الكيمياء الحيوية

(الجزء النظري والعملي)

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

منشورات جامعة دمشق

كلية الهندسة الزراعية

الكيمياء الحيوية

(الجزء النظري والعملي)

الدكتور
عبود الصالح
الأستاذ في قسم علوم الأغذية

الدكتور
محمد محمد
الأستاذ في قسم علوم الأغذية

جامعة دمشق

1440 – 1441 هـ
2019 – 2020 م

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

فهرس المحتويات

الفصل	الموضوع	الصفحة
	الجزء النظري	
المقدمة		**17**
	الباب الأول	**21**
الفصل الأول	**الخواص الكيميائية للمادة الحية**	**21**
د. عبود الصالح	1-1-التركيب الكيميائي للمادة الحية	21
	1-2- مفهوم الـــ PH وكيفية قياسه	22
	1-3- تأين الأحماض الضعيفة	23
	1-4- معادلة هندرسن – هاسيلباخ	24
	1-5- منحنيات التعادل	25
	1-6- المحاليل المنظمة	26
	1-7-الماء	28
الفصل الثاني	**كيمياء الكربوهيدرات**	**31**
د. عبود الصالح	2-1- تصنيف الكربوهيدرات	32
	2-1-1- السكريات البسيطة (الأحادية)	32
	2-1-2- السكريات المركبة	33
	2-1-3- السكريات العديدة	33
	2-2- التماكب	34
	2-2-1- التماكب البنيوي	34
	2-2-2- التماكب الفراغي	35
	2-2-3- تماكب السكريات البسيطة	39
	2-3- اصطناع السكريات الأحادية	40
	2-3-1-اصطناع السكريات الألدهيدية	40
	2-3-2- اصطناع السكريات الكيتونية	40
	2-4- التركيب الحلقي للسكريات الأحادية	43
	2-5- الأنواع المختلفة للسكريات	47
	2-5-1- السكريات المتعادلة	47
	2-5-2-السكريات الأمينية	48
	2-5-3-الأحماض اليورونية	48
	2-5-4- أحماض السياليك	49

2-6- المركبات المشتقة من السكريات الأحادية 49
2-6-1- حمض الاسكوربيك (فيتامين C) 49
2-6-2- الكحولات السكرية 50
2-7- خواص السكريات الأحادية 51
2-7-1- ظاهرة التدوير المتبادل 51
2-7-2- تكوين الاسترات 52
2-7-3- تأثير الأحماض 52
2-7-4- تأثير القلويات 53
2-7-5- تأكسد السكريات الأحادية 53
2-7-6- تكوين الغليكوزيدات 54
2-7-7- تكوين الأوسازونات 54
2-8- السكريات المركبة 55
2-8-1-السكريات الثنائية 55
2-8-2- السكريات الثلاثية 57
2-9- السكريات العديدة 58
2-9-1- السكريات العديدة المتجانسة 59
2-9-2- السكريات العديدة غير المتجانسة 62
2-10- الألياف الغذائية 63
2-10-1-خواص الألياف الغذائية 64
الفصل الثالث كيمياء الليبيدات **65**
د. عبود الصالح 3-1-تصنيف الليبيدات 66
3-1-1- الليبيدات البسيطة 66
3-1-2- الليبيدات المركبة (المقترنة) 66
3-1-3-الليبيدات المشتقة 67
3-2-الليبيدات البسيطة 67
3-2-1- الليبيدات المتعادلة 67
3-2-1-1- الأحماض الدهنية 69
3-2-1-2- الخواص الكيميائية للأحماض الدهنية 74
3-2-2 الشموع 79
3-3-الليبيدات المركبة (المقترنة) 80
3-3-1- الليبيدات المفسفرة (الفوسفوليبيدات) 80
3-3-2-الليبيدات السكرية 84

3-3-3- الليبيدات الكبريتية 85
3-3-4 البروتينات الدهنية 85
3-4-الليبيدات المشتقة 87
3-4-1- الستيرويدات 87
3-4-2- التربينات 92
الفصل الرابع كيمياء الأحماض الأمينية والببتيدات والبروتينات 95
د. عبود الصالح
4-1- مقدمة 95
4-2- الأحماض الأمينية 96
4-2-1- الأحماض الأمينية البروتينية 97
4-2-2- الأحماض الأمينية غير البروتينية 101
4-2-3- الأحماض الأمينية الأساسية وغير الأساسية وشبه الأساسية 104
4-2-4- الوظائف الحيوية لبعض الأحماض الأمينية 105
4-2-5- الخواص الفيزيائية للأحماض الأمينية 105
4-2-5-1- ذوبان وانصهار الأحماض الأمينية 105
4-2-5-2- تأين الأحماض الأمينية 106
4-2-5-3- امتصاص الأشعة فوق البنفسجية 110
4-2-6- الخواص الكيميائية للأحماض الأمينية 111
4-3- التركيب الأولي للببتيدات والبروتينات 113
4-4- التركيب الفراغي للبروتينات 118
4-4-1- التركيب الأولي 120
4-4-2- التركيب الثانوي 120
4-4-3- التركيب الثالثي 122
4-4-4- التركيب الرابعي 123
4-5- الخواص الفيزيائية والكيميائية للبروتينات 124
4-5-1- ذوبان وترسيب البروتينات 124
4-5-2- الخاصة الإمفورتيرية للبروتينات 126
4-5-3- تغير تركيب البروتينات 126
4-6- عزل وتجزيء وتنقية البروتينات 127
4-7- تقدير البروتين 127
4-7-1- طريقة كلدال 127
4-7-2- امتصاص البروتين للأشعة فوق البنفسجية 128

4-7-3- طريقة البيوريت 128
4-7-4- طريقة لوري المعدلة 129
4-8- تصنيف البروتينات 129
4-8-1- البروتينات البسيطة 129
4-8-1-1- البروتينات الليفية 130
4-8-1-2- البروتينات الكروية 131
4-8-2- البروتينات المرتبطة (المقترنة) 132
4-8-2-1- البروتينات النووية 133
4-8-2-2-البروتينات الكربوهيدراتية والبروتينات المخاطية 133
4-8-2-3- الفوسفوبروتينات 133
4-8-2-4- البروتينات اللونية (كروموبروتين) 133
4-8-2-5- البروتينات الدهنية 134
4-8-2-6- البروتينات المعدنية 134
4-8-3- البروتينات المشتقة 134
4-8-4- بروتينات البلازما 135
الفصل الخامس الأنزيمات والنشاط الأنزيمي 137
د. عبود الصالح
5-1- تمهيد 137
5-2- استخدامات الإنزيمات 138
5-3- طاقة التنشيط ودور الوسيط 139
5-4- حركية التفاعلات الإنزيمية 141
5-4-1- السرعة الأولية للتفاعلات 142
5-4-2- تأثير تركيز الإنزيم على حركية التفاعل الإنزيمي 142
5-4-3- تأثير تركيز مادة التفاعل 143
5-4-4- تأثير بعض العوامل الفيزيائية والكيميائية 148
5-5- تركيب الإنزيمات 157
5-5-1- البروتين الإنزيمي 157
5-5-2- العوامل المساعدة 158
5-5-3- الموقع الفعال للإنزيم 159
5-6- دقة عمل الإنزيمات 161
5-7- تصنيف الإنزيمات 163
5-7-1- ترقيم الإنزيمات 163
5-7-2- تسمية الإنزيمات 165

الفصل السادس	**الفيتامينات والمرافقات الانزيمية**	**171**
د. عبود الصالح	6-1- مقدمة	171
	6-1-1 الخواص العامة للفيتامينات	172
	6-1-2- العوامل التي تؤثر في توافر الفيتامينات للجسم	173
	6-2 الفيتامينات الذوابة في الماء	174
	6-3- الفيتامينات الذوابة في الدهون	193
الفصل السابع	**كيمياء الأحماض النووية**	**203**
د. عبود الصالح	7-1 مقدمة	203
	7-2- السكريات والقواعد النتروجينية الداخلة بتركيب الأحماض النووية	204
	7-3- النيكليوزيدات	205
	7-4- النيكليوتيدات	206
	7-4-1- وظائف النيوكليوتيدات	208
	7-5- الأحماض النووية	210
	7-5-1- الحمض الريبي النووي منقوص الأوكسجين	211
	7-5-2- تركيب الأحماض النووية	216
	7-5-3- الحمض الريبي النووي (RNA)	219
	7-5-3-1- الحمض الريبي النووي المرسال m-RNA	220
	7-5-3-2- الحمض الريبي النووي الرايبوزومي (r-RNA)	220
	7-5-3-3-الحمض الريبي النووي الناقل (t-RNA)	221
	7-5-4- مقارنة بين الأحماض النووية DNA و RNA	222
	7-6- الفيروسات	223
	الباب الثاني	**225**
الفصل الأول	**استقلاب المادة والطاقة**	**227**
د. محمد محمد	1-1-الاستقلاب الوسطي	227
	1-2-الخطوط الرئيسية لمسارات الهدم	227
	1-3-المبادئ العامة لتفاعلات الاصطناع	228
	1-4-الطاقة الحيوية	230
	1-4-1-مفهوم التغير في الطاقة الحرة ΔG	231
	1-4-2-تغير الطاقة الحرة ΔG في التفاعلات الناشرة والماصة للحرارة	231
	1-4-3- تغير الطاقة الحرة القياسية للتفاعلات الكيميائية وعلاقتها	232

	مع ثابت الاتزان	
	1-4-4- الطبيعة الإضافية للتغير القياسي في الطاقة الحرة	235
	1-4-5- مفهوم الأكسدة والاختزال والجهود القياسية وعلاقتها بالتغير في الطاقة الحرة	236
	1-4-6- المركبات الغنية بالطاقة	239
	1-5-ازدواجية التفاعلات الكيميائية	245
الفصل الثاني	**استقلاب الكربوهيدرات**	**249**
د. محمد محمد	2-1- المقدمة	249
	2-2-تحلل الكربوهيدرات إلى سكريات أحادية	250
	2-3-تحلل السكريات الأحادية	252
	2-4-التحلل الجلايكوليتي	253
	2-5-التخمر الكحولي	260
	2-6-حسابات الطاقة في التحلل الجلايكوليتي	262
الفصل الثالث	**استقلاب الكربوهيدرات**	**263**
د. محمد محمد	3-1- دورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل (دورة كريبس)	263
	3-2- حسابات الطاقة في التحلل الجلايكوليتي في غياب الأكسيجين	265
	3-3- تأثير الأكسجين على مسار التحلل الجلايكوليتي	265
	3-4-المسار الاستقلابي لدورة كريبس	266
	3-5- حسابات الطاقة في التمثيل الهوائي للكربوهيدرات	270
	3-6-دورة فوسفات البنتوز	273
	3-6-1-وظائف دورة فوسفات البنتوز	278
	3-6-2-حسابات الطاقة في دورة فوسفات البنتوز	278
	3-7-الاصطناع الحيوي للكربوهيدرات	279
	3-7-1- إعادة اصطناع الجلوكوز	280
	3-7-2- تحول الجلوكوز إلى السكريات الأحادية الأخرى	282
	3-7-3- اصطناع السكريات الثنائية	282
	3-7-4-اصطناع السكريات العديدة	284
	3-8-دورة الجلايكوكسلات	285
الفصل الرابع	**استقلاب الليبيدات**	**289**
د. محمد محمد	4-1-مقدمة	289
	4-2- حلمهة الجليسريدات الثلاثية والفوسفوليبيدات	289
	4-3-هضم وامتصاص الليبيدات في القناة الهضمية	291

4-4 أكسدة الأحماض الدهنية 293
4-4-1 الأكسدة β للأحماض الدهنية 293
4-4-2-حسابات الطاقة في الأكسدة بيتا للأحماض الدهنية 296
4-4-3-الأكسدة الفا 299
4-4-4-الأكسدة أوميغا 299
4-4-5-أكسدة الأحماض الدهنية ذات العدد الفردي من ذرات الكربون 300
4-4-6-أكسدة الأحماض الدهنية غير المشبعة 301
4-5-مصير أسيتيل كو أ الناتج عن أكسدة الأحماض الدهنية 302
4-6-تكون الأجسام الكيتونية 302
4-7-الاصطناع الحيوي للبيدات 305
4-7-1-اصطناع الحموض الدهنية المشبعة 305
4-7-2- الاصطناع الحيوي للجليسريدات الثلاثية 310
4-7-3-الاصطناع الحيوي للفوسفو لبيدات 312
الفصل الخامس استقلاب البروتينات والمركبات النيتروجينية الأخرى 317
د. محمد محمد
5-1- مقدمة 317
5-2- الأحماض الأمينية الضرورية والتوازن النيتروجيني 318
5-3- الأنزيمات المحللة للبروتينات 319
5-4- امتصاص الأحماض الأمينية 321
5-5- تأثير الهرمونات على استعمال العضوية للأحواض الأمينية 321
5-6- التفاعلات العامة لاستقلاب الأحماض الأمينية 321
5-7- مصير الهيكل الكربوني للأحماض الأمينية (الأحماض الكيتونية) 329
5-8- فكرة مبسطة عن استقلاب بعض الأحماض الأمينية 330
5-8-1- استقلاب الجلايسين والسيرين 331
5-8-2- استقلاب الأحماض الأمينية الكبريتية 332
5-8-3-استقلاب الأحماض الأمينية ثنائية الكربوكسيل وأميداتها 336
5-8-4- استقلاب الأحماض الأمينية الأروماتية 336
5-9- تمثيل الأمونيا ودورة إصطناع اليوريا 339
5-9-1- مصير الأمونيا عند الثدييات 339
5-9-2- العلاقة التي تربط بين دورة اصطناع اليوريا ودورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل (دورة كريبس) 342

الفصل السادس	**استقلاب البروتينات والمركبات النيتروجينية الأخرى**	**345**
د. محمد محمد	6-1- الاصطناع الحيوي للبروتينات	345
	6-1-1-المكونات الداخلة في اصطناع البروتين	347
	6-1-2- خطوات اصطناع البروتينات	354
	6-2- حسابات الطاقة في الاصطناع الحيوي للبروتينات	358
	6-3- الاصطناع الحيوي للنيوكليوتيدات والأحماض النووية	359
	6-3-1- اصطناع نيوكليوتيدات البيريميدين والبيورين	359
	6-3-2-اصطناع دي أوكسي رايبو نيوكليوتيدات	362
	6-3-3- اصطناع الثايميدين 5' - فوسفات (d TMP)	363
	6-3-4- الاصطناع الحيوي للأحماض النووية	363
	6-3-5-تحلل الأحماض النووية والقواعد النيتروجينية	368
الفصل السابع	**الأكسدة الحيوية**	**371**
د. محمد محمد	7-1- مقدمة	371
	7-2- الأكسدة بنزع الهديروجين	372
	7-3- الأكسدة بتثبيت الأوكسجين	373
	7-4- النظام الناقل للإلكترونات أو السلسلة التنفسية	375
	7-5- أنزيمات السلسلة التنفسية	376
	7-6- ترتيب نواقل الإلكترونات في السلسلة التنفسية	379
	7-7- الفسفرة التأكسدية	380
	7-8- آلية الفسفرة التأكسدية	382
	7-9- تشكل الـ ATP بواسطة الفسفرة الضوئية	386
	7-9-1- الطاقة الضوئية وتهيج الجزيئات	386
	7-9-2- الكلوروفيل	387
	7-9-3- انتقال الإلكترونات والفسفرة الضوئية الصانعة	387
	7-10- الأنزيمات المؤكسدة الأخرى	390
الفصل الثامن	**الهرمونات والمضادات الحيوية**	**393**
د. محمد محمد	8-1- مقدمة	393
	8-2-هرمونات المعثكلة	394
	8-3-تأثير الأدرينالين والجلوكاجون في مسار تحلل الجلايكوجين	395
	8-4- المضادات الحيوية	398
	8-4-1-مفهوم المضادات الحيوية	398
	8-4-2-تصنيف المضادات الحيوية	398

	المصطلحات العلمية	**401**
	المراجع العلمية	**413**
	الجزء العملي	
	المقدمة	**419**
	إرشادات عامة	**421**
الجلسة العملية الأولى	**المحاليل المنظمة وطرائق قياس الـ pH**	**423**
د. عبود الصالح	1-1- القياس التقريبي لدرجات الـ pH بالدلائل اللونية Indicators	423
	1-2- القياس الدقيق لدرجات الـ pH باستخدام pH meters	424
	1-3- المحاليل المظلمة	425
	1-4- منحنيات التعادل	426
الجلسة العملية الثانية	**اختبارات الكربوهيدرات**	**427**
د. عبود الصالح	2-1- مقدمة	427
	2-2- الاختبارات العامة للكربوهيدرات	428
	2-2-1- اختبار موليش	429
	2-2-2- تفاعل الانثرون	430
	2-3- اختبارات السكريات المرجعة للمعادن	431
	2-3-1- اختبار فهلنغ	431
	2-3-2- اختبار بندكت	432
	2-3-3- اختبار بارفوئد	433
	2-3-4- اختبار تولز	433
	2-3-5- اختبار حمض البكريك	434
	2-4- الاختبارات المتعلقة بنوع واحد من السكريات	435
	2-4-1- اختبار بيال	435
	2-4-2- اختبار خلات الأنيلين للبنتوزات	435
	2-4-3- اختبار سيليفانوف للكيتوزات	436
	2-4-4- اختبار كبريتات الكوبالت للسكروز	437
	2-4-5- اختبار اليود	437

الجلسة العملية الثالثة	**اختبارات التخمر والأوسازونات للكربوهيدرات**	**439**
د. عبود الصالح	3-1-اختبار التخمر	439
	3-2- اختبار الأوسازون	440
	3-3- نتائج اختبارات الكربوهيدرات	441
	3-4- مخطط الكشف عن مجهول كربوهيدراتي	443
الجلسة العملية الرابعة	**اختبارات الليبيدات**	**445**
د. عبود الصالح	4-1- اختبارات الذوبان	445
	4-2- اختبار الاستحلاب	446
	4-3- اختبار الغليسيرول	447
	4-4- اختبار الروابط غير المشبعة	447
	4-5-اختبار ليبرمان - بورشارد للكولسترول	448
	4-6- تقدير الرقم الحمضي	449
	4-7- تقدير رقم التصبن	450
	4-8- تقدير الرقم اليودي	452
	4-9- تقدير الكولسترول في الدم	454
الجلسة العملية الخامسة	**فصل الليبيدات**	**457**
د. عبود الصالح		
الجلسة العملية السادسة	**اختبارات الأحماض الأمينية والبروتينات**	**459**
د. عبود الصالح	6-1-مقدمة	459
	6-2- تفاعل الأحماض الأمينية مع كربونات النحاس	460
	6-3- اختبار الكبريت في الأحماض الأمينية	460
	6-4- اختبار هوبكنز – كول	461
	6-5- اختبار ساكاغوشي	462
	6-6- اختبار الكزانتوبروتين	463
	6-7- اختبار ميلون	464
	6-8- تفاعل النينهايدرين	465
	6-9-اختبار بولي	466

الجلسة العملية السابعة	**اختبارات البروتينات**	**469**
د. عبود الصالح	7-1- اختبار البيوريت	469
	7-2- ترسيب البروتينات بوساطة الأحماض العضوية	471
	7-3- ترسيب البروتينات بوساطة أملاح المعادن القلوية	472
	7-4- ترسيب البروتينات بوساطة المدببات العضوية	472
	7-5- ترسيب البروتينات بوساطة أملاح المعادن الثقيلة	473
	7-6- ترسيب البروتينات بتأثير الحرارة	474
	7-7- ترسيب البروتينات بالأحماض المعدنية	475
	7-8- الطبيعة الأمفوتيرية للبروتينات	476
	7-9- نقطة التعادل الكهربائي	476
	7-10- التقدير الكمي للبروتينات	477
	7-11- تجزيء البروتينات	479
الجلسة العملية الثامنة	**اختبارات الحموض النووية: عزلها وتقديرها كمياً**	**481**
د. محمد محمد	8-1- الاختبارات اللونية للحموض النووية	481
الجلسة العملية التاسعة	**اختبارات الفيتامينات**	**487**
د. محمد محمد	9-1- الطرائق الكيميائية	487
	9-2- الطرائق الميكروبيولوجية	487
	9-3- الطرائق البيوكيميائية	487
الجلسة العملية العاشرة	**الأنزيمات**	**499**
د. محمد محمد	10-1- مقدمة	499
	10-2- التحري عن وجود نازعات الهيدروجين	501
	10-3- دراسة العوامل التي تؤثر على التفاعل الأنزيمي باستخدام الكاتالاز	503
الجلسة العملية الحادية عشرة	**الأنزيمات: قياس نشاط بعض الأنزيمات الخاصة**	**509**
د. محمد محمد	11-1- متابعة نشاط أنزيم اليورياز	509
	11-2- متابعة نشاط أنزيمات الليباز	511
الجلسة العملية	**التحليل الطيفي الضوئي**	**513**

الثانية عشرة
د. محمد محمد 12-1- المبدأ 513
12-2- الأجزاء المختلفة التي يتكون منها جهاز التحليل الطيفي الضوئي 515
12-3- أهم تطبيقات التحليل الطيفي الضوئي 516
الجلسة العملية **التحليل الكروماتوغرافي** **519**
الثالثة عشرة
د. محمد محمد 13-1- مقدمة 519
13-2- فصل مكونات مستخلص أوراق السبانخ الخضراء بالطبقة الرقيقة 524
المصطلحات العلمية **527**
المراجع العلمية **539**

مقدمة

يعد علم الكيمياء الحيوية Biochemistry من العلوم الأساسية والضرورية للدارس في مجال الزراعة لما له من ارتباط وثيق مع العلوم الأخرى التي يتلقاها خلال مدة دراسته، والتي تفيد في فهم تركيب النظم الحيوية النباتية منها والحيوانية وطرائق عملها، وتساعد على معرفة آلية هضم واستقلاب الغذاء لدى الإنسان وكيفية الاستفادة منه بصورة طاقة، والنواحي الصحية المرتبطة بذلك. كما أن الإلمام بأسس الكيمياء الحيوية يسهل كثيراً فهم العديد من المشاكل المتعلقة بتجهيز الأغذية النباتية أو الحيوانية وحفظها وتصنيعها التي تعد من المجالات المهمة جداً في وقتنا الحاضر.

ولابد لنا في البداية من تذكير الطالب بتركيب المادة الحية وببعض المفاهيم الكيميائية والتي سبق أن تلقاها في مقررات الكيمياء الأخرى، كمفهوم الأس الهيدروجيني والمحاليل المنظمة والتي تعد ضرورية في ميدان الكيمياء الحيوية.

لقد قام الدكتور عبود الصالح بإعداد القسم الأول من الكتاب وذلك من خلال عرض موجز للمكونات البيولوجية الأساسية للنظم الحيوية وخواصها الفيزيائية والكيميائية، كالكربوهيدرات والبروتينات والليبيدات بالإضافة إلى بعض المكونات الثانوية كالأحماض النووية والفيتامينات والأنزيمات، وكان تعديلها جذرياً.

لقد كان لاستقلاب المركبات البيولبوجية الآنفة الذكر نصيب كبير في هذا الكتاب نظراً لما له من أهمية فائقة وقام بمهمة إعداده الدكتور محمد محمد، وشمل ذلك طرق هدم هذه المركبات واصطناعها والعلاقة فيما بينها. كما تضمن القسم الثاني عرضاً مبسطاً، ليسهل فهمه من قبل الطالب، لاصطناع الأحماض النووية والبروتينات بالإضافة إلى أكسدة بعض المركبات أثناء استقلاب الغذاء وإنتاج الطاقة وطرق تنظيمها.

وحاولنا جاهدين أن يكون هذا الكتاب مبسطاً وشاملاً لأسس الكيمياء الحيوية وأن يلبي حاجة طلابنا الأعزاء في كلية الزراعة وكلنا أمل أن يكون الجهد المتواضع الذي بذلناه قد حقق الغرض المطلوب، والله من وراء القصد.

دمشق 2 / 4/ 2018

المؤلفان

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

الباب الأول

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

الفصل الأول

الخواص الكيميائية للمادة الحية

Chemical characteristics of the living matter

يهتم علم الكيمياء الحيوية Biochemistry بدراسة النظم الكيميائية في الخلايا الحية من حيث تركيبها وكيفية البناء والهدم ضمن النظم وآلية التكاثر وتغذية هذه الخلايا. وقبل الدخول في دراسة كيمياء المركبات التي تحويها الخلايا الحية (نباتية أو حيوانية) لابد من معرفة العناصر الكيميائية الداخلة في تركيب المواد الحية. وبما أن التفاعلات الحيوية تجري في أوساط مائية فإن معرفة تركيز شوارد الهيدروجين تصبح ذات أهمية كبيرة، لذلك يجب فهم خواص الأحماض والقواعد المستخدمة في المحاليل المنظمة.

إن المواضيع التي تتعلق بالأحماض والقواعد وحموضة الوسط PH والمحاليل المنظمة قد سبق شرحها في مقررات الكيمياء العامة والتحليلية وسنقوم بمراجعة سريعة لها.

1-1-التركيب الكيميائي للمادة الحية:

حاول العلماء منذ زمن بعيد القيام بتحليل الأنسجة البيولوجية لمعرفة تركيبها الكيميائي. وكانت النتائج تقريبية اذ كانوا يقسمون هذه المكونات إلى خمسة أقسام هي: الماء وهو ما يتبخر عن تسخين العينة على 100° مئوية والرماد هو ما يتبقى بعد أكسدة المادة على درجة حرارة عالية، أما البروتين فيقدرونه بطريقة كلداهل، والدهون هي ما يذوب من العينة باستخدام الأيتر، وأما ما يتبقى من العينة بعد ذلك فيمثل الكربوهيدرات. ومع تقدم الوسائل العلمية فقد أجريت تحاليل كثيرة تميزت بدقة أكبر مما سبق. نلاحظ من هذه التحاليل التي أجريت لعدة كائنات حية (الجدول 1-1) أن الماء هو المكون الأساسي للمادة الحية (59-93%).

الجدول (1-1): التركيب الكيميائي لبعض الكائنات الحية

النوع	مثال	ماء	بروتين (N×6.25)	كربوهيدرات	بيبيدات	رماد
نبات	ذرة	76	2	20	0.7	1.3
	سبانخ	93	2.3	3.4	0.3	0.6
كائنات دقيقة	E.coli	78	18	1	1	2
	خميرة	72	12	13	1	2
لافقاريات	ذباب	73	20	3	3	1
	محار	80	15	3.4	0.1	1.4
فقاريات	دجاج	56	21	-	19	3.2
ثدييات	الإنسان	59	18	-	18	4

هناك اختلاف بين النبات والحيوان حيث إن النبات يحتوي على الكربوهيدرات بنسبة عالية وعلى البروتينات بنسبة منخفضة بينما هو العكس لدى الحيوان حيث تنخفض نسبة الكربوهيدرات وتزداد نسبة البروتينات. ويمكن أن نلاحظ أن الإنسان هو الكائن الحي الحاوي على أعلى نسبة من العناصر المعدنية في جسمه بالمقارنة مع الكائنات الأخرى. إن كمية المكونات الداخلة في تركيب كائن حي ما تختلف ضمنه من جزء لآخر، فلدى الإنسان تختلف نسبة البروتين من عضو لآخر فهي عالية في الجلد (27)% ومنخفضة في الأنسجة الدهنية (6%)، وكذلك الماء فيوجد بنسبة عالية في الدم وطبيعي أن نجد نسبة العناصر المعدنية مرتفعة في الهيكل العظمي (جدول 1-2).

الجدول (1-2): التركيب الكيميائي لجسم إنسان بالغ.

النسيج أو العضو	نسبته في الجسم	ماء %	ليبيدات %	بروتين %	رماد %
العضلات	40	70	7	22	1
الهيكل العظمي	18	28	25	20	26
الأنسجة الدهنية	11	23	72	6	0.2
الدم	8	79	21	20	0.2
الجلد	6	57	14	27	0.6
الأنسجة العصبية	3	75	12	12	0.1
الكبد	2.5	71	3	22	1.4
القلب	0.5	63	16	7	0.6

تدخل العناصر غير المعدنية كالأوكسجين والكربون والهيدروجين والآزوت في تركيب الكائنات الحية وتشكل نسبة عالية منها، حيث تشكل هذه العناصر لدى الإنسان نسبة 96% جدول (1-3). كما توجد عناصر معدنية أخرى في جسم الإنسان بنسب لابأس بها مثل الكالسيوم والفوسفور وكذلك البوتاسيوم والصوديوم والكلور والمغنيزيوم، حيث إن الشاردة الموجبة للصوديوم (Na^+) هي الأكثر انتشاراً في السوائل الموجودة خارج الخلايا بينما تكون الشاردة الموجبة الكالسيوم (Ca^{2+}) الأكثر تواجداً داخل الخلايا.

تدخل أيضا عناصر معدنية أخرى في تركيب الكائن الحي ولكن بنسبة ضئيلة جداً مثل الحديد والزنك والنحاس.

1-2- مفهوم الـ PH وكيفية قياسه:

تتشرد الأحماض عادة لتعطي بروتينات وقواعد مرافقة فالأحماض القوية تتشرد بصورة كاملة كحمض كلور الماء الذي يعطي H^+ و Cl^-

$$HC\ell \rightarrow H^+ + C\ell^-$$

وعادة يعبر عن درجة حموضة حمض ما ليس بوساطة تركيز شوارد الهيدروجين، إنما بتعبير لوغارتمي هو الـــ PH وقد عرفه العالم سورنس SORENSON بأنه اللوغارتم السالب للتركيز الفعال لشوارد الهيدروجين أو لنشاط الشوارد الموجبة الهيدروجين (a) activity.

الجدول (1-3): العناصر الداخلة في تركيب جسم الإنسان

الفئة	العنصر	النسبة المئوية
عناصر غير معدنية	أوكسجين	65
	كربون	18
	هيدروجين	10
	آزوت	3.0
عناصر معدنية كبرى	كالسيوم	1.5
	فوسفور	1.0
	بوتاسيوم	0.2
	صوديوم	0.15
	كلور	0.15
	مغنيزيوم	0.05
عناصر معدنية صغرى	حديد	0.006
	زنك	0.003
	نحاس	0.0001

$$pH = \log \frac{1}{aH^+} = - \log a\ H^+$$

ولكن في المحاليل المخففة، والتي تستخدم في تجارب الكيمياء الحيوية، فإن النشاط سوف يقترب جداً من التركيز لذلك فإن:

$$pH = \log \frac{1}{[H^+]} = - \log\ [H^+]$$

يجري تقدير أو قياس الـــ PH بعدة طرق منها الدلائل اللونية ومقياس الـــ PH ويتم ذلك بوساطة قياس فرق الكمون بين قطبين، القياسي Eref والزجاجي Eg وذلك على درجة حرارة 25 م°.

$$pH=\frac{Eg-Eref}{0.0591}$$

من خلال قياس الـــ pH فإننا نقيس نشاط شوارد الهيدروجين وليس تركيزها في المحلول.

1-3- تأين الأحماض الضعيفة:

إن الأحماض الضعيفة ذات أهمية كبيرة في الكيمياء الحيوية حيث إنها تدخل في تركيب المحاليل المنظمة، أما الأحماض القوية فلا تهمنا في هذا المجال. لا تتشرد الأحماض الضعيفة بشكل كامل وعند التوازن يمكن كتاب معادلة التشرد بالشكل التالي:

$$HA \rightleftarrows H^+ + A^-$$

وحسب قانون فعل الكتلة فإن:

$$\frac{[H^+][A^-]}{[HA]} = Keq$$

فحمض الخل من الأحماض الضعيفة وعند التوازن فإن:

$$\frac{[H^+][CH_3COO^-]}{[CH_3COOH]} = Ka = 1.86 \times 10^{-5}$$

يعبر عادة عن ثابت التشرد بصورة لوغاريتمية ويستخدم عادة الإصطلاح pka في مقارنة قوة الأحماض.

$$Pka = - \log Ka$$

فالأحماض ذات القيم المنخفضة لـــ pka تكون أقوى من الأحماض ذات القيم المرتفعة لـــ pka ويمكن أن نستخدم حمض الفوسفوريك الذي يوجد في الأوساط البيولوجية لتوضيح ذلك (الجدول 1-4).

الجدول (1-4): تأين حمض الفوسفوريك

pka	Ka	حمض متفكك
2.1	7.5×10^{-3}	$H_3PO_4 \rightleftarrows H_2PO_4^- + H^+$
7.2	6.2×10^{-8}	$H_2PO_4^- \rightleftarrows HPO_4^{--} + H^+$
12.7	2.2×10^{-13}	$HPO_4^{--} \rightleftarrows PO_4^{---} + H^+$

1-4- معادلة هندرسن – هاسيلباخ Henderson- Hasselbalch equation

يمكن حساب الـــ pH للمحاليل المنظمة من خلال إعادة صياغة قانون فعل الكتلة الذي ينص على أنه في تفاعل كيميائي عكسي، حاصل قسمة جداء تراكيز المواد الناتجة عن التفاعل إلى تراكيز المواد الداخلة في التفاعل يساوي ثابت K، وقد قام العالمان هندرسن وهاسيلباخ بإعادة صياغة قانون فعل الكتلة كالآتي:

كما نعلم أن الأحماض الضعيفة تتشرد بصورة جزئية وفق المعادلة التالية:

$$HA \rightleftarrows H^+ + A^-$$

$$Ka = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]}$$

$$[H^+] = Ka \frac{[HA]}{[A^-]}$$

بأخذ لوغاريتم الطرفين:

$$\log [H^+] = \log Ka + log \frac{[HA]}{[A^-]}$$

بالضرب بـــ 1-:

$$-log\ H = -\log Ka - log\frac{[HA]}{[A^-]}$$

وبدلاً من التعامل مع لوغارتم سالب يمكننا تبديل الإشارة وقلب البسط والمقام مستخدمين قوانين اللوغارتم وبفك المعادلة والتبديل نحصل على المعادلة التالية:

$$\text{pH} = \text{pKa} + \log\frac{[A^-]}{[HA]}$$

وبما أن $[A^-]$ هو تركيز القاعدة و [HA] هو تركيز الحمض فيمكن كتابة المعادلة كما يلي:

$$\text{pH} = \text{pKa} + \log\frac{\text{تركيز القاعدة}}{\text{تركيز الحمض}}$$

ويمكن استخدام هذه المعادلة في حساب درجة الـــ pH للأحماض الضعيفة وأملاحها.

مثال:

أحسب درجة الـــ pH لمحلول خلات الصوديوم تركيزه 0.05 M وحمض الخل تركيزه 0.1 M، علماً أن الـــ pka لحمض الخليك هو 4.73

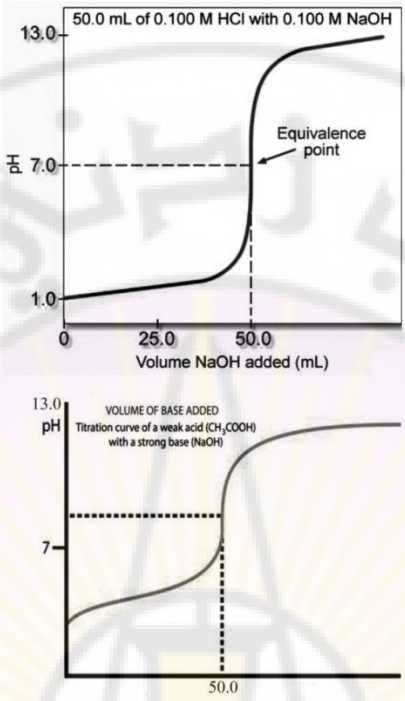
$$\text{pH} = \text{pKa} + \log\frac{[\text{ملح}]}{[\text{حمض}]}$$

$$\text{pH} = 4.73 + \log\frac{0.05}{0.1} = 4.73 + \log 0.5$$

$$= 4.73 - 0.3 = 4.43$$

1-5- منحنيات التعادل:

يدعى المنحني البياني لقيم الـــ pH أثناء معايرة حمض أو قاعدة بقاعدة أو حمض بمنحني التعادل Titration Curve، فعند معايرة حمض قوي HCℓ وحمض ضعيف CH_3COOH بقاعدة قوية NaOH ينتج لدينا منحنيين تعادل مختلفين (الشكل 1-1). يمكن ملاحظة أن منحني التعادل لحمض كلور الماء (**المنحنى العلوي**) يتغير في البداية ببطء حيث إن كل إضافة من القاعدة يليها تكون ملح وأنه حتى إضافة 90% من القاعدة فإن فيمة الـــ PH تتضاعف وعند إضافة 99% من القاعدة فإن الـــ PH يزداد بسرعة. أما عند إضافة كمية مكافئة من القاعدة للحمض HCℓ فإن الـــ PH يصبح متعادلاً (pH=7) وإن أية إضافة لكمية أخرى فإن الـــ pH يصبح قاعدياً (pH>10).



الشكل (1-1) منحنيات التعادل معايرة 50 مل من حمض الهيدروكلوريك و50 مل من حمض الاسيتيك 0.1 M مع قاعدة قوية 0.1 M Na Cl

من خلال منحني التعادل لحمض الخل مع هيدروكسيد الصوديوم **(المنحنى السفلي)**، يمكن أن نلاحظ قيمة الـــ pH تتغير كثيراً في البداية عن إضافة القاعدة ولكنه عند إضافة نصف الكمية اللازمة من القاعدة فإن التغير في درجة الـــ pH يصبح طفيفاً جداً. وهنا يظهر الفعل التنظيمي للمحلول ويكون هذا الفعل أعظمياً عند تساوي تركيز الملح والحمض وفي هذه المرحلة يصبح لوغاريتم تركيز الملح إلى الحمض مساوياً للصفر وبذلك تكون قيمة الـــ pH مساوية لقيمة pka الحمض الضعيف. وعندما تزداد قيمة الـــ pH عن ذلك فإن المحلول يبدأ بفقدان الفعل التنظيمي، وإذا استمرت المعايرة وتمت معادلة الحمض تماماً فإن قيمة الـــ pH = 7 وبذلك يكون الوسط متعادلاً.

