

الكيمياء الحيوية العامة (كيج ١٠١)  
المعمل (٧): الإنزيمات Enzymes

Emtenan Alkhudair

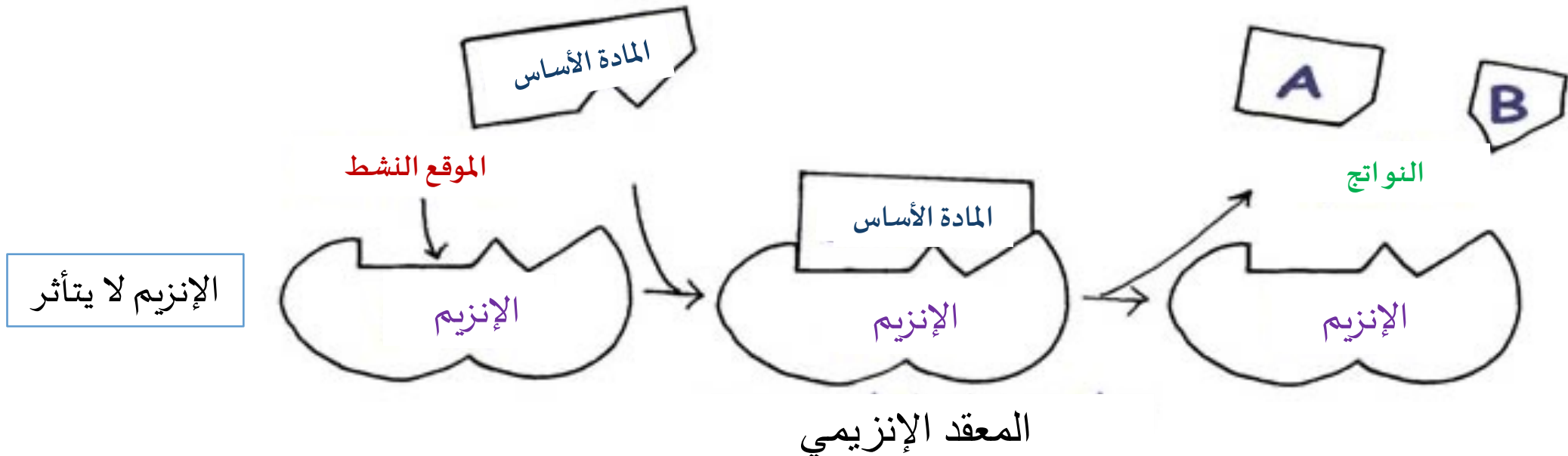
**Office:** Building 5, 3<sup>rd</sup> floor, Office No. 269

**E.mail:** [Ealkhudair@ksu.edu.sa](mailto:Ealkhudair@ksu.edu.sa)

**Website:** <http://fac.ksu.edu.sa/ealkhudair>

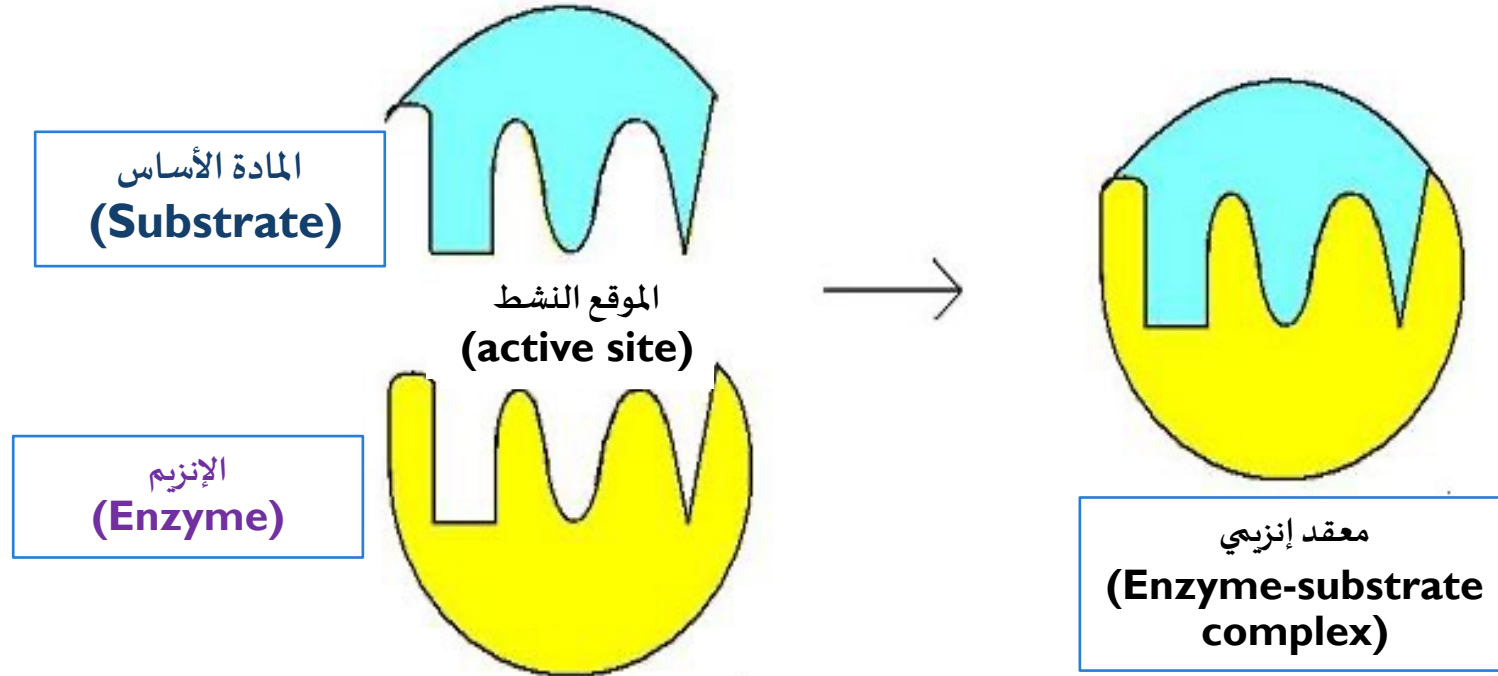
# ما هي الإنزيمات (Enzymes) ؟

- الإنزيمات هي نوع من أنواع **البروتينات**، تعمل على (تسريع) التفاعلات الكيميائية داخل الخلية وتنظيمها بدقة بحسب حاجة الخلايا.
- فالإنزيمات **عوامل مساعدة** عضوية حيوية تصنع داخل الخلية ، تقوم بعملها من خلال **تحفيز التفاعلات** داخل الخلية بطريقة «تخصصية».
- **ملاحظة:** إن عملية التنشيط التي يقوم بها الإنزيم تعني أن الإنزيم لا يتفاعل بنفسه، ولا يستهلك خلال التفاعل.

