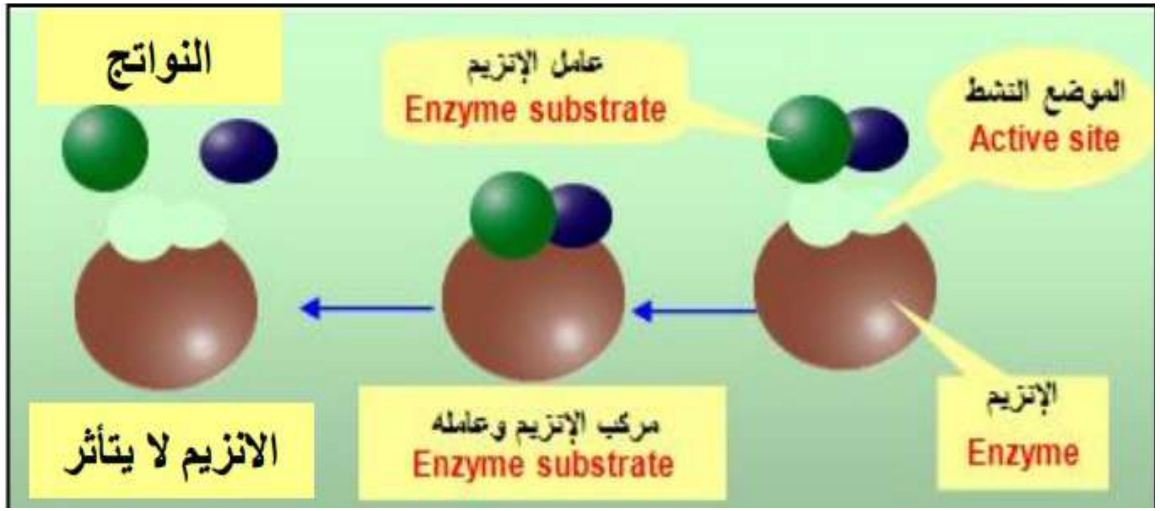
طاقة التنشيط
للتفاعل (بعد تحفيز
الإنزيم)

- فالإنزيمات عوامل مساعدة عضوية حيوية تصنع داخل الخلية ، تقوم بعملها من خلال **تحفيز التفاعلات** داخل الخلية بطريقة «تخصصية» 🡐 أي أن كل إنزيم يقوم بتنشيط تفاعل محدد أو أكثر من خلال العمل على مادة معينة تسمى **المادة الأساس (Substrate)** أو مجموعة مواد متشابهة كيميائياً دون غيرها.



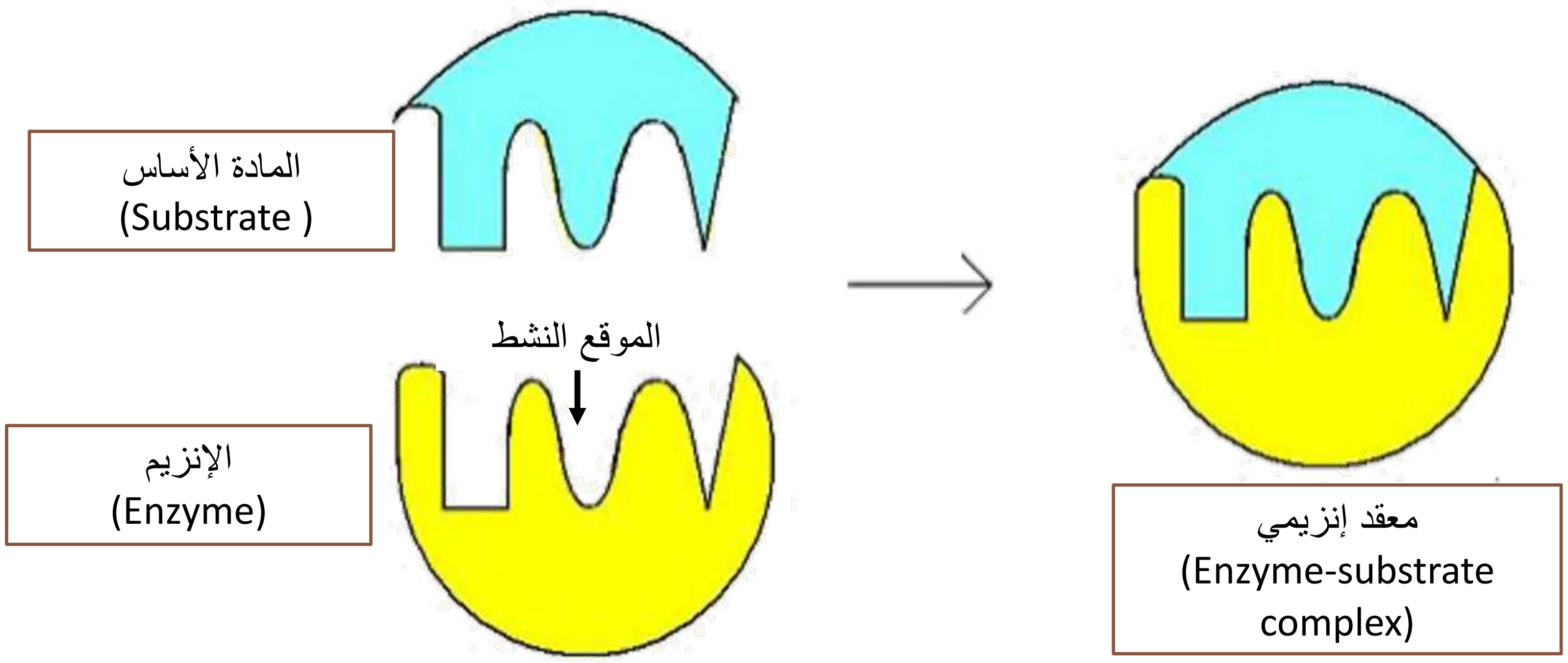
- درجة التخصص تتفاوت من إنزيم لآخر.