1-6- المحاليل المنظمة Buffers solutions:

تتكون المحاليل المنظمة من حمض ضعيف مع ملحه أو قاعدة ضعيفة مع ملحها، وهي المحاليل التي تقاوم تغير درجة الـــ pH عند إضافة حمض أو قاعدة إليها. يقوم المحلول المنظم بمقاومة تغير الـــ pH عند إضافة حمض أو قاعدة، فعندما تضاف قاعدة إلى المحلول المنظم فإن تركيز OH^- سيزداد ولكن قسم من جزيئات الحمض تتشرد لتتحد البروتونات

الناتجة من الحمض مع شوارد الهيدروكسيل ويعطي الماء، أما عند إضافة حمض للمحلول المنظم فإن تركيز H^+ سيزداد ويغير الـــ pH ولكن قسم من جزيئات الملح ستتشرد وتتحد مع البروتونات الناتجة عن الحمض وتشكل جزيئات حمض ضعيف قليل التشرد ويمكن توضيح ذلك من خلال المثال التالي:

إذا كان لدينا محلول منظم مؤلف من حمض الخل وخلات صوديوم فإن فعله التنظيمي كما يلي:

$$CH_3COOH + CHCOO^- — Na^+$$

(إضافة قاعدة) OH^- ↓ $\qquad$ (إضافة حمض) H^+ ↓

$$CH_3COONa + H_2O \qquad CH_3COOH$$

(يزداد الملح) $\qquad$ (يزداد الحمض الضعيف)

إن اختيار المحاليل المنظمة المستخدمة في التفاعلات الكيميائية الحيوية يجب أن يتم على أساس أن الحمض المستخدم في المحلول ذو قيم الـــ pH المراد الوصول إليه وذلك لزيادة السعة التنظيمية للمحلول. بالإضافة إلى أن المحلول المنظم يجب أن لا يحتوي على مواد سامة وملونة، كما أن للحرارة والتركيز تأثير على المحلول بنسبة محدودة. إن أكثر المحاليل المنظمة استخداماً محاليل الفوسفات وخاصة عند تأين نصف كمية البروتون الثاني ولكن من مساوئها أن الفوسفات تترسب تحت تأثير الشوارد الموجبة ثنائية التكافؤ، كما يستخدم محلول تريس (hydroxymethyl amino methane) Tris ولكن تشرده يتأثر كثيراً بالحرارة.

أما في الكائنات الحية فإن بلازما الدم لدى الحيوانات من أهم المحاليل المنظمة وتحافظ على pH الدم في حدود 7.4 ويعود ذلك لتأثير حمض الكربون H_2CO_3 الذي ينشأ عن وجود CO_2 في الدم.

كما نعلم أن الأحماض الضعيفة تتشرد بصورة جزئية وفق المعادلة التالية:

$$H_2CO_2 \rightleftarrows HCO_3^- + H +$$

وبتطبيق معادلة هندرسن – هاسلباخ

$$PH = pKa + \log \frac{[Hco_3^-]}{[H_2CO_3]}$$

ويمكن ملاحظة أن قيمة الـــ pH لبلازما الدم تعتمد على النسبة بين شاردة البيكربونات وحمض الكربون وإن أي تغير لقيمة الـــ pH بتأثير مادة حمضية أو قلوية يمكن تعديله بوساطة شاردة البيكربونات أو حمض الكربون. إن أية زيادة أو نقص في قيمة الـــ pH

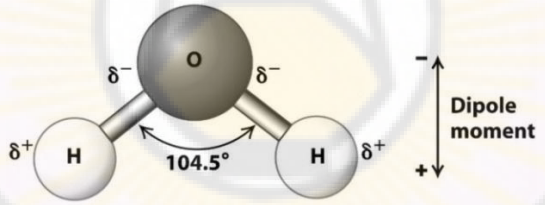
سيؤدي إلى حالات مرضية خطيرة وقد يؤدي هذا التغيير إلى الموت وذلك حسب شدة هذا التغير.

1-7-الماء Water:

يعد الماء أكثر المكونات وجوداً في الكائنات الحية وذلك نظراً لأهميته في آلية عمل النظم البيولوجية بسبب خواصه الفيزيائية والكيميائية الفريدة.

إن جزيء الماء شديد القطبية ومذيب فعال لكل مادة قطبية، ويعود سبب قطبيته إلى الفرق في الكهرسلبية بين الأوكسجين والهيدروجين، وكذلك شكل جزيء الماء في الفراغ والزاوية التي توجد بين ذرتي الهيدروجين البالغة 104.45 ° والناتجة عن دفع الإلكترونات الحرة لدى ذرة الأوكسجين لذرات الهيدروجين.

إن الفرق في الكهرسلبية بين الأوكسجين وذرتي هيدروجين يؤدي إلى تشكيل روابط هيدروجينية بين جزيئات الماء السائل، مما يؤدي إلى تغيير خواص الماء الفيزيائية بالمقارنة مع سوائل الجزيئات المماثلة له كهيدرات أشباه المعادن وأهم التغيرات في هذه الخواص هو ارتفاع حرارة التبخر ودرجة الانصهار والسعة الحرارية، مما يترتب على ذلك عدة ميزات تجعل الماء السائل الأكثر ملائمة لحياة الكائنات الحية على الأرض (جدول 1-5)



الجدول 1-5: يبين ميزات وخواص الماء وأهميتها للكائنات الحية.

الخاصية	الأهمية
وجود الماء بثلاثة صور	يعتبر الماء المادة الوحيدة التي توجد على شكل غاز وسائل وصلب بآن واحد على سطح الأرض مما يسمح بانتقال الحرارة بين سطح الأرض والغلاف الجوي عبر تغير شكل الطور المائي.
مذيب ممتاز لكثير من المواد	حيث يستطيع إذابة الكثير من المواد بشكل كبير مما يجعله مهماً في العمليات الكيميائية والفيزيائية والحيوية.
الوزن النوعي متغير	وتبلغ للماء النقي درجة قصوى عند 4 ْم وتتنقص بالتجميد لذلك يطفو الجليد على الماء ويحمي الحياة البحرية ويتحكم بجريان التيارات في المحيطات.
سعته الحرارية عالية	لذلك يفيد في امتصاص تقلبات درجة حرارة الجو ويحافظ على اعتدال المناخ.
درجة انصهاره عالية	مما يفيد التحكم بانتشار الحرارة عند التجمد وكذلك عن الانصهار.

مسائل

1- كيف تحضر 2 لتر من حمض HCℓ تركيزه 0.4 مولر اعتباراً من محلول HCℓ تركيزه المئوي الوزني HCℓ 28% وزنه النوعي 1.15 غ/مل.

الجواب: خذ 90.7 مل من HCℓ المركز وأكمله إلى 2 لتر بالماء المقطر.

2- كيف تحضر 600 مللتر من حمض الكبريتيك 1 نظامي اعتباراً من حمض الكبريت 96% تركيزه المئوي الوزني 1.84 غ/مل.

الجواب: خذ 33.3 من حمض الكبريت 96% وأكمله بالماء المقطر إلى 600 مل.

3- كيف تحضر 500 مللتر من حمض الخل 0.1 نظامي من حمض الخل الثلجي الذي كثافته 1.04 غ/مل.

الجواب: خذ 2.9 غ من حمض الخليك الثلجي ومدده بالماء المقطر إلى حجم 500 مل.

4- كيف تحضر 5 لتر من محلول الخلات المنظم 0.3 مولر ذي pH=4.47 اعتباراً من محلول حمض الخليك 2 مولر وهيدروكسيد البوتاسيوم 2.5 مولر. (pKa للحمض 4.77).

الجواب: خذ 750 مل من حمض الخل 2 مولر و 200 مل من هيدروكسيد البوتاسيوم 2.5 مولر.

5- كيف تحضر لتر واحد من محلول فوسفات البوتاسيوم 0.45 مولر و7.5 pH اعتباراً من حمض فوسفوريك 15 مولر وهديروكسيد بوتاسيوم 1.5 مولر.

الجواب: خذ 30 مل من حمض الفوسفور و 500 مل من هيدروكسيد البوتاسيوم وأكملها إلى واحد لتر بالماء المقطر.

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

الفصل الثاني

كيمياء الكربوهيدرات

Chemistry of carbohydrates

تشكل الكربوهيدرات مجموعة واسعة الانتشار، بعضها يشكل مصدر طاقة للكائنات الحية (نباتية، حيوانية) وهذا المصدر إما أن يكون قابلاً للاستخدام مباشرة مثل الغلوكوز أو مخزن مثل النشاء لدى النباتات والغليكوجين لدى الحيوانات، بالإضافة إلى أن قسماً من الكربوهيدرات لها دور بنائي مثل السيللوز (في المملكة النباتية) والكيتين (في المملكة الحيوانية). تعني كلمة كربوهيدرات مائيات الفحم وتعود تسميتها إلى أن قسماً كبيراً من هذه المركبات مؤلف من الكربون والأوكسجين والهيدروجين ولها الصيغة العامة نفسها وهي $C_n(H_2O)_n$، لكن هناك عدة مركبات كربوهيدراتية لا تخضع لهذه الصيغة مثل السكر الريبي المنقوص الأوكسجين Deoxyribose ($C_5H_{10}O_4$) حيث إن نسبة الهيدروجين إلى الأوكسجين لا تشكل 1:2. بالإضافة إلى أن (بعض) المركبات الكربوهيدراتية يحتوي على الآزوت والكبريت بالإضافة إلى الكربون والهيدروجين والأكسجين.

ويمكن تعريف الكربوهيدرات من وجهة النظر الكيميائية بأنها عبارة عن كحولات عديدة الهيدركسيل تملك وظيفة ألدهيدية أو كيتونية بصورة حرة أو كامنة أو المركبات التي يتحرر عنها بالتحليل المائي مشتقات من هذه المركبات.

يمكن تلخيص الوظائف الحيوية والفيزيولوجية للكربوهيدرات بما يلي:

1- تعد الكربوهيدرات المصدر الرئيسي لإنتاج الطاقة في الجسم وقد تصل نسبة الطاقة التي يكون مصدرها الكربوهيدرات حوالي 90% من الطاقة الكلية التي يحتاجها الجسم.

2- تتميز الكربوهيدرات بقدرتها على الاحتفاظ بالماء والإلكتروليتات (K^+ , Na^+) ونقصها يسبب فقدان الماء والالكتروليتات وبالتالي حدوث التجفاف اللاإرادي Involuntary Dehydration.

3- للكربوهيدرات دور هام في إكساب الغذاء النكهة والطعم المرغوبين.

4- تقوم الكربوهيدرات بوظائف تركيبية وأخرى فيزيولوجية.

5- تعد مكون أساسي في مركبات ذات أهمية كبيرة لخلايا الجسم ونذكر منها:

- حمض الغلوكويورونيك ،حيث يوجد في الكبد ومهمته إزالة السموم التي تصل إلى الجسم لذلك يعد عامل مزيل للسموم Detoxifying agent

– السيريبروسيدات Cerebrosides: وهي مركبات تنتج عن ارتباط سكر الغالاكتوز مع المواد الدهنية والسفنغوزين Sphingosine galactolipids وتدخل في تركيب الجهاز العصبي ولها دور مهم في عمله.

– البروتينات المخاطية Mucoproteins: وهي مواد مخاطية ناتجة من ارتباط السكريات مع البروتينات لتعطي المخاط Mucus الذي يفرزه الجهاز الهضمي لحماية خلاياه من التحلل بالأنزيمات والأحماض.

– الهيبارين: وهي مادة مانعة للتخثر Anticoagulant وهي مادة كربوهيدراتية.

– حمض الهيالويورونيك: وهو ذو طبيعة كربوهيدراتية وظيفته تزييت المفاصل في جسم الإنسان.

– الألياف Fiber: لها دور نباتي هام في النبات، وتعد مواد مضادة للإمساك وتقليل الكوليسترول وخفض سكر الدم.

– سكر اللاكتوز حيث يساعد على نمو بكتريا الأمعاء التي تصنع فيتامينات B.

2–1– تصنيف الكربوهيدرات:

تقسم الكربوهيدرات إلى ثلاث مجموعات رئيسية هي السكريات البسيطة والمركبة والعديدة.

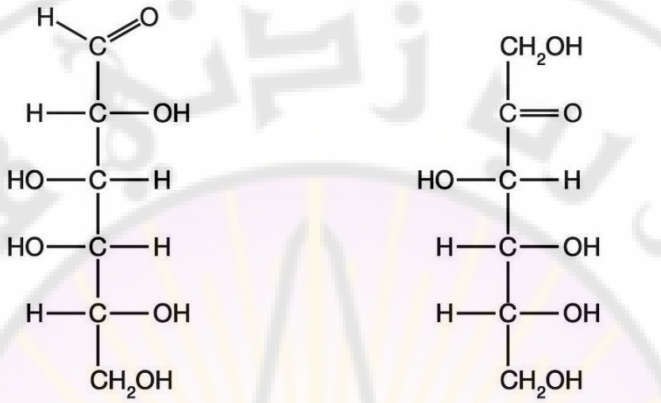
2–1–1– السكريات البسيطة (الأحادية) Monosaccharides:

تعد هذه السكريات أبسط مكونات الكربوهيدرات ولا يمكن بالتحلل المائي أن تتفكك إلى سكريات أخرى أبسط منها ورمزها العام هو (CnH_2nOn). إن عدد ذرات الكربون في أي مركب محصور بين ثلاثة وثمانية ذرات وتصنف عادة بحسب عدد ذرات الكربون وتسمى عادة بإضافة النهاية Ose وذلك كالآتي:

- سكر ذو ثلاثة ذرات كربون (Triose)
- سكر ذو أربع ذرات كربون (Tetrose)
- سكر ذو خمسة ذرات كربون (Pentose)
- سكر ذو ستة ذرات كربون (Hexose)
- سكر ذو سبعة ذرات كربون (Heptose)
- سكر ذو ثمانية ذرات كربون (Octose)

كما تقسم السكريات الأحادية بحسب نوع مجموعتها الوظيفية والتي تكون وظيفة ألدهيدية ويسمى السكر الأحادي ألدوز Aldose، أو تكون كيتونية ويسمى عندئذ السكر الأحادي كيتوز

Ketose. كما يمكن استخدام التصنيفين معاً فنقول أن الغلوكوز هو عبارة عن Aldohexose وأما الفركتوز Ketohexose .



2-1-2- السكريات المركبة Oligosaccharides:

Oligo كلمة إغريقية ومعناها (قليل) ولهذا فإن التحليل المائي للسكريات المركبة يعطي عدداً من السكريات البسيطة يتراوح بين 2 و 10 وحدات.

إن أكثر هذه السكريات المركبة انتشاراً السكريات الثنائية Disaccharides مثل السكروز (سكر نباتي) واللاكتوز (سكر حيواني).

2-1-3- السكريات العديدة Polysaccharides:

تتألف هذه المركبات من اتحاد عدد كبير جداً من السكريات الأحادية وقد تكون مكوناتها متماثلة وتسمى Homosaccharides مثل النشاء وحدته البنائية هي الغلوكوز فقط، أو غير متماثلة وتدعى Heterosaccharides مثل الهيمي سيللوز الذي يدخل في تركيبه D-غلوكوز و D-زايلوز و L-أرابينوز وحمض غالا كتوبورونيك يعطي التحليل المائي للسكريات العديدة وحدات أبسط مثل السكريات المركبة والأحادية، فالتحليل المائي أو الأنزيمي للنشاء يعطي عدد كبير من السكريات الثنائية مثل (مالتوز) والذي يمكن أن يعطي بدوره سكر الغلوكوز الأحادي.

$$[C_6H_{10}O_5]_n \xrightarrow{nH_2O} n\,C_{12}H_{22}O_{11} \xrightarrow{nH_2O} 2nC_6H_{12}O_6$$

Starch (Polysaccharide) — Maltose (disaccharide) — Glucose (Monosaccharide)

2-2- التماكب Isomerism:

قبل دراسة بنية الكربوهيدرات، لابد لنا من أن نذكر ببعض الأسس في الكيمياء الفراغية Stereochemistry والتي سبق وأن تعرض لها الطالب من خلال دراسته مقرر الكيمياء العضوية والمتعلقة بالتماكب. إن المركبات التي يدخل في تركيبها نفس العناصر الذرية وبالتالي لها نفس التركيب الجزيئي ولكنها مختلفة من حيث توزيع العناصر ضمن الجزيء تدعى بالمماكبات. يقسم هذا التماكب إلى قسمين وهما التماكب البنيوي والتماكب الفراغي.

2-2-1- التماكب البنيوي Structural isomerism:

في هذا النوع من التماكب يكون للمركبات نفس الصيغة الجزيئية ولكنها تختلف في تركيبها البنائي ويزداد عدد المماكبات البنيوية كلما زاد عدد الذرات في الصيغة الجزيئية ويمكن أن يقسم بدوره إلى ثلاثة أقسام:

1- تماكب سلسلي: يحدث هذا النوع من التماكب عندما يوجد للمركبات العدد نفسه من ذرات الكربون في السلسلة الكربونية ولكن لها توزع مختلف كالتماكب بين الالكانات:



2-ميتيل البنتان — الهكسان

الصيغة المجملة (C_6H_{14}) — الصيغة المجملة (C_6H_{14})

2- تماكب موضعي: ويشمل المركبات التي لها نفسي الوزن الجزيئي ونفس الوظيفة الفعالة ولكنهما يختلفان بموقع هذه الوظيفة فقط ونلاحظ ذلك لدى n-بروبانول والايزوبروبانول.



كحول نظامي البروبيلي (n-Propanol) — كحول الايزوبروبيلي (Isopropanol)

3-تماكب وظيفي: يتضمن المركبات التي لها نفس الصيغة المجملة ولكنها مختلفة في الوظائف الفعالة ومن الأمثلة على ذلك ثنائي ميثيل ايثر والكحول الايتلي.



داي ميثيل ايثر — كحول ايثيلي

2-2-2- التماكب الفراغي Stereoisomerism:

يستخدم الاصطلاح مماكبات فراغية Stereoisomers للدلالة على المركبات العضوية التي لها الصيغة المجملة نفسها وترتبط ذراتها مع بعضها البعض بالترتيب نفسه، ولا يتميز أحدها عن الآخر إلا بتوزيع الذرات في الفراغ ويقسم التماكب الفراغي إلى قمسين:

أ- التماكب الهندسي Geometrical isomerism: يوجد هذا النوع من التماكب في المركبات الحاوية على روابط مضاعفة **حيث يختلف المتماكبان في خواصهما الفيزيائية وبعض خواصها الكيميائية رغم تشابههما في الصيغة البنيوية.** ومن الأمثلة على التشابه الهندسي، تشابه حمض الماليك Maleic Acid وحمض الفيوماريك Fumaric Acid.



Fumaric Acid Trans Form

Maleic Acid Cis Form

يختلف هذان المركبان في درجة انصهارهما فحمض الماليك ينصهر على الدرجة 130 ْم بينما ينصهر حمض الفيوماريك عند الدرجة 287 ْم. ويلعب حمض الفيوماريك دوراً مهماً في حلقة كريبس (استقلاب الكربوهيدرات) كمركب وسطي بينما يعد حمض الماليك من المواد متوسطة السمية. يتشابه هذان المماكبان الهندسيان بأنهما ينتجان من تسخين حمض الماليك.

ب- التماكب الضوئي Optical isomerism: لقد ثبت أن المركبات العضوية الحاوية على ذرة كربون غير متماثلة (كربوهيدرات، بروتينات) تكون ذات نشاط ضوئي. أي أنه عندما تمرر حزمة أشعة من الضوء المستقطب عبر محلول منها فإنها تحرف مستوى الضوء فهي ذات فعالية ضوئية Optical activity. إن للضوء العادي تموجات تتوزع بكافة الاتجاهات وبشكل عمودي على اتجاه انتشار الضوء.

وعندما تمر حزمة الضوء العادي على مادة معينة كالكاسيت مثلاً ($Ca\ CO_3$) فإنها تمتص مركبات الضوء كافة ما عدا مركب واحد حيث إن موجاته تتحرك في مستوى واحد، يسمى هذا الضوء الناتج بالضوء المستقطب. إن المركبات النشطة ضوئياً تستطيع حرف اتجاه الضوء المستقطب إما إلى اليمين مع حركة عقارب الساعة ويسمى Dextrorotatory ويعبر عنه عادة بإشارة (+) أو إلى اليسار أو عكس حركة عقارب الساعة ويسمى المركب

Levorotatory ويرمز له بإشارة (−). إن درجة حرف مستوى الضوء المستقطب بوساطة مادة نشطة ضوئياً لا يعتمد فقط على تركيب هذه المادة، إنما على طول الأنبوب التي توضع فيه المادة وعلى درجة تركيزها ودرجة حرارة السائل وطول موجة الضوء المستعمل. تجري عادة عملية قياس النشاط الضوئي للمواد النشطة ضوئياً ضمن الشروط نفسها من الحرارة والتركيز بوساطة جهاز Polarimeter وتسمى الزاوية الحادثة بين مستوى الضوء المستقطب بعد مروره خلال المركب النشط ضوئياً بزاوية الدوران النوعي [α] وتعطى بالعلاقة التالية:

$$[\alpha]\lambda^t = \frac{\alpha}{L \cdot C}$$

حيث:

α: الدوران المقاس بالدرجات.

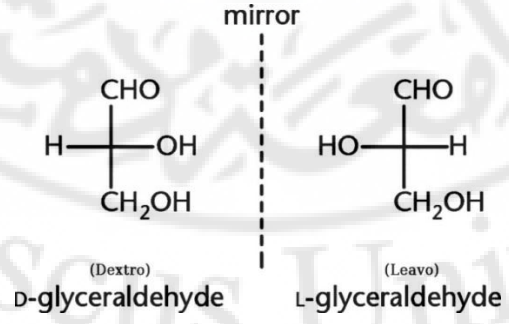
L: طول الأنبوب بالديسيمتر.

c : تركيز المادة بالغرام/ ميللتر .

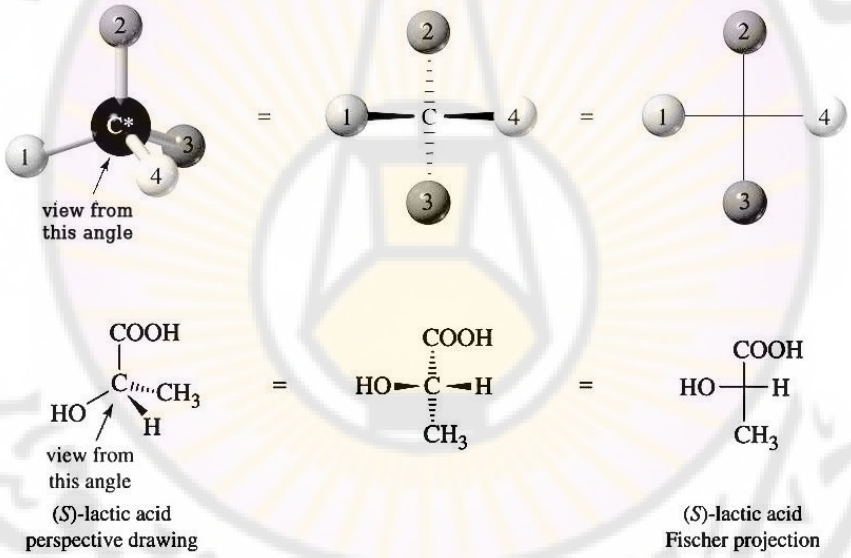
t: درجة الحرارة وهي عادة 25° مْ.

λ: طول الموجة حيث نستخدم عادة ضوء الصوديوم الأصفر D=5893°A

لقد عد العالمان فانت هوف ولوبل أن المجموعات المرتبطة بذرة الكربون غير متماثلة ومتجهة نحو رؤوس هرم رباعي الوجوه بحيث تقع ذرة الكربون في مركز الهرم لذلك تعد ذرة الكربون ذات المجموعات الوظيفية المختلفة غير متناظرة وذلك لعدم وجود مستوى تناظر داخلي بين المجموعات الوظيفية. إن المجموعات المرتبطة بذرة الكربون يمكن أن تتوزع فراغياً بطريقتين ولا يمكن أن ينطبق أحد هذين التوزيعين على الآخر، أي أن أحدهما صورة للآخر في المرآة ومثال ذلك جزيء الغليسر الدهيد الحاوي على ذكرة كربون غير متناظرة واحدة.

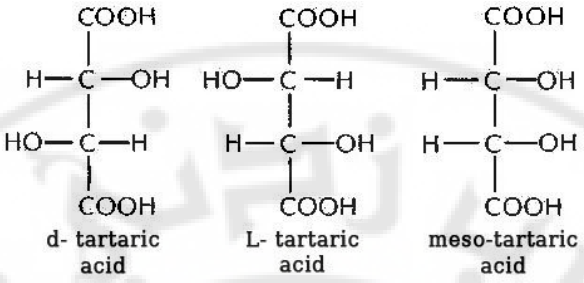


يمكن تمثيل التوزيع الفراغي الجزيئات بثلاثة أبعاد كما هو الحال في الهرم رباعي الوجود Tetrahedron ولكنه غير عملي وخاصة إذا كان الجزيء حاوٍ على أكثر من ذرة كربون غير متماثلة ولهذا السبب فقد أوجد العلماء عدة طرق لتمثيل التركيب الفراغي ببعدين فقط. ومن هذه الطرق طريقة العالم الألماني Emil Fisher وتسمى بالطريقة الإسقاطية فلو فرضنا أن ذرة الكربون غير المتماثلة موجودة على مستوى الصفحة فإن المجموعات الأفقية موجودة خارج مستوى الصفحة وباتجاه القارئ أما المجموعات العمودية فإنها تقع خلف مستوى الصفحة بعيداً عن القارئ ويظهر ذلك في الشكل (2–1) **حيث الشكل اليساري يمثل التوزيع الفراغي بثلاثة أبعاد ويمكن إسقاطه كما في الشكل الأوسط، وأما كما في الشكل اليميني فهي طريقة فيشر.**



الشكل (2–1) التوزيع الفراغي للجزيئات وطرق تمثيلها.

يطلق عادة على زوج المماكبات الضوئية التي احداهما صورة الآخر في المرآة Enantiomer، ولابد من الإشارة أنه عند تحضير مزيج من كميات متساوية من مكوني الزوج Enantiomer يسمى بالمزيج الراسيمي Racemic mixture كما هو الحال عند خلط كميات متساوية من حمض Levo-tartaric و Dextro-tartaric وهذا المخلوط ليس له نشاط ضوئي لأن أحد المركبين يحرف الضوء إلى اليمين والآخر إلى اليسار وباعتبار أن كميتيهما متساويتين لذلك لا يؤثر المزيج على مستوى الضوء المستقطب.



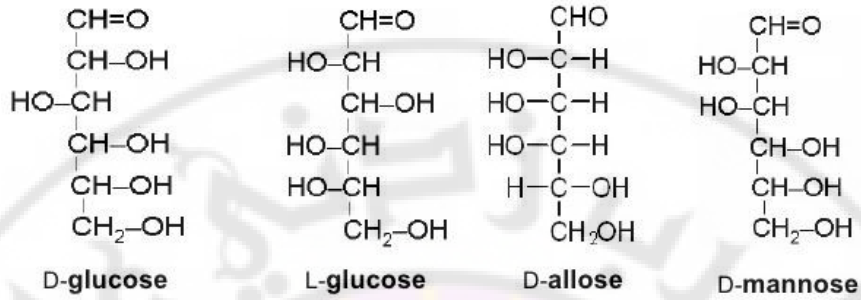
ويمكن أن يكون جزيء حمض الطرطريك في حالة تماثل أو تناظر داخلي وبذلك يفقد الجزيء نشاطه الضوئي وذلك لأن نشاط كل جزء مخالف للآخر فيصبح المركب غير نشط ضوئياً ويطلق عليه الاصطلاح Meso. إن المركبات الحاوية على ذرة كربون (Meso) ذات أهمية خاصة، حيث إن هذه المركبات غير نشطة ضوئياً ولكن يمكن استقلابها إلى مركبات نشطة ضوئياً ومن الأمثلة على تلك المركبات حمض الستريك.

إن للنشاط الضوئي للجزيء تأثيراً كبيراً على كثير من خواصه الفيزيائية فيمكن أن نلاحظ هذا التغير على جزيئات حموض الطرطريك (الجدول 2-1)

الجدول 2-1: تغير خواص حمض الطرطريك الفيزيائية بتغير نشاطه الضوئي.

حمض الطرطريك	الدوران النوعي بالماء	درجة الانصهار درجة مئوية	الكثافة	درجة الذوبان بالماء غ/100غ عند 25مْ
(-)	11.98-	170	1.76	147
(+)	11.98	170	1.76	147
ميزو	-	140	1.67	120
راسيمي (±)	0	205	1.69	25

لقد قام العالم فانت هوف Vant Hoff بحساب عدد المماكبات الضوئية لمركب ما بوساطة القاعدة التي اقترحها ويتم بواسطتها حساب عدد المماكبات الضوئية وهي 2^n حيث n هي عدد ذرات الكربون غير المتماثلة في المركب. كما سبق ذكره فإن المماكبات الضوئية التي يكون إحداهما صورة للآخر بالمرآة هي Enantiomer كما هي الحال لدى D-Glucose و L-Glucose.

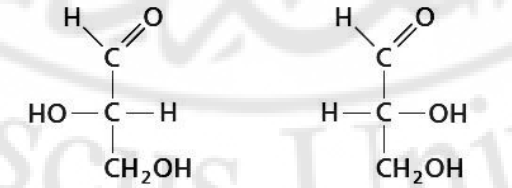


Its Enantiomer Adiasterioisomer Adiasterioisomer
And also an Epimer

تدعى المماكبات الفراغية التي لا توجد بينها علاقة من نوع Enantiomer باسم دياستيروايزوومر Deasterioisomers كما هو حال العلاقة بين المماكبين D-Glucose و D-Talose. إن المماكبات التي توجد بينها علاقة من النوع Deasterioisomer والتي لا تختلف بينها إلا بالتوزيع الفراغي حول ذرة غير متماثلة واحدة تدعى Epimer ويمكن أن نلاحظ ذلك عند مقارنة السكرين D-Glucose و D-Mannose.

2-2-3- تماكب السكريات البسيطة:

كما سبق ذكره فإن التماكب الضوئي للسكريات الأحادية عائد لوجود ذرة أو عدة ذرات كربون غير متماثلة، ففي أبسط أنواع السكريات مثل الغليسر ألدهيد فإن وجود ذرة كربون غير متماثلة (الذرة الثانية) يؤدي إلى إعطاء مماكبين ضوئيين أحدهما يحرف الضوء باتجاه عقارب ساعة (+) والثاني يحرف الضوء المستقطب نحو اليسار (-). يمكن ملاحظة أن الغليسر الدهيد (+) يحوي على مجموعة الهيدروكسيل التي تحملها ذرة الكربون غير المتماثلة واتجاهها نحو اليمين عندما تكون المجموعة الألدهيدية نحو الأعلى لذلك يضاف لاسمه الحرف (D) للتعبير عن هذه الحالة. أما المركب غليسر الدهيد (-) فإن مجموعة الهديروكسيل تكون باتجاه اليسار ويضاف إلى اسمه الحرف (L) للتعبير عن هذا التوزيع لمجموعة الهيدروكسيل.



يجب التأكيد أنه لا توجد علاقة دائمة بين حرف الضوء (+) والتوضع الفراغي لمجموعات الهيدروكسيل من النوع (D) وكذلك بين اتجاه حرف الضوء (−) والتوضع الفراغي من النوع (L). فهناك سكريات أحادية من النوع D وتحرف الضوء نحو اليسار (−) أو من النوع L وتحرف الضوء إلى اليمين (+) مثل سكري Erythrose D (-) و Erythrose L(+).

2-3- اصطناع السكريات الأحادية:

إن إضافة ذرة كربون غير متماثلة إلى مركب الغليسر الدهيد يزيد من عدد المماكبات الضوئية، ويمكن تصنيع المماكبات بطريقة العالم كيلياني Kiliani والتي تعتمد على إضافة جزيء من HCN إلى مجموعة الكربونيل في الألدهيدات أو في الكيتونات.

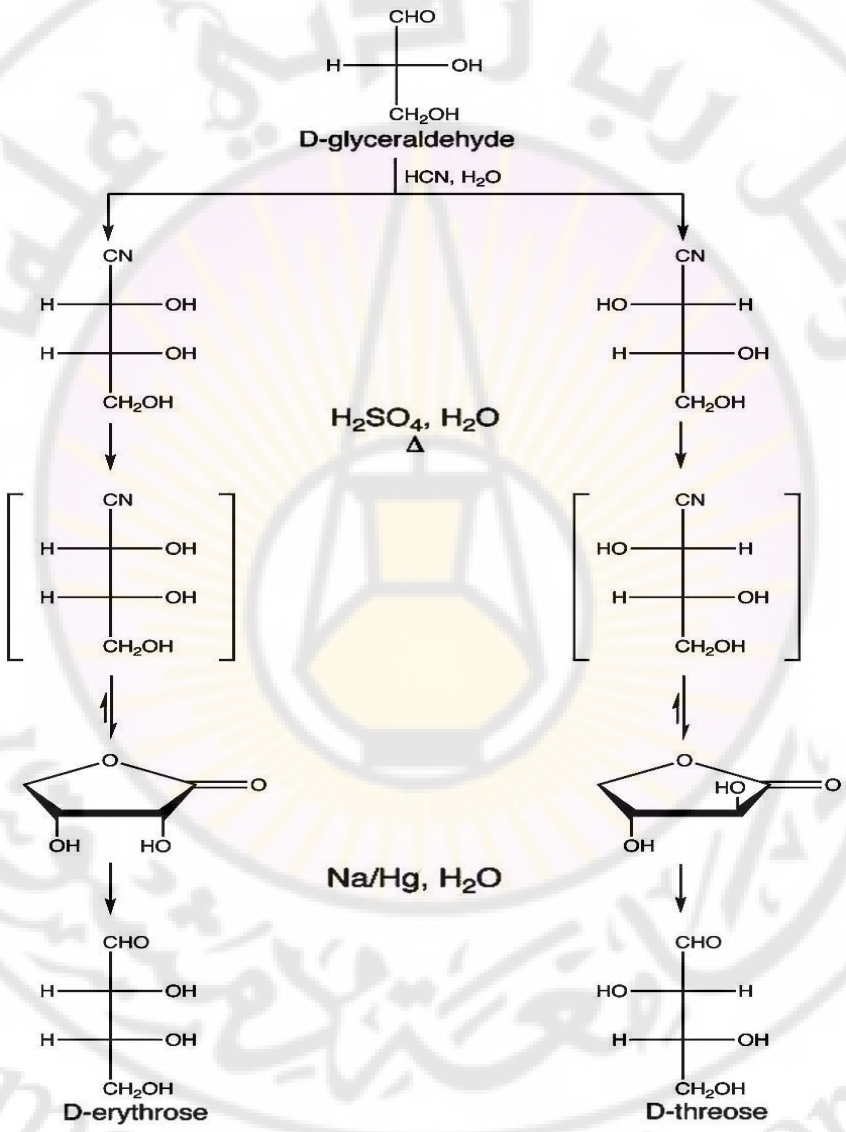
2-3-1-اصطناع السكريات الألدهيدية:

يمكن ملاحظة أنه اعتباراً من D-glyceraldehyde أثناء تطبيق اصطناع كيلياني أمكن الحصول على تتروزين (ايريثروز وتريوز). كما نلاحظ أن الالدوز الناتج قد حافظ على توزيعه الفراغي D لأن ذرة الكربون في مجموعة الألدهيد تصبح ذرة جديدة غير متماثلة ولهذا فإن ذرة الكربون غير المتماثلة المجاورة لمجموع الهيدروكسي ميثيل هي المؤشر الصحيح لمعرفة فيما إذا كان السكر يتبع السلسلة D أو السلسلة L، لذلك فإن L-Erythrose ينتج فقط عن L-Glyceraldehyde وكذلك الحال لدى L-Threose. ويمكن اصطناع الالدوزات (Aldoses) من النوع D اعتباراً من D-Glyceraldehyde وذلك وفق المخطط المبين أدناه. وبنفس الطريقة يمكن الحصول على ثمانية الدوهكسوزات من النوع L ولكن اعتباراً من جليسر الدهيد من النوع L حيث مجموعة الهيدروكسيل المرتبطة بذرة كربون غير المتماثلة نحو اليسار.