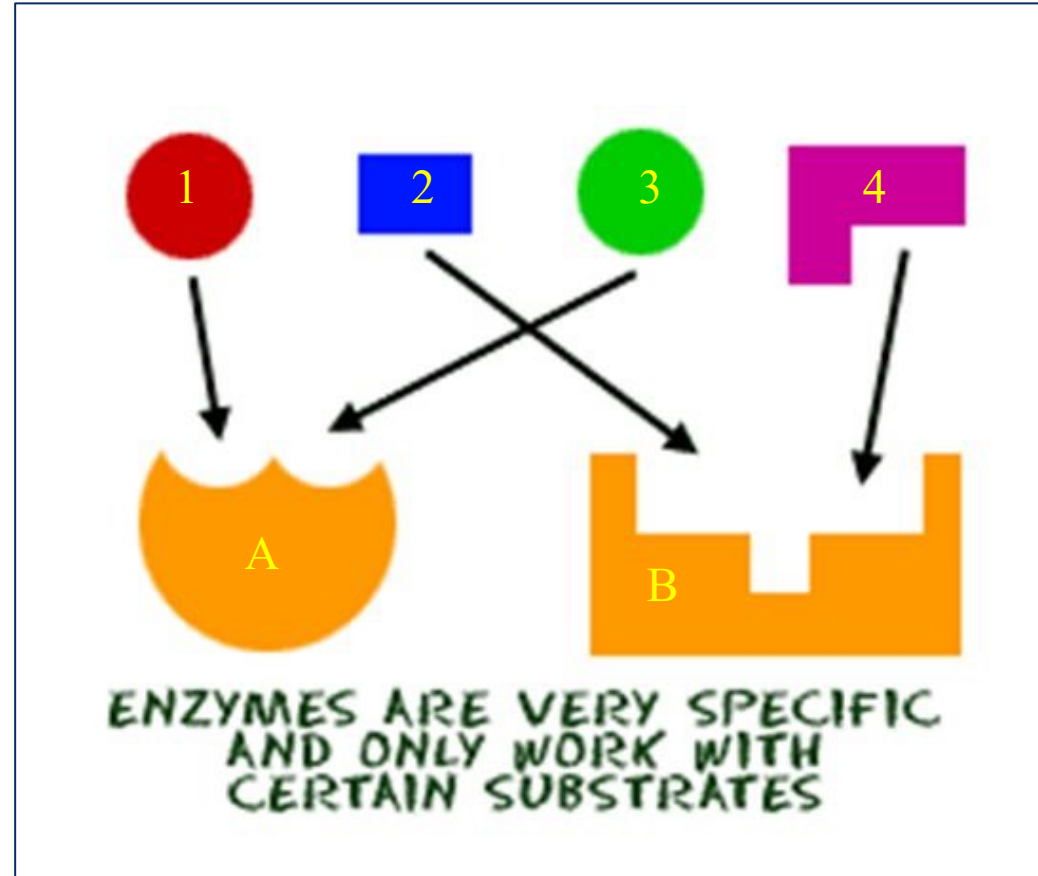
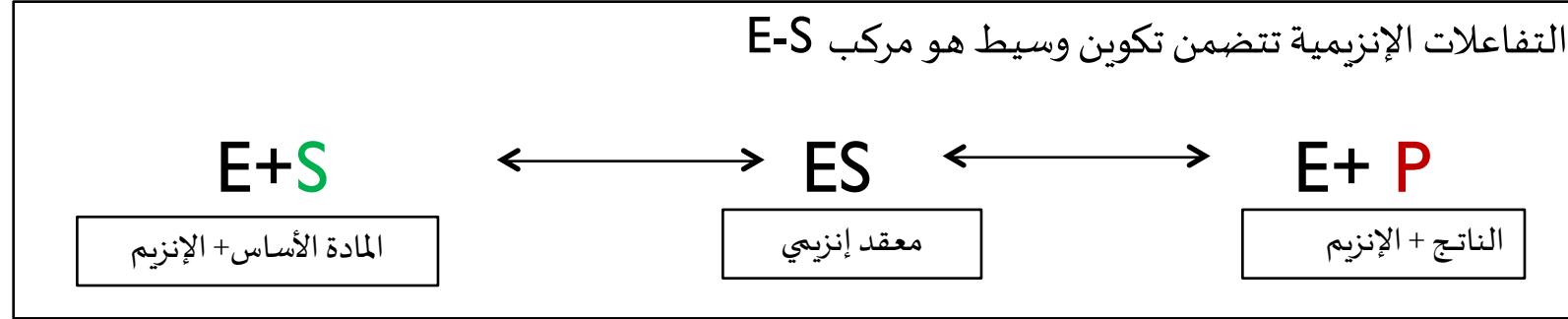


## الموقع النشط للإنزيم والمادة الأساس

- 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 (E-S complex)**.



