الانزيمات Enzymes

تتميز الخلية الحية بأن معظم التفاعلات الكيميائية التي تحدث داخل الخلية تكون منتظمة ومسيطر عليها بواسطة الانزيمات ، ولو حدثت هذه التفاعلات خارج الخلية الحية فانها تحتاج الى ظروف قاسية لتصل الى نفس السرعة التي تحدث فيها هذه التفاعلات داخل الخلية ، في حين تتمكن الانزيمات من القيام بالدور العامل المساعد في التفاعلات المختلفة تحت ظروف معتدلة من حرارة وضغط و pH .

الانزيمات عبارة عن عوامل مساعدة بايولوجية مكونة اساساً من البروتينات وقد يرتبط بها جزء عضوي يسمى مرافق انزيمي Coenzyme أو prosthetic group أو قد ترتبط بها ايونات معدنية موجبة أو سالبة كمنشطات ولكن يمكن للانزيم ان يعمل بدونها . ويسمى الجزء البروتيني من الانزيم Apoenzyme ، أما الجزء البروتيني والمجموعة الاضافية معاً فيعرف بـ Holenzyme ، وبما ان الانزيمات عبارة عن عوامل مساعدة بايولوجية ذو طبيعة بروتينية تقوم بتسريع التفاعل الكيميائي لذا تكون الكمية اللازمة منه قليلة جداً ويقوم الانزيم بدور العامل المساعد لعدد غير محدد من التفاعلات عند توفر الظروف الملائمة للتفاعل . وتعطي الطبيعة البروتينية للانزيم التخصص المعين ، وان اي عامل مثل الحرارة والاحماض والقواعد القوية والمذيبات العضوية تؤدي الى تغير طبيعة البروتين Denaturation مما يؤدي الى تحطيم فعالية الانزيم ، وان جميع الانزيمات تكون حساسة تجاه الحرارة وتفقد فعاليتها بالمعاملات الحرارية ، وان معظم الانزيمات تفقد فعاليتها عند درجة حرارة 80 °م لمدة 10 دقائق .

اما قدرة الانزيمات على التمييز بين المركبات المتشابهة تتمثل بقدرتها على التفريق بين المتشابهات الضوئية والمركبات ذات البناء المتشابه ان بعض الانزيمات ذات تخصص مطلق لمادة تفاعل معينة ولا يعمل على اي مواد تفاعل اخرى ، فمثلاً في حالة التشابه فمثلاً Aspartase الذي يحفز اضافة NH_4 للاصرة المزدوجة في حامض fumaric ولكنه لا يعمل على الاحماض غير المشبعة الاخرى

$$^{-}OOC-CH=CH-COO^{-} + \overset{+}{N}H_4 \rightleftharpoons \,^{-}OOC-\underset{NH_2}{CH}-CH_2-COO^{-} + H^{+}$$

Fumarate　　　　L-Aspartate

وعلى العكس من ذلك فهناك انزيمات ذات تخصص واسع وتعمل على مركبات عديدة لها مميزات تركيبية مشتركة فمثلا انزيمات التحلل المائي تعمل على تحلل الاصرة الببتيدية الا انها متخصصة بالعمل ضمن مجموعات معينة من الحوامض الامينية.

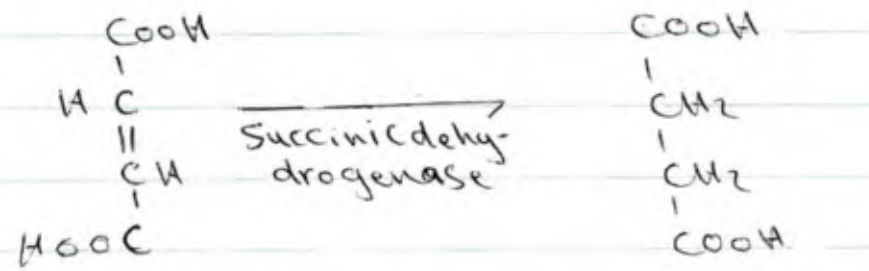
اما النوع الثالث من الانزيمات فهي ذات تخصص فراغي وتعمل على احد المركبات الايزوميرية دون غيرها ويمكن تقسيم التخصص الفراغي للانزيمات الى نوعين

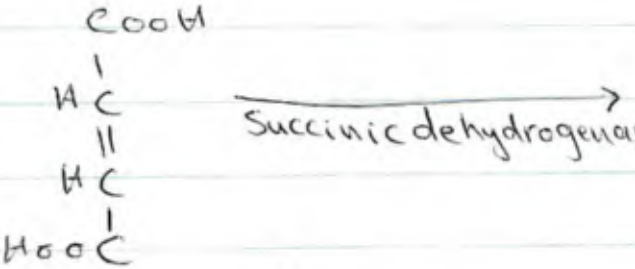
أ- التخصص الفراغي الضوئي

تشمل الانزيمات التي تعمل على المشابهات L دون D واخرى تعمل على D دون L فمثلا انزيمات amino acid oxidase تؤكسد الحوامض الامينية من D فقط وانزيمات glutamic dehydrogenase الذي يعمل على L-glutamic acid دون غيره