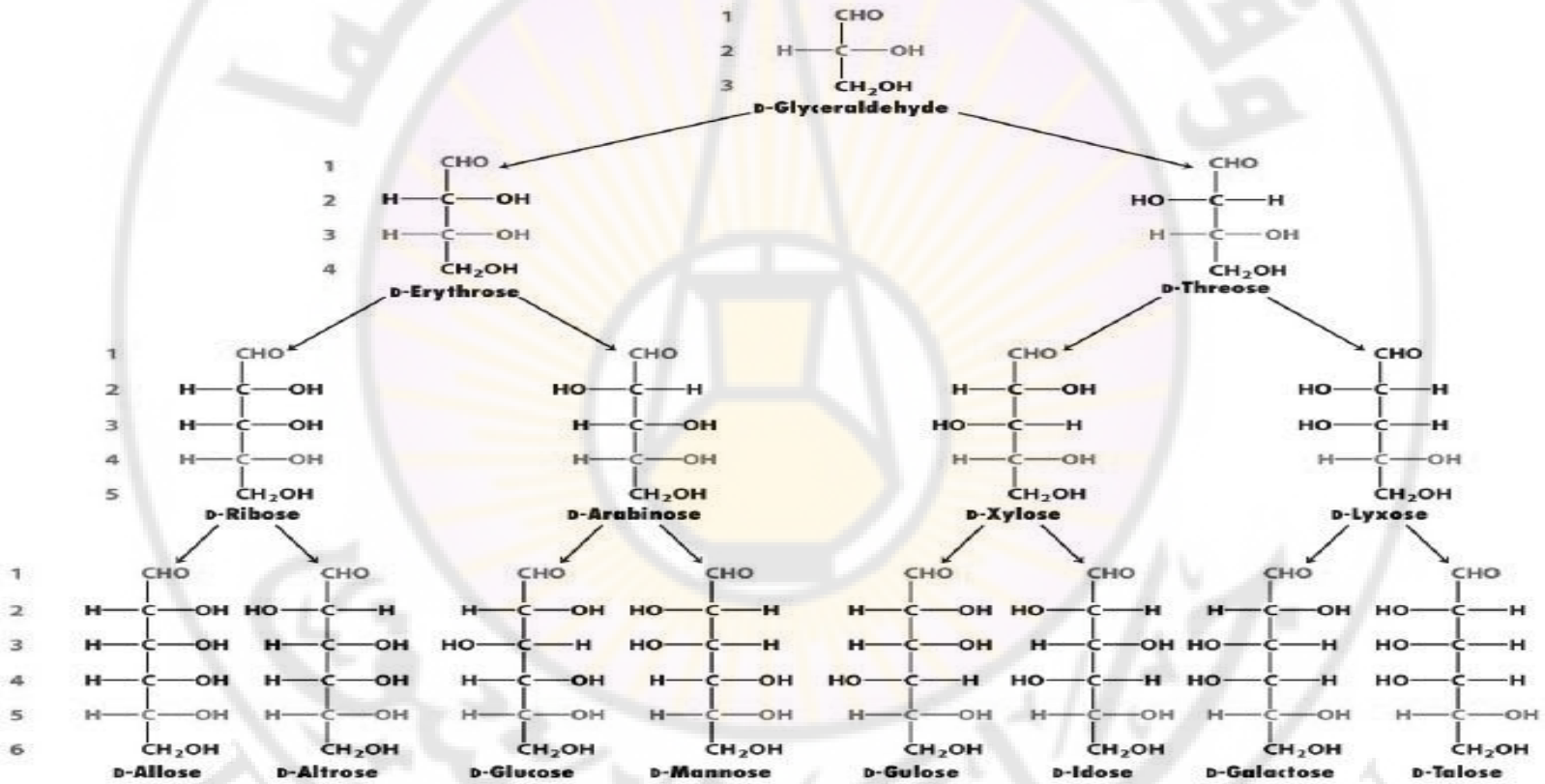
2-3-2- اصطناع السكريات الكيتونية:

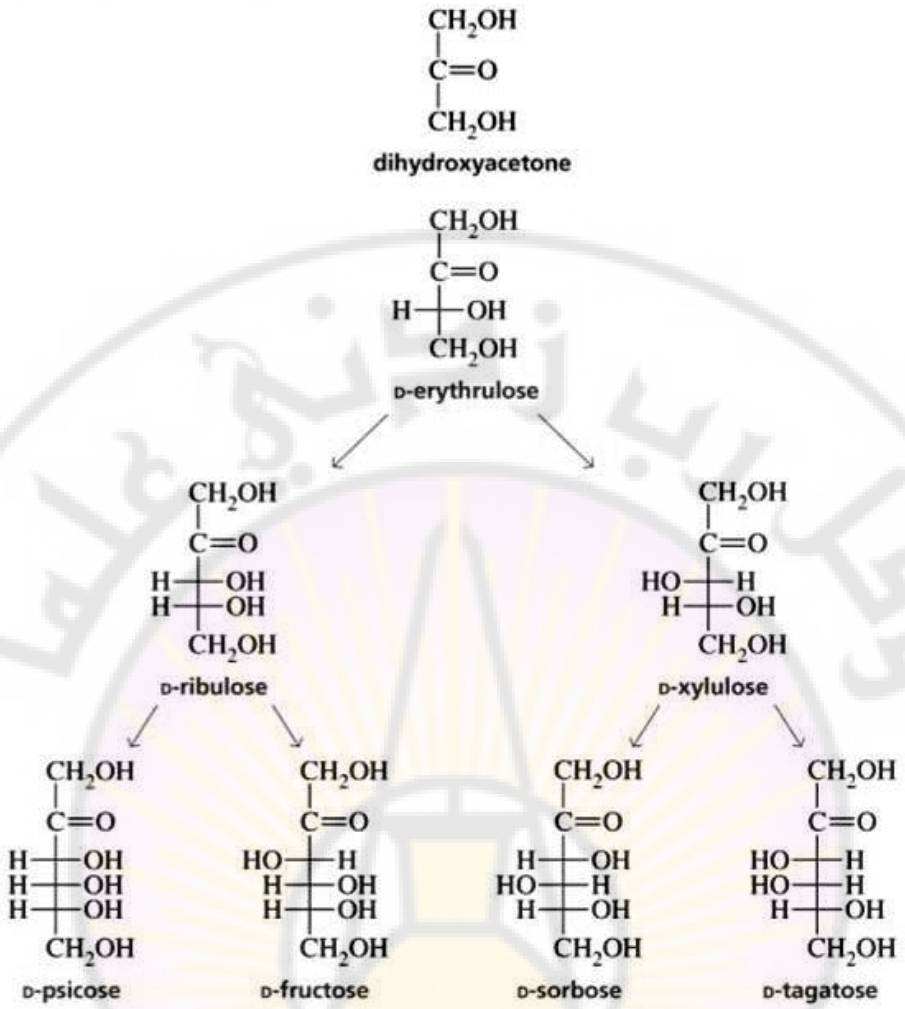
بنفس الطريقة التي مرت معنا في اصطناع السكريات الألدهيدية يتم اصطناع السكريات الكيتونية وذلك بإضافة ذرة كربون غير متماثلة إلى الأسيتون ثنائي الهيدروكسيل Dihydroxyacetone وفقاً لطريقة اصطناع كيلياني، حيث يمكن الحصول على أربعة كيتوهكسوزات من النوع D وأربعة كيتوهكسوزات من النوع L وهذا العدد هو نصف ما استطعنا الحصول عليه في حالة الألدوهكسوزات اعتباراً من السكر الثلاثي غليسر الدهيد. يعود ذلك إلى أن الأسيتون ثنائي الهيدروكسيل لا يحتوي على ذرة كربون غير متماثلة كما

هو الحال لدى الغليسر ألدهيد، وفيما يلي مخطط لاشتقاق الكيتوهكسوزات من النوع L اعتباراً من مركب الاسيتون ثنائي الهيدروكسيل.



اصطناع كيلياني


D-Glyceraldehyde
D-Erythrose
D-Threose
D-Ribose
D-Arabinose
D-Xylose
D-Lyxose
D-Allose
D-Altrose
D-Glucose
D-Mannose
D-Gulose
D-Idose
D-Galactose
D-Talose



2-4- التركيب الحلقي للسكريات الأحادية:

لقد مثلنا حتى الآن التركيب البنائي للسكريات الأحادية بشكل سلسلة مفتوحة وذلك حسب طريقة فيشر الإسقاطية. لكن افتراض وجود هذه السكريات بشكل سلاسل مفتوحة أي عبارة عن الدهيدات وكيتونات عديدة الهديروكسيل لا يمكن أن يفسر بعض الملاحظات حول خواصها الفيزيائية التي لوحظت من قبل كيميائيي الكربوهيدرات والتي تتلخص بالشكل الآتي:

1- على عكس الالدهيدات الأخرى، الغلوكوز والالدوزات الأخرى لا يعيد للفيوشين (Schiff's Fuchsine) لونه المزال بوساطة غاز ثاني أوكسيد الكبريت وذلك لغياب مجموعة الألدهيد.

2- عند قياس قدرة محلول من الغلوكوز محضر حديثاً على حرف مستوى الضوء المستقطب، نلاحظ أنها تتغير مع مرور الزمن. ومن المعروف أن المقدرة على حرف الضوء المستقطب خاصة ثابتة مثلها مثل درجة الانصهار أو الغليان، لذلك فإن التغير في

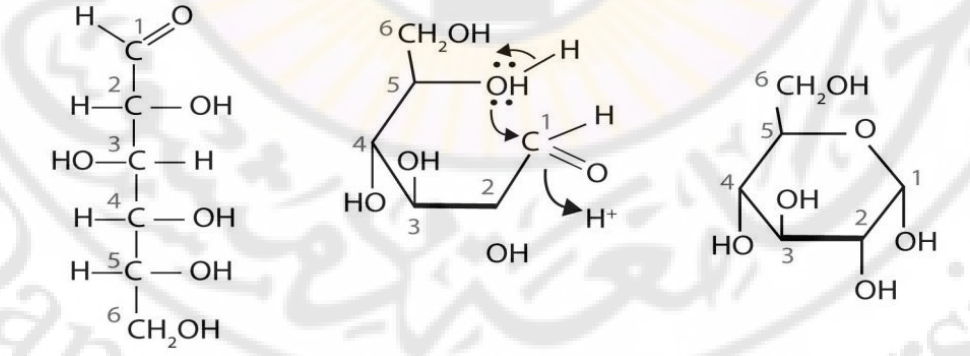
قدرة الغلوكوز على حرف الضوء المستقطب يعكس تغيراً في تركيبه. لقد تمكن العلماء من عزل مماكبين فراغيين من الغلوكوز أحدهما α-D-Glucose ودورانه النوعي +112.2 والثاني β-D-Glucose ودورانه +18.7. عند وضع هذين المماكبين في محلول فإنهما سيخضعان لتحول ونحصل عند التوازن على مزيج قدرته النوعية على حرف الضوء تساوي −52.7 ويحدث ذلك بسبب التركيب الحلقي.

3- عندما يعامل أي ألدهيد بالكحول المثيلي في وسط حمضي فإن جزيء الألدهيد مع جزيئين من الكحول مشكلاً مركب اسيتال acetal.

$$R-CHO + 2CH_3OH \longrightarrow R-CH(OCH_3)(OCH) + H_2O$$

لكن جزيء D-Glucose لا يتفاعل مع جزيء واحد من الميثانول ونحصل على مزيج من المركبين α-D-methylglucoside الذي يعطي بالتحليل الأنزيمي بوساطة – αglucosidase جزيء غلوكوز من النوع α وβ-D-Methylglucoside (الذي يعطي بتأثير β-glucosidase جزيء β-Glucose).

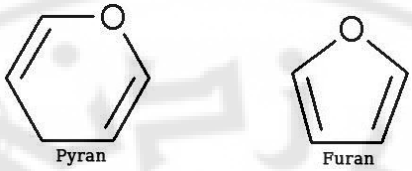
لهذه الأسباب فقد ساد الاعتقاد بأن هناك ذرة كربون أخرى إضافية غير متماثلة، ولقد اقترح العالم Tollens تركيباً جديداً للغلوكوز، حيث تكون ذرة الكربون الأولى فيه غير متناظرة وذلك بعد أن يكون الغلوكوز قد شكل حلقة، حيث ترتبط مجموعة الألدهيد (والتي تتفاعل تحت صورة هيدرات الألدهيد) مع مجموعة الهيدروكسيل المحمولة على ذرة الكربون الخامسة وينتج عن ذلك جزيء من الماء وبذلك يتحول الغلوكوز D من الشكل المفتوح إلى الشكل غلوكوبيرانوز كما هو موضع في الشكل التالي:



(a) Fischer projection (b) Three-dimensional representantion (c) Cyclic monosaccharide

إن تكوين الشكل الحلقي للغلوكوز نتيجة اتحاد مجموعة الألدهيد بمجموعة الهديروكسيل المحمولة على ذرة الكربون رقم (5) ناتج عن هاتين المجموعتين قريبتين من بعضهما بعضا في الفراغ ما يسمح بتكوين الجسر الأوكسيدي 1−5، وفي هذه الحالة نحصل على حلقة

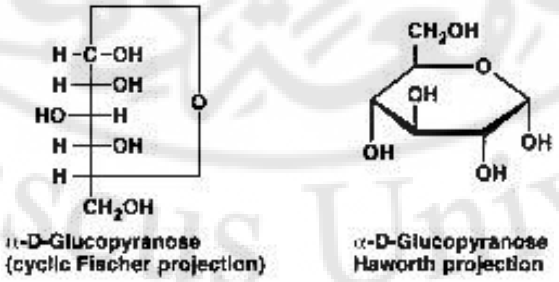
سداسية مؤلفة من خمسة ذرات كربون وذرة أوكسجين واحدة وتدعى بحلقة البيرانوز إلى البيران Pyran ويمكن أن يتكون جسر أوكسيدي بين الذرة الأولى والرابعة حيث تتكون حلقة خماسية مؤلفة من أربع ذرات كربون وذرة أوكسجين واحدة، وتدعى بحلقة الفيرانوز نسبة إلى الفيوران Furan. تتواجد مجموعة الوظيفة المختزلة في كلا التركيبين البيرانوز والفيرانوز بشكل هيمي اسيتال (شبه ألدهيد) .



تركيب البيران Pyran تركيب الفيوران Furan

أما في حالة الكيتوزات فيوجد أيضاً التركيبين الحلقيين بيرانوز والفيرانوز، ففي الفركتوز تتحول المجموعة الكيتونية إلى شبه كيتونية عند تشكل مركب الهيمي كيتال. يعود تكوين الشكل الحلقي إلى تشكل جسر أوكسيدي بين ذرة الكربون الثانية (حيث توجد المجموعة الكيتونية) وذرة الكربون السادسة ليعطي صورة البيرانوز أو مع ذرة الكربون الخامسة ليعطي صورة الفورانوز. إن تكون الشكل الحلقي يؤدي إلى نشوء ذرة كربون غير متماثلة (الذرة رقم واحد في الألدوزات والذرة اثنان في حالة الكيتوزات) ، وهكذا ينتج لدينا حسب توضع مجموعة الهيدروكسيل المحمولة على هذه الذرة مماكبان α أو β. باستعمال قاعدة Fischer يكون المركب من النوع α عندما تكون مجموعة الهيدروكسيل المرتبطة بذرة الكربون الأولى (في الألدوزات) أو بذرة الكربون الثانية (في الكيتوزات) إلى جهة اليمين بينما يكون المركب من النوع β عندما تكون مجموعة الهيدروكسيل إلى اليسار. إن المركبات α و β غلوكوبيرانوز D عبارة عن مماكبات ضوئية ولكنهم ليسوا Enantiomers لأن أحدهم ليس صورة للآخر في المرآة لذلك فيطلق عليهما الاصطلاح Anomers.

يستخدم حالياً الصيغة التي تقترحها هاوورث Haworth وتتلخص بأن الحلقة السداسية أو الخماسية عمودية على مستوى الصفحة والروابط المرسومة بخط رفيع تكون خلف مستوى الصفحة بينما تقع الروابط المرسومة بخط عريض أمام مستوى الصفحة أي الأقرب إلى القارئ.

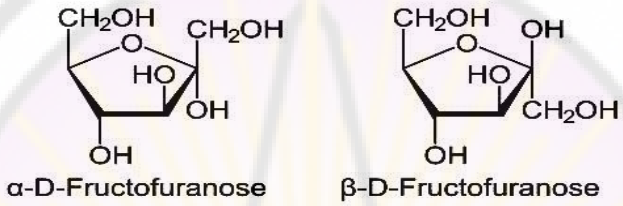


تحول فيشر قاعدة هاروث

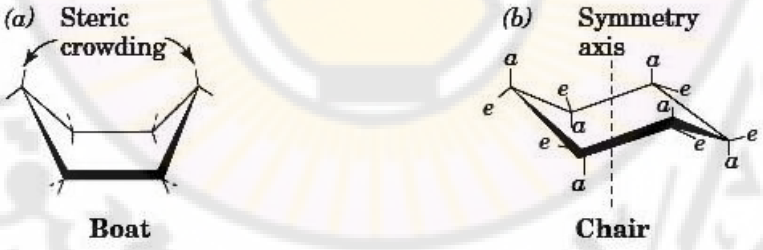
تتلخص القواعد التي تسمح بالمرور من صيغة فيشر إلى صيغة هاوورت بما يلي:

1–إن مجموعات الهيدروكسيل التي توجد على يمين السلسلة الكربونية في صيغة فيشر تتوضع نحو الأسفل في صيغة هاوورث. بينما تتوضع المجموعات الموجودة على يسار السلسلة الكربونية في صيغة فيشر إلى الأعلى في صيغة هاوورث.

2–عندما يحوي السكر على عدد ذرات كربون أكثر من عدد ذرات الكربون المؤلفة لحلقة البيرانوز أو الفيورانوز فإن الذرات الزائدة تكون متجهة إلى الأعلى عندما يكون الجسر الأوكسيدي في صيغة تولنز إلى اليمين من السلسلة الكربونية حيث أنه الأكثر انتشاراً. بالمقابل إذا كان الجسر الأوكسيدي إلى يسار السلسلة الكربونية فإن ذرات الكربون الزائدة تمثل نحو الأسفل. يمكن تطبيق صيغة هاوورث على الفركتوز ويمكن ملاحظة الفرق بين المركبين α و β.

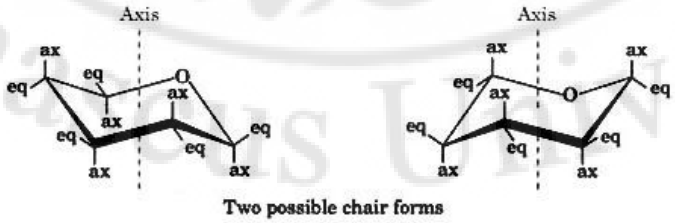


في الحقيقة لا توجد الحلقة السداسية أو الخماسية في مستوى واحد كما تظهره صيغة هاوورث وذلك بسبب اختلاف زوايا اتصال ذرات الكربون فتأخذ حلقة البيرانوز شكل قارب أو كرسي. إن حلقة البيرانوز الموجودة بشكل كرسي أكثر ثباتاً من الحلقة الموجودة بشكل القارب لذلك فمعظم السكريات توجد بشكل كرسي وبعضها بشكل قارب. وقد اقترح العالم Reeves إن حلقة البيرانوز – كرسي يمكن أن تتواجد في شكلين مختلفين وهما C1 و 1C



شكل زورق شكل كرسي

حيث توجد الروابط المتصلة مع ذرات الكربون إما بشكل محوري (axial) أو بشكل استوائي (Equatorial) ويظهر ذلك بوضوح في المثال التالي:



2-5- الأنواع المختلفة للسكريات:

تقسم السكريات الأحادية عادة إلى أربعة أنواع وهي السكريات المتعادلة والسكريات الأمينية والأحماض اليورونية والأحماض السيالية.

2-5-1- السكريات المتعادلة:

تشمل هذه المجموعة كافة أنواع السكريات الأحادية التي لا تحتوي عدا الوظيفة الألدهيدية أو الكيتونية إلا على وظائف كحولية مثل D-غلوكوز، D-غالاكتوز، D-ماتوز، D-زايلوز ....إلخ ويدخل ضمن نطاق هذه المجموعة أيضاً السكريات الأحادية التي فقدت ذرة أوكسجين مثل سكر 2- دي أوكسي D- رايبوز.

وفيما يليك أهم السكريات المتعادلة وبعض خواصها.

أ- السكريات الخماسية:

إن أهم السكريات الخماسية هو الزايلوز والارابينوز والرايبوز واللكسوز ونادراً ما توجد هذه السكريات بشكل حر في الطبيعة ولكنها توجد في النباتات على صورة سكريات عديدة تدعى البنتوزانات Pentosans.

1- الزايلوزD-xylose ويدعى سكر الخشب وهو أحد السكريات الخماسية المكونة لمعقد الكزيلان xylan ويمثل الجزء الدائم في أنسجة النبات ويدخل في تكوين الهيميسللوز Hemicellulose لا يستفيد منه الإنسان ولكن الحيوانات المجترة تستطيع تحليله بفعل البكتريا التي تعيش في جهازها الهضمي وتنتج منه طاقة.

2- الأرابينوز L-Arabinose: يوجد بشكل أساسي في الكرز بصورة معقد الارابان Araban وهو جزء من مكونات الهيميسللوز ويوجد في البكتين أيضاً.

3- الرايبوز D-Ribose: هو أحد السكريات الهامة جداً لدخوله في تركيب الأحماض النووية كما ينتج منه سكر دي اوكسي رايبوز Deoxyribose كما يدخل في بعض المركبات الهامة حيوياً مثل ATP والمرافقات الأنزيمية ($NADP^+$, NAD^+ FAD).

4-اللكسوز D-Lyxose: ويوجد هذا السكر الخماسي في عضلات القلب.

ب-السكريات السداسية:

السكريات السداسية هي الأكثر أهمية من بين السكريات البسيطة ونذكر أهمها:

1-الغلوكوز Glucose: يدعى السكر أيضاً بسكر العنب وأحياناً سكر الدم وهو موجود بشكل حر كما ينتج من تحلل السكريات الثنائية وعن الغليكوجين المخزون في الكبد، وتستخدمه الخلايا لإنتاج الطاقة، يوجد في الثمار الحلوة كالعنب والتمر والكرز والفواكه بشكل عام. يمكن إنتاجه تجارياً من النشاء باستخدام الحموض أو الأنزيمات كما أنه قابل للتخمر لذلك يمكن إنتاج الكحول منه.

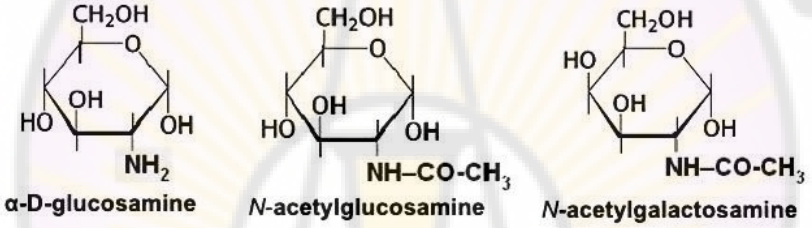
2- الفركتوز Fructose: يسمى هذا السكر، باسم سكر الفواكه وهو ذو درجة ذوبان عالية كما يصعب بلورته، وهو أكثر السكريات حلاوة، يكثر في الفواكه والعسل، يدخل في تركيب السكريات الثلاثية والرباعية والعديدة (الاينولين)

3-الغالاكتوز Galactose: يوجد هذا السكر في الطبيعة مرتبطاً مع الغلوكوز كما في سكر اللاكتوز وفي سكري الرافينوز والستايكوز ونادراً ما يوجد حراً. كذلك يدخل في تركيب السكريات العديدة كما في الصمغ العربي.

هناك سكريات سداسية أقل أهمية من الناحية الحيوية مثل سكر المانوز Mannose الذي يدخل في تركيب السكر العديد Mannan والذي يوجد في نوى الفواكه.

2-5-2-السكريات الأمينية:

تنتج هذه السكريات من احلال مجموعة أمين بدلاً من مجموعة هيدروكسيل في الهكسوز وعادة تكون مجموعة الهيدروكسيل محمولة على ذرة الكربون الثانية. ومن أشهر السكريات الأمينية الموجودة في الخلايا الحيوانية D- غلوكوز أمين و D-غالاكتوز أمين، ويوجد هذان السكران الأمينيان في الطبيعة مرتبطين بمجموعة أسيتيل.

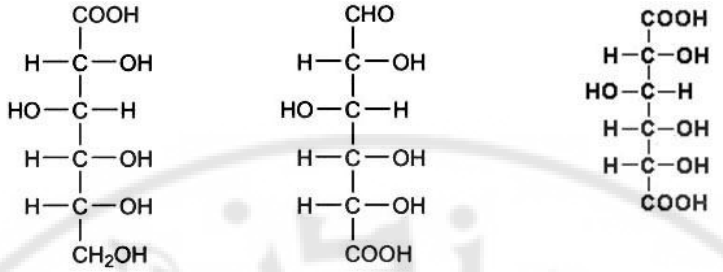


قد تتحد مجموعة الأمين مع حمض الاسيتيك كما هو الحال في N-اسيتيل غلوكوز أمين حيث يكون مادة الكيتين التي تدخل في تركيب أجزاء من أجسام بعض الحيوانات والحشرات. كما تدخل السكريات الأمينية في تركيب بعض المضادات الحيوية مثل الارثيرومايسين Erythromycin وكذلك الكاربومايسين Carbomycin وتعود فعالية هذه المضادات الحيوية لوجود السكر الأميني.

2-5-3-الأحماض اليورونية:

تنتج هذه الأحماض من السكريات الألدهيدية وذلك بأكسدة مجموعة الكحول الأولي إلى مجموعة كربوكسيلية، وذلك إما بوساطة فوق أوكسيد الهيدروجين أو أنزيمياً. من أشهر هذه الأحماض هو حمض الغلوكويورونيك Glucuronic acid ويدخل عادة في تركيب بعض السكريات العديدة كما يوجد في بول الإنسان مرتبطاً مع الفينولات والستيرويدات بروابط غليكوزيدية. أما إذا تأكسدت مجموعة الألدهيد إلى مجموعة كربوكسيل وذلك باستخدام مؤكسدات لطيفة كماء البروم أو أنزيمياً ويسمى الحمض الناتج Aldonic acid أو هكسونيك Hexonic acid مثل حمض الغلوكونيك Gluconic acid. وإذا تأكسدت المجموعتان معاً

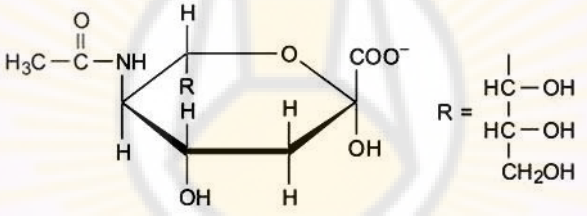
باستخدام مؤكسدات قوية كحمض النتريك 50% ينتج لدينا حمض السكاريك كما في الغلوكوسكاريك Glucosaccharic acid.



D-gluconic acid D-glucuronic acid Saccharic acid

2-5-4- أحماض السياليك Sialic acids:

وهي مشتقات لحمض النيرو أمين Neuraminic acid والذي يتكون بدوره من جزيء من حمض البيروفيك (المؤلف لكربون 1، 2، 3) والمتكاثف مع جزيء من D– مانوز أمين D-mannosamine (المؤلف لذرات الكربون 4 حتى 9). إذا كانت مجموعة الأمين متحدة مع أسيتيل فينتج لدينا حمض N–اسيتيل–نيرو أمين N-acetyl – Neuraminic acid، ويعد N-acetyl Neuraminic acid من أهم مكونات الغليكوبروتينات والتي توجد في جدار البكتريا، ويطلق عادة على مشتقات N– أسيل حمض النيرو أمين اسم أحماض السياليك والتي تدخل في تركيب الغليكوبروتينات والغليكوليبيدات.



N-acetylneuraminate (sialic acid)

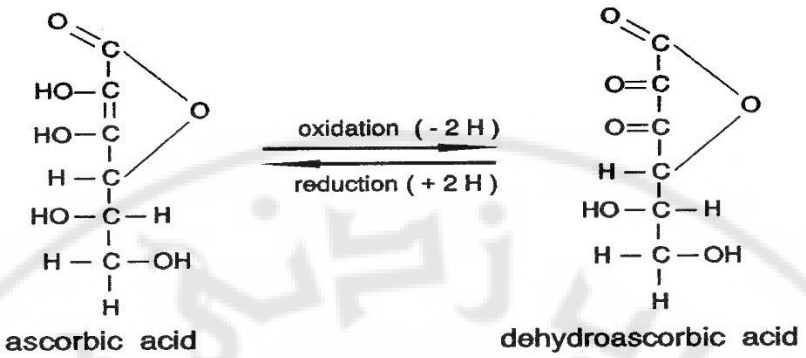
2-6- المركبات المشتقة من السكريات الأحادية:

هناك عدة مركبات مشتقة اعتباراً من السكريات الأحادية وبخاصة الهكسوزات منها ومن هذه المشتقات حمض الاسكوربيك أو فيبتامين C والاينوزيتول وغيرها من المركبات الأخرى ذات الأهمية الحيوية.

2-6-1- حمض الاسكوربيك (فيتامين C) L-Ascorbic acid :

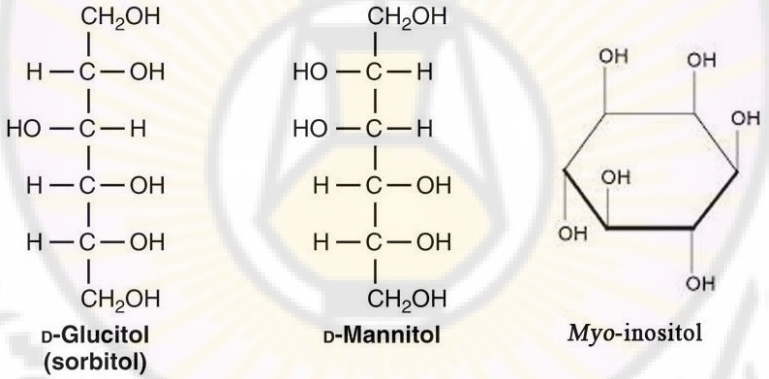
إن حمض الاسكوربيك ما هو إلا عن γ – لاكتون لحمض هكسونيك (حاو على مجموعة كربوكسيلية) ويتكون الأستر الداخلي γ – لاكتون من ارتباط مجموعة الكربوكسيل ومجموعة الهيدروكسيل المحمولة على نفس الجزيء على الذرة γ ، وينتج عن تكونه جزيء ماء. يتميز حمض الاسكوربيك بوجود رابطة مضاعفة بين ذرتي كربون كل منهما تحمل مجموعة هيدروكسيل (ايندول Enediol). يتأكسد حمض الاسكوربيك بسهولة إلى حمض الاسكوربيك

منزوع الهيدروجين Dehydroascorbic acid وتسمح له هذه الخاصة بالاشتراك في عمليات الأكسدة والاختزال التي تحدث في الخلية.

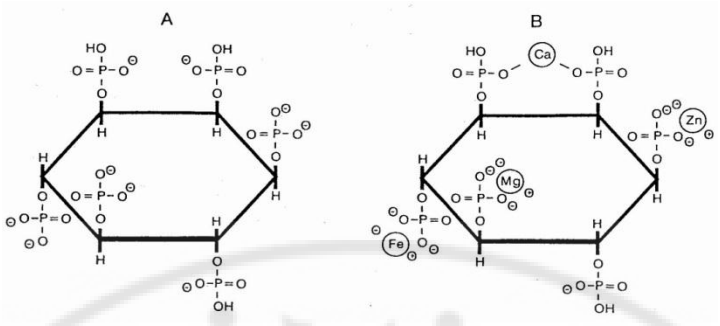


2-6-2- الكحولات السكرية Sugar alcohols

تنتج هذه السكريات من إرجاع مجموعة الألدهيد أو الكيتون في السكريات الأحادية إلى مجموعة كحولية، فإرجاع D الغلوكوز يعطي مركب D-glucitol أو ما يسمى بالسوربيتول، ويعطي D الغالاكتوز مركب D-galactitol بينما يعطي D المانوز مركب D-mannitol، يوجد السوربيتول في الطبيعة بشكل قليل جداً في بعض النباتات ويصنع حالياً لاستخدامات طبية حيث تعد الكحولات السكرية ذات أهمية طبية كبيرة.



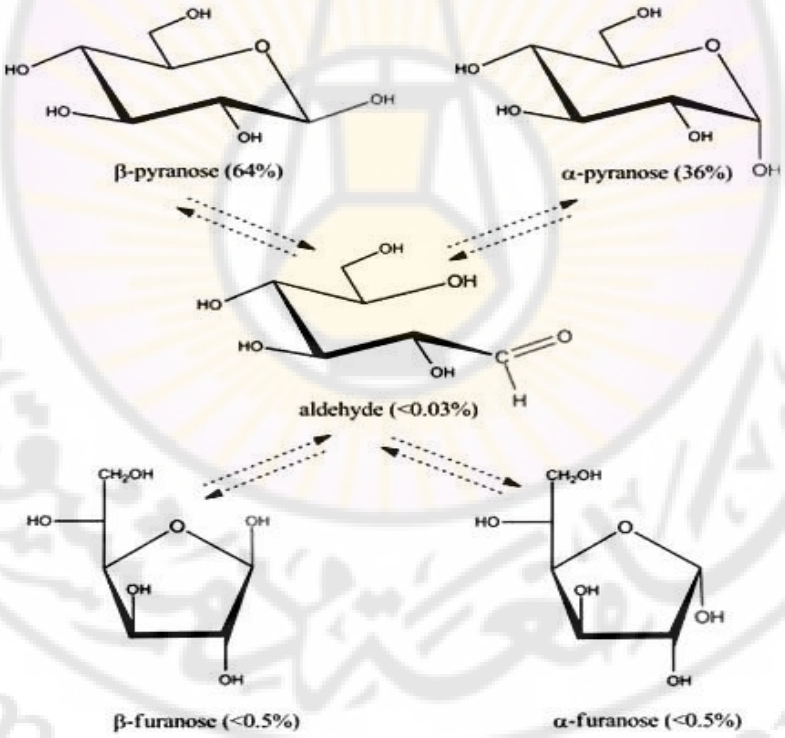
يوجد الكحول السكري الحلقي اينوزيتول في الطبيعة بشكل حر وله عدة مماكبات أهمها ميواينوزيتول الذي يوجد في الانسجة الحيوانية، أو بشكل أستر فيدخل في تركيب الليبيدات الفوسفورية وقد يوجد فيه ستة روابط أسترية ليعطي حمض الفيتيك Phytic acid، ويشكل هذا الحمض بدوره معقد مع أيونات الكالسيوم والمغنيزيوم ليعطي الفيتين phytine الذي يوجد بكثرة في الحبوب وخاصة في طبقة الاليرون. يعيق الفيتين امتصاص بعض العناصر المعدنية وبخاصة الكالسيوم والزنك والحديد ويشكل معها أملاح غير ذوابة لذلك يعد من مضادات التغذية antinutritional factor.



2-7- خواص السكريات الأحادية:

2-7-1- ظاهرة التدوير المتبادل Mutarotation

إن سكر الغلوكوز الموجود في الأسواق ما هو إلا α-D-glucopyranose ولكنه عندما يذوب في الماء فإن الشكل الحلقي يتحول إلى ألدهيد ذو سلسلة مفتوحة. يصبح هذا الشكل المفتوح قابلاً لتشكيل غلوكوبيرانوز أو غلوكوفيرانوز وكلا المركبين يمكن أن يكون بصورة α أو β ، ويعطي السكروز الذي نعتقد أنه مركب واحد عند حله بالماء خمسة مركبات مختلفة هي D بيرانوز وα بيرانوز والألدهيد و B فورانوز وα فيورانوز كما يوضحه الشكل التالي:

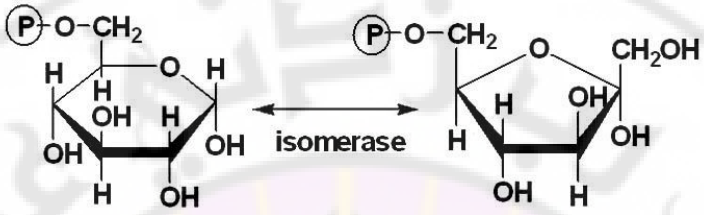


يجب أن ينظر إلى محلول الغلوكوز بأنه مزيج متوازن من α D-glucopyranose، و β D-glucopyranose، حيث يحدث التوازن بين هاتين الصورتين عبر الشكل المفتوح الذي يوجد بنسبة أقل من 0.1% لذلك تدعى ظاهرة تغير الأشكال بالتدوير المتبادل. إن الشكل الحلقي بيرانوز هو السائد أما الشكل الحلقي فيرانوز فيوجد بنسبة قليلة جداً (أقل من 1%).

يمكن تحديد مرحلة بلوغ المحلول للاتزان بين الأشكال المختلفة عن طريق قياس النشاط الضوئي للمحلول.

2-7-2- تكوين الاسترات:

يمكن للسكريات الأحادية تكوين استرات، وعلى الأغلب تدخل مجموعة الكحول في الأسترة، وأهم هذه الاسترات هي الاسترات الفوسفورية وهي ذات أهمية كبيرة في استقلاب الكربوهيدرات، ومنها الغلوكوز-6 فوسفات والفركتوز 6- فوسفات.



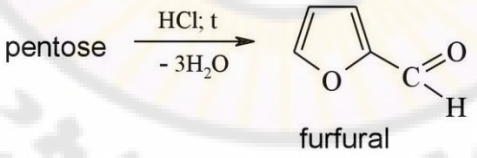
D - glucose - 6 - phophate D - fructose - 6 - phophate

2-7-3- تأثير الأحماض:

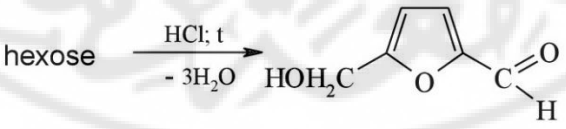
تشكل الألدوهكسوزات بوجود الأحماض المخففة مركبات بلا ماء، فمثلاً يتحول الغلوكوز β-D-Glucose إلى بلا ماء الغلوكوز D glucose، β – 1.6 anhydro وينتج ذلك عن نزع جزيء ماء من مجموعتي هيدروكسيل وتتكون رابطة بينهما. لا تكون سكريات الكيتوهكسوزات مركبات البلا ماء ضمن الجزيء الواحد إنما بلا ماء ثنائي مؤلف من جزيئين.