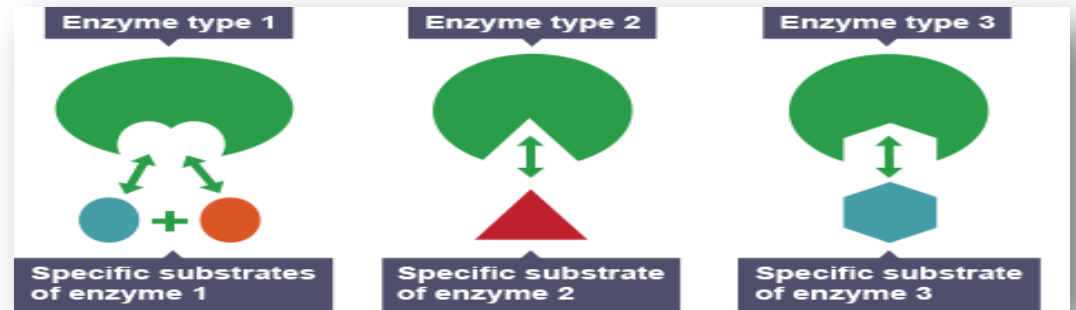
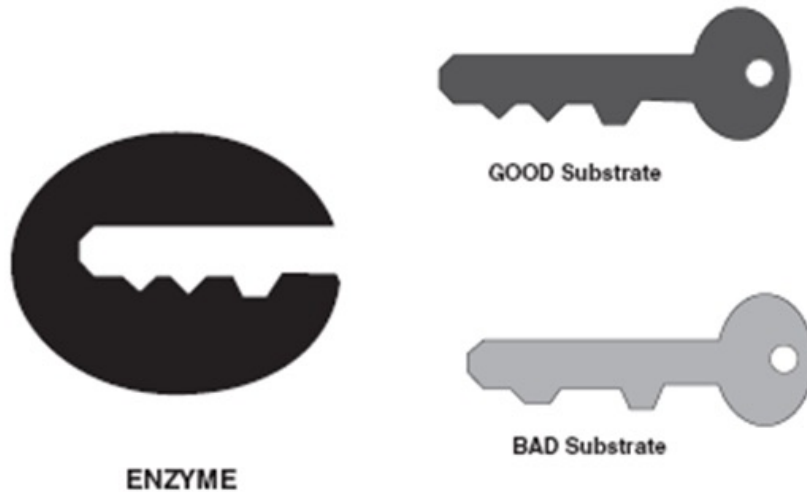
# التفاعل الإنزيمي:



درجة التخصص للإنزيم تتفاوت من إنزيم لآخر.

كيف يمكن تفسير خصوصية الإنزيم للمادة الأساس:

- فرضية القفل والمفتاح: تفترض أن الشكل الثلاثي الأبعاد لسطح الموقع النشط مكمل ومطابق لشكل المادة الأساس.



# 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):

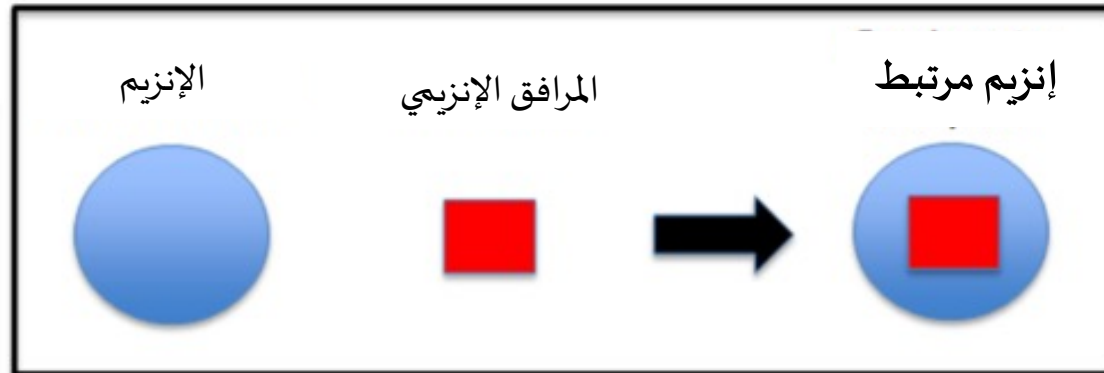
وهي كأي بروتينات بسيطة عبارة عن سلسلة من الأحماض الأمينية المتتالية (ولا تحتوي على جزء غير بروتيني).

## 2- إنزيمات مرتبطة (Conjugated enzymes):

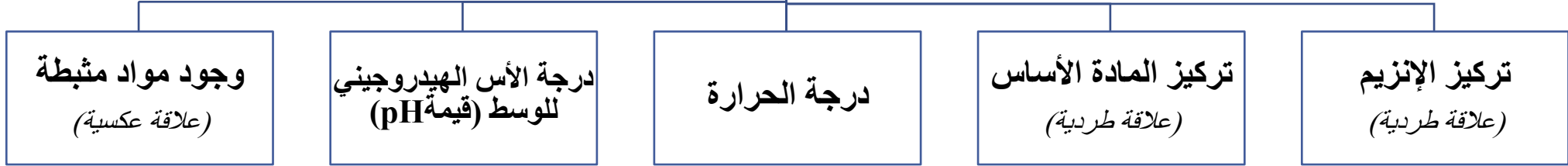
وهي التي تتكون من شقين، أحدهما بروتيني والآخر غير بروتيني.

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.



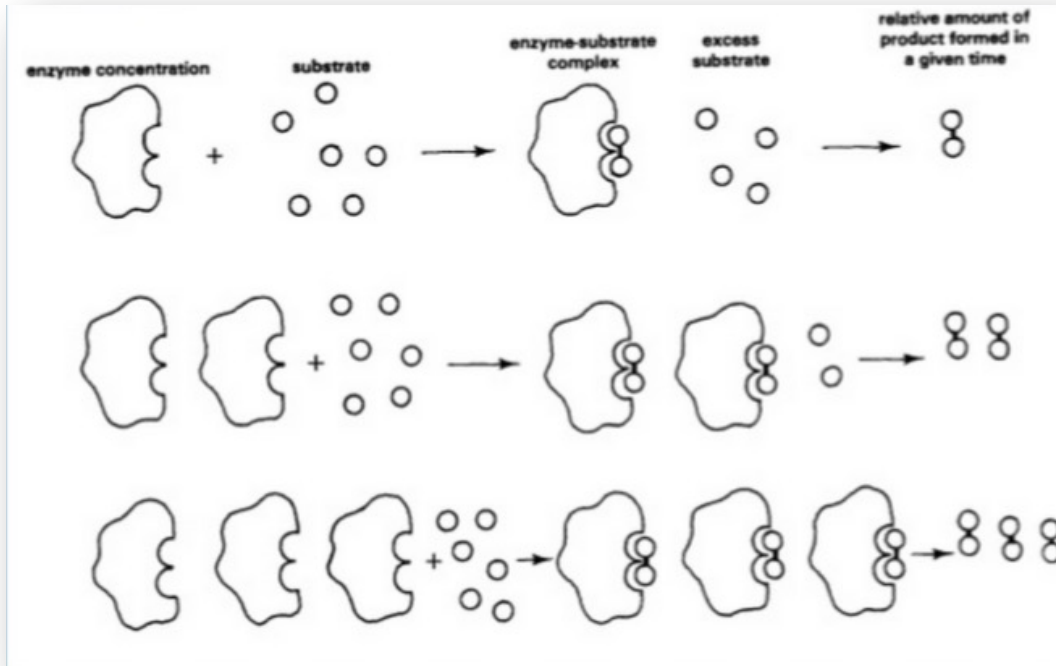
## العوامل المؤثرة على نشاط الإنزيمات:



# العوامل المؤثرة على نشاط الإنزيم

## ١- تركيز الإنزيم

تزيد سرعة التفاعل بزيادة تركيز الإنزيم (علاقة طردية).