ب- التخصص الفراغي الهندسي

تشمل الانزيمات التي تعمل على مواد تفاعل من نوع cis دون ان تعمل على الشكل الهندسي Trans فمثلا Succinic acid dehydrogenase الذي يعمل على اضافة ذرتي H الى حامض fumaric من Trans ولا يعمل على حامض malic الذي يكون من cis





الوحدة الدولية لقياس نشاط الانزيم IU

تعرف وحدة الانزيم حسب الاتفاق العالمي بانها كمية الانزيم اللازمة لتحويل واحد (µM) مايكرومول من مادة التفاعل الى نواتج في زمن دقيقة واحدة عند ٢٥م° تحت ظروف مثالية للقياس.

تصنيف الانزيمات

في البداية سميت الانزيمات بطريقة عشوائية وبدون وجود قاعدة متفق عليها لتسمية الانزيمات وكانت معروفة pepsin و Trypsin . وفي المرحلة الثانية سميت الانزيمات تبعاً لاسم المادة التي يعمل عليها الانزيم او تبعاً لطبيعة التفاعل يضاف اليها المقطع ase .

فمثلاً Urase يعمل على تحلل Urea ، amylase يعمل على تحلل النشا ، lipase يعمل على تحلل الدهون ، اما الانزيمات التي تعمل على تحلل البروتينات فتسمى proteases .

مع اكتشاف العديد من الانزيمات اصبحت الحاجة ملحة الى وضع طريقة الدقيقة لتسمية الانزيمات وكانت ذلك في المؤتمر العالمي للكيمياء الحيوية الذي عقد عام ١٩٦١ اذ اعطى اسمان لكل انزيم ، الاسم العادي وهو باضافة ase الى اسم المركب الذي يعمل عليه والاسم الاخر هو اسم عددي لكل انزيم asystematic cod number for each enzyme يرمز له E.C. وهو مكون من ٤ ارقام فمثلاً انزيم lipase البنكرياس رقمه (3.1.1.3) الرقم الاول 3 يدل على القسم الذي يتبعه الانزيم 3 وهو انزيمات التحلل المائي ، الرقم 1 يدل على تحت القسم (1) وهو يعمل على تحليل الاواصر الاسترية 3.1 ، الرقم الثالث 1 يدل على تحت - تحت القسم ان الاواصر الاسترية التي يحللها هي اواصر استر كربوكسيل (3.1.1) الرقم الاخير 3 يدل على التسلسل الخاص بـ lipase من ضمن الانزيمات التي تحلل اواصر الاستر كربوكسيل (3.1.1.3) . وعلى هذا الاساس قسمت الانزيمات الى ٦ اقسام رئيسية .

ان التقسيم الحديث للانزيمات يعتمد على عاملين اولهما طبيعة التفاعل الذي يساعد فيه الانزيم والاخر النظام الرقمي المقترح بواسطة مؤتمر الكيمياء الحيوية

الاقسام الرئيسية للانزيمات

١- انزيمات الاكسدة والاختزال Oxidoreductases

تحفز انزيمات هذه المجموعة تفاعلات الاكسدة والاختزال (انتقال الالكترونات) ومنها dehydrogenases و oxidases

٢- الانزيمات الناقلة Transferases

تعمل هذه الانزيمات على نقل مجموعة فعالة من مركب الى مركب اخر فهي تنقل مثلاً مجموعة امين، مثيل، الكيل، اسيل، فوسفات، كبريت من مركب الى اخر مثل amino transferases ، methyl transferases

٣- انزيمات التحلل المائي Hydrolases

يتبع هذا القسم مجموعة كبيرة من الانزيمات التي تساعد تفاعلات التحلل المائي ومنها amylases ، proteases ، lipases ، esterases .

٤- انزيمات الحذف أو الاضافة Lyases

تساعد على ازالة مجموعة كيميائية من مركب معين بدون عملية تحلل مائي وهذه الانزيمات تعمل على تحفيز تكوين اواصر C-N ، C-O ، C-C ، اواصر مزدوجة أو ازالتها مثل decarboxylases و aldolases

٥- انزيمات التشابه Isomerases

تساعد هذه المجموعة من الانزيمات على تحويل مركب الى مركب اخر مشابه له مثل Trans-Isomerases .

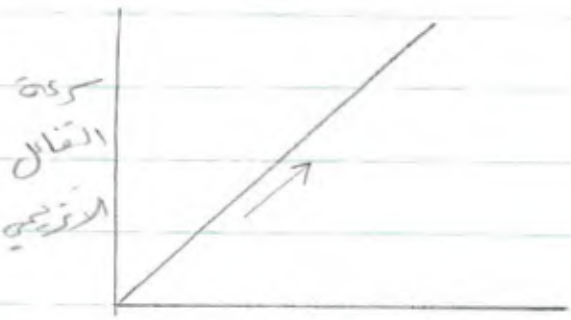
٦- انزيمات الربط Ligases

انزيمات هذا القسم تعمل على ربط جزيئين معاً مثل انزيمات التخليق Synthetases و Carboxylases ، Tyrosinase .