تعطي الالدوهكسوزات والكيتوهسكوزات بوجود حمض قوي مركز مع التسخين مركب هيدروكسي ميثيل فورفورال ينزع ثلاث جزيئات ماء من السكر وتكون حلقة.

كما تعطي السكريات الخماسية (البنتوزات) مع الحمض القوي الفورفورال بعد نزع ثلاث جزيئات ماء أيضاً.



furfural



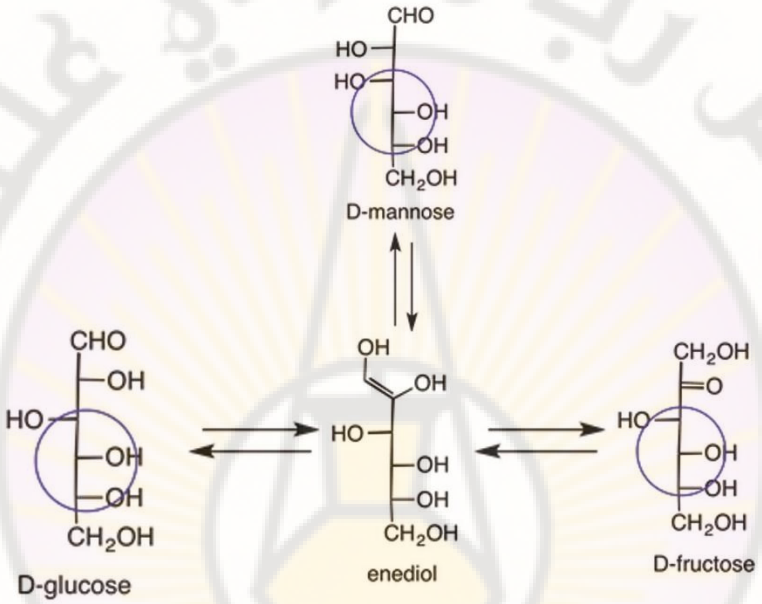
5-hydroxymethylfurfural

إن مركب الفورفورال ومشتقاته (هيدروكسي ميثيل فورفورال) تستطيع أن تتكاثف مع المشتقات الفينولية مثل α نافتول والأورسينول لتعطي مركبات ملونة وهي تستعمل للكشف عن جميع السكريات ما عدا السكريات الأمينية وأحماض السياليك.

2-7-4- تأثير القلويات:

لوحظ أن القلويات الضعيفة مثل ماء الكلس تؤثر على السكريات الأحادية وتؤدي إلى حدوث ظاهرة Epimerisation والتي بنتيجتها يتم الحصول اعتباراً من سكر أحادي على الايبيمير لهذا السكر، فمثلاً اعتباراً من سكر الغلوكوز يتم الحصول على المانوز ويشكل السكرين أيبيمر.

كما تحدث ظاهرة أخرى وهي التحول الداخلي Interconversion حيث نحصل على سكر كيتوني سداسي اعتباراً من سكر ألدهيدي سداسي، وعادة تحدث الظاهرتين معاً مروراً بمركبات وسيطة تدعى Enediol وتفاعلاتهما عكسية.



في هذا التفاعل وباستخدام الغلوكوز فإننا سنحصل على كمية أكبر من الفركتوز بالمقارنة مع كمية المانوز فالمخلوط المتوازن منه يحتوي على 70% غلوكوز وحوالي 27% فركتوز بينما يحتوي فقط على 3 إلى 4% مانوز.

أما القلويات القوية المركزة فتؤثر على السكريات وتنتج مركبات ذات وزن جزيئي أكبر وذات تركيب أكثر تعقيداً وتدعى هذه الظاهرة باسم البلمرة Polymerisation.

2-7-5- تأكسد السكريات الأحادية:

1- بالمؤكسدات الضعيفة: بما أن المجموعات الألدهيدية والكيتونية قادرة على التأكسد فإن الألدوزات والهكسوزات عبارة عن مركبات مرجعة، فهذه السكريات قادرة على إرجاع الأملاح المعدنية ويستفاد من هذه الخاصية في الكشف عن السكريات المختزلة. من الكواشف المستخدمة منذ زمن قديم كاشف فهلنغ Fehling's Reagent وحالياً يستخدم كاشف بندكت Benedict's Reagent وكلاهما يعتمد على مبدأ استخدام ملح لمعدن النحاس وهو مؤكسد

ضعيف ويحفظ بصورة ذائبة بوساطة طرطرات الصوديوم والبوتاسيوم (كاشف فهلنغ) أو سترات الصوديوم (كاشف بندكت) في وسط قلوي ومبدأ التفاعل هو الآتي:

$$2Cu^{2+} + \text{سكر مؤكسد} \rightarrow 2Cu^{+} + \text{سكر مرجع}$$

لون أزرق

وباعتبار أن وسط التفاعل قلوي

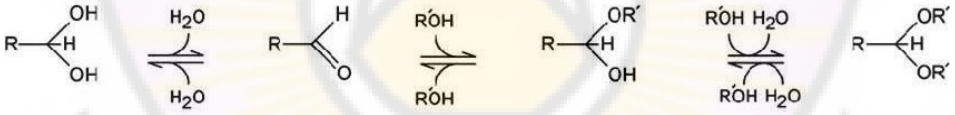
$$2Cu^{+} + OH^{-} \rightarrow 2Cu\,OH \xrightarrow{\Delta} Cu_2O\downarrow + H_2O$$

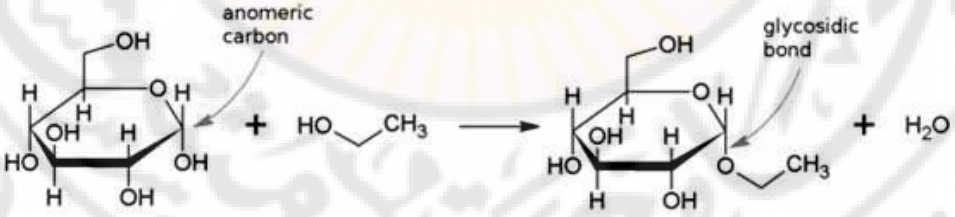
راسب أحمر قرميدي

2- بالمؤكسدات القوية: تتحول السكريات الألدهيدية بوجود المؤكسدات القوية مثل البروم إلى الأحماض العضوية المناظرة وتسمى أحماض ألدونيك، حيث تتأكسد مجموعة الألدهيد إلى مجموعة كربوكسيل. أما إذا استخدمنا مؤكسد أقوى مثل حمض النتريك المركز فإنه يؤكسد أيضاً المجموعة CH_2OH إلى مجموعة كربوكسيل ويعطي أحماض ثنائية الكربوكسيل مثل حمض السكاريك.

2-7-6- تكوين الغليكوزيدات:

يمكن لمركبات الهيمي اسيتال Hemiacetals أن تتفاعل مع جزيء من الكحول لتعطي مركب الاسيتال وجزيء ماء، وباعتبار أن السكريات الأحادية هي عبارة عن هيمي اسيتال على شكل حلقة فالاسيتال الناتج يسمى Glycoside والرابطة الموجودة بين المجموعة الألدهيدية والكحولية تدعى بالرابطة الغليكوزيدية (C-O-C) تربط السكريات الثنائية عادة بروابط من هذا النوع.





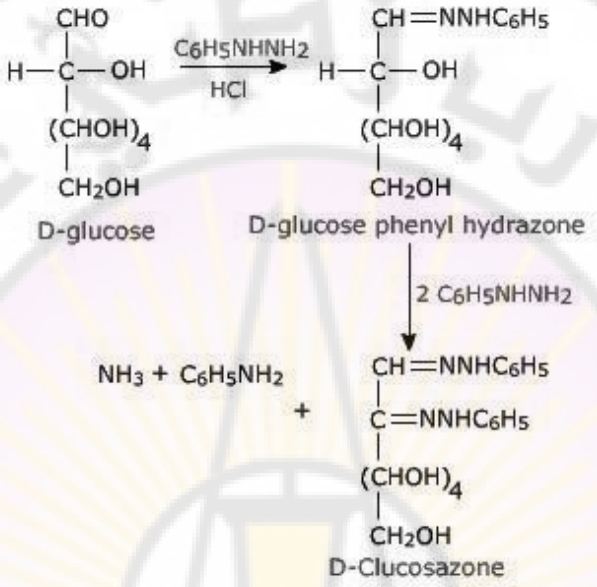
D- Glucose Methyl α – D- glucopyranoside

2-7-7- تكوين الأوسازونات:

لمجموعة الكربونيل في السكريات الألدهيدية أو الكيتونية القدرة على التفاعل مع الفينيل هيدرازين وتكوين مركب الهيدرازون، وبوجود زيادة من الفينيل هيدرازين تتأكسد المجموعة المجاورة أما الفينيل هيدرازين فيرجع إلى أنيلين وأمونيا. يتحد الهديرازين المؤكسد الناتج مع

جزيء آخر من الفينيل هيدرازين ليشكل الأوسازون وهو مركب بللوري، حيث تستخدم خواصه (مظهر البللورات ودرجة الانصهار) في معرفة وتحديد السكريات الأحادية.

إن ذرات الكربون التي تشارك في تكوين الأوسازون هي الأولى والثانية من السكر الأحادي، لذلك فإن أي سكرين الدهيدين يشكلان Epimer مثل الغلوكوز والمانوز يعطيان نفس الأوسازون. كما أن الألدوزات والكيتونات إذا كانت مماكبات بنائية تعطي نفس الأوسازون كما هو حال الغلوكوز والفركتوز.



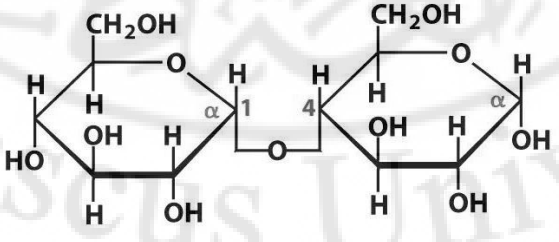
2-8- السكريات المركبة:

إن من أهم السكريات المركبة السكريات الثنائية وتليها أهمية السكريات الثلاثية

2-8-1-السكريات الثنائية Disaccharides:

والتي ينتج عن تحللها مائياً جزيئين من السكريات الأحادية ومنها المالتوز والسكروز واللاكتوز والسيللوبيروز والتريهالوز.

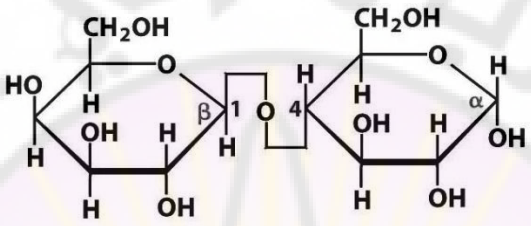
أ- المالتوز: هو ناتج وسطي لتحلل السكريات العديدة (نشاء، غليكوجين) مائياً أو أنزيمياً. ينتج سكر المالتوز من اتحاد جزيئين من D-غلوكوز بوساطة رابطة غليكوزيدية 1،4 من نوع α.



Maltose
(α-D-Glucopyranosyl-(1→ 4)-α-D-glucopyranose

عند تحضير محلول من المالتوز فإن وظيفة الهيمي أسيتال الحر يمكن أن تتواجد عند التوازن على شكل α و β وتعطي هذه الوظيفة للمالتوز قدرته الاختزالية. يوجد للمالتوز سكر شبيه به يدعى Isomaltose ولا يختلف عنه بنائياً إلا بالرابطة الغليكوزيدية حيث تكون من نوع (α −1.6).

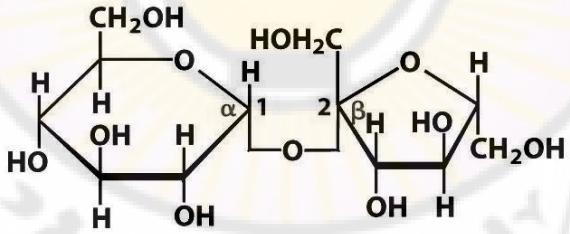
ب−اللاكتوز: يوجد سكر اللاكتوز في حليب الثدييات وينتج من اتحاد جزيء من D− غالاكتوز مع جزيء D− غلوكوز بوساطة رابطة غليكوزيدية 1،4 من النوع β وعند التوازن في محلول من اللاكتوز يمكن الحصول على مزيج من α و β لاكتوز، كما أنه سكر مختزل.



Lactose
(β-D-Galactopyranosyl-(1→ 4)- α-D-glucopyranose

ج− السكروز: سكر واسع الانتشار في الطبيعة حيث يوجد في أنسجة كثير من النباتات ولكنه يوجد بنسبة عالية في الشوندر السكري وقصب السكر. ينتج السكروز من اتحاد جزيء D− غلوكوز وجزيء D− فركتوز بوساطة رابطة غليكوزيدية من نوع (2−β و 1−α). يجعل هذا النوع من الروابط السكروز سكر غير مختزل لأن المجموعتين الألدهيدية والكيتونية قد دخلتا في تكوين الرابطة الغليكوزيدية. يحرف السكروز الضوء نحو اليمين حيث إن:

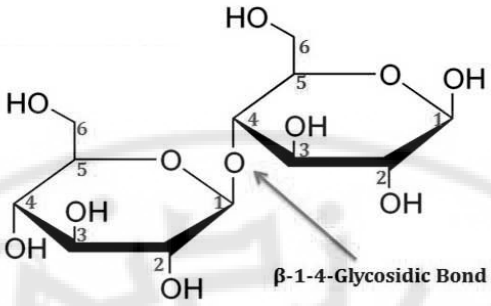
$$\alpha = +66.7^{o}$$



Sucrose
(α-D-Glucopyranosyl-(1→ 2)-β-D-fructofuranose

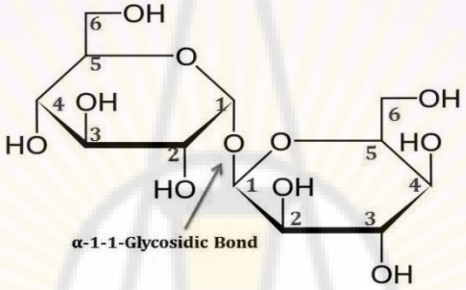
عند إجراء تحلل مائي أو أنزيمي للسكروز فإننا نحصل على خليط متساو من D(+)glucose (عند التوازن بوساطة التدوير المتبادل بين الشكلين α و β بيرانوز نحصل على $[\alpha]\ D=+52^{o}$ و D (-) fructose (عند التوازن [α] D= - 92]). إن قدرة تدوير الفركتوز للضوء المستقطب نحو اليسار أكبر من تدوير الغلوكوز له نحو اليمين، مما يجعل الخليط الناتج يحرف مستوى استقطاب الضوء إلى اليسار وذلك عكس المكون الأساسي للخليط (السكروز) لذلك يدعى السكر الناتج بالسكر المحول Inverted sugar.

د- السيللوبيوز: ينتج هذا السكر من تحلل السللوز كيميائياً أو أنزيمياً وهو مؤلف من جزئين من الغلوكوز مرتبطين برابطة غليكوزيدية من نوع 1.4- β وهو سكر مختزل.



Cellobiose

هـ-التريهالوز Trehalose: سكر ثنائي مكون من جزيئين من سكر D- جلوكوز مرتبطين مع بعضهما برابطة غليكوزيدية من النوع α 1-1، لذلك فسكر التريهالوز غير مرجع، ويوجد لدى بعض أنواع الحشرات وكذلك في الفطور Fungi والخمائر yeasts .



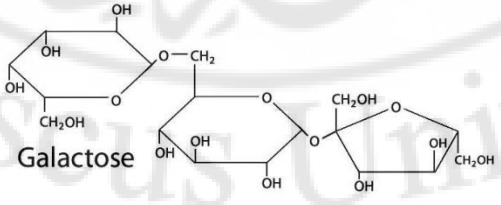
Trehalose

2-8-2- السكريات الثلاثية Trisaccharides :

وهي السكريات التي ينتج عن حلمهتها ثلاث وحدات من السكريات الأحادية ومن أهمها سكر الرافينور وسكر الجنيتانوز.

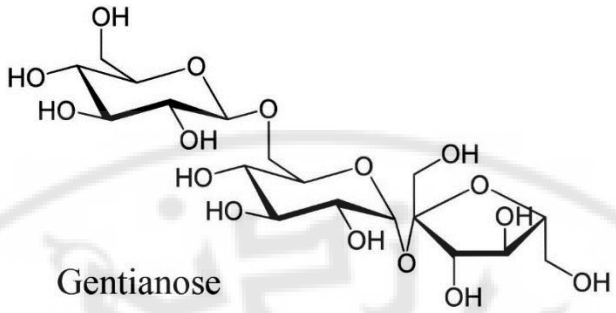
أ- سكر الرافينور Raffinose: يوجد في النباتات كالشوندر السكري وبذور القطن وفول الصويا ويتكون من جزيء غالاكتوز وغلوكوز وفركتوز.

كما يوجد في بذور البقوليات كالفول والفاصولياء والبازلاء، لا تستطيع الأنزيمات في الأمعاء حلمهة هذا السكر لذلك يؤدي ذلك إلى اضطرابات هضمية لدى الإنسان وخاصة عند تناول الفول والبقوليات الأخرى.



Raffinose

ب- سكر الجينتيانوز Gentianose: يتكون من وحدتي غلوكوز ووحدة فركتوز وهو سكر غير مرجع، يوجد في المملكة النباتية ولاسيما جذور الجنتيان Gentian.



Gentianose

(β- Glucose + α- glucose + β- fructose)

2-9- السكريات العديدة Polysaccharides:

توجد الكربوهيدرات في الطبيعة بعدة أشكال، أهمها بصورة سكريات عديدة، وقد تعطي هذه السكريات عند تحللها كيميائياً أنزيماً نوعاً واحداً من السكريات الأحادية أو أكثر. حيث ترتبط هذه السكريات الأحادية مع بعضها البعض لتشكل سلاسل، وقد تكون هذه السلاسل مستقيمة أو متفرعة. نورد في (الجدول 2-2) أهم السكريات العديدة تواجداً في الطبيعة

الجدول (2-2) أهم السكريات العديدة وتواجدها

السكر العديد	مصدره	دوره	نوع السكر الأحادي المكون له والرابطة
النشاء	النبات	تخزين الغذاء	D-غلوكوز، α(1←4 مع تفرعات 1←6)
السللوز	النباتات، الحشرات	نباتية	D- غلوكوز، β - (1←4)
غليكوجين	الحيوانات الراقية اللافقاريات	تخزين	D- غلوكوز، α- (1←4) مع تفرعات (1←6)
كيتين	الحشرات، الفطور	بنائية	N- أسيتيل، D-غلوكوز أمين β (1←4)
بكتين	النباتات	بنائية	حمض D- غالاكتويورنيك وأستره الميثيلي β (1←4)
اينولين	النباتات	تخزين	D- فركتوز، β (2 ←1)
حمض الهيالورونيك	الحيوانية الراقية واللافقاريات الحشرات	وظيفي	N- اسيتيل غلوكوزامين وحمض الغلوكويورنيك
الكوندروتين	الحيوانية الراقية	وظيفي	N-استيل غلوكوز أمين سلفات وحمض الغلوكويورنيك
الهيبارين	الحيوانية الراقية	وظيفي	سلفات حمض الايدورونيك وسلفات الغلوكوزامين

تنحصر الوظائف الرئيسية للسكريات العديدة في كونها إما بنائية، أي تدخل في تركيب الخلايا كما هو حال السللوز والكيتين، أو تخزينية حيث تعد مخزوناً غذائياً يمكن استخدامه عند الحاجة كمصدر للطاقة، كما يمكن أن تكون لها وظائف أخرى كحمض الهيالورونيك والكوندروتين والهيبارين.

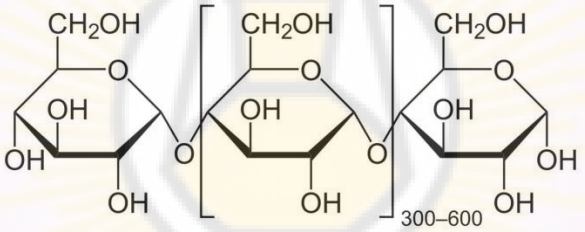
يمكن تقسيم السكريات إلى قسمين وهما السكريات العديدة المتجانسة Homopolysaccharides والسكريات العديدة غير المتجانسةHeteropolysaccharides.

2-9-1- السكريات العديدة المتجانسة Homoplysaccharides:

وهي التي تنتج نوعاً واحداً من السكريات الأحادية عند تحللها وتأخذ أمثلة عليها النشاء والغليكوجين والسللوز والكيتين.

أ-النشاء Starch: يعد النشاء من أهم الكربوهيدرات الموجودة في الطبيعة ويخزن في أجزاء النبات ويشكل أكثر من 50% من مجموع الكربوهيدرات التي يتناولها الإنسان، ويوجد بشكل حبيبات تختلف في حجمها وشكلها حسب نوع ومصدر النشاء النباتي. يتكون النشاء بشكل أساسي من مكونين وهما الاميلوز Amylose وتكون نسبته حوالي 25% وذلك حسب مصدره والأميلوبكين Amylopectin بنسبة 75% تقريباً ولكن لهذه النسب استثناءات، وكلا المكونين يتكونان من الغلوكوز ولكن يختلفان في التركيب.

الاميلوز عبارة عن سلاسل مستقيمة مؤلفة من جزيئات D-جلوكوز ترتبط مع بعضها البعض بوساطة رابطة غليكوزيدية α (1← 4)، وتتواجد في نهاية كل سلسلة مجموعة الدهيدية حرة. ويتراوح طول سلاسل اللاميلوز بين 200 و 6000 وحدة بنائية وأقصى وزن جزيئي له هو بحدود 400 ألف دالتون وذلك حسب مصدره البنائي. يستطيع الاميلوز امتصاص اليود ويشكل معه معقد ويعتقد أنه عائد لشكل الحلزوني لسلاسل الأميلوز.

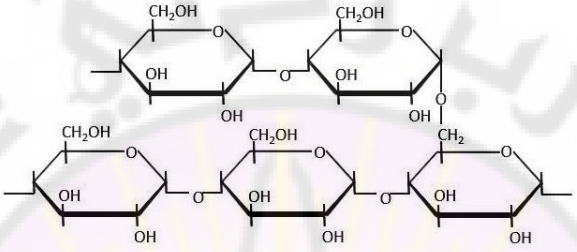


أما الأميلوبكتين فيتكون من سلاسل متفرعة من وحدات الغلوكوز المرتبطة مع بعضها بروابط α(1←4) لتكون السلاسل المستقيمة والتي يتفرع منها سلاسل برابطة من نوع α(1←6) ويكون طول الفرع بحدود 30 وحدة غلوكوز بينما يتكون الفرع التالي بعد 24 وحدة غلوكوز على السلسلة الرئيسية للاميلوبكتين ويصل وزنه الجزيئي حتى عدة ملايين دالتون. تشكل روابط التفرع α(1←6) فقط 6% من مجموع الروابط في الاميلوبكتين.

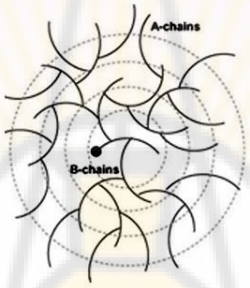
هناك مكون ثالث عرف مؤخراً وهو المادة الوسطية وتحمل صفات وسط بين الأميلوز الاميلوبكتين، حيث تثبت اليود بنسبة أعلى من الاميلوبكتين كما تحوي تفرعات α(1←6) أكثر من الاميلوز، وتتراوح نسبة المادة الوسطية بين 5 و7% وذلك حسب مصدر النشاء النباتي ودرجة نضجه.

يتحلل النشاء، بفعل الأنزيمات المحلله Analytic enzymes لذلك يقوم أنزيم ألفا أميليز α-amylase الموجود في اللعاب والبنكرياس بتحليل النشاء عشوائياً إلى سكر مالتوز

وغلوكوز ودكسترينات، بينما يقوم أنزيم بيتا أميليز β-amylase بمهاجمة سلاسل النشاء من النهاية غير المرجعة وينتج عن نشاطه سكر المالتوز فقط. إن مجموع نشاط الأنزيمين α و β أميلاز يكون وحدات من سكر الغلوكوز والدكسترينات، وباعتبار أن هذين الأنزيمين لا يهاجمان الرابطة ألفا (1←6) فلذلك لاكتمال تحلل الدكسترينات يقوم أنزيم يدعى α 1-6 غليكوزيداز تفرزه خلايا البشرة في الأمعاء الدقيقة بقطع هذه الروابط مما يجعل الأنزيمات الأخرى كالمالتاز قادرة على هدم هذه الدكستيرينات وتحولها إلى وحدات غلوكوز قابلة للامتصاص والانتقال عبر الدم.



نقطة تفرع α(1←6) في الأميلوبكتين أو في الغليكوجين

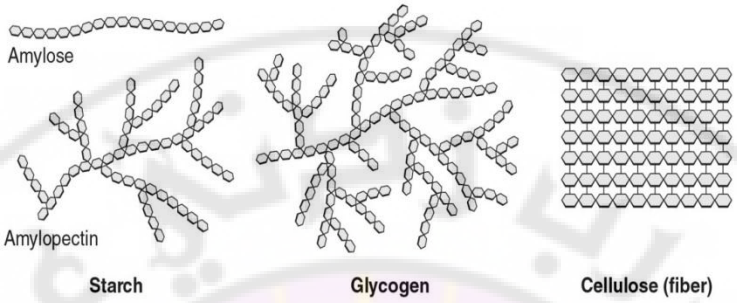


Glycogen

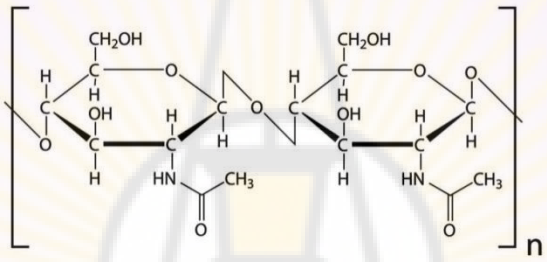
ب- الغليكوجين Glycogen: يوجد الغليكوجين في جسم الإنسان والحيوان، ويشكل مصدر للطاقة ويتركز تواجده في الكبد والعضلات، ينتج الغليكوجين من تكاثف جزيئات الغلوكوز بوساطة الرابطة الغليكوزيدية α(1←4) مع تفرعات α(1←6) وبذلك يكون له نفس تركيب الاميلوبكين ولكن الاختلاف الوحيد بينهما أن التفرعات تكون في الغليكوجين أكثر بمرتين من التفرعات في الاميلوبكين. يتحلل الغليكوجين بوساطة أنزيم الفوسفوريلاز وذلك عند الحاجة له من قبل الجسم وخاصة عند بذل مجهود أو أثناء الصيام كما يحول الزائد من الغلوكور إلى غليكوجين بوساطة أنزيم Glycogen Synthetase.

ج- السللوز Cellulose: يعد السيللوز أكثر السكريات العديدة انتشاراً في الطبيعة على الإطلاق. يتألف السيللوز من سلاسل مستقيمة من جزيئات الغلوكوز D أو وحدات متكررة من السيللوبيوز التي ترتبط مع بعضها البعض برابطة غليكوزيدية β(1←4)، يوجد في كل سلسلة مستقيمة 3000 جزيء غلوكوز على الأقل. تتوضع هذه السلاسل بجانب بعضها البعض لتشكل ليفات متبلورة بشكل جزئي وترتبط بين بعضها بروابط هيدروجينية تساعد على تقوية تماسكها. مما يجعلها غير قابلة للذوبان بالماء.

لا يمكن للغلوكوز المكون للسيللوز أن يستخدم كمصدر طاقة للإنسان ووحيدات المعدة لأنها تفتقر إلى الأنزيم الضروري لقطع الرابطة الغليكوزيدية β(1←4)، تعد المجترات فقط قادرة على الاستفادة من السللوز كمصدر طاقة لاحتواء جهازها الهضمي على الأنزيم الضروري لتحطيم السيللوز.

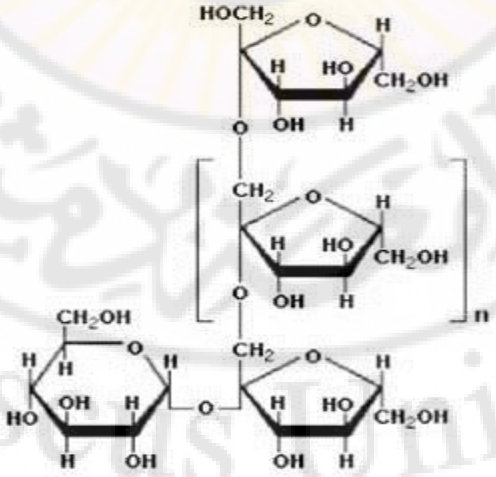


د-الكيتين Chitin: سكر عديد يدخل في تركيبه وحدات من N– أسيتيل D– غلوكوزامين ترتبط مع بعضها البعض بوساطة رابطة نوع β(1←4). يدخل الكيتين في تكوين أجنحة الحشرات وأصداف القشريات مثل سرطان البحر والروبيان.



Chitin

هـ– الاينولين Inulin: يعد الاينولين من السكريات العديدة المخزنة للطاقة وجزيئاته مكونة من ارتباط سكر D فركتورفيرانور براوبط β(1 ←2) وبمعدل ثلاثين وحدة من الفركتوز وسلاسله غير متفرعة، يوجد الاينولين في درنات الأضاليا وفي الأرضي شوكي .

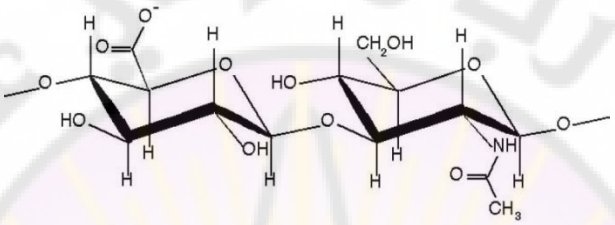


Inulin

2-9-2- السكريات العديدة غير المتجانسة Heteropolysaccharides:

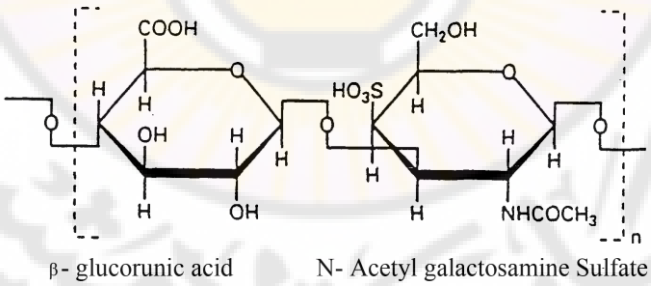
هي السكريات التي ينتج عن تحللها أكثر من نوع واحد من السكريات الأحادية ومنها حمض الهيالويورنيك والكوندروتين والهيبارين بالإضافة إلى البكتين ومشتقاته والصموغ.

آ- حمض الهيالورونيك Hyaluronic acid: يتكون من وحدات من N- استيل غلوكوزامين. N-acetyl –D glucosamine إلى حمض الغلوكويورونيك D-glucuronic acid ويرتبطان برابطة β(1←3) وهو مركب يعمل على تزييت المفاصل كما يوجد في الحبل السري والجلد والخلط الزجاجي بالعين، بالإضافة إلى أنه يوجد في سموم الأفاعي والنحل.



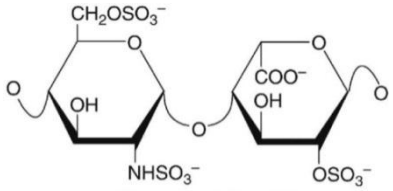
حمض الهيالورونيك

ب- الكوندروتين Chondroitin: وهو سكر عديد شبيه بحمض الهيالورونيك الاختلاف الوحيد بينهما أن يحتوي سكر أميني من نوع D-galactosamine بدلاً من D-glucosamine بالإضافة إلى احتواء السكر على مجموعة So_3، وله أنواع عديدة منها ما يوجد في قرنية العين والغضاريف ومنها ما يوجد في الأبهر والجلد وصمامات القلب وكما يوجد في الحبل السري، وتختلف عن بعضها البعض بعدد ومواقع ارتباط مجموعة الكبريتات على السكر.

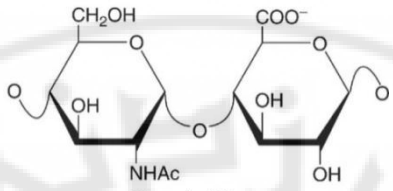


Chondroitin

ج-الهيبارين Heparin: يعد الهيبارين من الكربوهيدرات العديدة الحاوية على الكبريتات ويعد من المواد المانعة لتخثر الدم Anticoagulant وذلك عن طريق منع تنشيط عوامل التخثر بارتباطه مع هذه العوامل، حيث يعمل على تثبيط الثرومبين ويوجد في الكبد والطحال والرئتين والدم، ويعمل الهيبارين كعامل مساعد في زيادة فعالية هذه الأنزيمات.

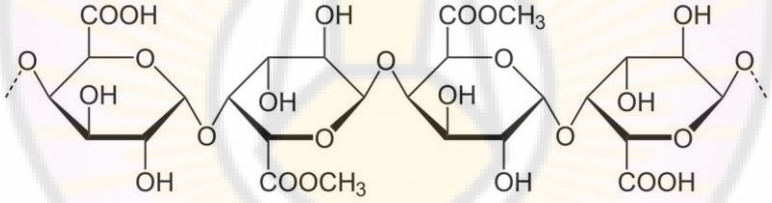


Heparan sulphate (a)



Heparin (b)

د- البكتين ومشتقاته Pectin and its derivatives: يعد البكتين ومشتقاته جزءاً من الألياف الغذائية والتي تشمل البكتين وحمض البكتيك والبروتوبكتين، وهي مشتقات غير متجانسة لها صفات غروية تكون الهلام وتوجد في النباتات ولاسيما قشور الفاكهة والحمضيات، ويستخدم في صناعة المربيات والجلي لأنها تزيد لزوجة الأغذية وتحسن قوامها. يحتوي البكتين الخام على بعض السكريات (غالاكتوز أرابينوز) إضافة إلى مكونه الأساسي، أما البكتين النقي فهو متجانس حاوٍ على حمض D- غالاكتورونيك المؤستر جزئياً بالميثانول ويمكن أن تصل درجة أسترته حتى 75%. يختلف البكتين عن بعضه في طول السلسلة ودرجة الأسترة، وحمض البكتيك هو الذي تكون مجموعات الكربوكسيل فيه حرة غير مؤسترة.



(عديد من 1، 4 – D حمض الغالاكتويورنيك)

الوحدة الأساسية المكونة للبكتين

هـ- الصموغ gums: تنتجها بعض الأشجار وهي إفرازات تتكون من مزيج من السكريات العديدة وتحتوي على حمض الغلوكورونيك والغالاكتوز والمانوز والارابينوز، وأكثر الصموغ انتشاراً الصمغ العربي، تستخدم الصموغ كمادة لاصقة وتدخل في صناعة المربيات.

2-10- الألياف الغذائية Dietary fiber:

تعرف الألياف الغذائية بأنها مجموعة المكونات النباتية القابلة للاستهلاك البشري ولا تستطيع أنزيمات الجهاز الهضمي تفكيكها إلى مكوناتها الأساسية وتصنف حسب قابلية ذوبانها في الماء إلى ألياف ذوابة في الماء وتشمل الهيميسللوز والبكتين والصموغ، وألياف غير ذوابة في الماء كالسللوز واللغنين، ويتكون الهيميسللوز من عدة سكريات مثل الكزيليلوز والغالاكتوز الفيكوز والغلوكوز في سلاسل طويلة، أما اللغنين فهو مادة غير كربوهيدراتية وتدخل في تركيب النسيج الخشبية.

توجد الأـــلياف في جدر الخلايا مثل السللوز والهيميسللوز والبكتين والليغين، بينما توجد أنواع أخرى من الألياف كالصموغ في أماكن أخرى من الخلية، تكثر الألياف في الخضار (الخس، القرنبيط، الفاصولياء، البازلاء) والفواكه (التفاح، الحمضيات، الأجاص، الجبس) وفي نخالة الحبوب (القمح، الشعير، الشوفان).

2-10-1-خواص الألياف الغذائية Properties of Dietary fibers:

للألياف الغذائية خواص هامة يمكن تلخيصها بما يلي:

1- تملك الألياف قدرة كبيرة على الارتباط بالماء ما يجعل الفضلات في الأمعاء لينة وقليلة الكثافة وكبيرة الحجم مما يسهل حركتها ويمنع الإمساك ويعد الهيميسللوز والسللوز الأكثر قدرة على الارتباط بالماء.

2- للألياف قدرة على ربط الكوليسترول أحماض وأملاح الصفراء Bile salts وبذلك تساعد على تخليص الجسم من جزء لا بأس به من هذه المواد عن طريق الفضلات وبذلك تقلل فرص إعادة امتصاص أملاح وأحماض الصفراء مرة ثانية.

3- تلعب الألياف دوراً مهماً في خفض وتنظيم سكر الدم لأنها تعيق عملية هضم وامتصاص الكربوهيدرات وبالتالي تقلل من فرص حصول الجسم على الغلوكوز، كما تسرع من عملية مرور الكربوهيدرات في الأمعاء وبالتالي التقليل من عملية امتصاصها.

