

الانزيمات في الكائنات الدقيقة

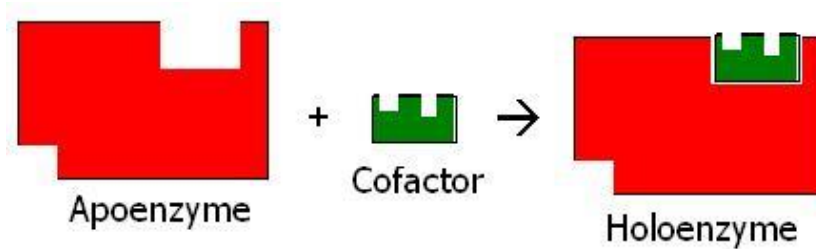
(الانزيمات الفطرية)

✧ تنقسم البروتينات في الكائنات الحية الدقيقة الى :

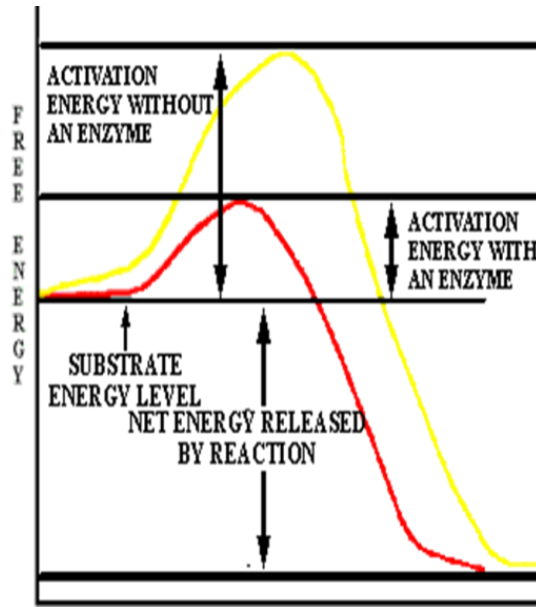
1. بروتينات تركيبية structural proteins.
2. بروتينات تخزينية storage proteins.
3. بروتينات وظيفية functional proteins و هي الانزيمات .

✧ ماهي الانزيمات ؟

تعرف الانزيمات بانها مواد بروتينية متخصصة، اما بسيطة او معقدة تعمل علي تسير التفاعل .
الانزيمات هي جزيئات بروتينية كروية الشكل تقريبا ، بعض الانزيمات تكون عباره عن مركبات بروتينية فقط والبعض الاخر تتكون الانزيمات من مكونين اثنين ،جزي بروتيني يطلق عليه Apozyme ويرتبط به مجموعة مرافقه prosthetic group او مرافق انزيمي Coenzyme او ايون احد العناصر ،ويسمى الانزيم الكامل (الجزء البروتيني مع المجموعة المرافقة) بـ Holoenzyme.

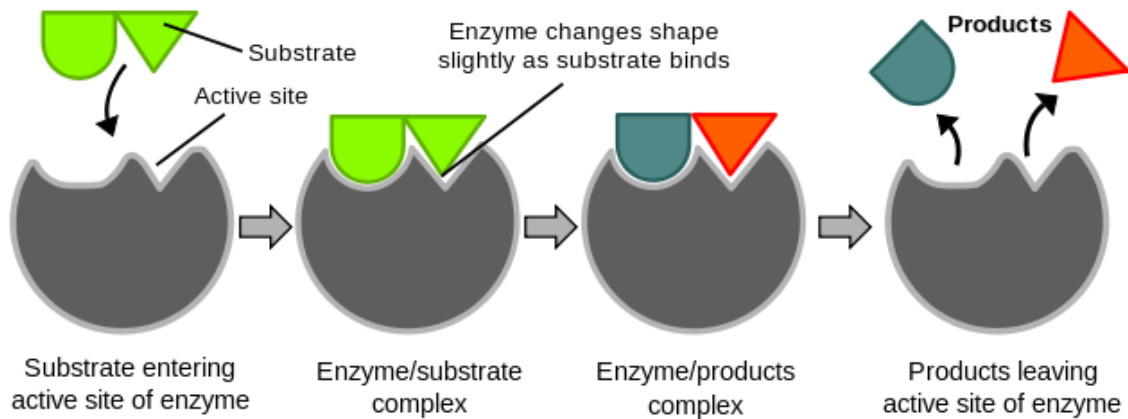


✧ تقوم الانزيمات بتعجيل معدل التفاعل البيوكيميائي في الخلية عن طريق خفض طاقة التنشيط اللازمة لإتمام التفاعل ، وتسمح بتتابع الخطوات الحيوية الاساسية بدرجة سريعة .