- إن عملية التنشيط التي يقوم بها الإنزيم **تعني أن الإنزيم لا يتفاعل بنفسه ولا يتأثر بناتج التفاعل.**



الموقع النشط للإنزيم و المادة الأساس:

- السمة المميزة للتفاعل المحفز بالإنزيم هي إنه يحدث بموقع معين على سطح الإنزيم يسمى **بالموقع النشط .**
- كي يقوم الإنزيم بتنشيط تفاعل محدد أو أكثر يجب أن يرتبط بمادة معينة **تسمى المادة الأساس (Substrate)** مكوناً ما يسمى **بالمعقد الإنزيمي (ES) .**



التفاعلات الإنزيمية:

- التفاعلات الانزيمية تتضمن تكوين مركب وسيط (E-S).

$$E + S \longleftrightarrow ES \longleftrightarrow E + P$$

المادة الاساس + الإنزيم	مركب وسيط (معقد إنزيمي)	الناتج + الانزيم

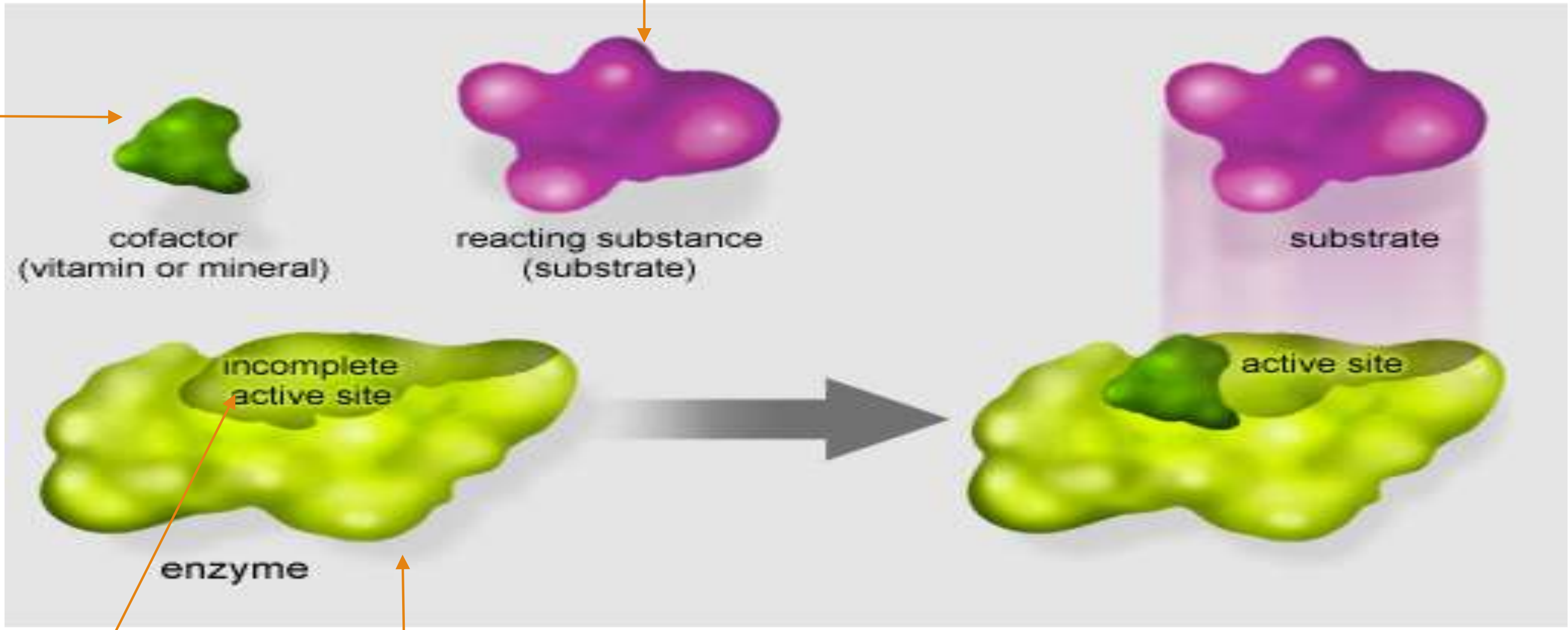
أنواع الإنزيمات من حيث التركيب:

- تتركب الإنزيمات في تكوينها من **بروتينات** بغض النظر عن اسمها ويمكن تقسيمها من حيث التركيب إلى نوعين :

1- إنزيمات بسيطة (Simple enzymes):
وهي كأي بروتينات بسيطة عبارة عن سلسلة من الأحماض الأمينية المتتالية (ولا تحتوي على جزء غير بروتيني).

2- إنزيمات مرتبطة (Conjugated enzymes) :
وهي التي تتكون من شقين ، أحدهما بروتيني والآخر غير بروتيني.
علما بأن المجموعات الغير بروتينية هي جزء من المركز الفعال «موقع التنشيط» (Active site) في البروتين، وتسمى في هذه الحال «المرافق الإنزيمي» (Co-enzyme) أو العامل المعاون (Co-factor) ، وهذه الأجزاء الغير بروتينية ضرورية لنشاط الإنزيمات **ولا يعمل من غيرها.**

الإنزيمات المرتبطة:



المادة الأساس

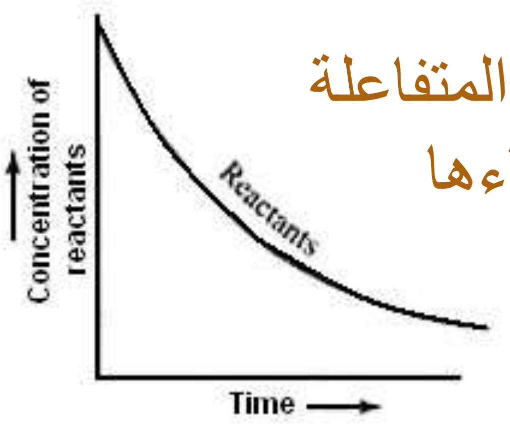
العامل المعاون
أو المرافق
الإنزيمي

موقع التنشيط

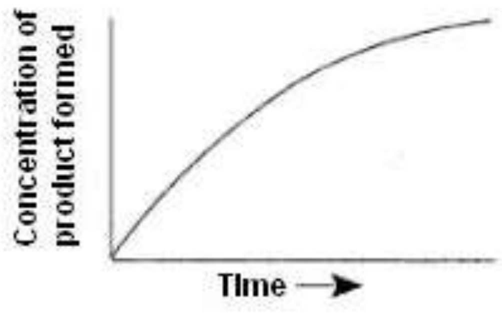
الإنزيم

مبدأ دراسة نشاط الإنزيمات بطريقة عملية:

- من المهم أن نعلم أن **الإنزيم لا يدخل في التفاعل**، ولهذا فإن دراسة نشاطه عملياً تتم من خلال قياس وتتبع المواد المتفاعلة ومدى نقصها أو اختفائها، وكذلك باختبار ظهور نواتج التفاعل أو زيادتها، فمن الواضح أن اختفاء المواد المتفاعلة أو نقصها، وظهور نواتج التفاعل أو تزايدها يدل على أن الإنزيم نشط في تحفيزه للتفاعل في الظروف المناسبة للتفاعل .