4- تقلل الألياف عملية امتصاص العناصر الثقيلة والسامة وتساعد في التخلص منها عن طريق الفضلات.

5- تعد الألياف مفيدة في إنقاص الوزن لأنها تقلل من سرعة امتصاص الكربوهيدرات ومنع تراكمها في الجسم كما تعطي الشعور بالشبع لفترة طويلة مما يقلل من كثرة تناول الطعام.

6- للألياف دور في التقليل من احتمال الإصابة بسرطان القولون Colon Cancer من خلال ارتباطها بالمواد السامة ومنع تأثيرها الضار، كما توقف نشاط الكائنات الحية في القولون المنتجة للمواد المسرطنة.

الفصل الثالث

كيمياء الليبيدات Chemistry of lipids

على عكس الكربوهيدرات التي تتكون من مجموعة من المركبات المتجانسة نسبياً، تتألف الليبيدات من مجموعة من المركبات غير المتجانسة (دهون، زيوت، شموع، ....) حيث إنها مختلفة في التركيب ولكنها تشترك في خاصية قابلتها للذوبان في المذيبات العضوية مثل الايثير والكلوروفورم والبنزن وعدم قابليتها للذوبان في الماء تقريباً.

تؤدي الليبيدات العديد من الأدوار الحيوية المهمة والتي يمكن تلخيصها بما يلي:

- تختزن اللبيدات في الأنسجة حيث تعد مستودعاً للطاقة يمكن استخدمه بعد نفاذ الكربوهيدرات المخزنة بصورة غليكوجين في الجسم، وتعطي الليبيدات طاقة عالية عن أكسدتها حيوياً.
- تعد الليبيدات إحدى المكونات الواقية للجدر الخلوية في العديد من البكتريا والنبات وهياكل الحشرات الخارجية.
- تدخل كمكونات أساسية في أغشية الخلية كالنواة والميتاكوندريا.
- ترتبط الليبيدات مع البروتينات مكونة البروتينات الليبيدية Lipoproteins والتي تساهم في نقل الليبيدات في الدم.
- يعمل بعض الليبيدات كمنشط أنزيمي مثل أنزيم Glucose-6-phosphatase وكذلك يحتاج بعضها إلى الفوسفاتيديل كولين للتنشيط.
- تعمل كعازل حراري لدى الإنسان والحيوان من خلال تكوين طبقة عازلة تحت الجلد مما يمنع التغير السريع لحرارة الجسم.
- تدخل الليبيدات في تركيب الأنسجة العصبية بنسبة عالية وتعمل كعازل كهربائي يسمح بنقل الأوامر العصبية عبر الأعصاب.
- تدخل في تركيب بعض الفيتامينات والهرمونات وأحماض الصفراء.
- تحيط بأعضاء الجسم المهمة كالكليتين والقلب وتعمل كوسادة واقية لهذه الأعضاء من الصدمات الخارجية.
- مزوّد الجسم بالأحماض الدهنية الأساسية Essential fatty acids الضرورية لصحة الجسم.
- تزيد من استساغة الأغذية وتعطي الشعور بالشبع بسبب بطء امتصاصها .

3-1-تصنيف الليبيدات:

يمكن تصنيف اللبيدات بعدة طرق، فمثلاً بالاعتماد على خاصية التصبن يمكن تصنيفها إلى ليبيدات قابلة للتصبن Saponifiable (غليسيريدات ثلاثية) أو غير قابلة للتصبن Non-Saponifiable (ستيرويدات) كما يمكن تصنيف الليبيدات حسب الدور الفيزيولوجي الذي تلعبه إلى:

- ليبيدات تخزينية: حيث توجد هذه الليبيدات بشكل كريات صغيرة في الخلية مثل الغليسيريدات الثلاثية.
- ليبيدات بنائية: وهي تدخل في تركيب الجدار الخلوي مثل الفوسفوليبيدات حيث توجد في كافة الجُذر الخلوية والغالاكتو ليبيدات والسلفوليبيدات التي تتواجد في الصفيحة الوسطى في الجسيمات الصانعة الخضراء.
- ليبيدات التغليف: حيث تغطي سطوح الأوراق مثل الشموع

ولكن التصنيف البذي سنعتمده في هذا البحث فهو تصنيف كيميائي بحت حيث تقسم الليبيدات إلى ثلاثة أقسام وهي الليبيدات البسيطة Simple lipids والليبيدات المركبة (المقترنة) Conjugated lipids والليبيدات المشتقة Derived lipids

3-1-1- الليبيدات البسيطة Simple lipids وتشمل:

أ-الدهون المتعادلة Neutral lipids

ب-الشموع Waxes

3-1-2- الليبيدات المركبة (المقترنة) Conjugated lipids وتتضمن :

أ-الليبيدات المفسفرة Phospholipids

1- حمض الفوسفاتيديك Phosphatidic acid

2- اللسيثينات Lecithins أو الفوسفاتيديل كولين Phophatidyl choline

3- السيفالينات فوسفاتيديل ايثانول أمين Phophatidyl ethanolamine وفوسفاتيديل سيرين Phophatidyl serine.

4- فوسفاتيديل اينوزيتول Phophatidyl inositol

5- الفوسفاتيديل غليسيرول Phophatidyl glycerol

6- السفنغوليبيدات Sphingolipids مثل السفنغو مايلين Sphingomyelin.

7- بلاسمالوجيين Plasmalogen.

8- كارديولبينات Cardiolipin.

ب-الليبيدات السكرية Glycolipids:

1- السيريبروسيد Cerebrosides

2- الغانغليوسيد Gangliosides

ج-الليبيدات الكبريتية Sulfolipids

د-البروتينات الدهنية Lipoproteins.

تصنيف البروتينات الدهنية وفقاً للكثافة إلى:

1- الكيلومايكرونات Chylomicrons.

2- البروتينات الدهنية منخفضة الكثافة جداًVLDL Very low density lipoproteins.

3- البروتينات الدهنية منخفضة الكثافة (LDL) Low density lipoproteins

4- البروتينات الدهنية متوسطة الكثافة (IDL) Intermediate density ;lipoproteins

5- البروتينات عالية الكثافة (HDL) High density lipoproteins

3-1-3-الليبيدات المشتقة Derived lipids

1- أحماض دهنية (مشبعة وغير مشبعة) (saturated & unsaturated) Fatty acids

2- ستيرويدات Steroid

3- سيترولات Sterols

4- التربينات Terpenes

كما يضاف إليها الالدهيدات الدهنية Fatty aldehydes والأجسام الكيتونية Ketone bodies

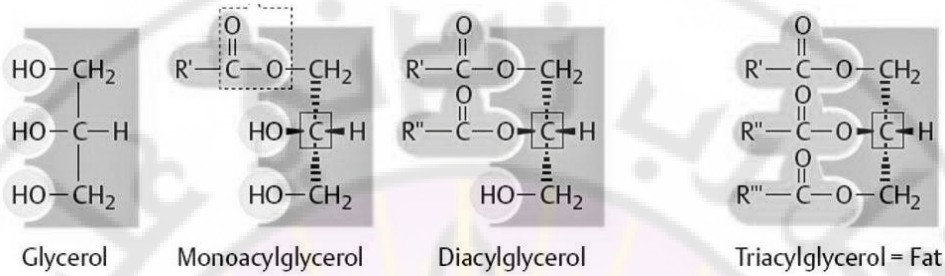
3-2-الليبيدات البسيطة:

وهي إسترات Esters لأحماض دهنية مع الكحول وتقسم بدورها إلى لليبيدات المتعادلة Neutral lipids والشموع waxes.

3-2-1- الليبيدات المتعادلة:

وتتكون من إسترات للأحماض الدهنية مع كحول ثلاثي هو الغليسيرول Glycerol إذ ينتج ما يسمى بالغلسيريدات Glycerides. وتتقسم هذه الغليسيريدات استناداً إلى عدد الأحماض الدهنية المتفاعلة مع الغليسيرول إلى غلسيريدات أحادية Monoglycerides (أو ما تسمى غليسيرول أحادي الأسيل Monoacyl glycerol) وغليسيريدات ثنائية Diglycerides (أو

تسمى غليسيرول ثنائي الأسيل Diacyl glycerol) وغليسيريدات ثلاثية Triglycerides (أو تسمى جليسيرول ثلاثي الأسيل Triacyl glycerol) (الشكل 3−1)



الشكل (3−1) الغليسيرول Glycerol، غليسيرول أحادي الأسيل Monoacyl glycerol، غليسيرول ثنائي الأسيل Diacyl glycerol، غليسيرول ثلاثي الأسيل Triacyl glycerol (الدهون Fat)

وقد تكون هذه الغلسيريدات متجانسة إذا ارتبطت ثلاثة جزئيات من الحمض الدهني نفسه بالغليسيرول إذ يطلق عليها بالغلسيريدات البسيطة Simple glycerides ومثال عليها عندما ترتبط ثلاثة جزيئات من حمض الستياريك Stearic acid بالغليسيرول فينتج ما يسمى ثلاثي الستيارين Tristearin، أما إذا ارتبط الغليسيرول بأكثر من نوع واحد من الأحماض الدهنية فيسمى بالغلسيريدات المختلطة Mixed glycerides ومثال على ذلك عندما يرتبط جزيء من حمض البالميتيك Palmitic acid وجزيئين من حمض الستياريك لتكوين غلسيريد ثلاثي يسمى بالميتو ثنائي الستيارين Palmitodistearin أو يسمى بيتا – بالميتوكيل ألفا – ألفا ثنائي الستياريك β-Palmitoyl α-α-distearin والغلسيريدات الثلاثية الموجودة في الطبيعة هي من النوع المختلط ولا تحتوي على نوع واحد ولكن على أنواع مختلفة من الحموض الدهنية. والغلسيريدات الثلاثية منتشرة في دهن جسم الإنسان ولاسيما الأنسجة الدهنية Adipose tissues وتحت الجلد Subcutaneous وحول الأعضاء مثل القلب والكليتين.

إن جزئية الغلسيريدات الثلاثية ليس لها شحنة كهربائية ولذا سميت بالدهون المتعادلة والتي تكون إما مادة صلبة أو سائلة في درجة حرارة الغرفة، وإن صلابة وسيولة الدهون تتوقف على طبيعة الأحماض الدهنية المكونة للدهن. ومعظم الزيوت النباتية تحوي أحماضاً دهنية غير مشبعة مثل حمض الأوليك Oleic acid وبهذا تكون هذه الزيوت سائلة في درجة حرارة الغرفة (25 درجة مئوية) أما الغلسيريدات الثلاثية التي تحتوي على أحماض دهنية مشبعة مثل حمض البالمتيك فتكون صلبة أو شبه صلبة في درجة حرارة الغرفة.

تتحلل الغلسيريدات الثلاثية إنزيمياً بوساطة إنزيم الليباز Lipase وينجم عنها مزيج من ثلاث جزيئات لأحماض دهنية والغليسيرول.

3-2-1-1- الأحماض الدهنية Fatty acids:

الأحماض الدهنية مركبات عضوية مكونة من سلسلة هيدروكربونية مختلفة الطول تنتهي بمجموعة كربوكسيلية (-COOH) وعادة تتكون من عدد زوجي من ذرات الكربون تتراوح بين 12-30 ذرة كربون وتكون صلبة في درجة حرارة الغرفة وذات ملمس دهني وغير ذوابة في الماء. توجد الأحماض الدهنية في جميع الكائنات الحية وبأشكال مختلفة وهي:

أ-الأحماض الدهنية المشبعة Saturated وهي التي لا تحتوي على روابط زوجية مثل حمض البالمتيك $CH_3(CH_2)_{14}COOH$.

ب- الأحماض الدهنية غير المشبعة Unsaturated وتحتوي على روابط زوجية مثل حمض الأوليك

$$CH_3\ (CH_2)_7CH{=}CH\ (CH_2)_7COOH$$

ج-الأحماض الدهنية الهيدروكسيلية مثل حمض السيريبرونيك Cerebronic acid.

د-أحماض دهنية ذات سلاسل كربونية متفرعة Branched مثل حمض ايزوفاليريك Isovaleric acid.

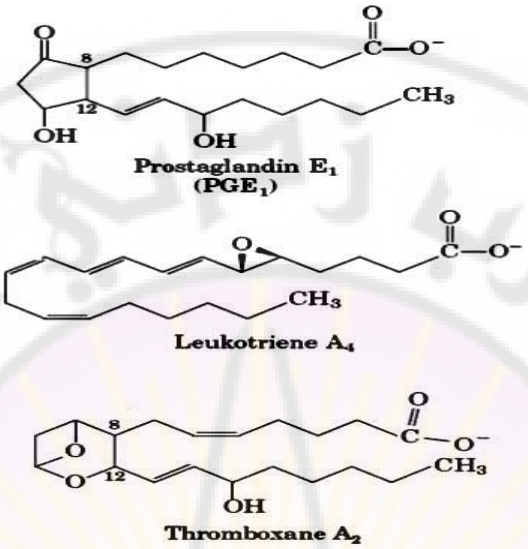
هـ-الحموض الدهنية الحلقية Cyclic مثل حمض كولموجريك Chaulmogric acid

يمكن تقسيم الأحماض الدهنية غير المشبعة إلى ثلاث أقسام على عدد الروابط الزوجية وهي:

1- أحادية الرابطة الزوجية Monounsaturated (تسمى أيضاً مونواينويك Monoenoic)

2- متعددة الرابطة الزوجية Polyunsaturated التي تحتوي على اثنين أو أكثر من الروابط الزوجية تسمى أيضاً بولينويك Polyenoic.

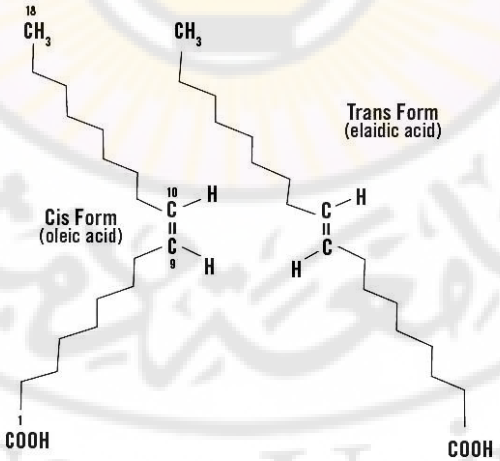
3- الايكوزانويدات Eicosanoids هذه المركبات تشتق من eicosa وتعني حاوية على 20 ذرة كربون) وعلى سبيل المثال بروستانويد Prostanoids التي تشتق منها البروستاغيلانديات Praostanaglandins (PGs) (مثل Praostanaglandin E_1) وليكوتوينات (مثل Leukotriene) وثرومبوكسان Thromboxane (TXs) (Thromboxane A_4) (الشكل 3-2).



الشكل (3–2): بعض مشتقات الأيكوزانويد

تكون السلسلة الطويلة للأحماض الدهنية المشبعة على شكل متعرج (زكزاك) Zig Zag عند درجة حرارة الغرفة ولكن عند ارتفاع درجة الحرارة تستدير بعض الروابط Rotate مسببة تكوين سلسلة قصيرة الأمر الذي يفسر نقص سماكة الأغشية مع ارتفاع درجة الحرارة.

تعطي أغلب الأحماض الدهنية المشبعة بالاعتماد على استدارة المجاميع أو الذرات حول محور الرابطة الزوجية مماكب من نوع cis مثل حمض الأوليك الشكل (3–3).



الشكل (3–3) الأحماض الدهنية الأولييك Oleic acid والايلاديك Eliadic acid (كل منهما يحتويان على 18 ذرة كربون ولهما رابطة زوجية في موقع 9 (1: C18 Δ^9) ولكن يختلفان في التوزيع الفراغي (تماكب).

يدخل عاملان مهمان لتحديد درجة صلابة الدهن أو الزيت، وهذان العاملان هما طول السلسلة الهيدروكربونية المكون منها الحمض الدهني وعددها الروابط الزوجية التي يحويها الحمض الدهني (درجة التشبع Degree of saturation). فكلما زاد طول السلسلة الهيدروكربونية (خاصة أكثر من 12 ذرة كربون) ازدادت صلابة الدهن في درجة حرارة الغرفة. بينما يؤدي ازدياد عدد الروابط الزوجية في السلسلة الهيدروكربونية في الأحماض الدهنية إلى جعل الدهن سائلاً وبالتالي يعرف بالزيت Oil وهو سائل في درجة حرارة الغرفة (والجدول 3–3) يبين فيه الأحماض الدهنية الشائعة الأكثر وجوداً في الدهون والزيوت الحيوانية والنباتية.

الجدول (3–3) بعض الأحماض الدهنية المشبعة وغير المشبعة ودرجات انصهارها

Carbon skeleton	Structure*	Systematic name	Common name (*denvation*)	*Melting point* (^{0}C)
12:0	$CH_3(CH_2)_{10}COOH$	n-Dodecanoic acid	Lauric acid	44.2
14:0	$CH_3(CH_2)_{12}COOH$	n-tetradecanoic acid	Myristic acid	53.9
16:0	$CH_3(CH_2)_{14}COOH$	n-Hexadecanoic acid	Palmitic acid	63.1
18:0	$CH_3(CH_2)_{16}COOH$	n-Octadecanoic acid	Stearic acid	69.6
20:0	$CH_3(CH_2)_{18}COOH$	n-Eicosanoic acid	Arachidic acid	76.5
24:0	$CH_3(CH_2)_{22}COOH$	n-Tetracosanoic acid	Lignoceric acid	86.0
16:1(Δ^9)	$CH_3(CH_2)_5CH=CH(CH_2)_7COOH$	*cis*-9-Hexadecenoic acid	Palmitoleic acid	1-0.5
18:1(Δ^9)	$CH_3(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_7COOH$	*cis*-9-Octadecenoic acid	Oleic acid	13.4
18:2($\Delta^{9.12}$)	$CH_3(CH_2)_4CH=CHCH(CH_2)_7COOH$	*cis,cis*-9,12-Octadecenoic acid	Linoleic acid	1-5
18:3($\Delta^{9.12.15}$)	$CH_3CH_2CH=CHCH_2CH= CHCH_2CH=(CH_2)_7COOH$	*cis,cis,cic*-9,12,15-Octadecenoic acid	α-Linolenic acid	-11
20:4($\Delta^{5.8.11.14}$)	$CH_3(CH_2)_4CH=CHCH_2CH=CHCH_2CH = CHCH_2CH=(CH_2)_3COOH$	*cis,cis,cis,cis*-5,8,11,14-Lcosatetraenoic acid	Arachidonic acid	-49.5

1–تسمية الأحماض الدهنية:

تسمى الأحماض الدهنية استناداً إلى عدد ذرات الكربون في السلسلة الهيدروكربونية مع إضافة أينويك (anoic) للأحماض الدهنية المشبعة على سبيل المثال حمض أوكتانويك Octanoic acid. أو إضافة إينوييك (enoic-) في نهاية الكلمة كالأحماض الدهنية غير المشبعة (الحاوية على روابط زوجية) على سبيل المثال أوكتاديكينويك Octadecenoic acid (Oleic acid) .

$CH_3\ (CH_2)_7CH{=}CH\ (CH_2)_7COOH$

إن حمض الأوليك يكتب مختصراً على شكل Cis , Δ^9 C18:1

وكذلك حمض اللينوليك Cis , cis $\Delta^{9.12}$ C18:2

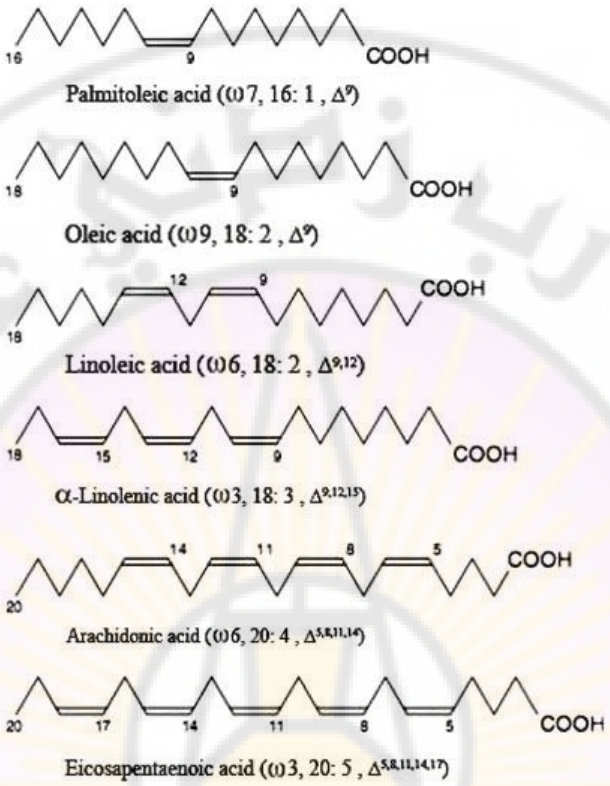
وحمض اللينولنيك Cis , cis, cis $\Delta^{9.12.15}$ C18:3

إن القاعدة العامة لتسمية الأحماض الدهنية هي كتابة عدد ذرات الكربون ثم عدد الروابط المزدوجة وأخيرا بيان موقع (Δ) الروابط المزدوجة ونوعها ابتداءً من ذرة الكربون الحاملة للكربوكسيل. وعليه فحمض البالمتيك يمكن كتابته بشكل C16:0 كونه يحتوي 16 ذرة كربون مشبعة بدون روابط زوجية (0) ويكتب حمض الأوليك الحاوي على 18 ذرة كربون ورابطة زوجية في الموقع 9 بـــ C18:1(9) ويكتب حمض الأراكيدونيك Arachidonic C20:4(5,8,11,14) (الجدول 3–3)

في بعض الأحيان يستخدم الرمز Δ للدلالة على مواقع الروابط المزدوجة على سبيل المثال Δ^9 تدل على كون الرابطة المزدوجة بين ذرة الكربون 9 و 10 للحمض الدهني (الشكل 3–10) ويمكن إضافة cis أو trans قبل الرمز Δ لتحديد نوعية الرابطة الزوجية، كذلك في بعض الأحيان يمكن استخدام الرمز أوميغا ω للدلالة على أن الرابطة الزوجية من النهاية للسلسلة الهيدروكربونية في الأحماض الدهنية فعلى سبيل المثال إن $\omega 9$ للدلالة على أن الرابطة الزوجية واقعة بين ذرتي كربون 9 و 10 والذي يمكن الترميز له $\omega 9$ C18:1 وكذلك n-9,18:1 (إذ يدل الرمز n على موقع الرابطة الزوجية والذي يكافئ $\omega 9$ أيضاً) والموضح كالتالي:

$$\underset{n}{\omega}\ \underset{17}{CH_3}\underset{}{CH_2}\underset{}{CH_2}\underset{}{CH_2}\underset{}{CH_2}\underset{}{CH_2}\underset{}{CH_2}\underset{}{CH_2}\underset{10}{CH} = \underset{9}{CH}(CH_2)_7\underset{18}{COOH}$$

يوضح الشكل (3–4) بعض الأحماض الدهنية غير المشبعة وتسميتها باستخدام نظام الأوميغا.

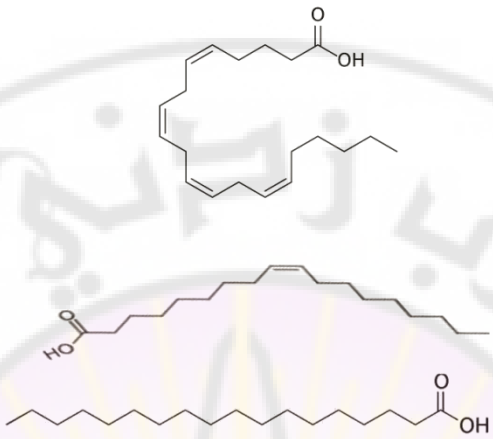


الشكل (3-4) تراكيب بعض الأحماض الدهنية غير المشبعة وتسميتها بالاعتماد على النهاية المثيلية للسلسلة الهيدروكربونية للحمض الدهني.

2-الخواص الفيزيائية للأحماض الدهنية:

يعد ذوبان الأحماض الدهنية في الماء محدوداً بسبب طبيعتها الهيدروكربونية. فتذوب الأحماض الدهنية ذات الوزن الجزيئي المنخفض في الماء بسهولة مثل حمض الاسيتيك وحمض البيوتريك بينما لا تذوب الأحماض الدهنية ذات السلاسل الكربونية الطويلة والتي تضم أكثر من ست ذرات كربون، لكن هذه الأحماض تذوب في كثير من المذيبات غير القطبية.

بما أن ذرات الكربون في الحمض الدهني المشبع توجد بصورة سلسلة متعرجة حيث ترتبط كل ذرة كربون مع الذرة التي تليها برابطة تشكل زاوية 109.5 درجة يحدث وجود رابطة زوجية من النوع Cis انحراف في السلسلة الكربونية مما يؤثر على خواص الحمض الدهني الفيزيائية (الشكل 3-5). يسبب قصر السلسلة الكربونية انخفاض في درجة انصهار الحمض الدهني كما تؤدي زيادة عدد الروابط غير المشبعة إلى نقس النتيجة (الجدول 3-3).



الشكل رقم (3–5)

تأثير الروابط المضاعفة على استقامة السلاسل الكربونية في الأحماض الدهنية.

3–2–1–2– الخواص الكيميائية للأحماض الدهنية:

أ–تفاعلات المجموعة الكربوكسيلية: تكون الأحماض الدهنية نتيجة تفاعل مجموعة الكربوكسيل فيها مع أيونات المعادن القوية أملاحاً يطلق عليها الصابون ويمكن توضيح ذلك بالمعادلة:

$$R - COOH + Na\,OH \rightarrow R - COONa + H_2O$$

صابون حمض دهني

إن الصابون ما هو إلا مخلوط من أملاح الصوديوم لعديد من الأحماض الدهنية كالسيتاريك والأوليك، وصابون الصوديوم والبوتاسيوم ذواب في الماء أما صابون الكالسيوم والمغنيزيوم لا يذوب بالماء وهذا يفسر لنا عدم فاعلية الصابون باستخدام مياه حاوية على أملاح الكالسيوم والمغنيزيوم بسبب ترسب هذه الأملاح عندما تحل محل الصوديوم.

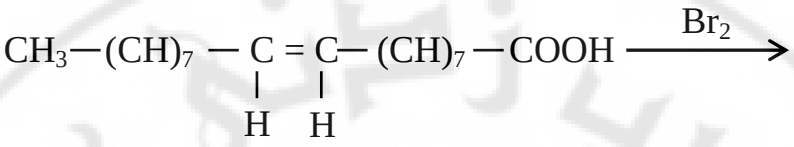
كما يمكن للمجموعة الكربوكسيلية أن تتحدد مع مجموعة كحولية فينتج لدينا أستر كما هو الحال في الغليسيريدات والشموع.

ب–تفاعلات السلسلة الكربونية: وتقتصر هذه التفاعلات على الروابط الزوجية الموجودة في الأحماض الدهنية غير المشبعة. ومن هذه التفاعلات تفاعل الهدرجة Hydrogenation حيث يتم بفعلها إشباع الروابط غير المشبعة بالهيدروجين بوجود عوامل مساعدة مثل النيكل أو البلاتين:

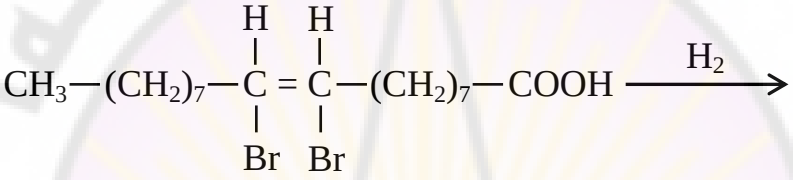
$$CH_3 - (CH_2)_7 - \underset{H}{C} = \underset{H}{C} - (CH_2)_7 - COOH \xrightarrow{H_2} CH_3\,(CH_2)_3\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}(CH_2)_3\text{-}COOH$$

حمض السيتاريك

كما يمكن أن يتفاعل الحمض الدهني غير المشبع مع الهالوجينات (بروم، كلور، يود) وتسمى هذه العملية بالهلجنة:



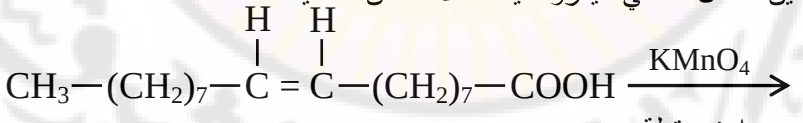
حمض الأوليك)



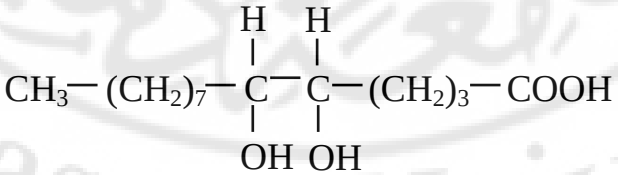
9–10– داي بورموسيتاريك

يجري أثناء عمليات تصنيع المواد الزيتية وإنتاج الدهون والسمن الصناعي عمليات تماكب بوجود بعض المساعدات فتتحول الأحماض الدهنية غير المشبعة من النوع Cis الواسع الانتشار إلى النوع Trans الموجود بشكل طبيعي ويكون الحمض الدهني الناتج ذو درجة انصهار أعلى من النوع Cis (الشكل 3–10)

كما تتأكسد الأحماض الدهنية غير المشبعة بوساطة المؤكسدات كبرمنغنات البوتاسيوم وبوجود تسخين معتدل لتعطي هيدروكسيدات الأحماض الدهنية:

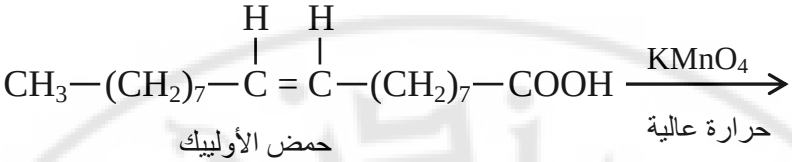


حمض الأوليك



9–10– داي هديروكسي سيتاريك

أما بالتسخين الشديد وبوجود العامل المؤكسد نفسه فإن الرابطة الزوجية تتحطم ويتكون لدينا حمضين كربوكسيلين كما هو موضوح بالمثال التالي:



$$CH_3(CH_2)_7\ COOH + HOOC - (CH_2)_7 - COOH$$

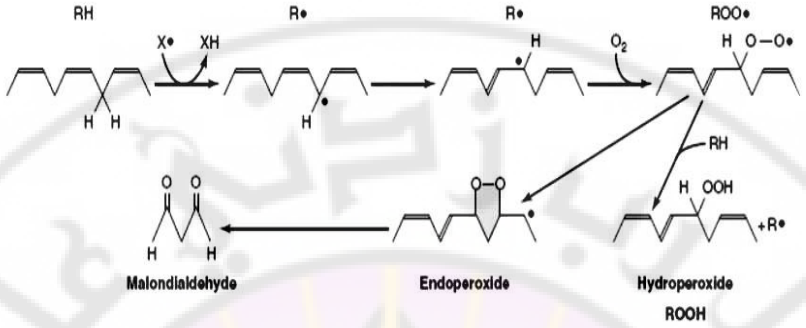
حمض أيزلايك حمض بيلاركونيك

2-تزنخ أو أكسدة الليبيدات Rancidity or oxidation of lipids:

إن الزيوت والدهون النقية مواد عديمة اللون والطعم والرائحة أما غير النقية فهي ذات روائح فتتغير صفاتها الفيزيائية والكيميائية نتيجة تعرض الدهون لمؤثرات مختلفة ويصحبها ظهور طعم ورائحة زنخة مميزة نتيجة لتكوين مركبات ألدهيدية وكذلك كيتونية بسبب حدوث أنواع من التزنخ، فالأول يسمى بالتزنخ المائي الذي يحدث بوساطة الأنزيمات والثاني يطلق عليه بالتزنخ الكيتوني بسبب وجود بعض الفطريات المسببة للأكسدة من نوع بيتا، ويعود تزنخ بالأكسدة إلى وجود أوكسجين الهواء ويرافق عملية التزنخ زيادة كثافة ولزوجة الزيت أو الدهن فضلاً عن حدوث نكهة غير مرغوبة فيها وتغير الطعم.

إن المصدر الرئيسي للتزنخ في الأغذية هو الأكسدة الذاتية للدهون Auto-oxidation عند وجود الأوكسجين.

تتم عملية تحول قسم من الليبيدات إلى بيروكسيد من خلال مهاجمة جذر حر لمواقع الرابطة الزوجية ثم إدخال الأوكسجين لتكوين بيروكسيد يمكن أن تتحول إلى بيروكسيد ويعاني الأخير من عملية تحلل لتكون نواتج مختلفة منها المالون ثنائي الألدهيد Malondiadehyde (الشكل 3-6) إذ يمكن لهذه التفاعلات أن تحدث في داخل الجسم وبكميات كبيرة عند زيادة المواد المؤكسدة وبأنواعها المختلفة بالمقارنة مع مضادات الأكسدة Antioxidants أي عند حدوث الجهد التأكسدي Oxidative stress.



الشكل (3-6) عملية تحول اللبيدات إلى بيروكسيدات والتي تنتج عدة مثل المالون ثنائي الألديهيد Malondiadehyde التي لها تأثير على الجسم عند زيادتها بكميات كبيرة.

قد يعقب عملية تغير الطعم تأثر لون المادة الغذائية نتيجة لتسارع التفاعلات البنية (تفاعلات ميلارد Malarid reactions) كما وتتأثر القيمة الغذائية و تنتج أحياناً بعض المواد السامة ويتأثر أيضاً القوام Texture نتيجة لحدوث بعض التفاعلات الجانبية بين البروتينات ونواتج أكسدة الدهن، إن أكثر الدهون تعرضاً للأكسدة الذاتية الأحماض غير المشبعة، خاصة تلك الأحماض التي تحتوي على أكثر من رابطة زوجية واحدة (الجدول 3-3)

وهناك عدة عوامل تؤثر على بدء عملية الأكسدة وزيادتها وهي:

- درجة الحرارة (تزداد سرعة الأكسدة الدهنية بزيادتها)
- والضوء (الأشعة فوق البنفسجية أحد العوامل في بدء الأكسدة).
- الأوكسجين (بزيادة ضغط الأوكسجين تزداد سرعة الأكسدة الذاتية للدهون).
- الأيونات المعدنية (تساهم في عملية البدء وذلك بتنشيط الجزيئات الدهنية أو بتنشيط جزيئة الأوكسجين)
- إنزيمات خاصة (مثل أنزيم الليبوأوكسيديز Lipo-oxidase الموجود في العديد من الأغذية ويساعد في أكسدة الأحماض الدهنية المشبعة طويلة السلسلة.
- الرطوبة: إذ يزداد التزنخ (الأكسدة) بشكل أسرع بانخفاض الرطوبة ويعود سبب ذلك إلى تشكل طبقات أحادية Monolayer من الماء حول الطور الدهني تعمل على حمايته بحيث تمنع انتقال الأوكسجين أو العوامل المعدنية إلى الطور الدهني.

تحصل أكسدة الدهون أيضاً داخل الجسم (in vivo) بعملية تحول الدهون إلى بيروكسيدات Lipid peroxidation على الأحماض الدهنية الحاوية على الأقل ثلاث روابط زوجية والتي تؤدي إلى تحطم الأغشية المختلفة لخلايا الأنسجة المختلفة (لاحتوائها على الدهون في

تركيبها) وبالتالي حدوث العديد من الأمراض والمشاكل الصحية المختلفة كحدوث أمراض السرطان أو الأمراض الالتهابية فضلاً عن حدوث تصلب الشرايين (التي تدخل أكسدة الدهون كأحد الأسباب الثانوية لحدوث المرض) وكذلك ظهور علامات الشيخوخة.

3-المواد المضادة لأكسدة الدهون:

يمكن تعريف مضادات الأكسدة Antioxidants بأنها أية مادة يؤدي وجودها بتراكيز قليلة مقارنة مع المواد التفاعل المؤكسدة Oxidizable substrate إلى إزالة أو تثبيط عملية الأكسدة لمادة التفاعل. إن مصطلح مواد الأساس المؤكسدة يشمل على الأغلب جميع محتويات الخلية الحية مثل البروتينات والدهون والكربوهيدرات والأحماض النووية، وقد اهتمت الدراسات الحديثة بدور مضادات الأكسدة في الوقاية من الجهد التأكسدي Oxidative stress (الذي هو عبارة عن زيادة الأكسدة في الجسم عن مضادات الأكسدة) الذي يحدث في الحالات غير الطبيعية وإن الجسم يمتلك عدة آليات دفاعية للسيطرة على إنتاج الجذور الحرة أو لتحديد مخاطرها أو إعادة بناء (ترميم Repair) تلف الأنسجة.

فمضادات الأكسدة تؤخر الأكسدة للدهون (أو حتى للمركبات الأخرى كالأحماض النووية) من خلال تأخير عملية بدء التفاعل أو منع تكاثر الجذور الحرة أو تكوينها بتفاعلها معها، إذ تستخدم العديد من المواد المانعة للتأكسد في الأغذية مثل Butylated hydroxyanisol (BHA) و Butylated hydroxyl toluene (BHT) وفيتامين E و C وبيتا – كاروتين β-carotene

4-هدرجة الزيوت والدهون:

تتحول الزيوت والدهون إلى مركبات مشبعة وذلك باستعمال الهيدروجين وبوجود عامل مساعد مثل النيكل أو البلاتين أو البالاديوم وفي درجة حرارة 150-190 درجة مئوية يحول الزيت من الحالة السائلة إلى مواد صلبة مثل حمض الينوليك وذلك وفق المعادلة الكيميائية التالية:



ونتيجة للهدرجة تزداد قابلية الزيوت للحفظ وتمنع الأكسدة (التزنخ) إضافة إلى التغيرات في بعض الخواص الطبيعية والكيميائية على عكس الأحماض الدهنية غير المشبعة التي تزداد فيها حالة الأكسدة.