العوامل المؤثرة على سير التفاعل الانزيمي

١- تركيز الانزيم

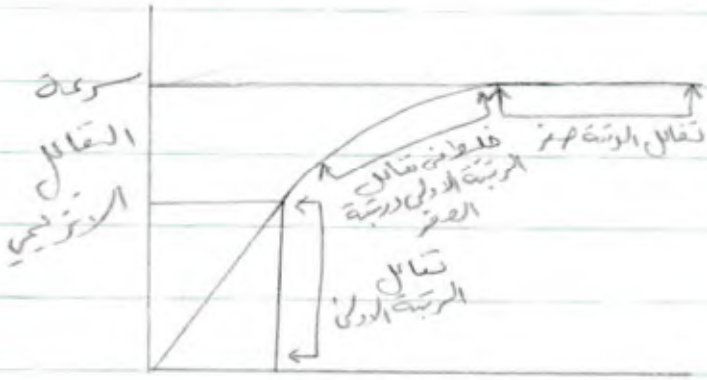
ان سرعة التفاعل الذي يشارك فيه الانزيم عاملاً مهماً يتناسب طردياً مع تركيز الانزيم ويستفاد من هذه العلاقة في تقدير تركيز الانزيم ، وتكون العلاقة خطية طردية بين التفاعل الانزيمي وتركيز الانزيم في حالة وجود وفرة من المادة التي يعمل عليها الانزيم (المادة الخاضعة) Substrate



٢- تركيز المادة التي يعمل عليها الإنزيم (المادة الخاضعة substrate)

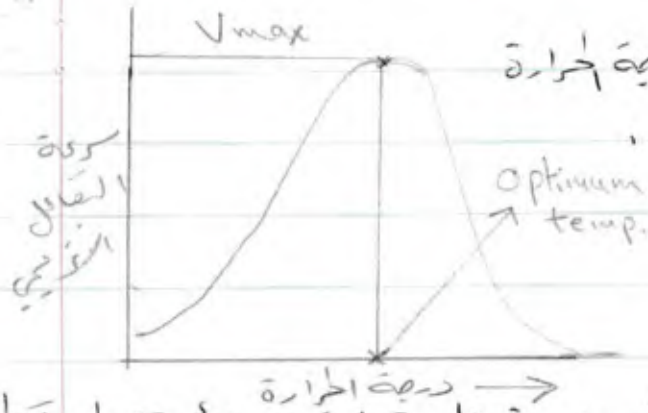
عندما يكون تركيز الإنزيم ثابت ويزداد تركيز المادة التي يعمل عليها الإنزيم ، يلاحظ في البداية زيادة ملحوظة في سرعة التفاعل واذا استمرت زيادة تركيز المادة التي يعمل عليها الإنزيم تبدأ الزيادة في سرعة التفاعل الإنزيمي بالانخفاض ، وعند وصول التفاعل الى مرحلة يكون فيها تركيز المادة التي يعمل عليها الإنزيم عاليًا عندها لا يحدث اي زيادة في سرعة التفاعل

٣- درجة الحرارة



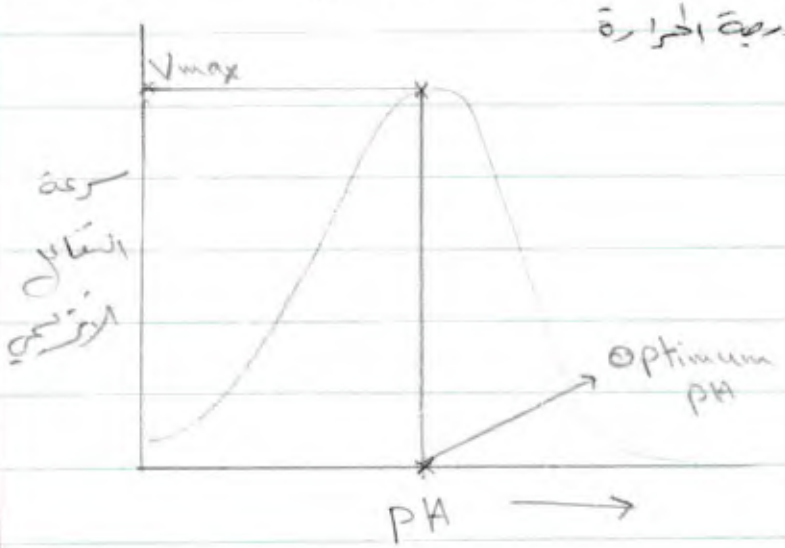
تؤدي زيادة درجة الحرارة الى زيادة سرعة التفاعل الذي يشارك فيه الإنزيم لكن بحدود معينة ، في البداية تزداد سرعة التفاعل بازدياد درجة الحرارة حتى تصل الى درجة الحرارة المثلى لعمل الإنزيم Optimum temp. ، الا ان زيادة درجة الحرارة تؤدي الى انخفاض سرعة التفاعل حتى تصل الى الصفر عند الدرجات الحرارية العالية تفوق درجة الحرارة المثلى على الوقت . وتعود هذه الحالة الى عاملين متعاكسين :

أ. زيادة سرعة التفاعل نتيجة ارتفاع درجة الحرارة يؤدي الى زيادة النشاط الجزيئي لمواد التفاعل.