نقص المواد المتفاعلة
أو اختفاءها



ظهور نواتج التفاعل
أو زيادتها

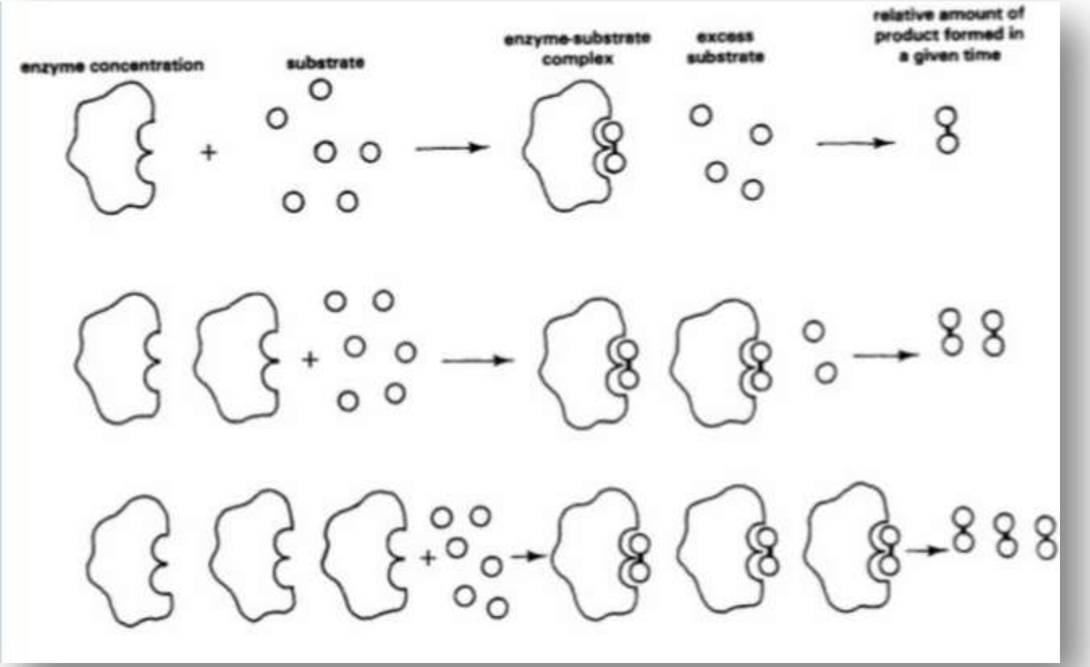
العوامل المؤثرة على نشاط الإنزيم :

العوامل المؤثرة على نشاط الإنزيمات

- تركيز الإنزيم (علاقة طردية)
- تركيز المادة الأساس (علاقة طردية)
- درجة الحرارة
- قيمة الرقم الهيدروجيني (pH)
- وجود مواد مثبطة (علاقة عكسية)

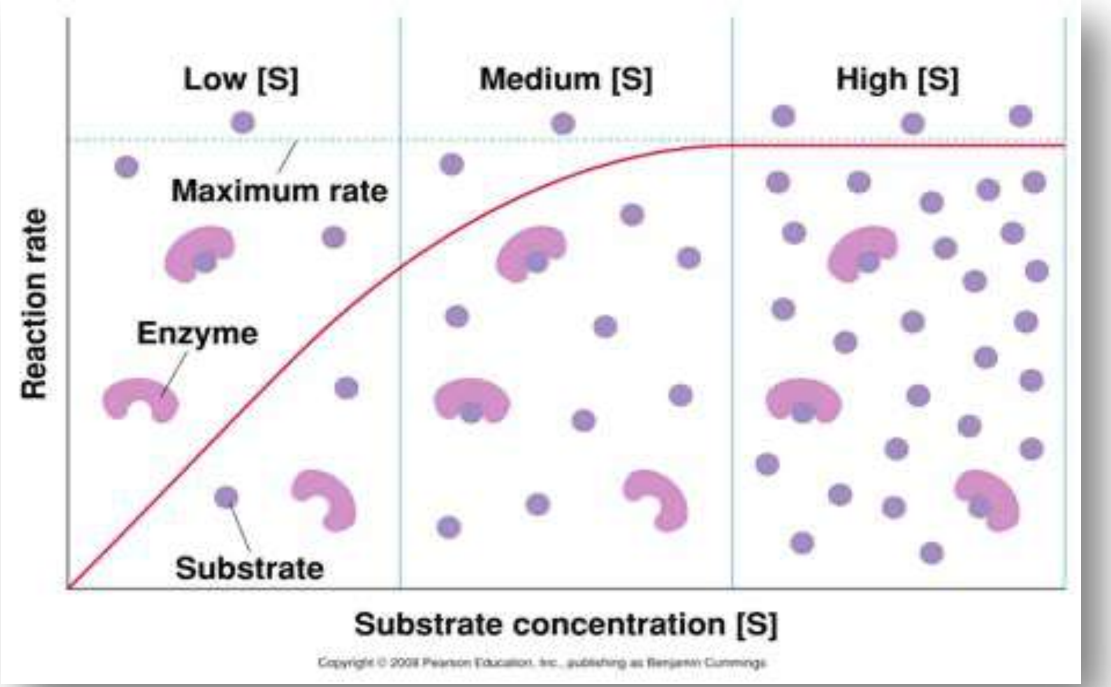
العوامل المؤثرة على نشاط الإنزيم :

1. تركيز الإنزيم (علاقة طردية).