إن الدهون المهدرجة أو المهدرجة جزئياً (وتسمى أيضاً بالدهون المتحولة) لها مضار من مثل:

1- تخفيضها لمستوى HDL وزيادة مستوى LDL.

2- تخفيض كثافة الحليب الذي تنتجه الأم مما له تأثير شيء على تغذية الرضيع.

3- تخفيض مستوى التوستوستيرون في الذكور وزيادة عدد الحيوانات المنوية غير الطبيعية.

4- تخفيض من استجابة مستقبلات خلايا الدم الحمراء مع الأنسولين.

5- وتقييد عمل الأنزيمات المرتبطة بالأغشية إذ تعمل على تغييرات في كثافة الأغشية.

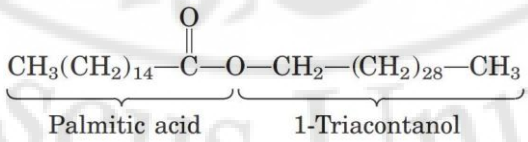
5-الأحماض الدهنية الأساسية Essential fatty acids

تعني الأحماض الدهنية الأساسية عدم استطاعة جسم الإنسان بنائها من أحماض دهنية أخرى أو من أي مادة أخرى داخل الجسم وبهذا يجب توافرها عن طريق الغذاء لتلبية احتياجات الجسم منها. ومن هذه الأحماض الدهنية غير المشبعة مثل حمض اللينوليك Linoleic acid وحمض اللينولينك Linolenic acid وحمض الاراكيدونيك Arachidonic acid.

ولكن أثبتت العديد من البحوث قابلية بناء كل من حمض اللينولينك وحمض الأراكيدونيك في الجسم من حمض اللينوليك إذا كانت كمياته كافية لاحتياجات الجسم وبهذا يعد حمض اللينوليك الحمض الأساسي والضروري في هذه المجموعة والذي يوجد بكميات كبيرة في زيت الذرة وزيت فول الصويا. أما الأحماض الدهنية اللينولينك والأراكيدونيك تعد في هذه الحالة شبه أساسية Semi essential لأنه عند توفر حمض اللينوليك يمكن استخدامه لبنائها.

3-2-2- الشموع:

تعرف الشموع بأنها أسترات لأحماض طويلة السلسلة الكربونية والتي قد يصل محتواها إلى 40 ذرة كربون مع كحولات طويلة السلسلة أيضاً و تدخل في تركيب الشموع النباتية والحشرية. يدخل في تركيب الشموع بالإضافة إلى هذه الاسترات، كحولات أحادية وثنائية الهيدروكسيل وكذلك أسترات بسيطة ومواد هيدروكربونية مشبعة. يعد بالميتات الميريستيل مثالاً لهذه الاسترات فيدخل في تركيب شمع العسل (شكل 3-2).



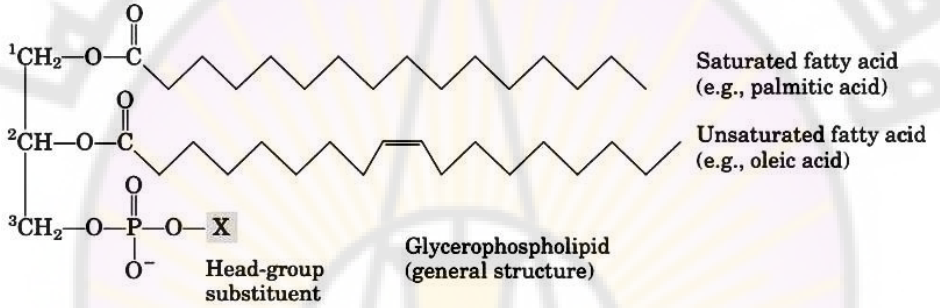
الشكل (3-2): شمع العسل

3-3-الليبيدات المركبة (المقترنة) Complex (Conjugated) lipids

وتتكون هذه الدهون من استرات لأحماض دهنية مع كحولات ومواد أخرى غير دهنية وتشمل:

3-3-1- الليبيدات المفسفرة (الفوسفوليبيدات) Phospholipids:

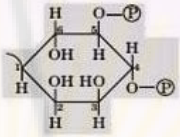
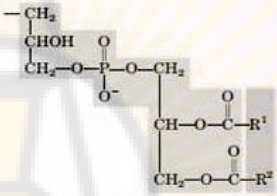
تتكون اللبيدات من استرات يحل فيها جزيء من حمض الفوسفوريك محل جزيء من الأحماض الدهنية ثم يحدث ارتباط قاعدة نيتروجينية غالباً فتدخل في تركيب الأغشية وتركيب البروتين (الشكل 3-7)



الشكل (3-7) الشكل العام لليبيدات المفسفرة (الفوسفوليبيدات)

إن الشكل (3-7) يعد شكلاً عاماً يمكن أن يبنى من خلاله أنواع الفوسفوليبيدات وكما يلاحظ في الجدول (3-1).

الجدول (3–1) أهم أنواع الفوسيفوليبيدات

Name of glycerophospholipid	Name of X	Formula of X	Net charge (at pH 7)
Phosphatidic acid	—	—H	−1
Phosphatidylethanolamine	Ethanolamine	$-CH_2-CH_2-\overset{+}{N}H_3$	0
Phosphatidylcholine	Choline	$-CH_2-CH_2-\overset{+}{N}(CH_3)_3$	0
Phosphatidylserine	Serine	$-CH_2-\underset{COO^-}{CH}-\overset{+}{N}H_3$	−1
Phosphatidylglycerol	Glycerol	$-CH_2-\underset{OH}{CH}-CH_2-OH$	−1
Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate	*myo*-Inositol 4,5-bisphosphate		−4
Cardiolipin	Phosphatidyl-glycerol		−2

وسنقوم باستعراض أهم الليبيدات المفسفرة (الفوسفوليبيدات):

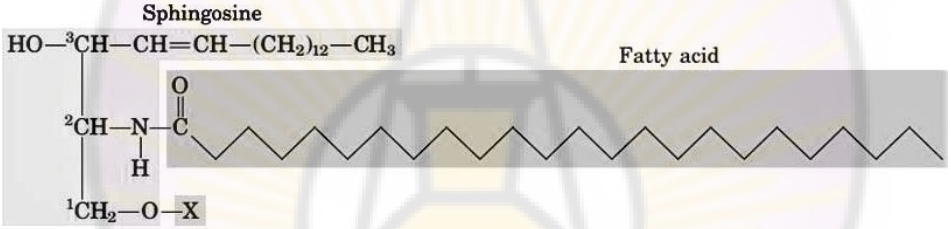
حمض الفوسفاتيديك: Phosphatidic acid: يتكون هذا الحمض من غليسيرول وحمض فوسفوريك وجزيئين من الأحماض الدهنية وعادة ما يكون أحدهما مشبعاً والآخر غير مشبع.

2–اللسيثينات Lecithins: أو يطلق عليها فوسفاتيديل كولين Phosphatidyl choline وهو من أكثر الدهون المفسفرة توافراً في أنسجة الحيوان ويتكون من غليسيرول وحمض الفوسفوريك وأحماض دهنية وقاعدة نيتروجينية هي الكولين Choline ولهذا النوع من الدهون المفسفرة دور مهم في استقلاب الدهون في الكبد وهو أحد مركبات الجهاز العصبي ويوجد في صفار البيض بنسبة عالية.

3–السيفالينات Cephalins: وهي مجموعة مركبات تابعة إلى مركبات فوسفاتيديل ايثانول أمين Phosphatidyl ethanolamine وفوسفاتيديل سيرين Phosphatidyl serine وتختلف عن اللسيثينات في عدم قابليتها للذوبان في الكحول إلا أنها تذوب في الأيثر والكلوروفورم. تتكون هذه المركبات من غليسيرول وحمض الفوسفوريك وأحماض دهنية وايثانول أمين أو سيرين وهي مركبات موجودة في الدماغ والجهاز العصبي والكبد.

4-فوسفاتيديل إنوسيتول Phophatidyl inositol: توجد هذه الأنواع من الدهون في معظم الأنسجة الحيوانية وتكون أكثر توافراً في الأنسجة الدماغية والعصبية. إن التحلل الأنزيمي أو الحمضي لهذا الفوسفوليبيد ينتج عنه غليسيرول وحمض الفوسفوريك وأحماضاً دهنية اضافة الى الكحول الحلقي إينوزيتول.

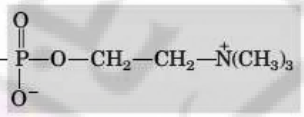
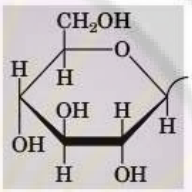
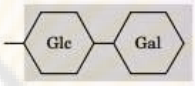
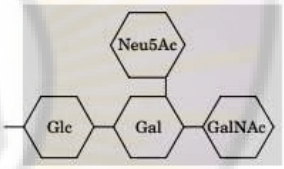
5-السفنغوليبيدات Sphingolipids: ومن الأمثلة على هذه المركبات: السفنغومايلين Sphingomyelin إذ تتكون من قاعدة نيتروجينية هي السفينغوزين Sphingosine (وهي عبارة عن كحول أميني ذي سلسلة هيدروكربونية غير مشبعة وحمض دهني واحد فضلاً عن حمض الفوسفوريك) والأحماض الدهنية المشبعة التي يمكن أن ترتبط هي حمض البالمتيك أو الستياريك (الشكل 3-4) أما الأحماض الدهنية غير المشبعة فيمكن أن ترتبط أيضاً بحمض الأوليك



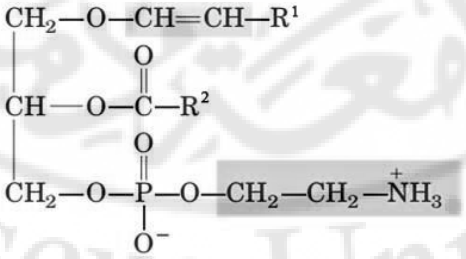
الشكل (3-8) الشكل العام للسفنغوليبيدات

إذ أن الرمز X في الشكل (3-8) يمكن التعويض عنه بعدة مركبات لاشتقاق مركبات أخرى وكما في الجدول (3-2)

الجدول (3–2). أنواع السفنغولبيدات والموضح شكلها العام في الشكل (3–4)

Name of sphingolipid	Name of X	Formula of X
Ceramide	—	—H
Sphingomyelin	Phosphocholine	
Neutral glycolipids Glucosylcerebroside	Glucose	
Lactosylceramide (a globoside)	Di-, tri-, or tetrasaccharide	
Ganglioside GM2	Complex oligosaccharide	

6–بلازمالوجين Plasmalogen: يتكون هذا المركب من غليسيرول وحمض الفوسفوريك ويستبدل الحمض الدهني في الموقع رقم –1 بمجموعة أيثر غير مشبع طويل السلسلة فضلاً عن القاعدة النتروجينية الكولين أو الايثانول أمين (الشكل 3–9). ويوجد هذا النوع من الدهون المفسغرة في المخ والعضلات والقلب.



A plasmalogen

الشكل (3–9): البلازمالوجين

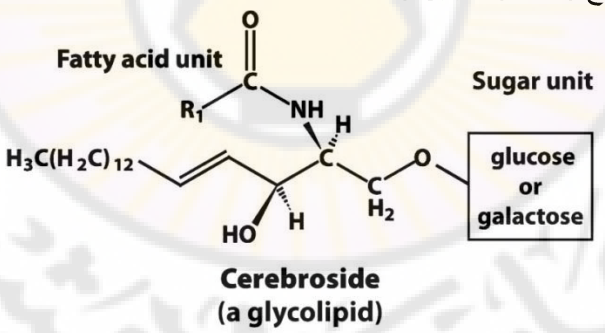
7-كارديولبينات Cardiolipinins: (غليسيرول ثنائي فوسفاتيديل Diphosphatidyl glycerol) وهو من الدهون المفسفرة ناتج من جزيئين من الغليسيرول فوسفولبيد (الجدول 3-1) وعرفت بالدهون القلبية Cardiolipins لكونها عزلت من عضلة القلب أولاً.

ومن الأصناف الثانوية Subgroups الأخرى للدهون المفسفرة الفوسفاتيديل غليسيرول Phosphatidylglycerol (الجدول 3-1) ويعد من الفوسفوغليسيريدات المهمة بيولوجياً ويتكون من جزيء واحد من حمض الفوسفاتيديك وجزيء من غليسيرول ويوجد في المملكة النباتية.

3-3-2-الليبيدات السكرية Glycolipids:

وهي مركبات تحتوي على كربوهيدرات وأحماض دهنية ولا تحتوي على حمض الفوسيفوريك ومن الأمثلة عليها:

1-السيريبروسيدات Cerebrosides: وهي ليبيدات تحتوي على كربوهيدرات عادة ما تكون الغالاكتوز الغلوكوز وأحماض دهنية ذات وزن جزيئي عال وسفنغوزين ومعظم الأحماض الدهنية المكونة لها هي حمض اللغنوسيريك Lignoceric acid أو حمض البهينيك Behenic acid أو حمض البالمتيك (الشكل 3-10) وتوجد هذه المركبات في الجهاز العصبي في الدماغ والكبد والكليتين والطحال.

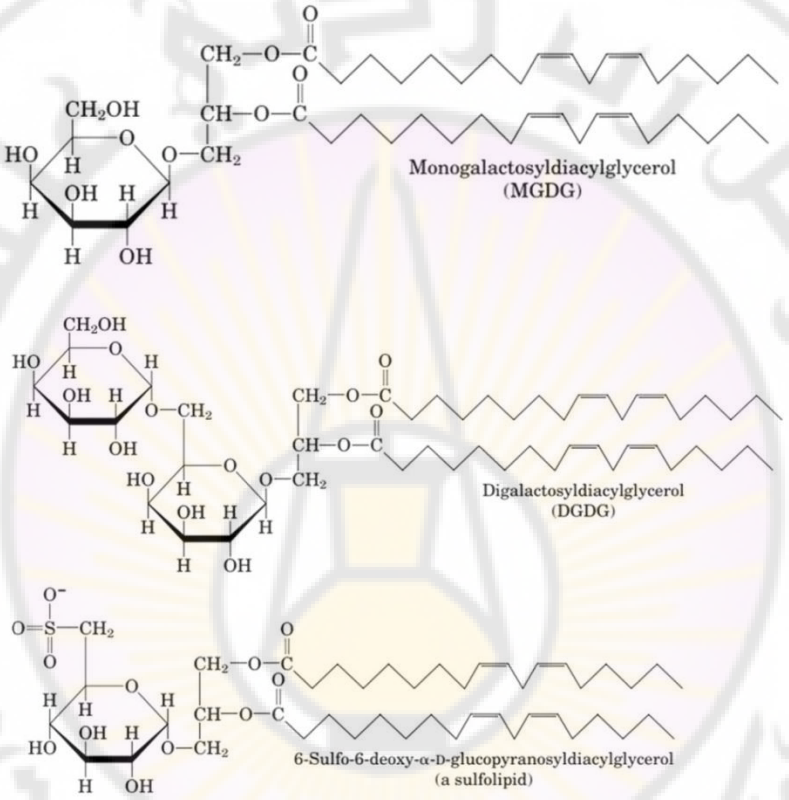


الشكل (3-10) : السيروبروسايد

2-الغانغليوسايد Gangliosides: وهي دهون تحوي كربوهيدرات (الغالاكتوز عادة) وحمض دهني طويل السلسلة وحمض النيورامنيك Neuraminic acid والسفنغوزين وتكون مصاحبة للسيريبروسيد (الجدول 3-2) إذ توجد في الأنسجة العصبية وكريات الدم الحمر. ويعتقد أنها تشارك في نقل النبضات العصبية عبر التشابك العصبي.

3-3-3- الليبيدات الكبريتية Sulfolipids:

وهي مركبات شبيه بالسيريبروسيد ما عدا وجود حمض الكبريتيك وتحتوي أيضاً على السفنغوزين والغالاكتوز وحمض السيروبرونيك cerebronic acid (الشكل 3-11)



الشكل (3-11) الدهون الكبريتية Sulfolipid

3-3-4 البروتينات الدهنية Lipoproteins :

يتم نقل الدهون في الدم على شكل معقدات بارتباطها مع بروتينات ناقلة وتدعى هذه المعقدات بالبروتينات الدهنية وتكون على شكل مذيلات كاذبة Pseudo micelles وتكون المجاميع المستقطبة لهذه البروتينات هي الدهون المفسفرة والكوليستيرول الحر، وتترتب هذه المجاميع بشكل يسمح للجزء المستقطب (Polar) بالوجود على السطح، في حين تحتوي هذه البروتينات الدهنية في داخلها على ثلاثي الغليسيرايد وإسترات الكوليستيرول غير القابلة للذوبان في الماء وتحتوي البروتينات الدهنية على جزء بروتيني يدعى الأبوبروتين (البروتين المنزوع) Apo protein.

تم تصنيف البروتينات الدهنية إلى أصناف مختلفة باستخدام تقنيات مختلفة كاستخدام تقنية الترحيل الكهربائي Electrophoresis أو استخدام جهاز الطرد المركزي فائق السرعة Ultracentrifuge لتصنيفها استناداً إلى كثافتها ومحتواها من البروتينات والدهون (الشكل 3-11) وهذه الأصناف هي:

1-الكيلومايكرونات Chylomicrons: وهي أكبر الجزيئات (قطرها يتراوح بين 180-500 نانوميتر الحاوية على ثلاثي الغليسيرايد (80-99%) ومصدرها الجسم Exogenous بعد عملية الهضم وهي أقل كثافة (أقل من 0.94 غم/سم^3) وبذلك تحتوي على نسبة قليلة جداً من البروتين. تعمل على نقل الغليسيريدات الثلاثية والكوليستيرول من الأمعاء إلى الأنسجة.

2-البروتينات الدهنية منخفضة الكثافة جداً Very low density lipoproteins (VLDL): وهي جزيئات متوسطة الحجم وتحتوي على غلسيريدات ثلاثية بشكل أساسي إذ تنقل كميات كبيرة من الغلسيريدات الثلاثية نحو 60-80% ومصدرها داخلي Endogenous وتتكون في الكبد من الدهون الداخلية وتنقل الدهون إلى الخلايا والأنسجة الدهنية ويمكن حساب كميتها في المصل من خلال استخدام المعادلة الآتية:

$$\text{VLDL} - \text{Cholesterol} = \frac{Triglceride}{5} \text{ mg/dl}$$

استخدم الرقم خمسة لكون تركيز VLDL في المصل هو خمس تركيز الغلسيريدات الثلاثية.

3-البروتينات الدهنية متوسطة الكثافة(IDL)Intermediate density lipoproteins: تتكون هذه المركبات أثناء تحول جزيئات البروتين الدهني منخفضة الكثافة جداً (VLDL) إلى البروتين الدهني منخفضة الكثافة (LDL) وتحوي على نحو 30% كوليسترول، إذ تختفي بسرعة من جهاز الدوران في الأشخاص الطبيعيين وتكون هناك كميات قليلة جداً في أجسامهم.

4-البروتينات الدهنية منخفضة الكثافة Low density lipoproteins (LDL): هي بروتينات غنية بالكوليسترول إذ تحتوي تقريباً 45-50% منه وبهذا فإنها تكون تقريباً ثلثي الكوليسترول الموجود في الدم، وتنتج من البروتينات الدهنية متوسطة الكثافة وذلك بإزالة المزيد من ثلاثي الغلسيريدات والأيبوبروتين. وتتكون في الكبد وتنقل الكوليسترول من الكبد إلى الخلايا والأنسجة ولهذا فإن لها دوراً في تكوين أمراض تصلب الشرايين Atherosclerosis وتطورها أي إنها تزيد من فرص الإصابة به ويمكن حساب قيمة LDL في المصل من خلال استخدام المعادلة الآتية:

LDL-Cholesterol = Total Cholesterol – (HDL – Cholesterol + VLDL – Cholesterol)

إذ قيمة الكوليسترول الكلي في المصل هو حاصل جمع:

Total Cholesterol = LDL – Cholesterol + HDL – Cholesterol + VLDL – Cholesterol

تشارك الدهون البروتينية LDL , VLDL , IDL جميعها في عملية نقل الغلسيريدات الثلاثية والكوليسترول المتكون داخل الجسم في الكبد إلى الأنسجة المختلفة.

5-البروتينات الدهنية عالية الكثافة High density lipoproteins (HDL): هي أصغر جزيئات البروتينات الدهنية والأكثر كثافة باحتوائها على نسبة عالية من البروتين وتحتوي على كميات متكافئة من الدهون المفسفرة والكوليستيرول ولكن محتواها من الغليسيريدات الثلاثية قليل جداً. وتتكون في الكبد وتنقل الكوليسترول والدهون من الخلايا والأنسجة إلى الكبد إذ يتم تقويضها وبالتالي فهي من البروتينات الدهنية المفيدة من ناحية تقليل فرص الإصابة بأمراض تصلب الشرايين.

هناك علاقة طردية بين تركيز LDL بالدم وأمراض القلب وعلاقة عكسية بين تركيز HDL وأمراض القلب. وإن النسبة بين LDL إلى HDL تسمى بعامل الخطورة Atherogenic index:

$$\text{Atherogenic index} = \frac{LDL}{HDL}$$

هذه النسبة تعطي مؤشراً لحدوث الأمراض القلبية من عدمها فإذا زادت النسبة عن 5 فهذا مؤشر لحدوث المرض (أي زيادة LDL) والحالة غير طبيعية أما إذا قلت النسبة عن 3 (أي زيادة HDL) فمعنى ذلك مؤشر على عدم حدوث المرض وتعد الحالة طبيعية.

3-4-الليبيدات المشتقة Derived lipids:

الليبيدات المشتقة عبارة عن مركبات مشتقة من المجاميع السابقة الذكر بعملية التحلل المائي Hydrolysis وتشمل أحماضاً دهنية مشبعة وغير مشبعة وكوليسترول وستيرويدات Steroids والكحولات فضلاً عن الغليسيرول والستيرولات Sterols، وكذلك ألدهيدات دهنية Fatty aldehydes وأجسام كيتونية Ketone bodies والكاروتينويدات Carotenoids.

3-4-1- الستيرويدات Steroids:

الستيرويدات هي مركبات مشتقة من النواة الأساسية المسماة بيرهيدرو سايكلوبنتانو فينانثرين Per hydro cyclopentano phenanthrene وهي عبارة عن مجموعة حلقات هيدروكربونية (الشكل 3-13). وتوجد بشكل حر أو متحد بالأحماض الدهنية على شكل استرات وتشمل مركبات مختلفة (الشكل 3-14) يمكن تصنيفها إلى:

أ-الستيرولات Sterols (مثل الكوليستيرول والأرغوستيرول).

ب–أحماض الصفراء (مثل أحماض الغلايكوكوليك Glycocholic).

ج–الهرمونات الجنسية الذكرية (مثل التوستوستيرون)

د–الهرمونات الجنسية الأنثوية (مثل البروجستيرون).

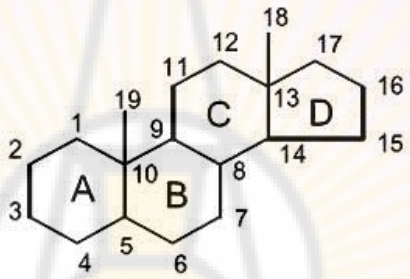
هـ–فيتامين D.

و–السابونين Saponin

ز–الغلايكوزيدات القلبية (مثل دواء ديجيتوكسجين Digitoxgenin المستخدم في تنشيط الأنسجة القلبية)

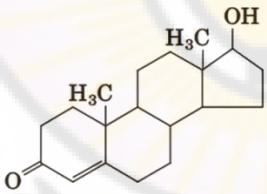
ز–هرمونات الغدة الأدرينالاية (مثل هرمونات الالدوستيرون والكورتيزون)

س–بعض الألكالويدات Alkaloids.

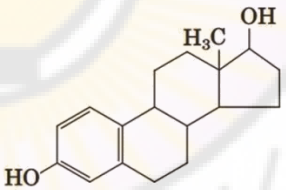


Cyclopentano-perhydrophenanthrene (steroid) nucleus

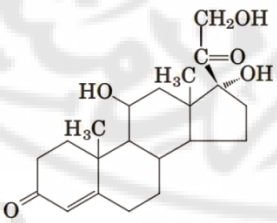
الشكل (3–12) بيرهيدرو سايكلوبنتانو فينانثرين Per hydro cyclopentano phenanthrene



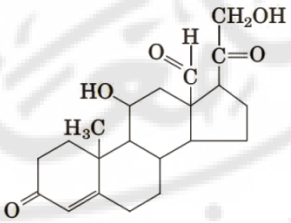
Testosterone



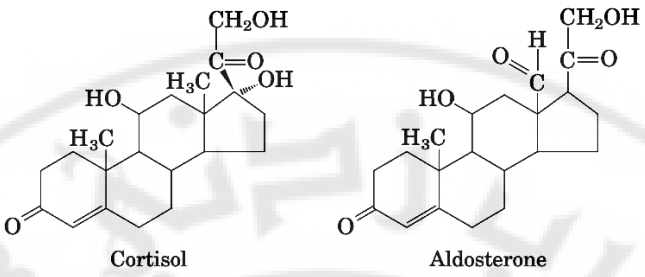
Estradiol



Cortisol



Aldosterone

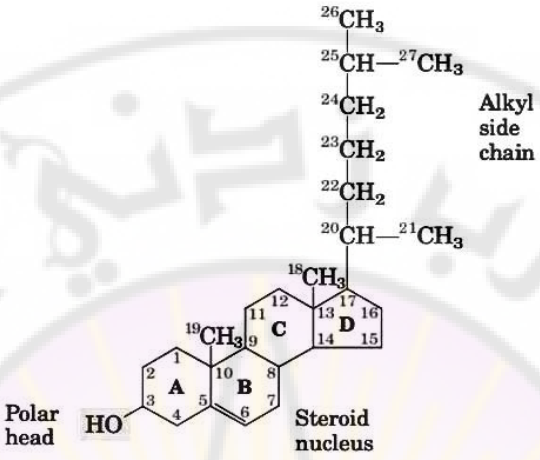


الشكل (3–13) بعض مشتقات الستيرويدات

1–الستيرولات Sterols:

إن مركبات الستيرولات عبارة عن ستيرويدات كحولية Steroids alcohol تحتوي على مجاميع هيدروكسيلية ولا تحتوي على مجموعة كربونيلة. ومن أهمها الكوليسترول الذي توجد في الحيوانات ولا وجود له في النباتات ولكن الستيرولات النباتية توجد على شكل الارغوستيرول Ergosterol.

يتكون الكوليسترول من نواة مشبعة تسمى فينانثرين Phenanthrene مع رابطة مزدوجة بين ذرتي الكربون 5 و 6 وحلقة خماسية مشبعة مرتبطة معها مجموعة جانبية متصلة بذرة كربون رقم 17 ومجموعتي مثيل متصلتين في الموقع 10 و 13 عن مجموعة الهديروكسيل في الموقع رقم 3 (الشكل 3–15) ولكون الستيروييد جزيء غير متناظر فهناك العديد من المماكبات الفراغية Stereoisomer يمكن أن توجد فيه إذ أن كل 6 ذرات كربون تعطي هيئات ثلاثية الأبعاد على شكل كرسي Chair أو قارب Boot وهيئة الكرسي للستيرويدات هي الأكثر استقراراً أو التي يمكن أن تعطي مماكب cis أو ترانس trans (الشكل 3–15). يذوب الكوليسترول في الكلوروفورم والأسيتون والأيثر لكنه لا يذوب في الماء ويوجد في المخ (بنسبة 17% من الوزن الجاف للمخ) وغدة الكظر والطحال وغشاء الكريات الحمر ولا يوجد في خلايا بدائية النواة Prokaryotes.



الشكل (3–15) الكوليسترول.

يرتبط الكوليسترول في الدم بالأحماض الدهنية طويلة السلسلة وغير المشبعة مكوناً إسترات الكوليسترول وينتقل عن طريق البروتينات الدهنية المختلفة خلال الدم في الجسم.

يمكن للكوليستيرول أن يصنع في الجسم Endogenous cholesterol إذ أن أغلب الأنسجة الجسمية تستطيع تصنيعه ولكن يتركز تصنيعه بشكل أساس في الكبد ويمكن أن يصنع بكمية 1–2 غرام/يوم ويتخلص من الكمية بنحو 0.1–0.3 غرام/يوم عن طريق الجلد وبنحو 0.2–0.8 غرام/يوم عن طريق البراز. فضلاً عن ذلك فإن مصادر الكوليسترول يمكن أن تكون خارجية Exogenous cholesterol وتأتي عن طريق الغذاء وبالتالي يمكن أن تزداد كميته عن الحد الطبيعي بين 150–250 ملغ /100 مل دم (استناداً إلى العمر والجنس) عند زيادة تناول الغذاء الحاوي على كميات عالية من الكوليسترول (مثل المخ الذي يحوي أكثر من 2000 ملغم كوليستيرول لكل 100 غرام/وزن، وصفار البيض يحوي على 1500 ملغم كوليسترول لكل 100 غرام من صفار البيض الطازج).

إن زيادة كمية الكوليستيرول في الجسم عن الحد الطبيعي ممكن أن تسبب العديد من الأمراض أبرزها أمراض تصلب الشرايين وما ينتجه من أمراض مختلفة على القلب وبقية أعضاء الجسم وعلى الرغم من ذلك فإن للكوليسترول فوائد عديدة منها:

1- مكون للعديد من الهرمونات (مثل الهرمونات الجنسية الذكرية والأنثوية)
2- تدخل في تركيب الأغشية البلازمية للخلية.
3- تدخل في تركيب الجهاز العصبي كالدماغ والخلايا العصبية وأنسجتها إذ يكون تقريباً 25% من دهون الأغشية للخلايا العصبية.

4- له دور في نقل الأحماض الدهنية غير المشبعة في الجسم. وبالتالي فإن الزيوت الحاوية على الأحماض الدهنية غير المشبعة تشارك في تقليل الكوليسترول من خلال مشاركتها في ارتباطها مع الكوليستيرول وهذا يؤدي إلى زيادة استقلاب الكوليستيرول بعد نقله من الأنسجة إلى الكبد.

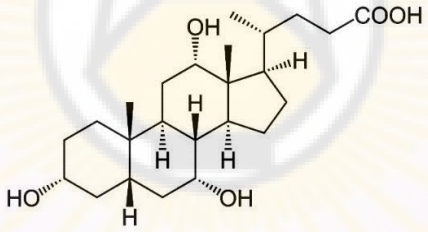
2-الأحماض الصفراء Bile Acids:

الأحماض الصفراء من المركبات التي تحتوي على نواة الستيرول والموجودة في الصفراء وتتميز السلسلة الجانبية المتصلة بذرة الكربون 17 احتوائها على خمس ذرات كربون فضلاً عن ارتباط مجاميع الهيدروكسيل في أكثر من موقع وتقوم هذه الأحماض بدور المستحلب Emulsifier للدهون في الأمعاء إذ لها دور مهم في هضم وامتصاص الدهون. وتتكون أحماض الصفراء في الكبد وتخزن في حويصلة الصفراء Gallbladder ثم تفرز في الاثنى عشر Duodenum وهناك ثلاثة أنواع من هذه الأحماض هي:

1- حمض الكوليك Cholic acid (الشكل 3-16)

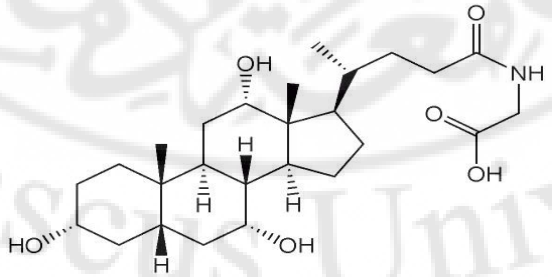
2- حمض دي أوكسي كوليك Deoxycholic acid

3- حمض الليثوكوليك Lithocholic



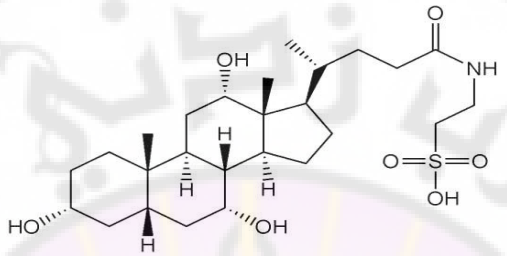
الشكل (3-16) حمض الكوليك

عند اتحاد حمض الكوليك بالحمض الأميني الغلايسين عن طريق رابطة أميد يتكون ملح الصفراء الذي يسمى الغلايكوكوليت Glycocholate (الشكل 3-17)



(الشكل 3-17) الغلايكوكوليت Glycocholate

وكذلك يمكن أن يتحد حمض الكوليك مع حمض التورين Taurine ليكون أحد أملاح الصفراء المسمى التايوركوليت (الشكل 3–18)

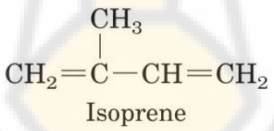


(الشكل 3–18) التايوكوليت Taurocholate

إن أملاح الصفراء لها خواص مستقطبة وغير مستقطبة ولهذا تستطيع التداخل مع الطور المائي لتكون المستحلبات.

3–4–2– التربينات Terpenes:

التربينات مركبات من مشتقات الدهون التي تتكون من تكاثف وحدتين أو أكثر من وحدات الأيزوبرين Isoprene (2–متيل 3.1 بيوتادايين 2-methyl 1.3– butadiene) (الشكل 3–19)



الشكل (3–19) الايزوبرين

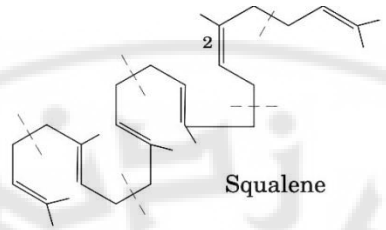
وتقسم هذه المركبات اعتماداً على وحدات الايزوبرين لإعطاء أنواع عدة منها:

أ–سترال Citral وميثون Methone (تحويان كل منهما على وحدتين ايزوبرين)

ب–فارنيسول Farnesol وبيسارولين Bisarolene (تحوي كل منهما على ثلاث وحدات ايزوبرين)

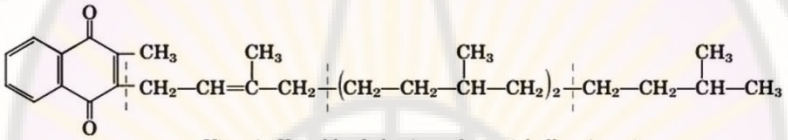
ج–سكوالين Squalene (شكل 3–20) ولانوسيترول Lanosterol (تحوي كل منهما على ستة وحدات ايزوبرين)

د–كارتينويدات Carotenoids (تحوي أنواعها على ثماني وحدات من ايزوبرين).

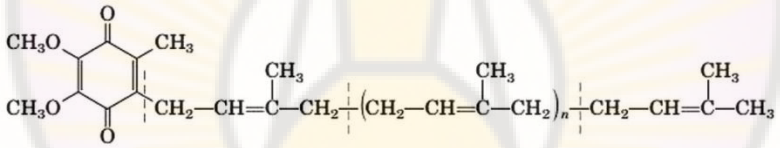


الشكل (3–20) السكوالين Squalene

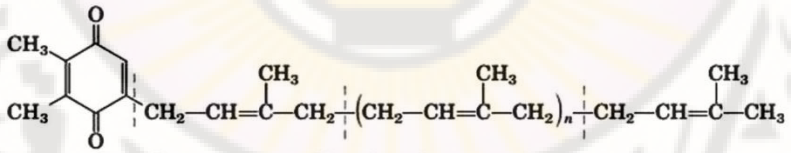
تشمل مركبات التربينات (الشكل 3–21) على زيوت أساسية (مثل استرال) أو على أحماض راتنجية Resin acids ومطاط Rubber وصبغات نباتية (مثل الكاروتين Carotene واللايكوبين Lycopene والسكوالين) وفيتامين K , E , A ومرافق أنزيم Coenzyme Q) (Q وغيرها.



Vitamin K_1: a blood-clotting cofactor (phylloquinone)



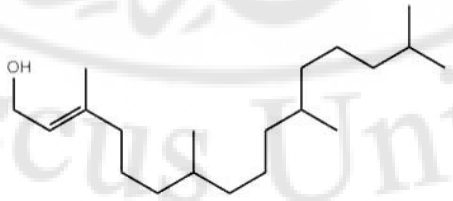
Ubiquinone: a mitochondrial electron carrier (coenzyme Q) (n = 4 to 8)



Plastoquinone: a chloroplast electron carrier (n = 4 to 8)

الشكل (3–21) بعض مركبات التربينات.

إن مركب الفايتول مثال على التربينات ضمن السلسلة المفتوحة والتي تتكون نتيجة التحلل المائي للكلوروفيل (الشكل 3–22)



الشكل (3–22): الفايتول.

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

الفصل الرابع

كيمياء الأحماض الأمينية والببتيدات والبروتينات

Chemistry of Aminoacids, Peptides& Proteins

4-1- مقدمة:

عرفت أهمية البروتينات منذ زمن بعيد جداً، فتسمية البروتينات بهذا الاسم قد اشتقت من الكلمة الإغريقية Protos والتي تعني "الذي يحتل المرتبة الأولى".