ب- زيادة سرعة تحطم الانزيم نتيجة ارتفاع درجة الحرارة مما يؤدي الى هبوط سرعة التفاعل الى الصفر.
ولنظرا لطبيعة الانزيمات البروتينية فانها ستتأثر بتغير درجة الحرارة.
ان تغير درجة الحرارة يؤدي تغير طبيعة الانزيم denaturation ، وان التغير السريع في طبيعة الانزيم يؤدي الى تحطيم الاواصر الهيدروجينية بصورة تؤدي الى فقدان الانزيم لفعاليته.

٤- تأثير الـ pH (الاس الهيدروجيني)
تتأثر فعالية الانزيم بتركيز ايون H^+ في وسط التفاعل ويعزى ذلك الى التغيرات التي تحدث في تأين الانزيم اي على (الصفات الايونية للجاميع الامينية والكاربوكسيلية) الموجودة في جزيئة الانزيم وبالتالي التأثير على الموقع الفعال للانزيم وكذلك على هيئة وشكل الجزيئة الأخرى المادة الخاضعة والمركب المعقد المتكون بين الانزيم والمادة الخاضعة اضافة الى ان القيم العالية او الواطئة من الـ pH تؤدي الى حدوث الدنترة للانزيم لكل انزيم حدود معينة من الـ pH التي يعمل ضمنها ولكل انزيم pH معين يعمل عنده على الطاقة القصوى ويسمى الـ pH الامثل optimum pH . ويتأثر pH الامثل بعدة عوامل منها مصدر الانزيم ونوع المادة الخاضعة ودرجة الحرارة



٥ - المنشطات

لا تعمل بعض الانزيمات الا بوجود بعض الايونات اللاعضوية في وسط التفاعل مثل Fe^{+3}، Mg^{+2}، Mn^{+2}، هناك انزيمات تظهر زيادة في فعاليتها بوجود ايونات موجبة الشحنة cation مثل ايونات K^{+}، ومن الايونات المهمة في تنشيط الانزيمات هي Zn^{+2}، Ca^{+2}، K^{+}، Mg^{+2}، Ca^{+2}.

لا تتأثر الانزيمات بصورة عامة بوجود أو عدم وجود الايونات سالبة الشحنة anion عدا انزيمات اميليز اللعاب والبنكرياس الذي ينشط بوجود ايونات Cl^{-}

هناك انزيمات تكون بصورة فعالة يطلق عليها proenzyme ، Zymogen مثل trypsinogen الذي ينتجه البنكرياس فعند وصول عصارة البنكرياس الحاوية على trypsinogen الى الامعاء الدقيقة يتحلل بمساعدة انزيم اخر ويتحول الى الصورة الفعالة وهو trypsin فيتم ذلك بازالة ببتيد منشط يصاحبه تغير في شكل جزيئة الانزيم.

٦- المثبطات

هناك كثير من المواد التي تثبط الانزيمات وتقلل من سرعة التفاعل الانزيمي وتعتمد درجة التثبيط على عدة عوامل

١- تركيز المادة التي يعمل عليها الانزيم substrate

٢- تركيز المثبط

٣- الالفة النسبية الموجودة بين الانزيم والمادة التي يعمل عليها.

١- التثبيط غير العكسي Irreversible inhibition

في هذه الحالة يرتبط المثبط ارتباطا وثيقا يصعب انفصاله الى المنطقة الفعالة بالانزيم مما يمنع ارتباط المادة الاساس ويفقد الانزيم فعاليته.

٢- التثبيط العكسي Reversible inhibition

في هذه الحالة يرتبط المثبط ارتباطا يسهل انفصاله مع الانزيم وهناك نوعان من التثبيط العكسي.

أ - التثبيط التنافسي Competitive inhibitor

في هذه الحالة يشابه المثبط التنافسي في تركيبه لتركيب المادة الخاضعة ويرتبط بالموقع الفعال للإنزيم مما يؤدي الى منع المادة الخاضعة من الارتباط بنفس الموقع. ويقلل المثبط التنافسي من سرعة التفاعل الإنزيمي وذلك بالإقلال من نسبة جزيئات الإنزيم التي ترتبط بها المادة الخاضعة لذلك يمكن ازالة تأثير المثبط بزيادة كمية المادة الخاضعة

$$E + S \rightleftharpoons ES \longrightarrow P + E$$

$$+$$

$$I \longrightarrow EI$$

ب - التثبيط اللاتنافسي Non-competitive inhibitor

وهو ارتباط المثبط الى موقع في الإنزيم غير المنطقة الفعالة ، هذا الارتباط يؤدي الى تغير المنطقة الفعالة فلا يستطيع الارتباط مع المادة الخاضعة ، وليس بالامكان عكس هذا النوع من التثبيط بزيادة تركيز المادة الخاضعة ، اذ تحدث نقصان للسرعة القصوى للتفاعل الإنزيمي بسبب قلة الهيئة الفعالة للإنزيم لذلك هذا النوع من التثبيط يكون غير عكسي ، فمثلاً بعض الإنزيمات تحتاج لوجود بعض المعادن لنشاطها Mg / Ca فهذه الإنزيمات يمكن ان تثبط غير تنافسياً بواسطة المواد التي تثبط الارتباط مع هذه المعادن .