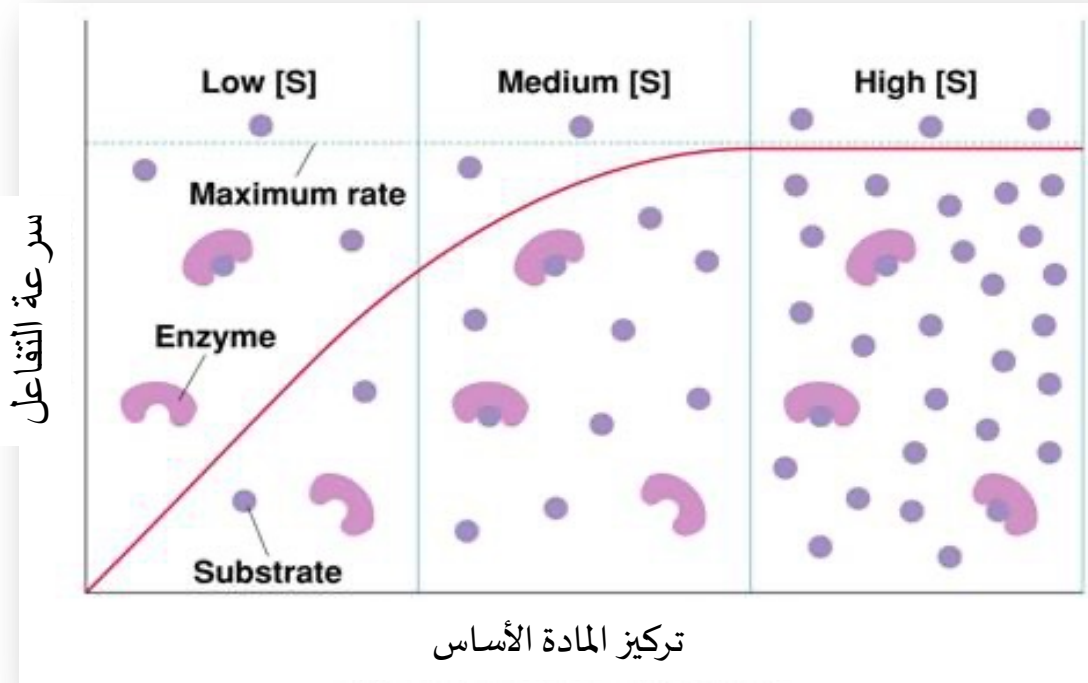




# العوامل المؤثرة على نشاط الإنزيم

## ٢- تركيز المادة الأساس (Substrate) التي يعمل عليها ذلك الإنزيم

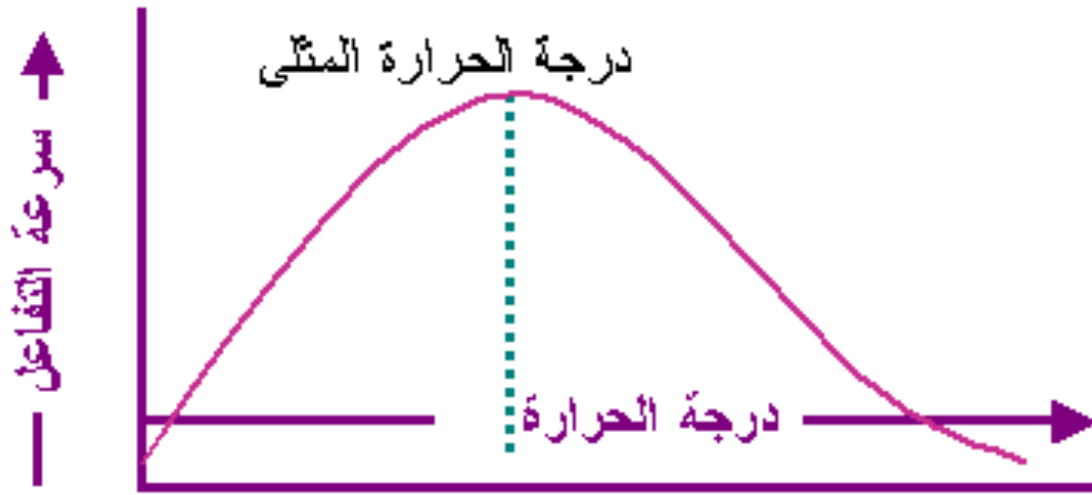
كلما زاد تركيز المادة الأساس زادت سرعة التفاعل الإنزيمي. (علاقة طردية).



## العوامل المؤثرة على نشاط الإنزيم

### ٣- درجة الحرارة التي يحدث فيها التفاعل

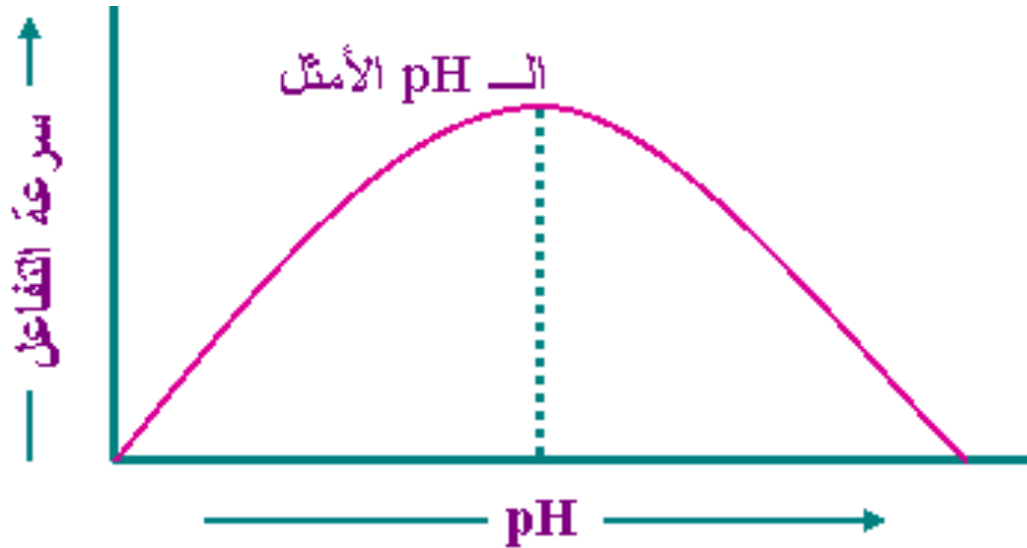
- لكل إنزيم درجة حرارة مثلى تختلف عن الأخر
- **مثال ذلك:** معظم إنزيمات جسم الإنسان تعمل عند درجة حرارة ٣٧ درجة مئوية