العوامل المؤثرة على نشاط الإنزيم :

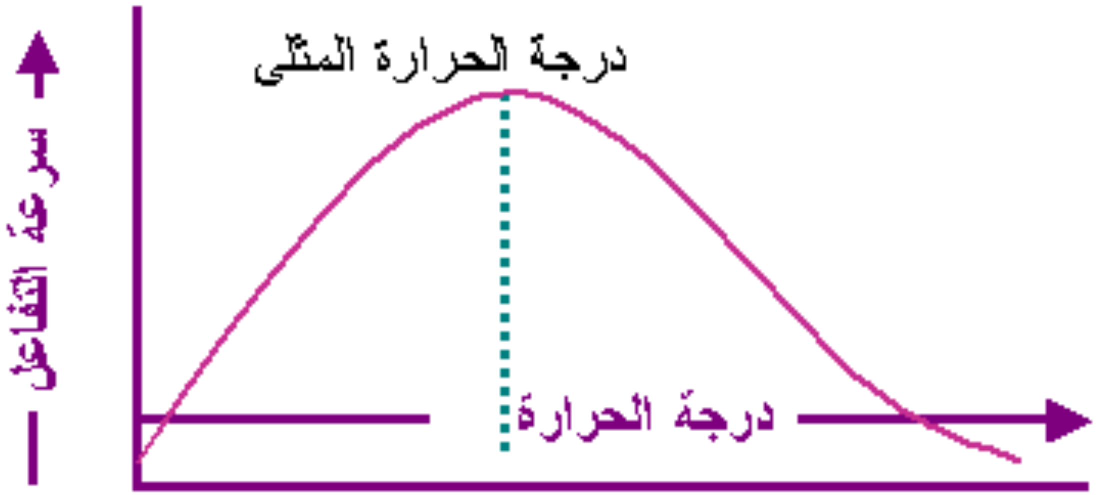
2. تركيز المادة الأساس (Substrate) التي يعمل عليها ذلك الإنزيم (علاقة طردية).



العوامل المؤثرة على نشاط الإنزيم :

3. درجة الحرارة التي يحدث فيها التفاعل:

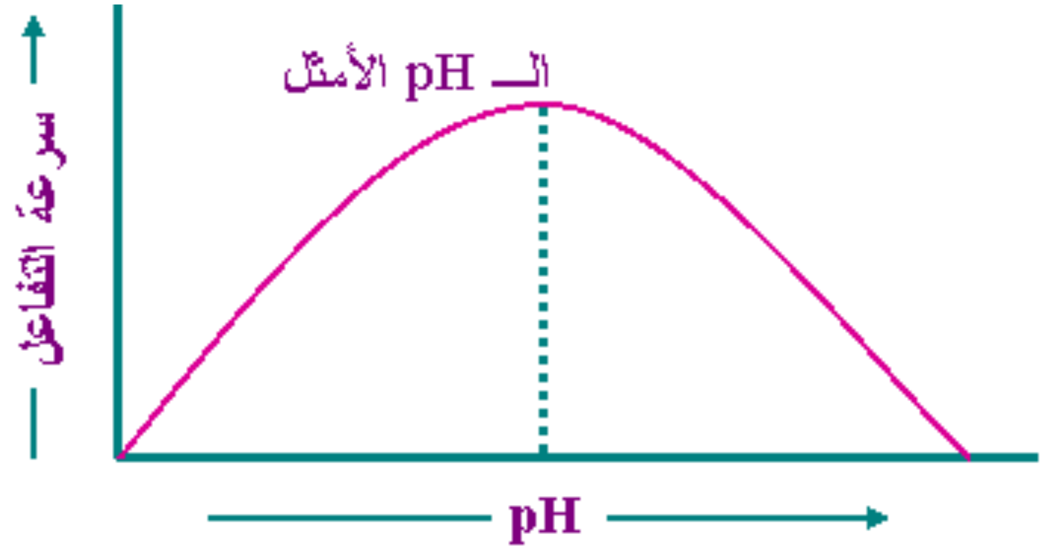
لكل إنزيم درجة حرارة مثلى تختلف عن الآخر ، مثال ذلك: معظم إنزيمات جسم الإنسان تعمل عند درجة حرارة ٣٧ درجة مئوية.



العوامل المؤثرة على نشاط الإنزيم :

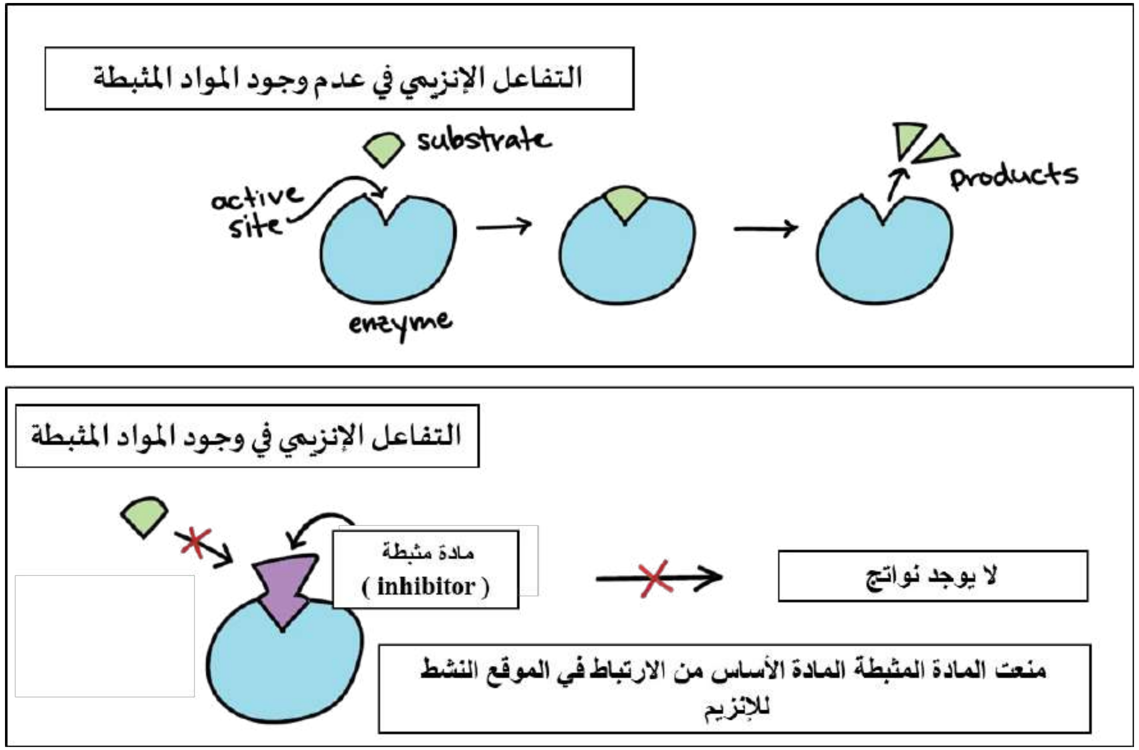
4. درجة الأس لهيدروجيني للوسط (قيمة pH):