$$E + S \rightleftharpoons ES$$

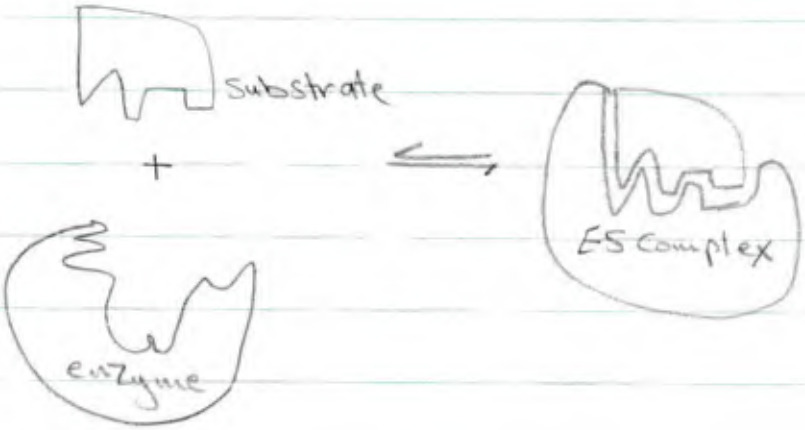
$$+ \; I$$

$$\updownarrow$$

$$E + I \longleftarrow ESI$$

آلية عمل الإنزيمات والموقع الفعال للإنزيم

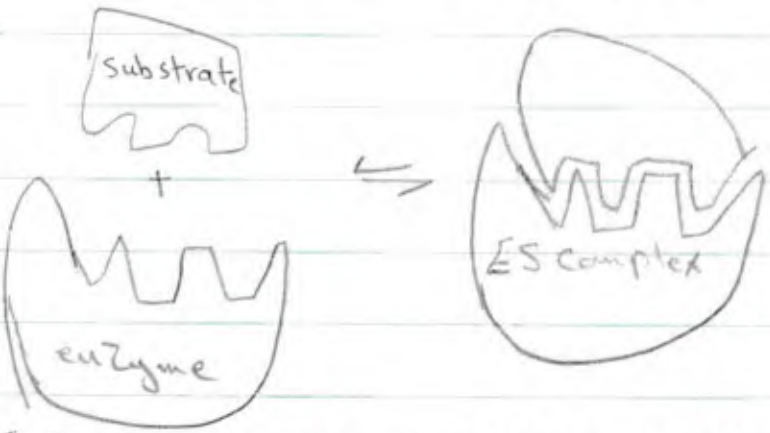
الموقع الفعال للإنزيم عبارة عن الموقع أو المساحة التي يتم فيها تحليل المادة الخاضعة ان كثير من الإنزيمات تتكون من مواد بروتينية فقط ، وعلى هذا الاساس فان الموقع الفعال يتكون من واحد أو أكثر من الاحماض الامينية اضافة الى ذلك غالباً ما تشارك الايونات أو المرافقات الإنزيمية في عملية التحفيز كجزء مهم لا يتجزأ من المركب المعقد ، وعلى هذا الاساس لا بد من وجود مواقع متخصصة لربط هذه المركبات المختلفة (المادة الخاضعة والمرافق الإنزيمي والايونات) الى الموقع الفعال للإنزيم . اذ يحصل للعديد من الإنزيمات تغيرات في التركيب أو الهيئة في حالة تماس الإنزيم مع المادة الخاضعة أو مع المرافق الإنزيمي أو مع الايون ينتج عنه حصول تحور في التركيب الثالثي لجزيئة الإنزيم ، اي يتحور



الموقع الفعال عند ارتباط المادة الخاضعة ويصبح شكل الموقع الفعال مكملاً او متمماً لشكل المادة الخاضعة بعد الارتباط . ان هذه العملية عبارة عن عملية تعرف او تسمى ديناميكي تعرف بالتوافق المستحث

وهناك من يقول ان خاصية الربط تعتمد على الترتيب الدقيق للذرات في الموقع الفعال ، فيجب ان يكون شكل المادة الخاضعة مطابق لشكل الموقع الفعال وهذه يطلق عليها نظرية القفل والمفتاح . اي شكل الموقع الفعال يكون صلب والمادة الخاضعة تكون مرنة وهي التي ترتب شكلها بحيث يتطابق مع الموقع الفعال للانزيم

وفي حالة تكون الانزيم من مادة بروتينية فقط فان بعض الاحماض الامينية تساهم في الموقع الفعال للانزيم وليست جميعها ، اذ بالامكان ازالة جزء كبير من بروتينات بعض الانزيمات دون ان يؤثر ذلك على فعالية الانزيم ، ومن الاحماض الامينية التي غالباً ما تساهم وتتواجد في المواقع الفعالة للانزيمات Asparatic acid ، glutamic acid / Histidine / Serine و Tyrosine ، Arginine .