✧ تتكون الانزيمات في البروتوبلازم ،وقد تنتقل الى الخارج لتساعد في تفاعلات معينة خارج الخلية وتسمى هذه الانزيمات (Exoenzyme) ، وهناك انزيمات تعمل داخل الخلية تسمى (Endoenzyme) وهي الأكثر .

✧ تتحد الانزيمات مع جزيئات مادة التفاعل substrate في ما يعرف بـ active site لتكون مركب معقد من الانزيم ومادة التفاعل enzyme-sudstrate complex الذي يتحلل ليعطي نواتج (منتجات) التفاعل ويظل الانزيم بحالته الطبيعية (الاصلية) دون تغيير ولذلك يمكن استخدامها مراراً وتكراراً في تفاعلات الخلية ، حيث يمكن لجزيء واحد ان يؤدي عمله كاملاً ملايين المرات في الدقيقة الواحدة .ووجد ان الانزيمات تظهر تخصصاً ملحوظاً لمواد تفاعلها (نظرية القفل والمفتاح)



✧ نشاط كل انزيم له مجال من قيم pH حيث يعمل في حدودها ، كما ان لكل انزيم قيمة مثالية من الـ pH يكون النشاط عليها اكبر ما يمكن . تقع قيمة الـ pH المثالية لمعظم الأنزيمات بين 5-8 ، وقد يتسع المجال في بعض الحالات ليتراوح ما بين 2-10 .

✧ تتأثر الانزيمات بالحرارة **thermolabile** أي انها تفسد بالحرارة المرتفعة .

✧ هناك عدة عوامل تؤثر على معدل وكفاءة التفاعلات الانزيمية مثل :

1. الحرارة
2. تركيز الانزيم
3. تركيز مادة التفاعل
4. التآلف ما بين الانزيم ومادة التفاعل .

✧ تتميز الكائنات الحية الدقيقة بوجود عديد من الانزيمات داخلها والتي يحدد نشاط هذه الانزيمات طبيعة الكائن الحي وخواصه الفسيولوجية . ودائما ما يكون الكائن الدقيق مع كائنات اخرى في الطبيعة فان علاقاته البيئية تكون انعكاسا مباشرا لما يملكه من أنزيمات

✧ تبنى معظم انظمة التصنيف الميكروبية على النشاط الانزيمي ، حيث يتم اختبار وقياس وتقدير عدد الانزيمات كميا ، فوجود او غياب انزيم خاص يشكل القاعدة الاساسية للفرقة بين الكائنات الدقيقة ، كما انها تمثل التقدير الرئيسي للحالة الفسيولوجية والبيئية للكائن الدقيق .

◀ الاختبارات الانزيمية (التجارب متعلقة بالفطريات) :

1. تحلل النشا :

- النشا عبارة عن مادة كربوهيدراتية مكونة من تجمع الجلوكوز ومصدره النباتات وهو غير قابل للذوبان في الماء.
- بعض الكائنات الدقيقة لها القدرة على تحليل النشا عن طريق افرازها لانزيم خارجي يعرف α -amylase الذي يحلل النشا الغروي الى وحدات من الجلوكوز .

التجربة /

يحضر وسط غذائي يحتوي على النشا ، ويلقح بواسطة قرص من الفطر المراد دراسته ، يحضن لمدة اسبوع ، بعدها يتم الكشف عن تحلل النشا .

طريقة الكشف/ تكون عن طريقة اضافته محللول اليود الى بيئة النمو ، فاذا ما تكونت هالة شفافة حول النمو الفطري بعد الإضافة فانه دليل على ان الفطر قادر على تحليل النشا وتكسيه الى مركبات ابسط منه . اما اذا لم يتمكن من تحلل النشا فانه سيظهر لون ازرق نتيجة لتفاعل اليود مع النشا .

2. تحلل الجيلاتين :

- الجيلاتين مادة بروتينية تحضر من مادة بروتينية غير قابلة للذوبان تسمى collagen، الجيلاتين اذا اذيب في الماء فانه يكون محلولاً غروباً صلباً ، والجيلاتين اذا تم تحلله (الى احماض امينية) يفقد قدرته على التصليب ويصبح سائلاً حتى عند وضعه في حمام ثلجي .
- الانزيم المسؤول عن تحلل الجيلاتين يسمى gelatinase (ويسمى في بعض الكائنات protease) وهو انزيم خارجي.