لكل إنزيم قيمة pH مثلى تختلف عن الآخر تعتمد على الوسط الذي يعمل فيه الإنزيم، مثال ذلك: إنزيمات المعدة تعمل عند pH=2.



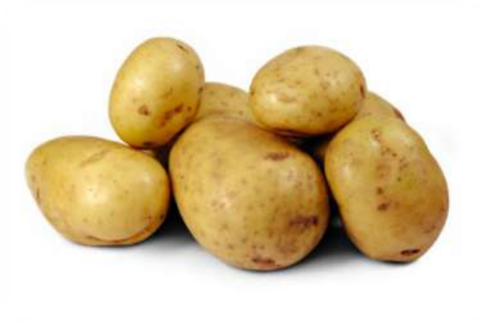
العوامل المؤثرة على نشاط الإنزيم :

5. وجود مواد مثبطة (Inhibitors) تعيق عمل الإنزيم أو تقلل من نشاطه الحيوي (علاقة عكسية).

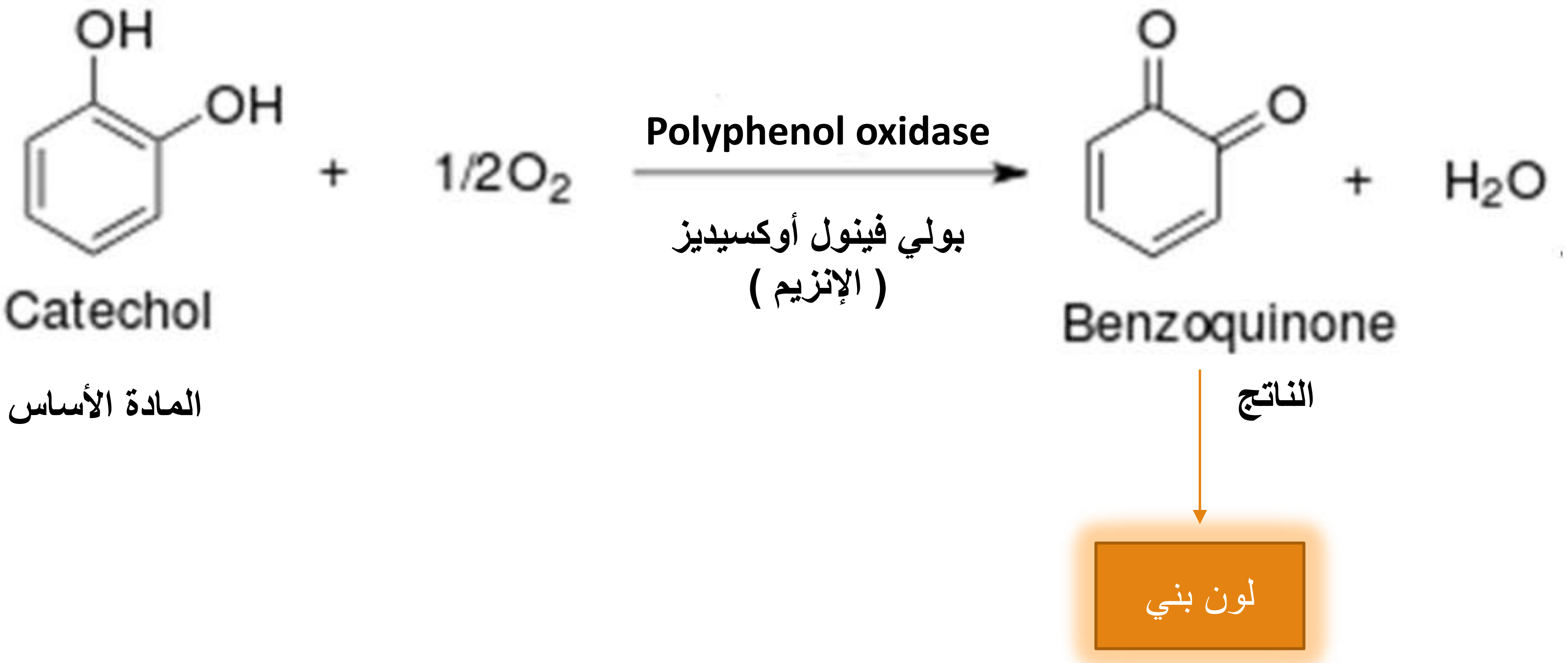


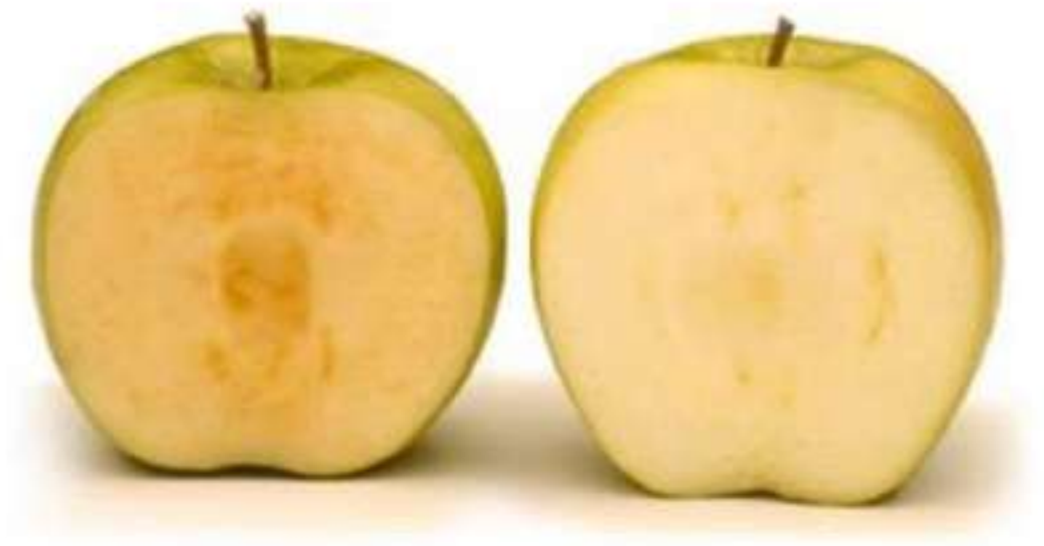
الجزء العملي

- في هذه التجربة سوف يتم تحضير مستخلص خام من إنزيم بولي فينول أوكسيديز (Polyphenol oxid**ase**) من البطاطس، يحتوي هذا الإنزيم على النحاس في موقع التنشيط (عامل معاون) ، والأس الهيدروجيني الأمثل لنشاطه هو 6.7 والدرجة الحرارة المثلى هي 37°C.



- هذا الإنزيم يحفز عملية الأكسدة لثاني وثلاثي هيدروكسي فينول إلى (quinons) كما في التفاعل الآتي:





الاختبارات الوصفية للكشف عن الإنزيمات (Qualitative tests of Enzyme (activity

- الكشف عن الطبيعة الكيميائية للإنزيمات (الإنزيمات عامة)
- اختبار النشاط الإنزيمي للبولي فينول أوكسيديز
- اختبار الطبيعة الكيميائية للبولي فينول أكسيديز
- اختبار خصوصية المادة الأساس (أو المتفاعلة)
- اختبار تأثير الحرارة على نشاط البولي فينول أوكسيديز

أولاً: الكشف عن الطبيعة الكيميائية للإنزيمات :

النظرية العلمية للاختبار:

من المعلوم سابقاً أن الإنزيمات هي من أنواع البروتينات ، وفي دراستنا للبروتينات تعرفنا على الكاشف العاف لها وهو اختبار بيوريت ، والمبدأ هنا أن نجري التجربة المذكورة على محاليل إنزيمات، فإن ظهرت نتيجة إيجابية نكون **قد تحققنا من الإنزيم عبارة عن بروتين في طبيعته الكيميائية (المبدأ العلمي لتجربة بايوريت).**

طريقة العمل :

- ضعي 1 مل من المستخلص الإنزيمي.
- ضعي 2 مل من محلول بيوريت.

النتائج:

الأنبوبة	الاستنتاج
مستخلص إنزيمي + بيوريت	

المناقشة:

عليها مع ذكر السبب وعلى ماذا تدل النتيجة. حصلت اكتبي تعليقك على كل نتيجة

ثانياً: اختبار النشاط الإنزيمي للبولي فينول أكسيديز :

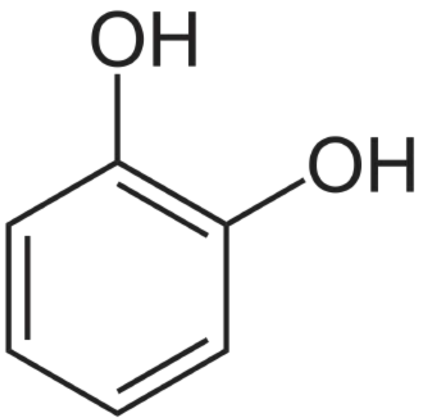
النظرية العلمية للاختبار:

- تتم دراسة النشاط الإنزيمي عملياً عن طريق تتبع إحدى الأمرين: نقص و اختفاء المتفاعلات أو ظهور وزيادة النواتج.

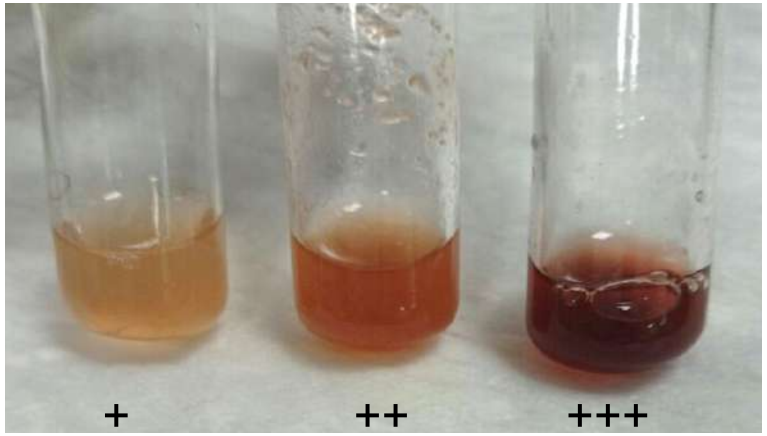
- تفاعل الأكسدة والاختزال يصاحبه تغير في اللون، كما أن هذا التفاعل نصادفه كثيراً في الطبيعة حيث هو المسؤول عن اللون البني الذي يظهر على البطاطا وبعض الفواكه بعد تقشيرها.

- في هذا التفاعل يحفز إنزيم البولي فينول أكسيدر أكسدة الكاتيكول (ثنائي هيدروكسي فينول) بوجود الأوكسجين إلى بنزوكوينون المسؤولة عن ظهور اللون البني. **وعليه سيتم تتبع النشاط الإنزيمي اعتماداً على تتبع ظهور اللون البني.**

- وبما أن اللون البني الظاهر يمثل تكون الناتج ، فإن كثافة اللون **تتناسب طردياً** مع النشاط الإنزيمي (كلما كان الانزيم نشيطاً ➔ زادت كثافة اللون).