انزيمات التصنيع الغذائي وانواعها

ان استعمال الانزيمات في الصناعات الغذائية عادة لغرض زيادة الجودة واستغلال مخلفات التصنيع، لتحسين الجدوى الصناعية، لتحقيق معدلات عالية في عمليات الاستخلاص ولتحسين الطعم وحفظ الخصائص الطبيعية والكيميائية للاغذية. استعملت الانزيمات بطرق مختلفة منذ القدم وقبل معرفة طبيعتها الكيميائية وحقيقة عملها فمثلاً استعملت الانزيمات في عمليات التخمر قبل معرفة وجودها في الخلايا الحية، وفي عمل الجبنات وصناعة البيرة والخل والمخللات. وللانزيمات العديد من الصفات المرغوبة التي تشجع استعمالها في العمليات التصنيعية المختلفة

١- الانزيمات مواد طبيعية وليست مواد سامة.

٢- الانزيمات تعمل على تحفيز تفاعل ما بدون تكون تفاعلات جانبية غير مرغوب بها

٣- الانزيمات نشطة تحت الظروف المعتدلة من حرارة و pH

٤- التأثير الانزيمي يمكن ان يتم في تركيز منخفض جداً منه

٥- معدل التفاعل الانزيمي يمكن ان يتحكم به بتعديل الحرارة، pH، كمية الانزيم المستعملة.

٦- يمكن تثبيط التفاعل الانزيمي بعد وصول التفاعل الى الدرجة المطلوبة.

Amylases

هناك اربعة انواع من amylases، النوع الاول هو α-amylase الذي يحلل الاواصر الكلوكوسيدية α,1-4 من النهاية غير المختزلة لجزيئات النشا الكبيرة بطريقة عشوائية لتعطي oligosaccharides / dextrines / maltose / glucose / β-amylase الذي يحلل النشا من النهاية غير المختزلة لتعطي جزيئات maltose بصورة متعاقبة. اما انزيم gluco amylase فله القدرة على تحلل اواصر α,1-6 لنقاط التشعب لجزيئات amylo pectin. اما الانزيم الرابع فهو maltase او amyloglucosidase فيقوم بانتاج glucose فقط. يمكن الحصول على α-amylase من الحيوانات والنباتات والفطريات والبكتريا، بينما يمكن انتاج β-amylase من النباتات وخاصة الحبوب المنبتة.

٢- catalase

يمكن الحصول عليه من كبد الابقار ومن A. nigers . ومن المعتقدات ان هذا الانزيم مسؤول عن الكسرة الخضروات وتلفها خلال مدة الخزن . يستعمل للتخلص من الكميات الزائدة من H_2O_2 حيث يستعمل كمادة حافظة للحليب في صناعة الجبن

$$2H_2O_2 \xrightarrow{\text{catalase}} 2H_2 + O_2$$

٣- peroxidase

يحتوي هذا الانزيم على مجموعة heme ويساعد في انجاز التفاعل

$$AH_2 + ROOH \longrightarrow A + H_2O + ROH$$

اذ تمثل A المادة التي تعطي H مثل البنزيدين والتايروسين و pyrogallol و guaicol و Flavonoidse

ومن المعتقدات يكون peroxidase مسؤول عن تأكسد وتلف الخضروات اثناء خزنها . ويقاوم هذا الانزيم درجات الحرارة العالية ويستعمل كمؤشر على كفاءة عملية السلق blanching ، اذ وجد ان الانزيم يحتفظ بنصف فعاليته بعد وضعه على درجة حرارة 85م لمدة 32 دقيقة .

Ascorbic acid oxidase

يوجد بكثرة في الانسجة النباتية ويحتاج لايون Cu لعمله ويساعد في التفاعل التالي

L-Ascorbic acid + 1/2 O_2 ⟶ dehydro ascorbic acid + H_2O

لهذا التفاعل اهمية كبيرة في منتجات الفواكه وخطر خاصة في عصير الليمون المركز خلال خزنه . ويعتقد ان هذا التفاعل يكون مسؤول عن بدء التفاعل البني وخسارة كل فعالية فيتامين C .

بالامكان السيطرة على هذه التفاعلات البنية لحامض الاسكوربيك والاقلال منها بواسطة منع O_2 او استعمال البخار في عملية السلق، وتزداد سرعة التفاعلات البنية بوجود ايونات Fe ، Cu .