التجربة /

- يتم تحضير وسط غذائي مناسب لنمو الفطر بحيث لا تحتوي البيئة على أي مصدر كربوهيدراتي سهلة التخمير لان انزيم gelatinase لا يفرز في وجود هذه المواد .

- تجدر الإشارة الى ان بيئة الجيلاتين لها خاصية التصلب hydrogel على درجة اقل من 25 ° م ويتحول الى hydrosol الحالة السائلة على درجة حرارة اعلى من 25 ° م.
- اذا استطاع الفطر تحليل الجيلاتين فان البيئة لا تتصلب عند وضعها في حمام ثلجي .

3. تحلل الكازين :

- الكازين عبارة عن **فوسفوبروتين** وهو الجزء البروتيني الرئيسي في اللبن ، ويوجد كمعلق غروي يعطي اللبن اللون الابيض غير الشفاف .
- تستطيع بعض الكائنات الدقيقة ان تقوم بتحلل الكازين الى (احماض امينية) قابلة للذوبان في الماء ، تكون شفافة ، وتعرف هذه العملية بالببتنة peptonization .
- الانزيم المسؤول عن تحلل الكازين يعرف بـ caseinase ، وهو انزيم خارجي .

التجربة /

- يتم تحضير بيئة مناسبة لنمو الفطر ، يضاف اليها حليب معقم ، تلقح بالمنتصف بقرص من الفطر المراد اختباره و تحضن لمدة اسبوع في الظروف المناسب .
- يظهر الفطر القادر على تحليل الكازين **محاطا بهالة رائقة** بينما بقية البيئة تكون بيضاء معتمة .
- كذلك يمكن الكشف عن تحلل الكازين **بإضافة HCl (1N)** الى بيئة النمو حيث تتكون هالة رائقة ايضا حول النمو الفطري ويكون دليلا على التحلل .

4. تحلل الدهون :

- بعض الكائنات الدقيقة لها القدرة على تحليل الدهون وينتج عن ذلك فسادها .ويؤدي تحلل الدهون الى الحصول على كمية كبيره من الطاقة مقارنة بالطاقة الناتجة عن تحلل الكربوهيدرات .
- ينتج عن تحليل الدهون او الجليسيريدات ذات **الوزن الجزيئي المنخفض** تكوين جليسرين و احماض دهنية طيارة اما الجليسيريدات **العالية الوزن الجزيئي** فتحلل الى جليسرول و احماض دهنية .

- الانزيم المسؤول عن تحليل الدهون يعرف ب lipase.

التجربة /

- يحضر وسط غذائي مناسب ويعقم ، ثم يضاف اليه الزيت المعقم بالترشيح ، تصب في اطباق بتري ثم تترك لتتصلب.
- تلقح بقرص من الفطر المراد اختباره ، يحضن لمدة اسبوع .
- يتم الكشف عن تحليل الدهون بإضافة محلول كبريتات النحاس $CuSO_4$ الى البيئة ، يلاحظ تكون نقط لها لون اخضر مزرق حول النمو الفطري نتيجة لتفاعل كبريتات النحاس مع الاحماض الدهنية لتعطي مركب معقد له هذا اللون المميز . وهذا دليل على ان الفطر قادر على تحليل الدهون .

5. تحليل اليوريا :

- اليوريا عبارة عن مركب نيتروجيني عضوي معقد التركيب ، يتحلل بواسطة انزيم urease ، ينتج عن هذا التحلل الامونيا .
- بعض انواع الفطريات له القدرة على انتاج هذا الانزيم وبالتالي تحلل اليوريا الموجود في الوسط الذي تنمو فيه ، وتستخدمها كمصدر نيتروجيني .

التجربة /

- يحضر وسط غذائي مناسب ، يعقم ثم تضاف له اليوريا المعقمة بالترشيح ، تلقح الاطباق بقرص من الفطر المراد اختباره ، تحضن الاطباق لمدة اسبوع في الظروف المناسبة .
- يتم الكشف عن تحليل اليوريا بإضافة كاشف احمر الفينول الذي يضاف الى البيئة اثناء التحضير ، فاذا تغير لون الكاشف من الاصفر (البيئة حامضية) الى اللون الوردي (البيئة قاعدية) دل ذلك على ان الفطر قادر على افراز الانزيم وتحليل اليوريا الى امونيا المسؤولة عن تغير وسط التفاعل من الحامضي (اللون الاصفر) الى قاعدي (اللون الوردي).