الكاتيكول (المادة الأساس)



الرمز	درجة كثافة اللون
-	عديم اللون
+	باهت اللون
++	واضح اللون
+++	غامق اللون

نشاط الإنزيم

طريقة العمل :

- حضري ثلاث أنابيب A,B,C:

الأنبوبة A : مقياس (CONTROL)
15 نقطة من المستخلص الإنزيمي + 15 نقطة من الكاتيكول (المادة الأساس).

الأنبوبة B :
15 نقطة من المستخلص الإنزيمي + 15 نقطة من الماء المقطر.

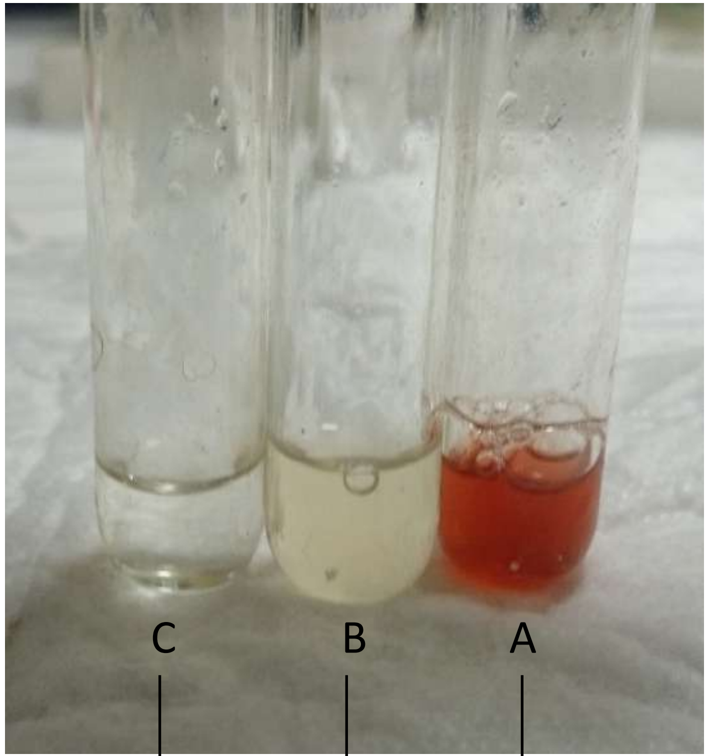
الأنبوبة C :
15 نقطة من الكاتيكول + 15 نقطة من الماء المقطر.

- ضعي الأنابيب في حمام مائي عند 37 °C (الدرجة المثلى للإنزيم).
- رجي كل أنبوبة لمدة 5 دقائق لتهويتها و وذلك لإدخال الأوكسجين .
- دوني اللون الظاهر.

النتائج:

زمن التحضير بالدقائق	كثافة اللون (- ، + ، ++ أو +++)		
	A	B	C
0			
1			
3			
5			
7			
10			

ما الذي تتوقعين حدوثه في الأنبوبتين (B) و (C) ؟ لماذا؟



- تفتقد الإنزيم
- تفتقد المادة الأساس
+ مقياس

المناقشة:

عليها مع ذكر السبب في ظهور النتيجة الإيجابية أم السلبية ، والتعليق على درجة اللون مع مرور الوقت. حصلت اكتبي تعليقك على كل نتيجة

ثالثاً: اختبار الطبيعة الكيميائية للبولي فينول أكسيديز :

النظرية العلمية للتجربة:

- الإنزيمات عبارة عن مركبات بروتينية تتأثر بالعوامل التي تؤثر على البروتين.
- فمثلا عند إضافة **التربسن** (هو إنزيم يعمل على تحلل البروتينات بواسطه تحليله للروابط الببتيدية) إلى إنزيم البولي فينول أوكسيديز ، فإن الإنزيم **يتحلل ويفقد قدرته** على تحفيز التفاعل (لا يحول المواد المتفاعلة إلى نواتج).
- وعند إضافة أحماض قوية **كثلاثي كلورو حمض الخليك (TCA)** (والذي يستخدم عادةً لإيقاف التفاعلات الإنزيمية) فإنه يعمل على **مسخ أو تخثير**البروتينات (Denaturation) وبالتالي **يفقد قدرته** على تحفيز التفاعل.
- كما أنه يوجد **مواد مثبطة** كـ Phenylthiourea لها ميل كيميائي قوي تجاه **النحاس** (الذي يعتبر عامل معاون للبولي فينول أوكسيديز) فبإمكانه الارتباط به حتى لو كان مرتبطاً ، وحينها يفقد الإنزيم قدرته على تحفيز التفاعل .

طريقة العمل :

- حضري ثلاث أنابيب A,B,C :

الأنبوبة A :

15 نقطة من المستخلص الإنزيمي + 15 نقطة من الكاتيكول.
وضعيها في حمام مائي عند C ° 37 لمدة 10 دقائق واستخدميها كمقياس (Control).

الأنبوبة B :

15 نقطة من المستخلص الإنزيمي + 15 نقطة من ثلاثي كلوريد حمض الخليك (TCA).
رجي الأنبوبة جيداً ثم انتظري 5 دقائق ثم أضيفي 15 نقطة من الكاتيكول ، وضعيها في حمام مائي عند C ° 37 لمدة 10 دقائق ، قارني بالأنبوبة A.

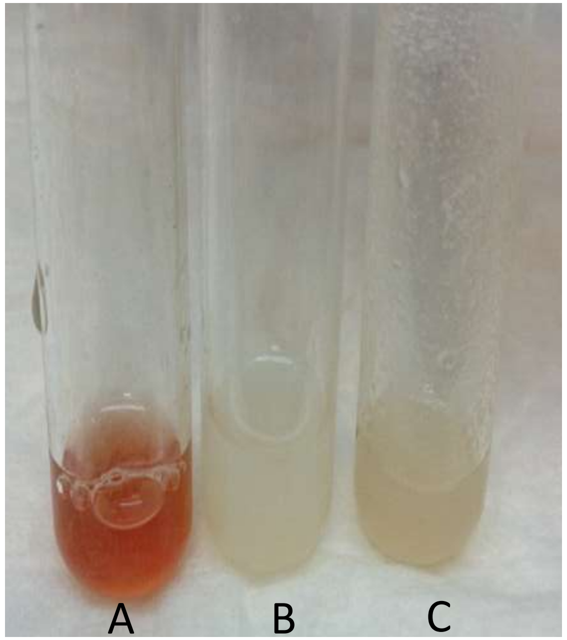
الأنبوبة C :

15 نقطة من المستخلص الإنزيمي + بضعة بلورات من Phenylthiourea
استمري بالرج لمدة 5 دقائق وبعد ذلك أضيفي 15 قطرة من الكاتيكول ، وضعيها في حمام مائي عند C ° 37 لمدة 10 دقائق ، قارني بالأنبوبة A.