Invertases

يمكن الحصول على invertase من خمائر Saccharomyces cerevisia ومن الفطر Aspergillus niger و A. oryzae . يقوم هذا الانزيم بتحليل السكروز الى glucose و Fructose ويستعمل في تصنيع السكر المحول Invert sugar الذي يستعمل في عمل الحلويات

Lipases

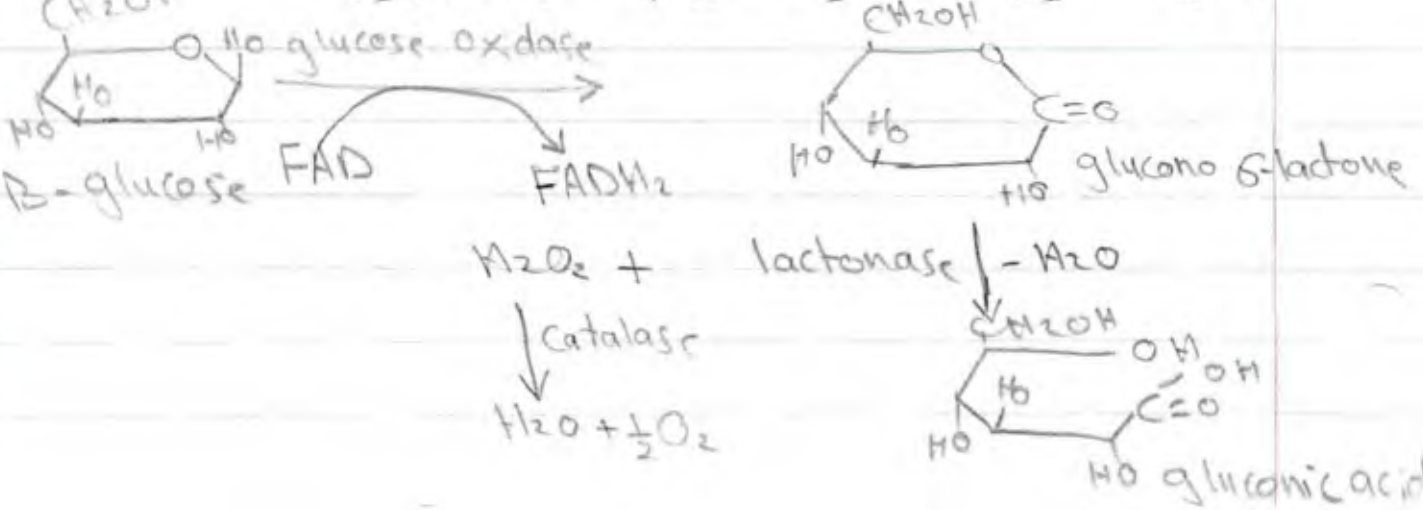
تحلل هذه المجموعة من الانزيمات الدهون واسترات الاحماض الدهنية . يتم تحلل الدهون على السطح البيني بين الدهن والماء المستحلب . ويترتب على ذلك ان سرعة التفاعل تعتمد على المساحة السطحية للمستحلب . تظهر lipases تخصص تجاه طول سلسلة الاحماض الدهنية ودرجة التشبع وموقع الاحماض الدهنية والحالة الطبيعية للمادة التي يعمل عليها الانزيم .

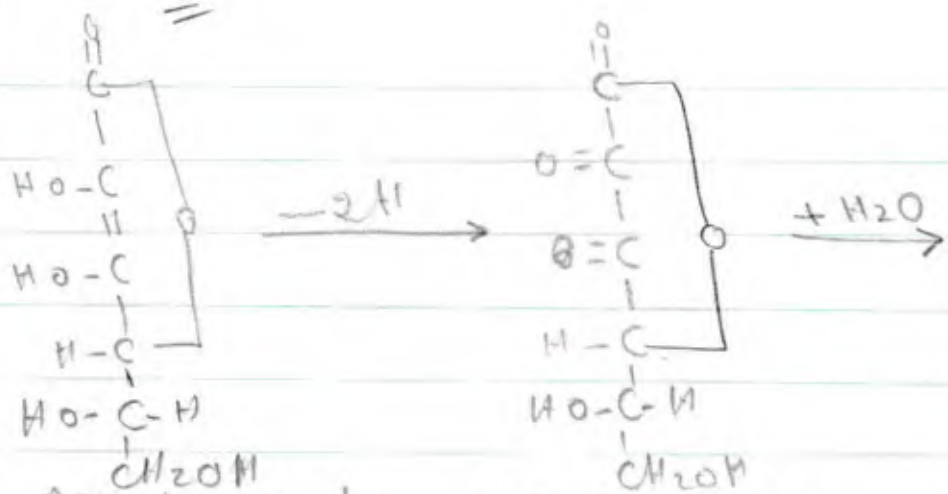
lipases لها اهمية هامة في صناعة الالبان وفي صناعة المعجنات .