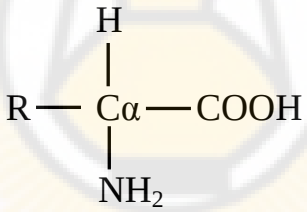
في الحقيقة لم يخطئ الإغريق في عد البروتينات المركب البيولوجي الأهم في الخلايا الحية، تتجلى أهميتها من الناحية الكمية بتكوينها لأكثر من 50% من الوزن الجاف للخلايا، كما تقوم بتعويض وتجديد الانسجة التالفة في الجسم، وكذلك من الناحية النوعية فإنها ذات دور بنائي تدخل في تركيب الجدار الخلوي والنسيج الضام والصوف والشعر والأربطة والأوتار والأظافر والغدد والكثير من المواد البيولوجية، كما أن للبروتينات أدواراً بيولوجية حيث تكون الأنزيمات التي تعد وسيطاً لا بد منه من أجل حدوث التفاعلات الحيوية داخل خلايا الكائن الحي، تدخل في تركيب العديد من الهرمونات والأجسام المضادة، كما تحافظ على التوازن المائي في الجسم حيث تؤدي بروتينات الدم ولاسيما الألبومين Albumins دوراً كبيراً في تنظيم حركة السوائل ومنها الماء بين الخلايا والدم وبسبب كبر حجم هذه البروتينات نسبياً فإنها تبقى خارج الخلايا إذ يكون من الصعب عليها الانتقال إلى داخل الخلية وبهذا تحافظ على الضغط الأسموزي Osmotic Pressure إذ تساعد على تبادل الماء من الخلية إلى خارجها ولاسيما الماء الناتج من عمليات الاستقلاب داخل الخلية، لكن عند قلة البروتين في الجسم يؤدي ذلك إلى تجمع الماء داخل الخلايا والأنسجة فيسبب ما يسمى بالاستسقاء Edema أو الانتفاخ ويعرف هذا الاستسقاء بأنه Low protein edema ويحدث في البطن والأرجل وتحدث هذه الأعراض عند الأطفال المصابين بمرض الكواشيوركر Kwashiorkor، وتعد البروتينات مصدراً للطاقة في الحالات الاضطرارية بعد استنزاف الكربوهيدرات والدهون ويعطي الغرام الواحد من البروتين حوالي أربعة كيلو كالوري، كما تساعد على المحافظة على درجة pH الجسم حيث للبروتينات فعل تنظيمي من خلال مجموعات الأمين والكربوكسيل التي تحملها الأحماض الأمينية، ولها دور في تركيب الكرموزومات من خلال البروتينات القاعدية (الهستونات)، كما تعد مصدر لكثير من العناصر المعدنية وخاصة الحديد والفيتامينات B_1 وB_2.

تحتوي كافة أنواع البروتينات على العناصر الأربعة المهمة، الكربون والهيدروجين والأوكسجين والآزوت، بالإضافة إلى أن كثيراً منها يحتوي على الكبريت أيضاً وبعضها يحتوي على الفوسفور، يكوّن الآزوت حوالي 16% من وزن البروتينات، ولتقدير نسبة البروتينات في مادة بيولوجية ما، نلجأ إلى تقدير عنصر الآزوت فيها وتضرب نسبة الآزوت بـــ 6.25 وهو معامل غير ثابت لجميع المواد البيولوجية، فمثلاً معامل تحويل الآزوت إلى بروتين للحبوب هو 5.7.

البروتينات هي مركبات ذات وزن جزيئي مرتفع وتتكون من اتحاد عدد كبير من وحدات تدعى الأحماض الأمينية (من حوالي 50 حمض أميني وحتى عدة الآلاف). نميز من البروتينات نوعان، الأول يعطي عند تحليله كيميائياً او أنزيمياً أحماضاً أمينية فقط، والثاني يعطي بالإضافة إلى الأحماض الأمينية مركبات أخرى ذات طبيعة كربوهيدراتية أو ليبيدية.

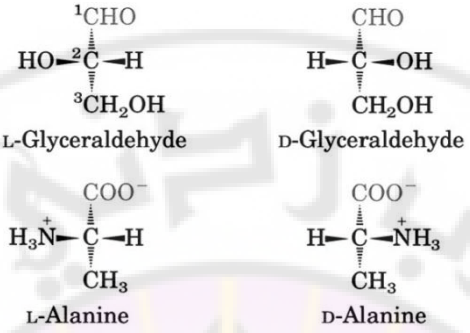
4-2- الأحماض الأمينية Aminoacids:

كما يشير اسمها فالأحماض الأمينية تحمل مجموعة أمين أولية على ذرة الكربون بالإضافة إلى مجموعة الكربوكسيل، وهي أصغر وحدة بنائية في تركيب البروتين وتعد الحجر الأساس لبناء جميع البروتينات، وتتبع جميع الأحماض الأمينية (عدا البرولين ومشتقاته) التوزيع التالي للمجموعات الوظيفية:



نجد في البروتينات مهما كان مصدرها سواءً كان فيروسياً أو بكتيرياً أو نباتياً أو حيوانياً عشرين حمضاً أمينياً تختلف عن بعضها البعض بالجذر R فقط.

تتميز الأحماض الأمينية باستثناء الغلايسين بأنها مركبات نشطة ضوئياً بسبب احتوائها على ذرة كربون غير متماثلة أو أكثر، لذلك فإنها قادرة على تشكيل مماكبات ضوئية من النوع D و L. لتحديد التوزيع الفراغي للأحماض الأمينية فإنها تنسب إلى الغليسرألدهيد ويعتمد على مجموعة الأمين في الأحماض الأمينية في تحديد نوع المشابه الضوئي، بينما تعتمد في حالة الكربوهيدرات كما مرّ معنا سابقاً على مجموعة الهيدروكسيل في تحديد نوع المماكب الضوئي، فعندما تكون مجموعة NH_2 المرتبطة بذرة الكربون α إلى اليسار شريطة أن تكون مجموعة الكربوكسيل المرتبطة بذرة الكربون نفسها إلى الأعلى. يكون الحمض الأميني من النوع L وعندما تكون NH_2 إلى اليمين يكون الحمض الأميني من النوع D كما هو مبين لدى الحمض الأميني الآنين.

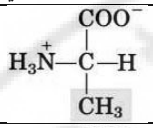
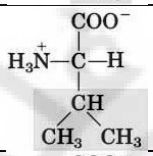
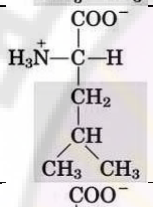
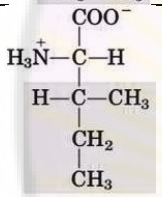
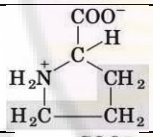
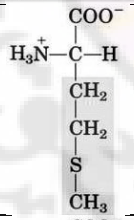
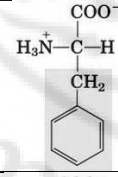
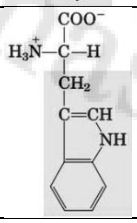


إن D و L آلانين هما مماكبان ضوئيان أحدهما صورة للآخر في المرآة Enantiomers ولكن الأحماض الأمينية التي تدخل في تركيب البروتينات الموجودة في الطبيعة هي النوع L عدا بعض البكتريا التي تستخدم الأحماض الأمينية من النوع D لبناء بعض الببتيدات التي تدخل في تركيب خلاياها. كما يوجد D- آلانين في عضلات الأخطبوط ويوجد D- سيرين في دودة الأرض. يمكن للأحماض الأمينية من النوع L الحرة او الداخلة في تركيب البروتينات أن تتحول إلى النوع D مع احتفاظها بالكمية نفسها، ويستخدم هذا النوع من التحول كأداة لتقدير عمر المواد العضوية الأثرية التي يدخل في تركيبها البروتينات كالعظام Dating by racemization. كما يمكن الاستدلال على درجة حرارة الوسط المحيط التي عاشت به الكائنات الحية، لأن درجة الحرارة تؤثر على معدل سرعة تحول الأحماض الأمينية من L إلى D. يحصل معدل التحول للأحماض الأمينية من المماكب L إلى D بعد مرور 10.000 سنة عندما تكون درجة الحرارة 17°م، وتطبق هذه الطريقة على عينات حديثة نسبياً ولقد اعتمدت هذه الطريقة مؤخراً كأحد مقاييس الأعمار في علم المستحاثات.

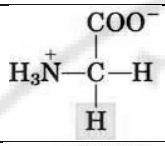
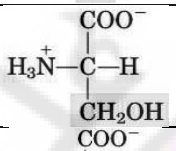
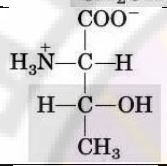
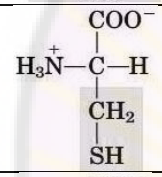
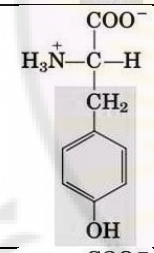
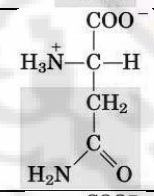
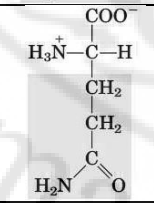
4-2-1- الأحماض الأمينية البروتينية:

تختلف البروتينات عن بعضها بعضاً بحسب الأحماض الأمينية الداخلة في تركيبها ونسبة كل منها، وتتأثر خواص البروتينات بخواص الأحماض الأمينية كقدرتها على التشرد عند PH الوسط الفيزيولوجي مثلاً. لذلك تقسم الأحماض الأمينية بحسب قطبية الجذر R إلى ثلاثة أقسام. أحماض أمينية غير قطبية (كارهة للماء) وأحماض أمينية قطبية متعادلة وأحماض أمينية قطبية مشحونة. يرمز للأحماض الأمينية عادة بالحروف الثلاثة الأولى من أسمائها، كما يرمز لها بحرف واحد ولكن المستخدم غالباً هو الاختصار بثلاثة أحرف، هذا وسنقوم بإيراد اختصارات الأحماض الأمينية للحالتين، كما يمكن تصنيف الأحماض الأمينية البروتينية إلى أحماض أساسية Essential Aminoacids وغير أساسية Non-Essential Aminoacids.

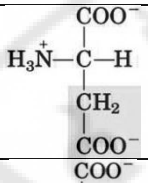
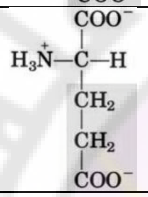
1) الأحماض الأمينية الكارهة للماء Hydrophobic Aminoacids أو اللاقطبية Non-polar:

الحمض الأميني	الرمز بثلاثة أحرف	الرمز بحرف واحد	التركيب الكيميائي
ألانين Alanine	Ala	A	
فالين Valine	Val	V	
ليوسين Leucine	Leu	L	
آيزوليوسينIsoleucine	Ile	I	
برولين Proline	Pro	P	
مثيونين Methionine	Met	M	
فينيل ألانين Phenylalanine	Phe	F	
تربتوفان Tryptophan	Trp	W	

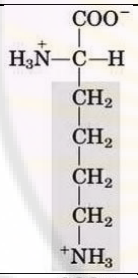
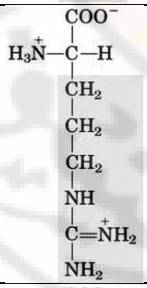
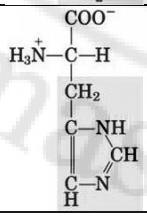
2) الأحماض الأمينية القطبية المتعادلة Hydrophilic (غير مشحونة):

الحمض الأميني	الرمز بثلاثة أحرف	الرمز بحرف واحد	التركيب الكيميائي
غلايسين Glycine	Gly	G	
سيرين Serine	Ser	S	
ثريونين Threonine	Thr	T	
سيستيين Cysteine	Cys	C	
تيروزين Tyrosine	Tyr	Y	
أسباراجين Asparagine	Asn	N	
غلوتامين Glutamine	Gln	Q	

3) الأحماض الأمينية المشحونة بشحنة سلبية Acidic وتشمل:

الحمض الأميني	الرمز بثلاثة أحرف	الرمز بحرف واحد	التركيب الكيميائي
حمض الأسبارتيك Aspartic acid	Asp	D	
حمض الغلوتاميك Glutamic acid	Glu	E	

4) الأحماض الأمينية المشحونة بشحنة موجبة أو تسمى بالقاعدية Basic:

الحمض الأميني	الرمز بثلاثة أحرف	الرمز بحرف واحد	التركيب الكيميائي
لايسين Lysine	Lys	K	
أرجنين Arginine	Arg	R	
هستيدين Histidine	His	H	

4-2-2- الأحماض الأمينية غير البروتينية: Non Proteinous amino acids

إن هذا النوع من الأحماض الأمينية لا تدخل في بناء بروتينات الكائنات الحية التي تنتجها، بل توجد في مصادر خاصة بشكل منفرد أو مرتبط مع مركبات أخرى ويعود سبب عدم دخولها في بناء البروتين بأن مجموعة الأمين والكربوكسيل لا ترتبط بنفس ذرة الكربون α ومن هذه الأحماض الأمينية:

1- بيتا-ألانين $\beta - alanine$ (بيتا - أمينو حمض بروبونيك $\beta - amino\ propionic\ acid$) الذي يوجد ضمن تركيبة حمض البانتوثنيك Pantothenic acid ومرافق الأنزيم A (Coenzyme A)

$$H_3N^+ - CH_2 - CH_2 - COO^-$$

2- غاما - أمينو بيوتيرات $\gamma - amino\ butyrate$: ويوجد في العديد من النباتات والمخ والرئة والقلب والذي يعد المثبط الكيميائي للمحفز العصبي في مناطق معينة من الجهاز العصبي.

$$H_3N^+ - CH_2 - CH_2 - CH_2 - COO^-$$

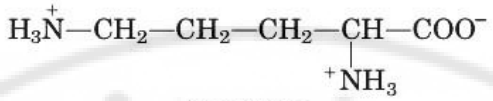
3- ألفا أمينو بيوتيرات $\alpha - amino\ butyrate$: يوجد هذا الحمض في مخ مختلف الحيوانات:

$$CH_3 - CH_2 - \underset{\displaystyle NH_3^+}{\underset{|}{CH}} - COO^-$$

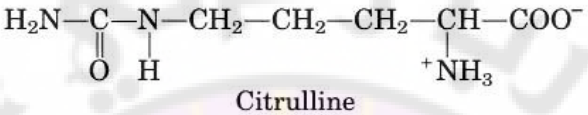
4- ألفا - أمينو أديبيات $\alpha - amino\ adipiate$: هو أحد المركبات الوسطية التي تتكون أثناء التغيرات الحيوية للحمض الأميني اللايسين.

$$OOC - CH_2 - CH_2 - CH_2 - \underset{\displaystyle NH_3^+}{\underset{|}{CH}} - COO$$

5- السترولين Citrulline والأورنيثين Ornithine: وهي الأحماض الأمينية غير البروتينية التي تتكون أثناء استقلاب الأمونيا (دورة اليوريا Urea cycle) إذ يتم التخلص من المركب الأخير بشكل يوريا.

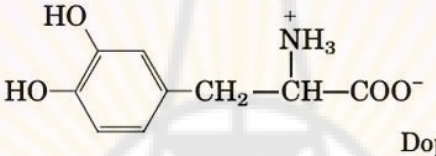


Ornithine



Citrulline

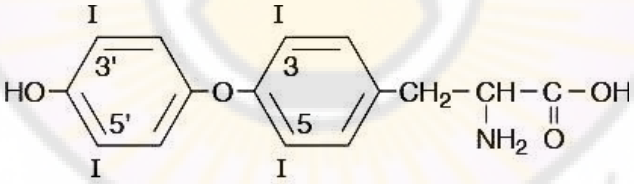
6- ثنائي هيدروكسي فينيل ألانين Dihydroxy phenylalanine (DOPA): يوجد هذا الحمض الأميني في مسار تكوين هورمونات الكاتيول أمين (الدوبامين والأدرينالين والنورأدرينالين) والذي يمكن أن يوجد أيضاً في بعض أنواع الفاصولياء.



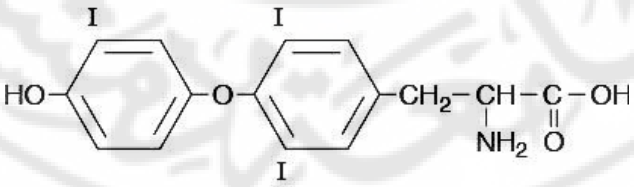
Dopa

ثنائي هيدروكسي فينيل الانين

7- المركب 3،5،3 ثلاثي إيودو ثيرونين (T_3): الذي يوجد في الغدة الدرقية فضلاً عن ثيروكسين (رباعي إيودوثيرونين T_4).



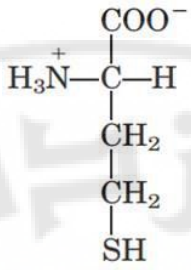
3,5,3',5',-Tetraiodothyronine (thyroxine, T_4)



3,5,3',-Triiodothyronine (T_3)

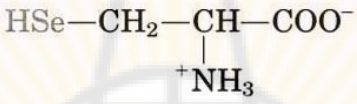
ثلاثي ورباعي أيودو ثيرونين

8- الهوموسيستيين Homocysteine: يوجد بوصفه مركباً وسطياً يتكون أثناء تفاعلات الأحماض الأمينية المثيونين والثيرونين وحمض الأسبارتيك.



Homocysteine

9- السيلينوسيستيين Selenocysteine: السيلينوسيستيين أحد الأحماض الأمينية من نوع L الموجود في العديد من البروتينات، وإن إسمه يدل عليه إذ أنه يحتوي على ذرة السيلينيوم Selenium(Se) بدل الكبريت Sulfur(S) في التركيب المشابه للحمض الأميني السيستيين.



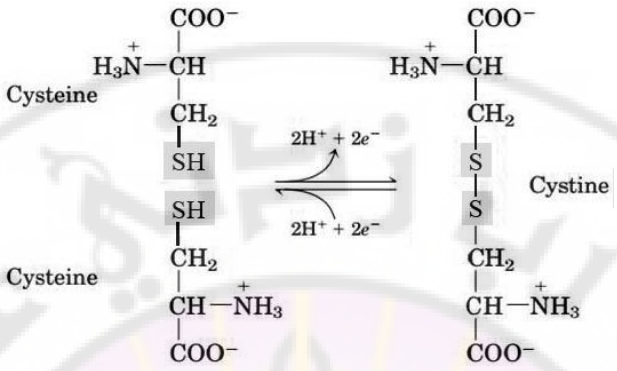
Selenocysteine

وله قيمة pK_3 = 5.2 والتي هي أقل من السيستيين، ويتكون خلال عملية الترجمة في بناء البروتين Protein synthesis ويعد الحادي والعشرين في ترتيب الأحماض الأمينية ولكنه لا يحتوي على شيفرة وراثية واضحة code كما في العشرين حمضاً أمينياً، ويوجد هذا الحمض الأميني في الموقع الفعال للعديد من الأنزيمات في الجسم إذ يعمل كعامل مساعد في تفاعلات الأكسدة والاختزال Redox reactions على سبيل المثال أنزيم غلوتاثيون بيروكسيديز Glutathione peroxidase (GP_x) الذي يعمل من خلاله على تحويل بيروكسيد الهيدروجين إلى ماء وغلوتاثيون مؤكسد كما في المعادلة الآتية:

$$2GSH + H_2O_2 \xrightarrow{GPx} GSSG + 4\ H_2O$$

يدخل السلينوسيستيين أيضاً في الموقع الفعال لإنزيم دي إيودونيز Deiodinase الذي يعمل على تحويل الثيروكسين Thyroxine إلى ثلاثي إيودوثيرونين Triiodothyronine

10-السيستين Cystine: يتكون السيستين من أكسدة الحمض الأميني السيستين Cysteine إذ يدخل السيستين في ربط سلسلتين ببتديتين بوساطة رابطة ثنائية السلفيد Disulfide bond والذي يكون مسؤولاً عن تكوين أحد أنواع حصيات الكلية Kidney stones



تكون السيستين Cystine من جزيئتي السيستيين Cysteine

4-2-3- الأحماض الأمينية الأساسية وغير الأساسية وشبه الأساسية:

تقسم الأحماض الأمينية أيضاً استناداً إلى مقدرة الجسم على تكوين الهيكل الكربوني للأحماض الأمينية إلى ثلاثة مجموعات وفقاً لما يلي (جدول 4-1):

1- **أحماض أمينية أساسية Essential amino acids:** وهي الأحماض الأمينية التي ليس للجسم المقدرة على تركيبها أي يجب وصولها للجسم عن طريق الغذاء.

2- **أحماض أمينية غير أساسية nonessential amino acids:** وهي الأحماض الأمينية التي يمكن للجسم أن يركبها.

3- **أحماض أمينية شبه أساسية semi essential amino acids:** هي الأحماض الأمينية التي ليس للجسم القدرة على تركيبها إلا عند توفر الأحماض الأمينية المولدة لها.

الأحماض الأمينية الأساسية	الأحماض الأمينية شبه أساسية	الأحماض الأمينية غير الأساسية
أيزوليوسين	أرجنين*	ألانين
ليوسين	هستيدين*	أسبارجين
لايسين	سيستاين**	حمض الأسبارتيك
ميثيونين	تيروزين**	غلايسين
فينيل ألانين		حمض الغلوتاميك
ثريونين		برولين
تربتوفان		سيرين
فالين		غلوتامين

* الأرجنين والهستيدين يعدان من الأحماض الأمينية شبه الأساسية لكون الجسم يحتاجها لفترة محددة فقط وهي فترة دعم نمو حديثي الولادة والأطفال.

**السيستاين والتيروزين شبه أساسية لأنها تقلل متطلبات فينيل ألانين والمثيونين فهي لا تكون أساسية في الغذاء بوجود كمية كافية من الفينيل ألانين والمثيونين.

4-2-4- الوظائف الحيوية لبعض الأحماض الأمينية:

فضلاً عن كون الأحماض الأمينية المادة الأولية لبناء الببتيدات ومن ثم تكوين البروتينات، فإن الأحماض الأمينية ومشتقاتها تساهم في وظائف الاغشية الخلوية في نقل الإشارات العصبية وبناء البورفيرينات والبيورينات والبريميدينات واليوريا. وفيما يلي بعض الوظائف الحيوية لعدد من الأحماض الأمينية:

1- الحمض الأميني **مثيونين** عنصر مهم في عملية إضافة مجموعة الميثيل Methylation وكذلك يدخل في تركيب مادة الكولين Choline وهو طليعة Precursor لمركب الاستيل كولين Acetyl choline الذي يلعب دوراً مهاً في الجهاز العصبي أثناء نقل الإشارات العصبية فضلاً عن أن الحمض نفسه يعد طليعة للحمض الأميني السيستيين.

2- يعد التربتوفان طليعة لفيتامين النياسين أو النيكلوتيد وكذلك طليعة لمادة السيروتينين Serotonin وهي مادة لنقل الإشارات العصبية ومادة مقبضة Vasoconstrictor للأوعية الدموية.

3- يشكل الفينيل ألانين طليعة للحمض الأميني تيروزين ويعدان طليعة لتصنيع هرمون الثيروكسين Thyroxine وهرمونات الكاتيكول أمين (الدوبامين Dopamine والأدرينالين Adrenaline والنورأدرينالين Noradrenaline).

4- يتحول الهستيدين إلى الهستامين Histamine وهي مادة هرمونية تعمل على إفراز حمض الهيدروكلوريك في المعدة وتؤدي إلى خفض ضغط الدم وغيره من الوظائف الأخرى.

كما يسهم اللايسين في بناء الكولاجين في الجلد، أما الأيزوليوسين فهو ضروري لإنتاج الهيموغلوبين والفالين ضروري لمعالجة الكآبة النفسية.

4-2-5- الخواص الفيزيائية للأحماض الأمينية:

4-2-5-1- ذوبان وانصهار الأحماض الأمينية:

توجد كافة الأحماض الأمينية البروتينية في الحالة الصلبة وهي ذات مظهر بلوري عديمة اللون، معظم الأحماض الأمينية غير ذوابة في المذيبات العضوية (أثير، بنزن، رابع كلوريد الكربون...) ولكنها ذوابة نسبياً في الماء. تنصهر الأحماض الأمينية على درجات حرارة عالية (حوالي 200 ^{o}م) وتتفكك عادةً على هذه الدرجة، ويعزى ذلك إلى تركيبها الشاردي الذي يحتاج إلى طاقة عالية لتفكيك القوى الشاردية للشبكة البلورية.

4-2-5-2- تأين الأحماض الأمينية:

إن بنية الأحماض الأمينية كما عرفت حتى الآن صحيحة في حال كونها مركبات متعادلة (غير مشحونة) ولكن ذوبانها في الماء ودرجات انصهارها العالية مؤشران مهمان يدلان أن هذه الأحماض ذات طبيعة أيونية، في الحقيقة إذا ما أذيب أي حمض أميني في الماء، فإن كل جزيء من جزيئاته سيكون حاملاً لشحنتين أحداهما موجبة والأخرى سالبة لذلك تدعى جزيئات ثنائية الشحنة أو Zwitterion (من الألمانية وتعني ثنائي الأيون). ففي وسط متعادل كالماء تكون مجموعة الكربوكسيل ذات صفة حمضية وتستطيع أن تتخلى عن بروتون وتظهر بشكل شاردة سالبة.

$$R-COOH \rightleftharpoons R-COO^- + H$$

بينما تستطيع مجموعة الأمين ذات الصفة القاعدية استقبال بروتون وتظهر كشاردة موجبة.

$$R-NH_2 + H^+ \rightleftharpoons R-NH_3^+$$

فالصيغة العامة للأحماض الأمينية التي تعد مركبات أمفوتيرية Amphoters

$$H_3N^+-\underset{\displaystyle H}{\overset{\displaystyle R}{\underset{|}{\overset{|}{C}}}}-COO^-$$

ويفسر ذلك سلوك المحاليل المائية للأحماض الأمينية في عدم ناقليتها للتيار الكهربائي.

إن تشرد مجموعتي الأمين والكربوكسيل يخضع لقانون فعل الكتلة، بحيث أن نسبة جزيئات الحمض الأميني المتشردة وغير المتشردة يعتمدان على تركيز شوارد الهيدروجين. ويمكننا كتابة ثابتي التشرد Ka_1 ، Ka_2 الموافقين لحالتي التوازن على الشكل التالي:

$$Ka_1 = \frac{[R-COO^-][H^+]}{[R-COOH]} \quad , \quad Ka_2 = \frac{[R-NH_2][H^+]}{[R-N^+H_3]}$$

تتغير قيمة ثابتي التشرد Ka_1 ، Ka_2 من حمض أميني لآخر.

عندما نغير درجة الـ pH لمحلول حمض أميني والذي تكون جزيئاته على شكل زويتريون إلى pH حمضي، فإنها تصبح بشكل شوارد موجبة، أما عندما تزداد قيمة الـ pH ليصبح قلوي فإنها تتحول إلى شوارد سالبة ويمكن تلخيص هذه التغيرات بالشكل التالي:

$$H_3^+N-\underset{\displaystyle R}{\overset{|}{CH}}-COOH \leftrightarrows H_3^+N-\underset{\displaystyle R}{\overset{|}{CH}}-COO^- \rightleftarrows H_2N-\underset{\displaystyle R}{\overset{|}{CH}}-COO^-$$

Cation (pH acid)	Zwitterion	Anion (pH alkaline)
صافي الشحنة = +1	صافي الشحنة = صفر	صافي الشحنة = -1

تدعى درجة الـــ pH التي تكون عندها جزيئات الحمض الأميني على شكل زويتريون حيث صافي الشحنة يساوي الصفر بنقطة التوازن الكهربائي Isoelectric Point (PI).

على هذه الدرجة من الـــ pH يكون ذوبان الحمض الأميني أقل ما يمكن ولا ينتقل تحت تأثير التيار الكهربائي على عكس نفس جزيئات الحمض الأميني عندما تكون بصورة شاردة موجبة أو شاردة سالبة حيث تنقل التيار الكهربائي بالإضافة إلى كونها ذوابة فلا تشكل راسب.

يمكننا دراسة تشرد الوظائف القطبية المختلفة للأحماض الأمينية وذلك بإجراء عدة إضافات من حمض كحمض الهيدروكلوريك أو قاعدة كهيدروكسيد الصوديوم وقياس درجة الpH بعد كل إضافة، ثم نقوم برسم منحنى المعايرة. فنجد أنه يختلف مظهر هذا المنحنى من حمض أميني إلى آخر وسنقوم بدراسة معايرة حمض أميني متعادل وآخر حمضي وثالث قاعدي.

أ- معايرة حمض أميني متعادل:

عند تحضير محلول مائي للغلايسين درجة الpH فيه تساوي حوال ستة تكون جزيئاته ثنائية القطب. فعند معايرة 10مل من الغلايسين 0.01 مولر بحمض HCl 0.01 مولر، فإن الحمض سيتفاعل مع مجوعة الكربوكسيل (قاعدة).

$$H_3^+N - CH_2 - Coo^- + HCl \rightarrow Cl^- H_3^+N\text{-}CH_2 - COOH$$

نلاحظ أن قسماً من منحنى التعادل يكون فيه تغير درجة الpH طفيفاً على الرغم من إضافة الحمض $HC\ell$، لذلك فالغلايسين ذو فعل منظم ويستخدم عادة المحلول المنظم غلايسين $HC\ell$ أما عند إضافة نصف كمية حمض الهيدروكلوريك اللازمة لمعادلة الغلايسين فإن القدرة التنظيمية حسب معادلة هندرسن – هاسيلباخ تبلغ أقصاها وتكون درجة الpH كما تكون مجموعة الكربوكسيل نصف متأينه حيث pKa لمجموعة الكربوكسيل يساوي 2.3.

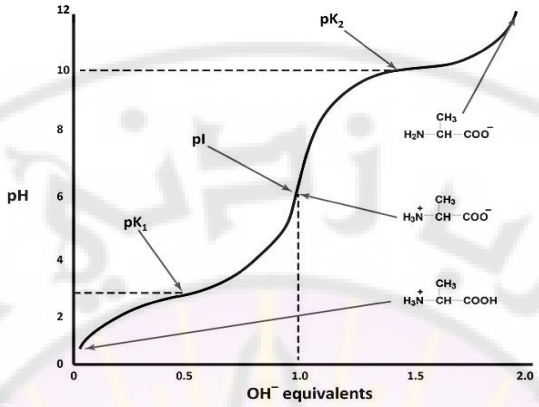
أما عندما نعاير 10مل من محلول الغلايسين 0.01 مولر بقاعدة NaOH 0.01 مولر فإن الحمض الضعيف $R\text{-}NH_3^+$ سيتفاعل مه هيدروكسيد الصوديوم.

$$H_3^+N - CH_2 - COO^- + NaOH \rightarrow H_2N - CH_2 - COO^-Na^+ + H_2O$$

نلاحظ أيضاً وجود منطقة من منحنى التعادل يظهر فيها الفعل التنظيمي للغلايسين فعند إضافة نصف كمية الهيدروكسيد اللازمة للمعايرة فإن قيمة الpH تساوي ثابت تأين مجموعة NH_3 الذي يساوي 9.6.

يمكن حساب نقطة التعادل الكهربائي للحمض وذلك بأخذ متوسط ثابتي التشرد لمجموعتي الأمين والكربوكسيل.

$$pH_1 = \frac{pKa_1 + pKa_2}{2} = \frac{2.3 + 9.6}{2} = 6$$



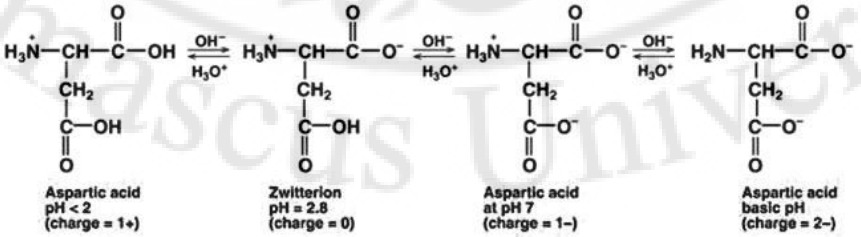
شكل 4–1 منحنى معايرة 20 مل من حمض الغلايسين هيدروكلورايد بوساطة هيدروكسيد الصوديوم.

يوجد الغلايسين في الأوساط الفيزيولوجية بشكل رئيسي على صورة زويتريون ففي بلازما الدم حيث درجة الـــ pH تساوي 7.4 تكون نسب صور الغلايسين كالآتي:

$H_3^+N - CH_2 - COO^-$ Zwitterion 99.58 %
$H_2N - CH_2 - COO^-$ Anion 0.41 %
$H_3^+N - CH_2 - COOH$ Cation 0.00089 %
$H_2N - CH_2 - COOH$ Uncharged 0.000037 %

ب– معايرة حمض أميني ثنائي الكربوكسيل:

عند إذابة حمض الغلوتاميك في وسط حمضي (HCl مثلاً) فإنه سيتحول إلى الشكل الأيوني والذي يحمل شحنة موجبة محمولة على مجموعة الأمين NH_3. عند معايرة 10مل من حمض الغلوتاميك 0.01 مولر بالقاعدة NaOH 0.01 مولر فإن القاعدة ستتفاعل مع كافة البروتونات المقدمة من مجموعتي الكربوكسيل والامين المشحونة للحمض الأميني حيث تعدان حمضين حسب تعريف برونستد لمقدرتهما على إعطاء بروتونات. أما قيمة ثوابت التشرد لكل من المجموعات الوظيفية الثلاثة عن تأين نصف عدد المجموعات الوظيفية فهي بالترتيب 2.2، 4.3، 9.7 (الجدول 4–1) ويمكن ملاحظة أن مجموعة الكربوكسيل α هي الأسرع تأيناً وذلك لقربها من المجموعة NH_3^+ حيث تدفع الأخيرة مجموعة الكربوكسيل للتأين بسبب الشحنة الموجبة. ويمكن تلخيص مراحل المعايرة كالآتي:



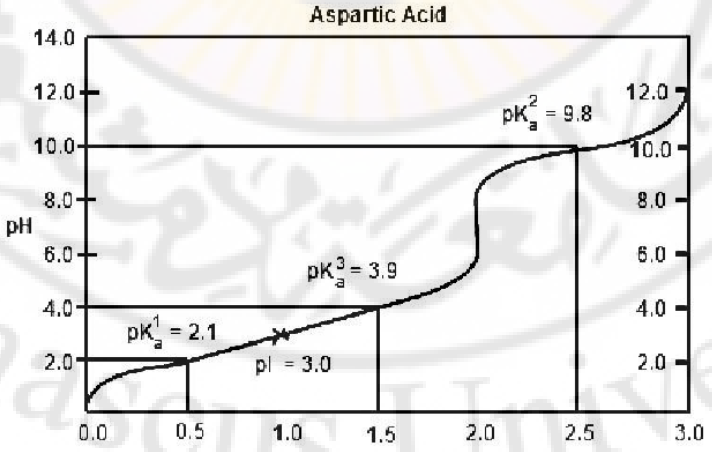
فعلى الــ 2.2 pH ينتج لدينا كميات متساوية من حمض الغلوتاميك بالشكل ذي صافي الشحنة +1 والشكل ذي صافي الشحنة صفر، وعلى الــ 4.3 pH سيكون لدينا كميات متساوية من الشكل ذو صافي الشحنة صفر والآخر ذو صافي الشحنة −1. أما عندما تكون درجة الــ pH مساوية 3.25 فيكون حمض الأسبارتيك بالشكل ذو صافي الشحنة صفر هو السائد، ويكون الحمض قد وصل نقطة التوازن الكهربائي حيث:

$$\frac{2.2+4.3}{2} = 3.25$$

ولا نأخذ بعين الاعتبار مجموعة الأمين في حساب نقطة التعادل الكهربائي لعدم أهميتها.

الجدول 4−1: قيم pKa لبعض الأحماض الأمينية:

الحمض الأميني	المجموعة الوظيفية	pKa_1	pKa_2	pKa_3
الآنين	ــــــــــ	2.3	9.7	
حمض الأسبارتيك	كاربوكسيل – β	2.1	9.7	3.9
حمض الغلوماتيك	كاربوكسيل – γ	2.2	9.7	4.3
هستيدين	إيميدازول	1.8	9.2	6
سيستين	سلفهدريل	1.7	10.8	8.3
تيروزين	فينوليه	2	9.1	10.1
لايسين	أمين	2.2	8.9	10.5
أرجنين	غوانيدينيوم	2.2	9	12.5



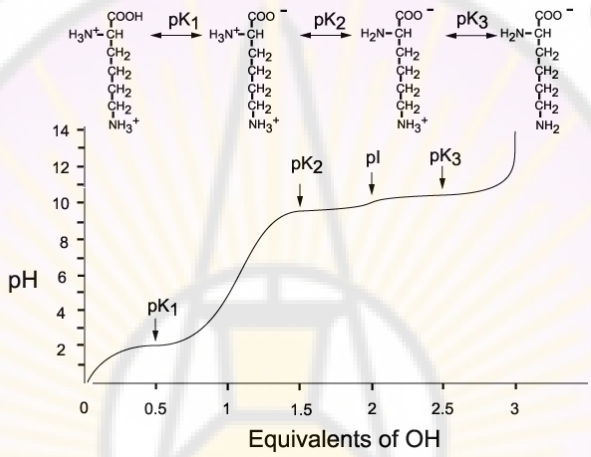
الشكل 4 −2 منحى معايرة 10 مل حمض أسبارتيك هيدروكلوريد 0.01 بهيدروكسيد الصوديوم 0.01 مولر

ج- معايرة حمض أميني ثنائي مجموعة الأمين:

عند معايرة 10 مل من الحمض الأميني لايسين 0.01 مولر الموجود في وسط حمضي بوساطة هيدروكسيد الصوديوم 0.01 مولر تنتج عدة أشكال لهذا الحمض نتيجة تأين مجموعاته الوظيفية ويمكن توضيحها كما يلي علماً بأن ثوابت تأينها 2.2، 9، 10.5.