## العوامل المؤثرة على نشاط الإنزيم

### ٤- درجة الأس الهيدروجيني للوسط (قيمة pH)

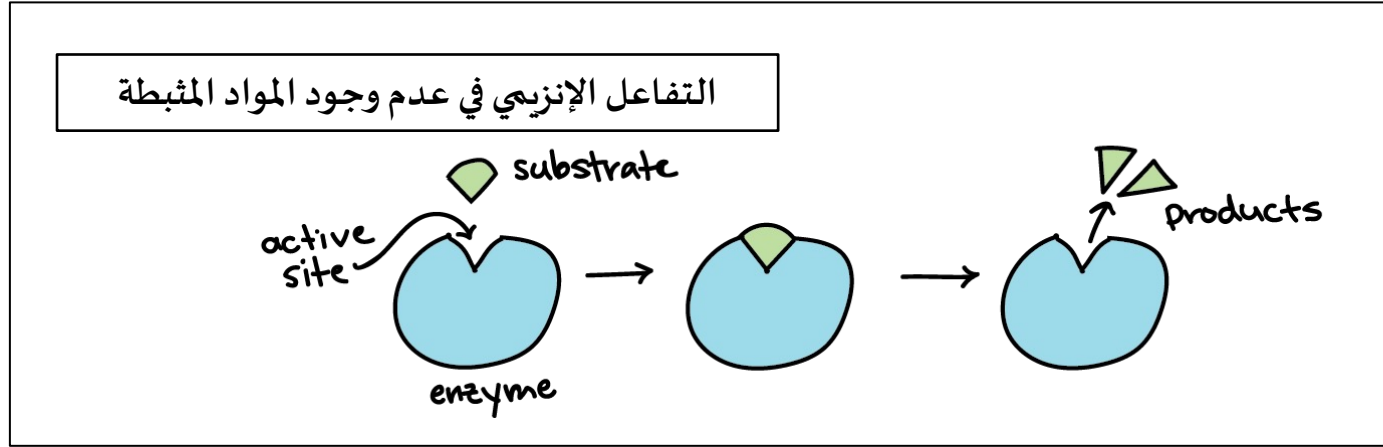
- لكل إنزيم قيمة pH مثلى تختلف عن الآخر تعتمد على الوسط الذي يعمل فيه الإنزيم
- **مثال ذلك:** إنزيمات المعدة تعمل عند  $pH=2$ .



# العوامل المؤثرة على نشاط الإنزيم

## ٥- وجود مواد مثبطة (Inhibitors)

تعيق المواد المثبطة عمل الإنزيم أو تقلل من نشاطه الحيوي (علاقة عكسية).



## مبدأ دراسة نشاط الإنزيمات بطريقة عملية

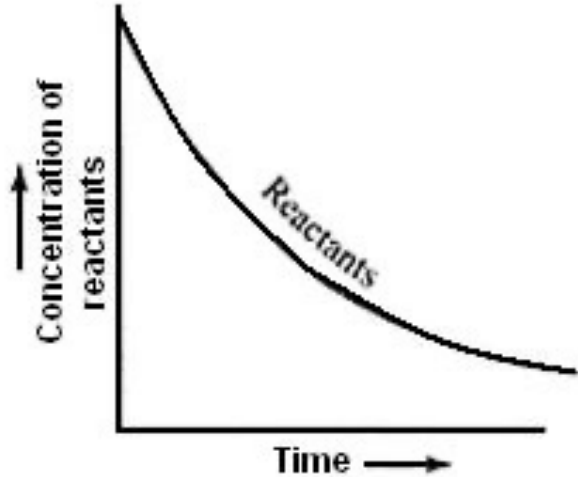
■ من المهم أن نعلم أن الإنزيم لا يدخل في التفاعل، ولهذا فإن دراسة نشاطه عملياً تتم من خلال:

1. قياس وتتبع المواد المتفاعلة ومدى نقصها أو اختفائها

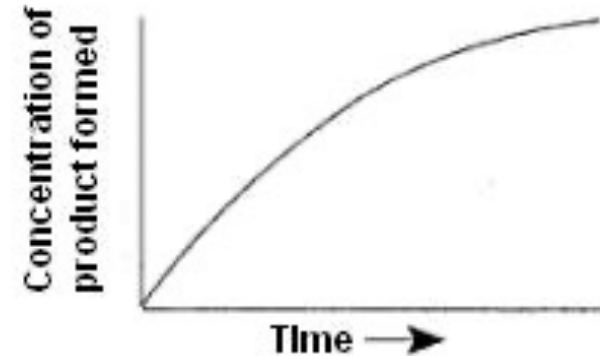
2. ظهور نواتج التفاعل أو زيادتها

← 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 اختفائها



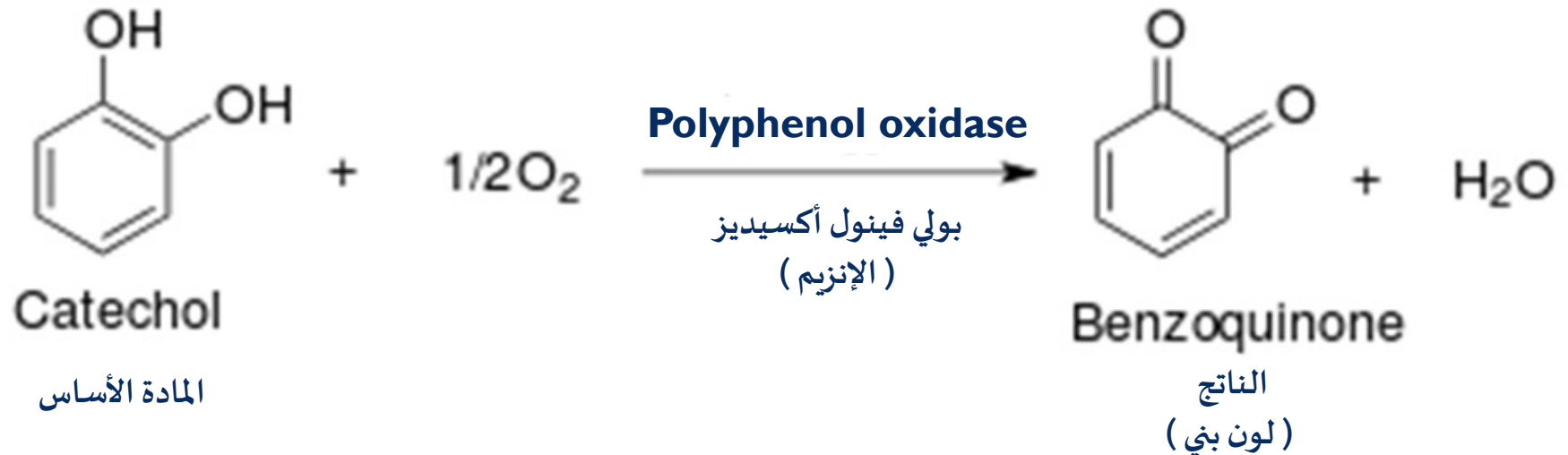
ظهور نواتج التفاعل أو زيادتها

# الجزء العملي



# إنزيم بولي فينول أكسيديز (Polyphenol oxidase)

- في هذه التجربة سوف يتم تحضير مستخلص خام من إنزيم بولي فينول أكسيديز (Polyphenol oxidase) 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 تأثير الحرارة على  
نشاط البولي فينول  
أو أكسيديز

اختبار خصوصية المادة  
الأساس (أو المتفاعلة)

اختبار النشاط الإنزيمي  
للبولي فينول أو أكسيديز

اختبار الطبيعة الكيميائية  
للبولي فينول أكسيديز

# أولاً: الكشف عن الطبيعة الكيميائية للإنزيمات:

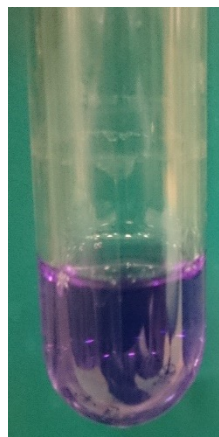
## النظرية العلمية للاختبار:

من المعلوم سابقاً أن الإنزيمات هي من أنواع البروتينات، وفي دراستنا للبروتينات تعرفنا على الكاشف العام 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.

## طريقة العمل:

- ضعي ١ مل من المستخلص الإنزيمي.
- ضعي ٢ مل من محلول بيوريت.

## النتائج:



الاستنتاج	الأنبوبة
	مستخلص إنزيمي + بيوريت

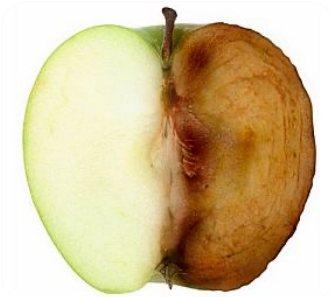
## المناقشة:

اكتبي تعليقك على كل نتيجة حصلتي عليها مع ذكر السبب.

## ثانيًا: اختبار النشاط الإنزيمي للبولي فينول أكسيديز

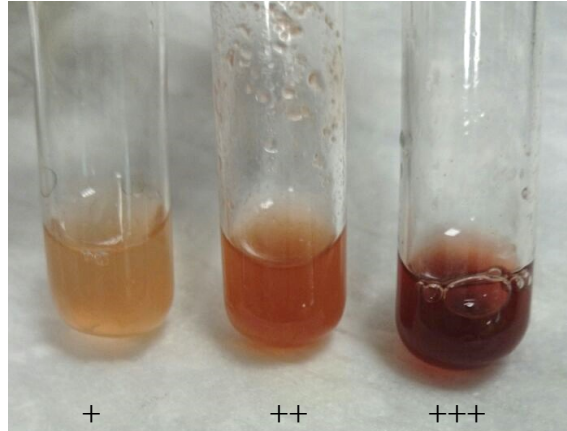
### النظرية العلمية للاختبار:

تفاعل الأكسدة والاختزال يصاحبه تغير في اللون، تفاعل إنزيم البولي فينول أكسيديز نصادفه كثيراً في الطبيعة و هو المسؤول عن اللون البني الذي يظهر على البطاطا و بعض الفواكه بعد تقشيرها و ذلك لتكون المادة الناتجة من الأكسدة و هي quinon.



سنتابع في هذه التجربة تطور التفاعل الإنزيمي بطريقة بسيطة و هي **التغير في اللون**.

و كثافة اللون تناسب طردياً مع نشاط الإنزيم،  
( كلما كان الانزيم نشيطا ← زادت كثافة اللون).



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

## طريقة العمل :

■ حضري ثلاث أنابيب A,B,C

**الأنبوبة A:** مقياس (Control)

١٥ نقطة من المستخلص الإنزيمي + ١٥ نقطة من الكاتيكول (المادة الأساس).

**الأنبوبة B:**

١٥ نقطة من المستخلص الإنزيمي + ١٥ نقطة من الماء المقطر.