انزيمات الاكسدة والاختزال Oxidoreductases

١- glucose oxidase

تقوم عدد من الفطريات بانتاج هذا الانزيم الذي يساعد على تكسير B-glucose يستعمل الانزيم تجاريا لازالة glucose و O_2 من المواد الغذائية . يوجد الجلوكوز بكميات قليلة في البومين البيض والبيض المجفف ولمنع تلفها اثناء خزنها يستعمل هذا الانزيم لتكسير هذا السكر المختزل . كما توجد اثار من O_2 في البيرة والخمور وعصير الفاكهة والذي يزال بواسطة هذا الانزيم لمنع حدوث بعض التغيرات غير المرغوبة التي تسبب الاسمرار الانزيمي





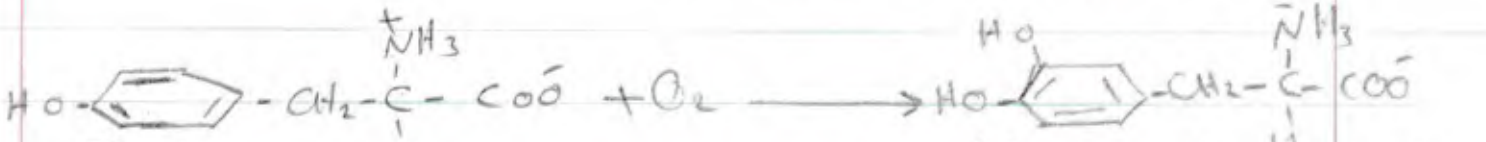
L-Ascorbic acid — dehydro ascorbic acid — 2,3-diketo gulconic acid

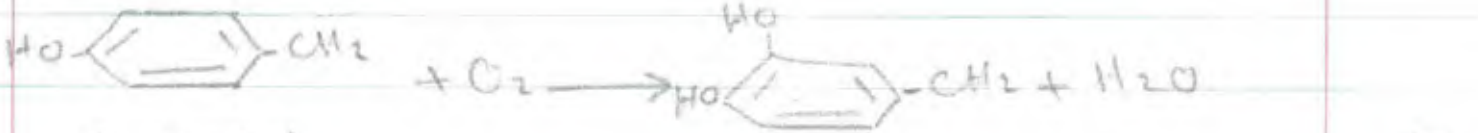
Enzymatic Browning

يحدث اسمرار الفواكه كالتفاح والخوخ والمشمش أو الخضروات كالبطاطا نتيجة تعرض الأنسجة الداخلية لـ O_2 بسبب عملية القطع أو الخدش. ويحدث التفاعل البني عندما يساعد انزيم معين في التفاعل بين O_2 وبعض المركبات الفينولية لينتج عن ذلك مركبات quinone وأنواع أخرى متبلمرة والتي تكون مسؤولة عن اللون البني. غالباً ما يطلق على الانزيم المسؤول عن التفاعل polyphenol oxidase وله اسماء أخرى Tyrosinase / phenolase ، catechol oxidase / potato oxidase يتغير اسم الانزيم تبعاً للمصدر الذي اشتق منه أو تبعاً للمادة الخاضعة.

يساعد انزيم polyphenol oxidase في نوعين اساسيين من التفاعلات هما hydroxylation والثاني oxidation ، فالأول يحدث على الفينولات المحتوية على مجموعة OH واحدة فقط

Tyrosine — 3,4-dihydroxy phenylalanine



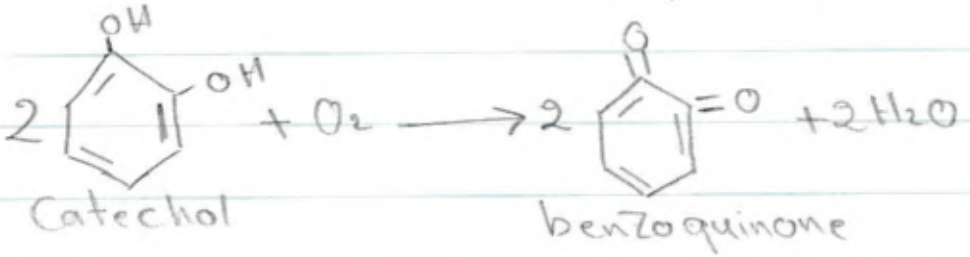


p-Cresol

4-Methyl catechol

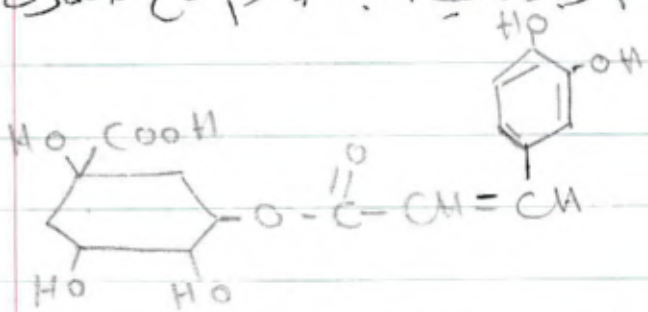
اما التفاعل التأكسدي الذي Catecholase activity ايضاً فيحدث مع o-diphenol مثل Catechol او في المركبات (Tyrosine و p-cresol) لتكون benzoquinone

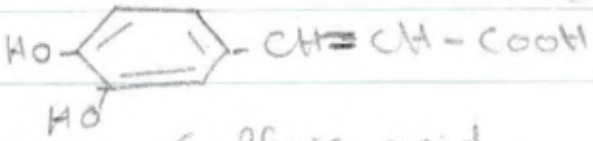
Catechol benzoquinone



ويعمل انزيم polyphenol oxidase على مركبات فينولية متعددة الهيدروكسيل Chlorogenic acid الموجود في البطاطا والتفاح والكمثرى

Chlorogenic acid





Caffeic acid