النتائج:

الأنبوبة	المادة المضافة	كثافة اللون (-، +، ++ أو +++)
A	مقياس (CONTROL)	
B	ثلاثي كلوريد حمض الخليك (TCA)	
C	Phenyl thiourea	

ما الذي تتوقعين حدوثه في الأنبوبتين (B) و (C)؟ لماذا؟



A: + مقياس

B: - بسبب تخثر الإنزيم

C: - بسبب تثبيط الإنزيم

المناقشة:

عليها مع ذكر السبب السبب في ظهور النتيجة الإيجابية أم السلبية وأثر كل عامل على نشاط الإنزيم وطبيعته البروتينية. حصلت اكتبي تعليقك على كل نتيجة

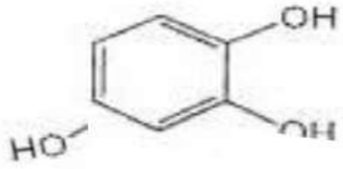
رابعاً: اختبار الخصوصية للمادة الأساس (أو المتفاعلة):

النظرية العليمة للاختبار:

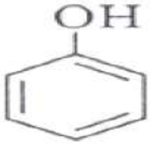
- تقوم الإنزيمات بتحفيز التفاعلات بطريقة تخصصية، أي أن كل إنزيم يقوم بتنشيط تفاعل محدد أو أكثرمن خلال العمل على مادة معينة تسمى المادة الأساس أو مجموعة مواد متشابهة كيمائياً دون غيرها.

- يحفز إنزيم البولي فينول أوكسديز عملية الأكسدة لمجموعة من المواد المتقاربة في تركيبها الكيميائي وهو احتوائها على **حلقة بنزين مرتبط بمجموعتين هيدروكسيل أو أكثر** ، كالكاتيكول والهيدروكونين.

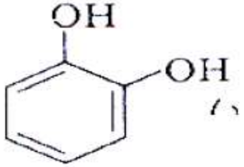
التركيب الكيميائي للثلاث مركبات متقاربة



Hydro quinone



Phenol



Catechol

طريقة العمل :

-حضري أنبوبتين A,B:

الأنبوبة A :

15 نقطة من المستخلص الإنزيمي + 15 نقطة من الكاتيكول.

الأنبوبة B :

15 نقطة من المستخلص الإنزيمي + 15 نقطة من الفينول.

← رجي الأنابيب وضعيها في حمام مائي عند 37 ° C لمدة 5 دقائق.

النتائج:

الأنبوبة	كثافة اللون (-، +، ++ أو +++)
A (كاتيكول)	
B (فينول)	

ما الذي تتوقعين حدوثه في الأنبوبة (B) ؟ لماذا؟

المناقشة:

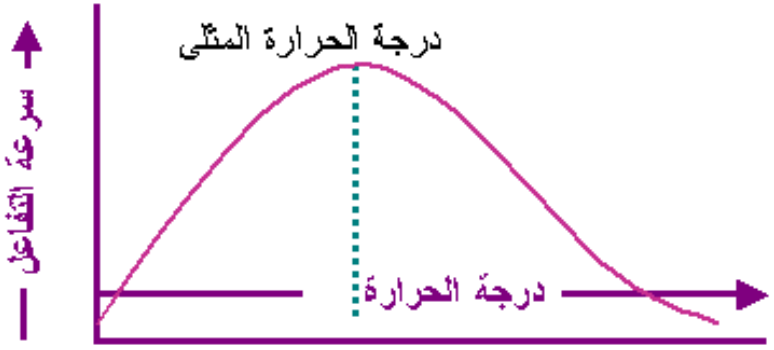
عليها مع ذكر السبب في ظهور النتيجة الإيجابية أم السلبية ، والتعليق على تخصصية الإنزيم. حصلت اكتبي تعليقك على كل نتيجة

رابعاً: اختبار تأثير الحرارة على نشاط بولي فينول أوكسيديز:

النظرية العلمية للاختبار:

- لكل إنزيم **درجة حرارة مثلى،** يعمل عندها الإنزيم بكفاءة وتكون سرعة التفاعل عندها **أعلى ما يكون.**
- عند درجات حرارة أعلى أو أقل من درجة الحرارة المثلى للإنزيم فإن النشاط الإنزيمي يقل ويقل تبعا لذلك سرعة التفاعل، إلى أن يفقد الإنزيم نشاطه عند درجات حرارة عالية جداً أو منخفضة جداً (صفر درجة مئوية).

- الدرجة الحرارة المثلى للبولي فينول أوكسديز هي 37°C.



طريقة العمل :

-حضري ثلاث أنابيب A,B,C:

أضيفي 15 نقطة من المستخلص الإنزيمي وضعيها لمدة 10 دقائق عند:

الأنبوبة A :

0 °C

الأنبوبة B :

37 °C

الأنبوبة C :

90 °C

- بعد انتهاء العشرة دقائق أضيفي 15 نقطة من الكاتيكول في كل أنبوبة مع الرج.
- انتظري 5 دقائق ثم افحصي الأنبوبة (دون إخراجها).

النتائج:

الأنبوبة	كثافة اللون (-، +، ++ أو +++)
A (0 C°)	
B (37 C°)	
C (90 C°)	

المناقشة:

في ظهور النتيجة الإيجابية أم السلبية ، عليها مع ذكر السبب حصلت اكتبي تعليقك على كل نتيجة والتعليق على أثر كل درجة حرارة على طبيعة الإنزيم ونشاطه.

A: -
بسبب تثبيط الإنزيم

C: -
بسبب تخثر الإنزيم

B: +
درجة حرارة مثلى