**الأنبوبة C:**

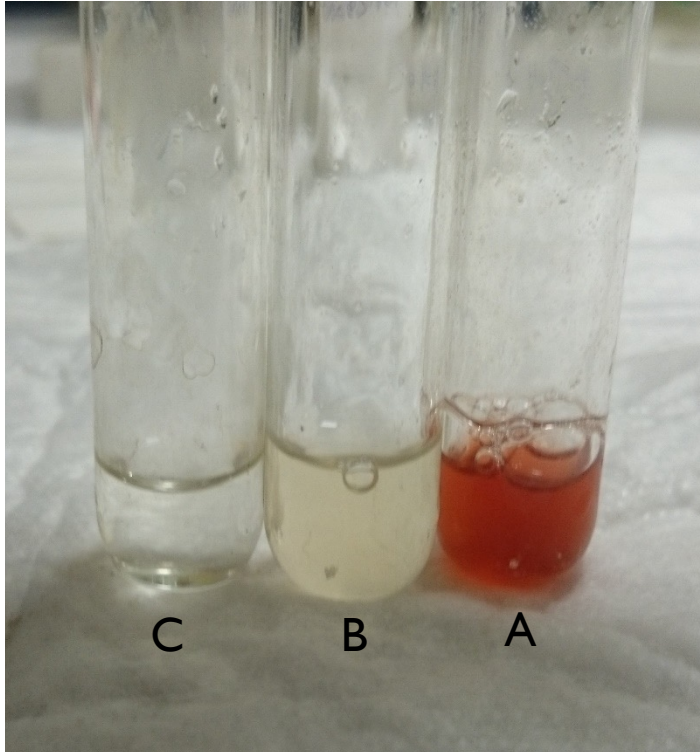
١٥ نقطة من الكاتيكول + ١٥ نقطة من الماء المقطر.

■ ضعي الأنابيب في حمام مائي عند  $37^{\circ}\text{C}$ .

■ رجي كل أنبوبة لمدة 5 دقائق لتهويتها و وذلك لإدخال الأوكسجين.

■ دوني اللون الظاهر.

## النتائج:



كثافة اللون ( + , - , + , أو +++)			زمن التحضير بالدقائق
C	B	A	
			0
			5
			10
			15
			20
			25

ما الذي تتوقعين حدوثه في الأنبوبين (B) و (C) ؟

## المناقشة:

اكتبي تعليقك على كل نتيجة حصلتي عليها مع ذكر السبب.

## ثالثاً: اختبار الطبيعة الكيميائية للبولي فينول أكسيديز

### النظرية العلمية للتجربة:

- الإنزيمات عبارة عن مركبات **بروتينية** تتأثر بعوامل مختلفة.
- فمثلاً عند إضافة **التريسن** (هو إنزيم يعمل على تحلل البروتينات بواسطة تحليله للروابط الببتيدية) إلى إنزيم البوليفينول أوكسيديز، فإن الإنزيم يتحلل ← يفقد قدرته على تحفيز التفاعل.
- وعند إضافة أحماض قوية **كثلاثي كلورو حمض الخليك (TCA)** (والذي يستخدم عادة لإيقاف التفاعلات الإنزيمية) فإنه يعمل على مسخ أو تغيير طبيعة البروتينات (**Denaturation**) ← يفقد قدرته على تحفيز التفاعل.
- كما أنه يوجد مواد كـ **Phenyl thiourea** لها ميل كيميائي قوي تجاه **النحاس** (الذي يعتبر عامل معاون للبوليفينول أوكسيديز) فبإمكانه الارتباط به حتى لو كان مرتبطاً ← يفقد الإنزيم قدرته على تحفيز التفاعل.

## طريقة العمل :

▪ حضري أربع أنابيب A,B,C,D

### الأنبوبة A:

١٥ نقطة من المستخلص الإنزيمي + ١٥ نقطة من الكاتيكول.  
وضعها في حمام مائي عند  $37^{\circ}C$  لمدة ١٠ دقائق واستخدمها كمقياس (Control).

### الأنبوبة B:

١٥ نقطة من المستخلص الإنزيمي + ١٥ نقطة من التريسن (Trypsin).  
رجي الأنبوبة جيداً ثم أضيفي بعد ذلك ١٥ نقطة من الكاتيكول وضعها في حمام مائي عند  $37^{\circ}C$  لمدة ١٠ دقائق، قارني بالأنبوبة A.

### الأنبوبة C:

١٥ نقطة من المستخلص الإنزيمي + ١٥ نقطة من ثلاثي كلوريد حمض الخليك (TCA).  
رجي الأنبوبة جيداً ثم انتظري ٥ دقائق ثم أضيفي ١٥ نقطة من الكاتيكول، وضعها في حمام مائي عند  $37^{\circ}C$  لمدة ١٠ دقائق، قارني بالأنبوبة A.

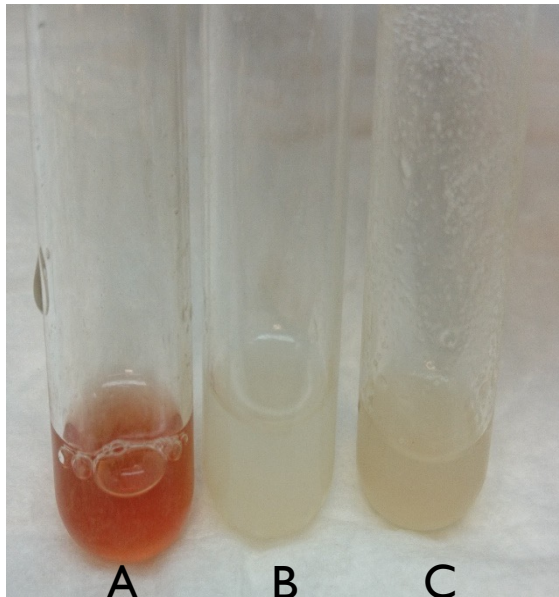
### الأنبوبة D:

١٥ نقطة من المستخلص الإنزيمي + بضعة بلورات من Phenyl thiourea  
استمري بالرج لمدة ٥ دقائق وبعد ذلك أضيفي ١٥ قطرة من الكاتيكول، وضعها في حمام مائي عند  $37^{\circ}C$  لمدة ١٠ دقائق، قارني بالأنبوبة A.



## النتائج:

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



ما الذي تتوقعين حدوثه في الأنبوتين (B) و(C)؟

## المناقشة:

اكتبي تعليقك على كل نتيجة حصلتي عليها مع ذكر السبب.

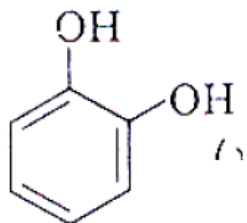
## رابعًا: اختبار خصوصية المادة الأساس (أو المتفاعلة)

### النظرية العلمية للاختبار:

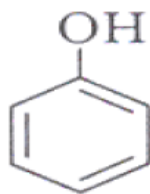
تقوم الإنزيمات بتحفيز التفاعلات بطريقة تخصصية، أي أن كل إنزيم يقوم بتنشيط تفاعل محدد أو أكثر من خلال العمل على مادة معينة تسمى **المادة الأساس** أو **مجموعة مواد متشابهة كيميائياً دون غيرها**.

يحفز إنزيم البولي فينول أوكسيداز عملية الأكسدة لمجموعة من المواد المتقاربة في تركيبها الكيميائي وهو احتوائها على **حلقة بنزين مرتبطة بمجموعتين هيدروكسيل أو أكثر**، **الكاتيكول والهيدروكوينون**.

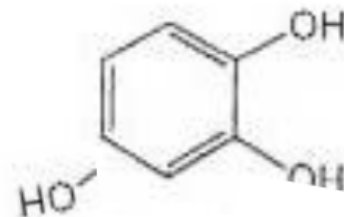
التركيب الكيميائي للثلاث مركبات متقاربة



**Catechol**



**Phenol**



**Hydro quinone**

## طريقة العمل :

▪ حضري أربع أنابيب A,B,C,D

**الأنبوبة A:**

١٥ نقطة من المستخلص الإنزيمي + ١٥ نقطة من الكاتيكول.

**الأنبوبة B:**

١٥ نقطة من المستخلص الإنزيمي + ١٥ نقطة من الفينول.

**الأنبوبة C:**

١٥ نقطة من المستخلص الإنزيمي + ١٥ نقطة من الهيدروكوينون.

▪ رجي الأنابيب وضعيها في حمام مائي عند  $37^{\circ}\text{C}$  لمدة 5 دقائق.

## النتائج:



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

ما الذي تتوقعين حدوثه في الأنبوبين (B) و(C)؟

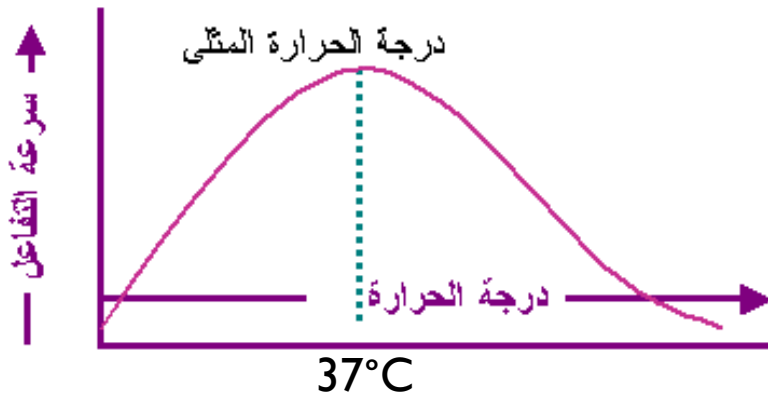
## المناقشة:

اكتبي تعليقك على كل نتيجة حصلتي عليها مع ذكر السبب.

## خامساً: 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 تبعاً لذلك سرعة التفاعل.
- إلى أن يفقد الإنزيم نشاطه عند درجات حرارة عالية جداً أو منخفضة جداً (صفر درجة مئوية).
- الدرجة الحرارة المثلى للبولي فينول أوكسيديز هي  $37^{\circ}\text{C}$ .



## طريقة العمل :

▪ حضري أربع أنابيب A,B,C

أضيفي ١٥ نقطة من المستخلص الإنزيمي وضعيها في حمام مائي لمدة ١٠ دقائق عند:

**الأنبوبة A:**

0 °C

**الأنبوبة B:**

37 °C

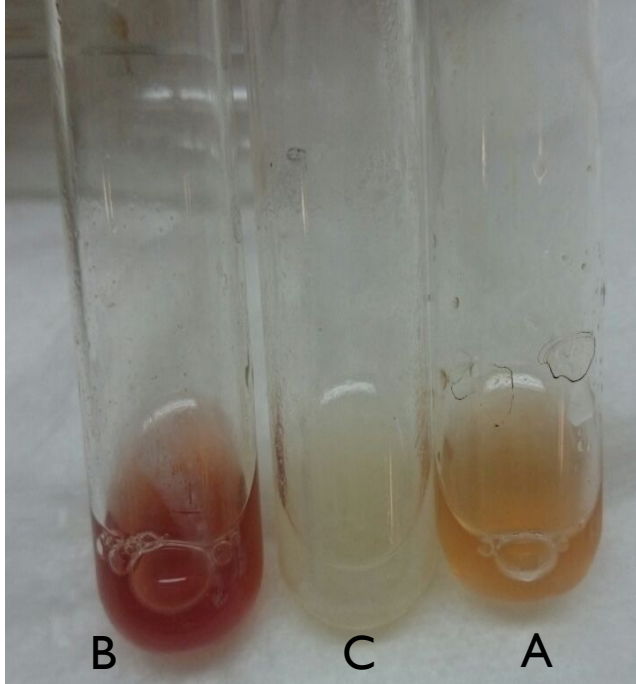
**الأنبوبة C:**

90 °C

▪ أضيفي ١٥ نقطة من الكاتيكول في كل أنبوبة مع الرج.

▪ انتظري ١٠ دقائق ثم أفحصي الأنبوبة ( دون إخراجها من الحمام المائي).

## النتائج:



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

## المناقشة:

اكتب تعليقك على كل نتيجة حصلت عليها مع ذكر السبب.

# الأسئلة

اختبار النشاط الإنزيمي للبولي فينول أكسيديز :

1- تتم دراسة النشاط الإنزيمي عملياً عن طريق تتبع :

..... أو .....

اختبار الطبيعة الكيميائية للبولي فينول أكسيديز :

1- هل يمكن للإنزيم أن يحفز التفاعل الكيميائي دون وجود عامله المساعد ؟ دعي إجابتك مع خلال تجربة في المعمل؟

اختبار خصوصية المادة الأساس (أو المتفاعلة):

1- لماذا تختلف الخصوصية تجاه المادة الأساس من إنزيم لآخر ؟

2- يحفز إنزيم البولي فينول أوكسيديز عملية الأكسدة للمواد الكيميائية التي تحتوي على .....

اختبار تأثير الحرارة على نشاط بولي فينول أوكسيديز :

1- لماذا يفقد الإنزيم نشاطه عند درجات الحرارة عالية جداً ؟

الكشف عن الطبيعة الكيميائية للإنزيمات :

1- الكاشف العام على البروتينات هو اختبار .....



تم بحمد الله .... 