نقطة التعادل الكهربائي للايسين هي:

$$pHi = \frac{9+10.5}{2} = 9.7$$



من خلال ما سبق يمكن أن نلاحظ أننا نستطيع أن نفصل الأحماض الأمينية عن بعضها بعضاً بسبب اختلافها في الشحنات المحمولة بوساطة تعريضها للتيار الكهربائي. فمثلاً إذا كان لدينا خليط من الأحماض الأمينية غلايسين والغلوتاميك واللايسين على pH=6، فالأول يوجد بشكل زويترايون والثاني بصورة صافي الشحنة فيها -1 والثالث +1. من أهم طرق فصل الأحماض الأمينية هي طريقة الترحيل الكهربائي Electrophoresis وكروماتوغرافيا المعتمد على مبدأ تبادل الشحنات.

4-2-5-3- املتصاص الأشعة فوق البنفسجية:

إن الأحماض الأمينية لا تمتص الضوء المرئي Visible Light لذلك فهي عديمة اللون ولكن الأحماض الأمينية الأروماتية (التربتوفان والتيروزين والفينيل ألانين) تمتص الأشعة فوق البنفسجية عند طول موجي بين 260-280 نانومتر ويعود معظم امتصاص البروتينات في الأشعة فوق البنفسجية إلى وجود التربتوفان كونه يحتوي على حلقة الأندول مرتبطة بمجموعة المثيلين Methylene- CH_2 وبالتالي زيادة إلكترونات باي π والتي تمتص بقوة الأشعة فوق البنفسجية.

4-2-6- الخواص الكيميائية للأحماض الأمينية:

للأحماض الأمينية خواص كيميائية بسبب احتوائها على مجموعة الكربوكسيل، وأخرى عائدة لمجموعة الأمين وللجذرR وسنقوم بعرض أهمها وخاصة تلك التي تؤثر على خواص الببتيدات والبروتينات.

أ- التفاعلات العائدة لمجموعة الكربوكسيل:

- **تشكيل الأملاح:** يمكن أن تتفاعل مجموعة الكربوكسيل للحمض الأميني مع NaOH لتشكل ملحاً فالحمض الأميني غلايسين يشكل غلايسينات الصوديوم عند تفاعله مع هيدروكسيد الصوديوم.

$$NH_2 - CH_2 - COOH + NaOH \rightarrow NH_2 - \underset{\displaystyle R}{\underset{|}{CH}} - COO^- Na^+ + H_2O$$

غلايسين غلايسيتات الصوديوم

- نزع مجموعة الكربوكسيل: يمكن تحقيق ذلك مخبرياً كما تتم هذه العملية في الخلية الحية بوساطة أنزيم Decarboxylase ضمن نطاق استقلاب الأحماض الأمينية وسندرس ذلك بالتفصيل في استقلاب الأحماض الأمينية.

ب- التفاعلات العائدة لمجموعة الأمين:

يتفاعل الفورمول مع مجموعة الأمين ليشكل مشتق ثنائي هيدوكسي المثيل:

$$R - \underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{CH}} - COOH + 2\,HCHO \rightarrow R - \underset{\displaystyle CH_2OH}{\underset{|}{CH - N - CH_2OH}}$$

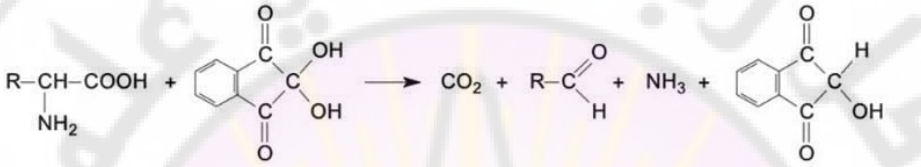
- التفاعل مع حمض النتروز HNO_2 : يتفاعل حمض النتروز مع مجموعة الأمين NH2 ليحرر الآزوت الذي يمكن معايرته وتعتمد طريقة فإن سلايك Van Slyke على هذا التفاعل لتقدير مجموعات NH_2 الحرة في الأحماض الأمينية والببتيدات والبروتينات.

لهذا التفاعل أهمية كبيرة حيث يسمح لنا بتتبع عملية تحلل بروتين ما.

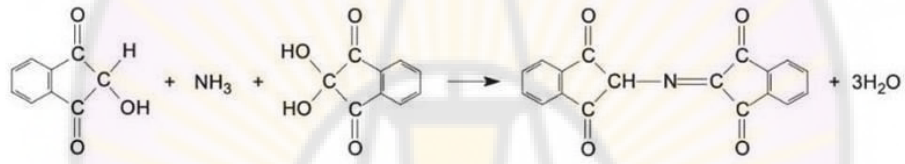
$$R - \underset{\displaystyle H}{\underset{|}{\overset{\displaystyle NH_2}{\overset{|}{C}}}} - N - COOH + HNO_2 \rightarrow R - \underset{\displaystyle H}{\underset{|}{\overset{\displaystyle OH}{\overset{|}{C}}}} - COOH + N_2 + H_2O$$

ج- التفاعلات المتعلقة بمجموعة الكربوكسيل والأمين معاً:

- **التفاعل مع مركب النينهيدرين:** يتم هذا التفاعل على مرحلتين ففي الأولى نلاحظ تشكل مركب النينهيدرين المرجع ويتحول الحمض الأميني إلى ألدهيد وينتج ثاني أكسيد الكربون والأمونيا. وفي المرحلة الثانية فيتفاعل النينهيدرين المرجع والأمونيا مع جزيئين من النينهيدرين المؤكسد ليعطي مركباً أزرق بنفسجياً.



Ninhydrin Reduced ninydrin

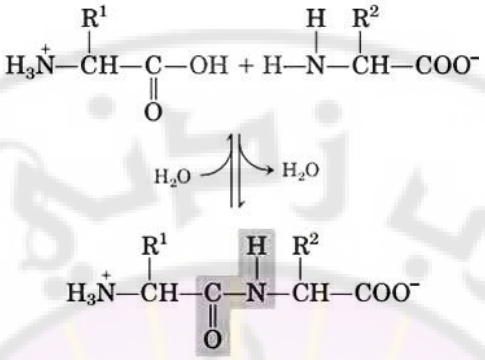


Reduced ninhydrin Ninhydrin Violet-blue condensation product

تفاعل النينهيدرين

يستخدم هذا التفاعل في معايرة الأحماض الأمينية من خلال الشدة اللونية للمركب الأزرق البنفسجي بوساطة أجهزة قياس الطيف الضوئي Spectrophotometer، كما يمكن استخدام هذا المركب الملون لتحديد مواقع الأحماض الأمينية على كروماتوغرافيا الورق أو على هلام الترحيل الكهربائي.

- تكون الرابطة الأميدية بين حمضين أمينيين: يمكن أن تتكون رابطة أميدية أو ببتيدية بين حمضين أمينين $(C-\overset{\overset{O}{\|}}{N}-\overset{\overset{H}{|}}{})$ وتنشأ بين مجموعة الكربوكسيل α لإحداهما مع مجموعة الأمين للآخر. عندما تنشأ الرابطة الأميدية بين مجموعة كربوكسيل وأمين متوضعين على غير ذرة الكربون α مثل β-COOH و γ-COOH و ε-NH تدعى بالرابطة الببتيدوية Peptidiode كما في ببتيد الغلوتاثيون:



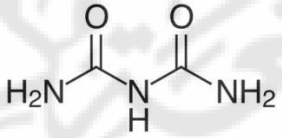
رابطة ببتيدية بين حمضين أمينين

د- تفاعلات جذور الأحماض الأمينية R:

بما أن مجاميع الكربوكسيل α والأمين تشكل روابط ببتيدية فإن خواص جذور الأحماض الأمينية ذات تأثير كبير على صفات البروتين، لذلك يتوجب علينا معرفة خواص السلاسل الجانبية للأحماض الأمينية:

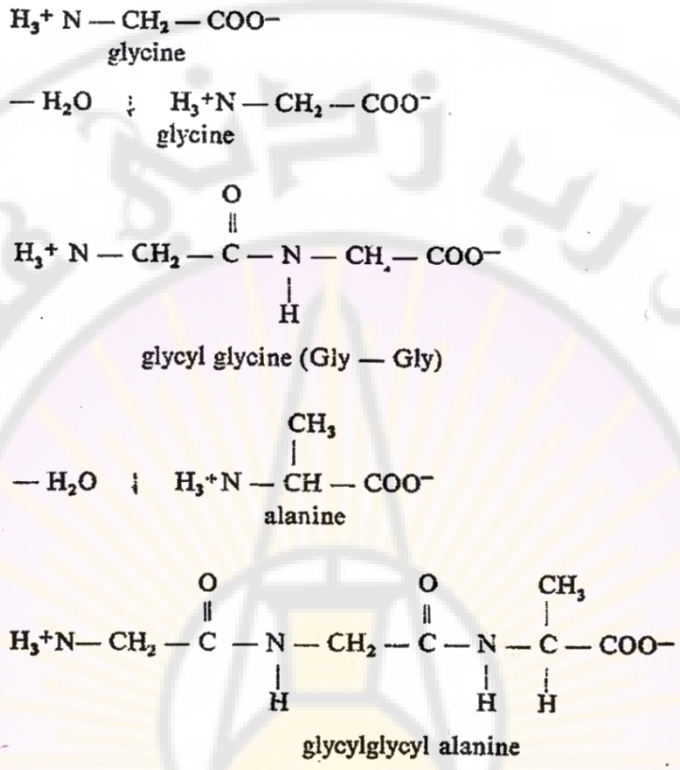
- مجموعة الهيدروكسيل الكحولية: يمكن أن تشكل رابطة أسترية مع حمض الفوسفوريك كما في الفوسفوسيرين.
- مجموعة الثيول الموجودة في حمض السيستيين والتي يمكن أكسدتها أثناء اتحاد جزيئين من السيستيين ليشكلا جسر ثنائي الكبريت. يلعب هذا النوع من الروابط دوراً مهماً في تركيب البروتين الثالي والرابعي.

4-3- التركيب الأولي للببتيدات والبروتينات: إن كل من الببتيدات والبروتينات مؤلف من أحماض أمينية مرتبطة ببعضها بعضاً بوساطة روابط ببتيدية تشبه روابط البيوريت (biuret) الذي يتكون من اتحاد جزيئين من اليوريا، ولهذا السبب فإن الببتيدات تعطي التفاعل الخاص بالبيوريت المميز بلون بنفسجي عند إضافة كبريتات النحاس في وسط قلوي.



تقسم الببتيدات إلى قسمين مركبة Oligopeptides وعديدة Polypeptides

- الببتيدات المركبة: عندما يحتوي الببتيد على حمضين أمينين يسمى ثنائي Dipeptide أما الببتيد الحاوي على ثلاثة أحماض أمينية يدعى ثلاثي Tripeptide ، كما تشمل الببتيدات المركبة كل المركبات التي تحتوي على أقل من عشرة أحماض أمينية.



تبدأ عادة تسمية الببتيدات بالحمض الأميني الذي تكون مجموعته الأمينية حرة ونذكر أسماء الأحماض الأمينية بالترتيب مع استبدال نهاية اسم الحمض ين بالنهاية ايل، فنقول غلايسيل لمشتق الحمض الأميني غلايسين ماعدا الحمض الأميني الأخير فيبقى على حاله (الآنين). إن لترتيب الأحماض الأمينية أهمية كبيرة فإن تغيير هذا الترتيب ينتج لدينا ببتيد آخر فمثلاً الببتيد الثلاثي غلايسيل غلايسيل الآنين مختلف عن الآنيل غلايسيل غلايسين وعن غلايسيل الآنيل غلايسين.

- **الببتيدات العديدة Polypeptides**:

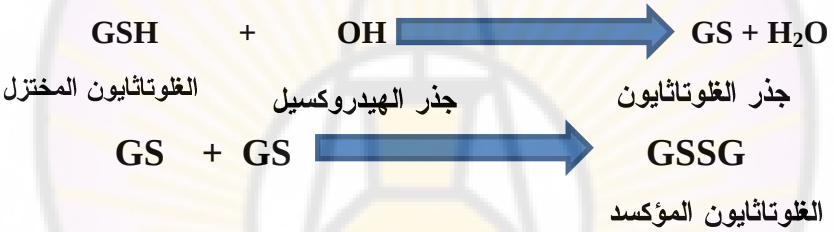
هي الببتيدات الحاوية على أكثر من 10 أحماض أمينية، وما البروتينات إلا عبارة عن ببتيدات ولكنها تحتوي بالإضافة للروابط الببتيدية على روابط أخرى تعطيها تركيب أكثر تعقيداً. إن الحد الذي يمكن اعتباره فاصلاً بين الببتيدات والبروتينات هو الوزن الجزيئي 10000 دالتون، فالبروتين هو الذي يتجاوز هذا الوزن ولا يستطيع العبور من خلال غشاء السلوفان المستخدم في عملية الفصل الغشائي Dialysis. يتجاوز عدد من الببتيدات بشكل حر في

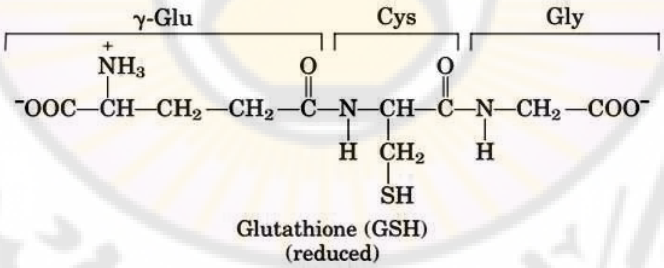
الخلايا الحيوانية والنباتية والبكتيريا وتتميز هذه الببتيدات بأن لها وظائف فيزيولوجية مهمة كالهرمونات والمضادات الحيوية وسنتعرف على بعض منها.

- **بعض الببتيدات ذات الأهمية البيولوجية:**

1) الغلوتاثيون Glutathione

الغلوتاثيون من الببتيدات الثلاثية Tripeptides ويتألف من حمض الغلوتاميك والسيستيين والغلايسين ويرمز له GSH وهو موجود في السيتوبلازم والميتوكوندريا والنواة في الحيوانات والنباتات والبكتيريا وأهم وظيفة للغلوتاثيون إنه يعد من مضادات الأكسدة Antioxidants الذائبة في الماء التي تعمل على إزالة العديد من المواد المؤكسدة Oxidants المتكونة في الجسم من خلال تفاعلها معهم ومثال ذلك جذر الهيدروكسيل (OH·) Hydroxyl radical والذي يتم إزالته كما في المعادلات الآتية:







الغلوتاثيون المختزل والغلوتاثيون المؤكسد

إن احتواء GSH على مجموعة الثيول SH– تجعله من العوامل المختزلة التي لها قابلية على إعطاء ذرة الهيدروجين. ويعمل الغلوتاثيون مع أنزيم غلوتاثيون بيروكسيديز (GPX) Glutathione Peroxidase على إزالة مركبات البيروكسيدات العضوية (ROOH) وبيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2). إذ يتفاعل غلوتاثايون مع كل من هذه المركبات لينتج غلوتاثيون مؤكسد (GSSG) وكما في المعادلات الآتية:

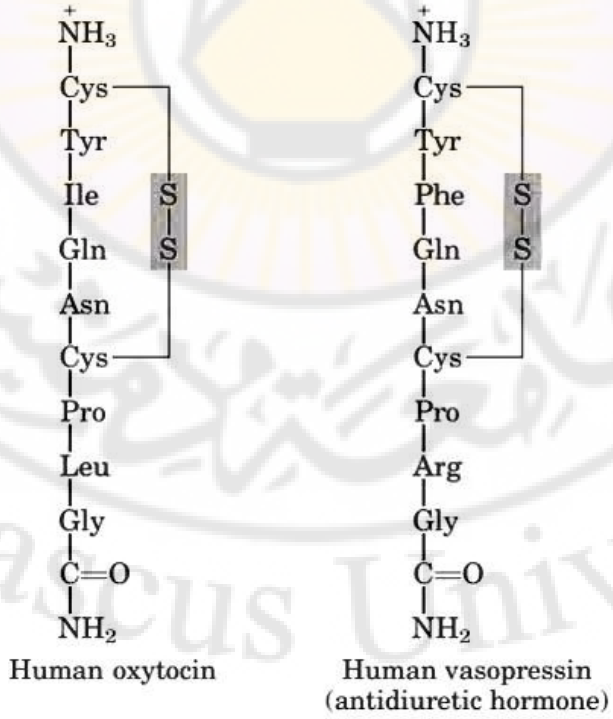
$$2GSH + H_2O_2 \rightarrow GSSG + {}_2H_2O$$

$$2GSH + ROOH \rightarrow GSSG + ROH + H_2O$$

والوظيفة الأخرى للغلوتاثيون إنه يقوم بنقل الأحماض الأمينية من خارج الخلية إلى داخلها بدورة مستر cycle Meister في الأنابيب البولية والأمعاء والتي سيتم التطرق لها بالتفصيل في بحث استقلاب الأحماض الأمينية وفضلاً عن ذلك فإن الغلوتاثيون ضروري لعمل العديد من الإنزيمات الأخرى وكذلك لعمل هرمون الأنسولين.

2) الأوكسيتوسين Oxytocin:

الأوكسيتوسين هرمون حلقي يتكون من تسعة أحماض أمينية يفرز من الفص الخلفي للغدة النخامية، ويكثر إفرازه أثناء العمل إذ يعمل على تقلص الرحم أثناء الولادة كما يقوم بوظيفة تقلص العضلات الملساء في الغدة اللبنية مؤدياً إلى إفراز الحليب.



Human oxytocin — Human vasopressin (antidiuretic hormone)

3) الفازوبرسين Vasopressin:

الفازوبرسين هرمون حلقي يتكون من تسعة أحماض أمينية ويفرز أيضاً من الفص الخلفي للغدة النخامية. وبعمل على رفع ضغط الدم عند زيادة تركيزه ويستخدم في عملية تأخير النزيف بعد المخاض.

4) الغراميسدين إس Gramicidin S :

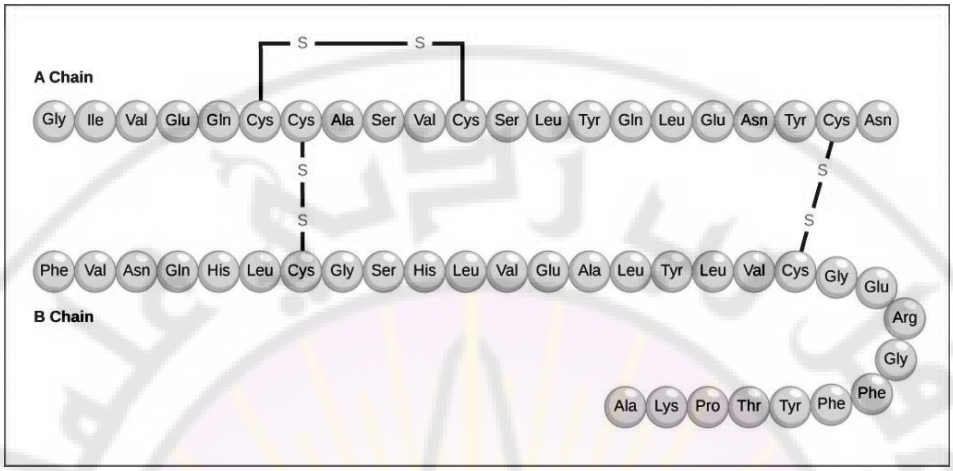
ببتيد حلقي يتكون من عشرة أحماض أمينية على شكل ببتيد خماسي مكرر مرتين وأحماضه الأمينية هي: الفالين – الأوريذثين – الليوسين – الفينيل الأنين – البرولين

يقوم الغراميسدين اس بوظيفة مضاد حيوي Antibiotic للعديد من أنواع البكتيريا الموجبة والسالبة لصيغة غرام وكذلك العديد من الفطريات المرضية Fungus.



Gramicidin S

5) هرمون الأنسولين Insulin: تفرزه غدة البنكرياس ويقوم بوظيفة تنظيم استخدام الغلوكوز من قبل الجسم وعندما يتوقف البنكرياس عن إفراز هذا الهرمون يصاب الإنسان بما يسمى مرض السكري. يعد الأنسولين أول ببتيد عرف تركيبه ويعود الفضل في ذلك إلى العالم البريطاني فريدريك سنكر Frederick Sanger ويساوي وزنه الجزيئي 6000 دالتون ولكنه يمكن أن يتكاثف ليعطي بوليمر ذا وزن جزيئي 12000 أو 24000 دالتون. تبين صيغة الأنسولين البنائية أنه مؤلف من سلسلتين، الأولى (B) وتحتوي على 21 حمض أميني ولا يوجد بينها أحماض أمينية قاعدية والثانية (A) وتحتوي على 30 حمض أميني من بينها أحماض أمينية قاعدية، كما يوجد في جزيء الأنسولين ثلاثة جسور ثنائية الكبريت، اثنان منها بين السلسلتين A و B، والثالث على مستوى السلسلة (A).



4-4- التركيب الفراغي للبروتينات:

تتألف البروتينات من سلاسل طويلة من الببتيدات العديدة وهي تشكل التركيب الأولي للبروتين، ولكن في الحقيقة فإن لكل بروتين تركيب فراغي (ثلاثي الأبعاد) خاص به ويحافظ عليه بروابط أخرى عدا الروابط الببتيدية. فلكل بروتين تركيب ثانوي وثالثي ولبعضها تركيب رابعي. ولكن قبل أن ندخل في دراسة تفاصيل هذه التراكيب، لا بد من معرفة ماهية الروابط التي تسمح بتكوين كل نوع من التراكيب والتي تقسم إلى أربعة أنواع وهي روابط ثنائية السلفيد والشاردية والهيدروجينية والكارهة للماء.

1) روابط السلفيد الثنائية (الجسر ثنائي الكبريت): Disulphide bonds

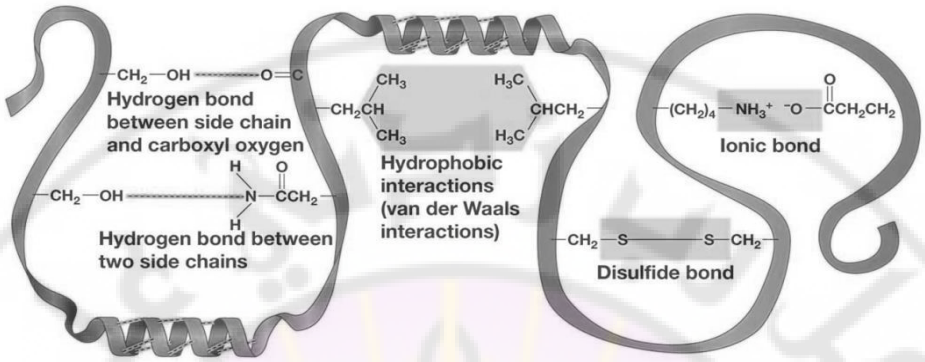
يعد هذا النوع من الروابط والذي يدعى بالروابط التشاركية قوياً وتتكون بين جزيئين من حمض السيستيين ينتميان لنفس السلسلة الببتيدية أو لسلسلتين مختلفتين كما مر معنا في تركيب الأنسولين.

Cys-S-S-Cys

تتراوح طاقة رابطة ثنائية السلفيد بين 50 و100 كيلو كالوري/مول وتعد أقوى الروابط التي تساهم في تثبيت التركيب الفراغي للبروتين، يمكن فصل الرابطة ثنائية السلفيد باستخدام العوامل المختزلة مثل بيتا مركابتو ايثانول β- mercaptoethanol الذي له قدرة على اختزال هذه الرابطة.

2) الروابط الأيونية Ionic bonds:

تعد الروابط الشاردية أقل قوة من الروابط التشاركية وتنشأ بين جذرين حمضيين أحدهما قاعدي (كاللايسين والأرجينين) والآخر حمضي (كالاسبارتيك والغلوتاميك).



أنواع الروابط في البروتينات.

ينشأ هذا النوع من الروابط لدى البروتينات غير المتجانسة مثل النيكليوبروتينات فتتواجد روابط شاردة بين الحموض النووية المشحونة سلبياً والبروتينات القاعدية وخاصة الهستونات Histones المشحونة إيجابياً.

3) الروابط الهيدروجينية Hydrogen bonds:

يتكون هذا النوع من الروابط غير التشاركية عندما تكون ذرة هيدروجين مرتبطة بذرة آزوت أو أوكسجين بمقربة ذرة آزوت أو أوكسجين حاوية على زوج الكتروني. يمكن أن تنشأ هذه الروابط بين الببتيدات كما سنراه لدى تكون السلسلة الحلزونية البروتينية أو بين السلاسل الجانبية للببتيدات. تتراوح طاقة هذا النوع من الروابط بين 2 و 5 كيلو كالوري/مول.

4) التداخلات الكارهة للماء Hydrophobic Interaction:

إن السلسلة الجانبية لبعض الأحماض الأمينية ذات طبيعة كارهة للماء كما في الآلانين، الفالين، الليوسين...الخ، وهي لا تشكل روابط هيدروجينية مع الماء. تقوم السلاسل الجانبية بدفع السلاسل الكارهة للماء فتميل الأخيرة للتجمع مع بعضها بعضاً وتسمح بتكوين روابط ضعيفة نسبياً من نوع قوى فاندرفالس ذات الطاقة التي تتراوح بين 1 و 2 كيلو كالوري لكل مول حيث تتجاذب المجموعات الهيدروكربونية غير القطبية عندما تبتعد الذرات مسافة محددة وتتنافر عندما تتقارب من بعضها البعض.

تعد البروتينات ذات تراكيب معقدة ليس لكونها ذات أوزان جزيئية عالية فحسب وإنما بسبب طريقة ترتيب ذرات جزئية البروتين نفسه الذي يعتمد على صفاته الفيزيائية والكيميائية وبالتالي سوف يختلف تركيب بروتين عن بروتين آخر باختلاف أمور عدة يمكن تلخيصها بالنقاط التالية:

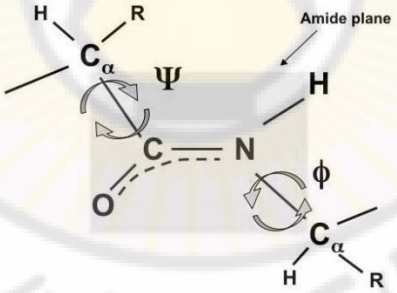
1) عدد ونوع الأحماض الأمينية الموجودة في سلاسلها الببتيدية.

2) تتابع أو تسلسل الأحماض الأمينية في كل سلسلة ببتيدية.
3) التوزيع الفراغي للمجموعات الوظيفية والذرات في السلسلة الببتيدية.
4) الترتيب ثلاثي الأبعاد لجزيئة البروتين.
5) الشكل العام لجزيئة البروتين.
6) تجمع جزيئات الوحدة البروتينية مع وحدات أخرى لتكوين مجموعات ذات أوزان جزيئية عالية.
7) ارتباط البروتينات مع مواد غير بروتينية.

4-4-1- التركيب الأولي Primary Structure:

هو عبارة عن ارتباط الأحماض الأمينية مع بعضها بعضاً بروابط ببتيدية ولا تتدخل أية قوى ارتباط عدا الروابط الببتيدية وتتميز بثباتها حيث تقع الذرات المكونة للرابطة الببتيدية في مستوى واحد ذلك لوجود الرابطة المضاعفة بين ذرة الكربون والأوكسجين ويمكن أن تغير موقعها طبقاً لظاهرة الطنين لذلك تنحصر إمكانية الدوران الحر حول محور الرابطة الأحادية لذرة الكربون α.

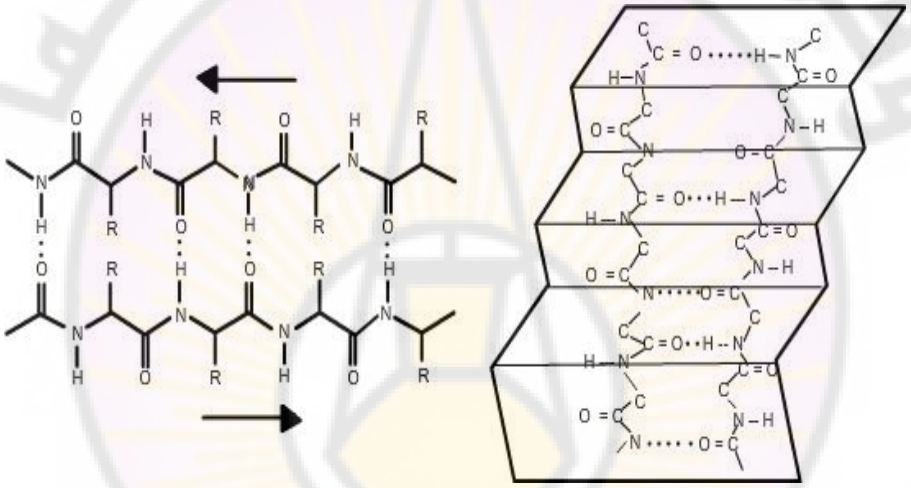
يحدث دوران السلسلة الببتدية عادة حول الرابطة Cα-C وتدعى زاوية الدوران ψ psi كما يمكن أن تدور حول الرابطة Cα-N وتدعى زاوية Phi φ.



4-4-2- التركيب الثانوي: Secondary Structure:

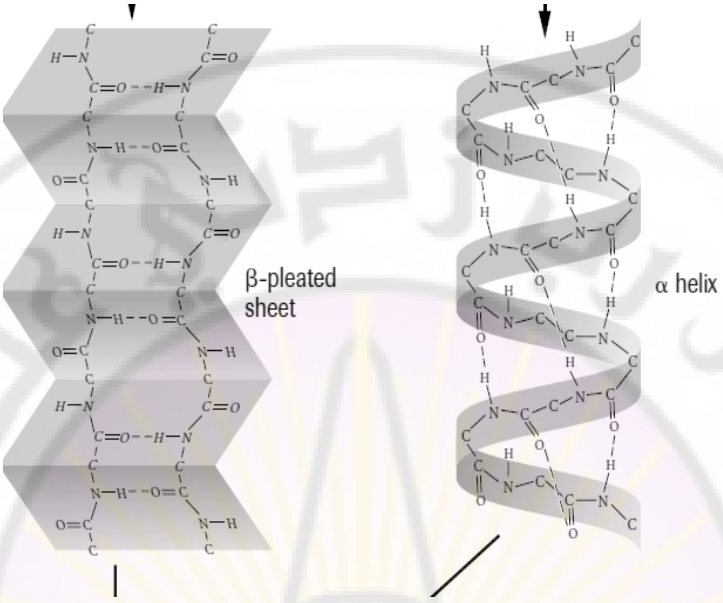
ينتج التركيب الثانوي للبروتينات من إمكانية تشكيل روابط هيدروجينية بين أوكسجين مجموعة الكربونيل وهيدروجين الرابطة الأميدية كما يمكن أن يحدث ارتباط السلاسل الببتيدية بعدة طرق وقد تم تحديدها بفضل العالمين Pauling And Corey وذلك باستخدام أشعة إكس أثناء دراسة بللورات الببتيدات. نميز لدى البروتينات نوعين أساسيين من التراكيب الثانوية، التركيب الحلزوني وتركيب الصفيحة المطوية.

1) **تركيب الصفيحة المطوية بيتا β–pleated sheet**: توجد السلاسل الببتيدية بجانب بعضها بعضاً وبشكل متعرج (زكزاك) ويثبت تركيبها الروابط الهيدروجينية بين السلاسل الببتيدية. يوجد هذا النوع من التركيب في البروتينات الليفية كما في β كيراتين كما يعد تركيب الحرير الطبيعي نموذجاً للصفيحة المطوية بيتا ويمكن أن تتواجد السلاسل الببتيدية المكونة لهذا التركيب أما بشكل متوازٍ Parallel أو بشكل متعاكس Antiparallel. يتميز تركيب الصفيحة المطوية بأن الروابط الهيدروجينية فيه عمودية على محور السلاسل الببتيدية على عكس حالة التركيب الحلزوني.



تركيب الصفيحة المطوية.

2) **التركيب الحلزوني α helix**: تتوضع السلسلة الببتيدية في هذا التركيب بشكل حلزوني وذلك بفضل الروابط الهيدروجينية التي تتكون ضمن السلسلة الواحدة وتتضمن كل لفة من هذا الحلزون 3.7 حمض أميني. ويقدر قطر الحلزون بعشرة أنغستروم (10A)، تشكل مستويات توضع الروابط الببتيدية المتجاورة عند التقائها في مستوى ذرة الكربون °80 α، كما تكون الجذور الجانبية للأحماض الأمينية متجهة إلى خارج الحلزون. يمكن أن يكون الحلزون ∝ يميني الاتجاه Right Handed -Helix والذي يكون مستقراً، كما يمكن أن يكون يساري الاتجاه Lift Handed Helix والذي يكون أقل استقراراً. يعد ألفا–كيراتين Keratin -∝ الشكل النموذجي للتركيب الحلزوني ألفا لاحتوائه على أعداد كبيرة من السلاسل الببتيدية المترابطة بالروابط الهيدروجينية. كما توجد هناك البنية العشوائية للتركيب الثانوي حيث لا توجد فيها أي من الحالتين وبذلك لا تملك السلسلة الببتيدية شكلاً هندسياً في الفراغ.

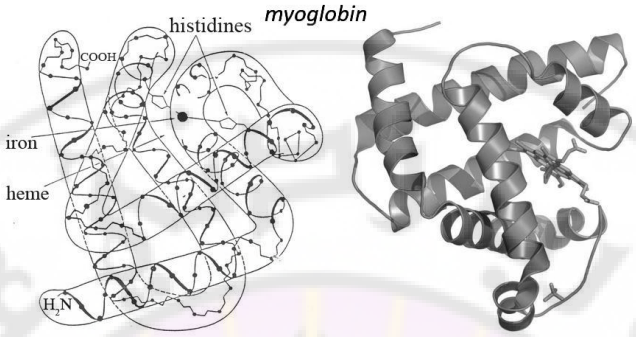


التركيب الثانوي الحلزوني ألفا

4-4-3- التركيب الثالثي Tertiary Structure:

تنطوي السلاسل الببتيدية التي سبق وأن توضعت في التركيب الثانوي لتشكل بروتين ذو تركيب معقد نسبياً وذا توزيع فراغي محدد Three Dimensional Structure. نعبر عن التركيب الفراغي ثلاثي الأبعاد للبروتين بالتركيب الثالثي والذي ينتج بسبب الروابط المتكونة بين الجذور الثانوية للأحماض الأمينية الداخلة في تركيب البروتين الثانوي كالروابط الهيدروجينية وثنائية السلفيد والروابط التشاركية والكارهة للماء، وتساعد هذه الروابط على المحافظة على التركيب الثالثي للبروتين، وتجعل السلسلة الببتيدية مطوية بشدة وتصبح مرصوصة ككرة خيوط الصوف.

بفضل استخدام أشعة × في دراسة تركيب البروتينات تم تحديد التركيب الثالثي لبعض البروتين، ويعود الفضل الكبير للعلماء Prutz ومساعديه (1960-1961) و Kendrew ومساعديه أيضاً (1960-1962) في تحديد التركيب الثالثي للهيموغلوبين والميوغلوبين. يعد تحديد التركيب الثالثي للبروتينات ذو أهمية كبيرة لدراسة نشاطها البيولوجي وخاصة تحديد المراكز الفعالة كما هو الحال لدى البروتينات الأنزيمية. ويعد الميوغلوبين Myoglobin مثالاً نموذجياً للتركيب الثالثي للبروتين حيث يتكون من سلسلة واحدة من ببتيد عديد من النوع الحلزوني الفا (a -helix) مكونة من 153 حمض أميني وعلى مجموعة هيم Heme واحدة حاوية على الحديد. يقوم الميوغلوبين بنقل الأوكسجين إلى العضلات وتخزينه فيها.

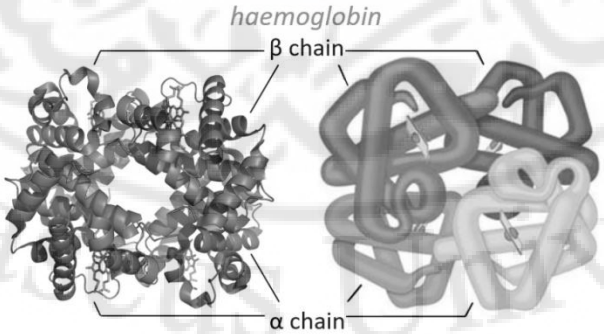


تركيب الميوغلوبين

4-4-4- التركيب الرابعي: Quaternary Structure

يدعى التركيب رابعياً إذا احتوى عديد الببتيد أكثر من سلسلة ببتيدية حيث يمكن أن يكون مكون من وحدتين (سلسلتين) Dimer أو 4 وحدات Tetramer.

ينتج التركيب الرابعي من ارتباط عدة وحدات بروتينية ضمن ظروف محددة لتعطي بروتين مركب Oligomer. يمكن أن ينتج التركيب الرابعي من ارتباط عدة تحت وحدات متماثلة Homogenous أو غير متماثلة Heterogeneous، فمثلاً يتكون الهيموغلوبين المسؤول عن نقل الأوكسجين من الرئتين إلى مختلف الأنسجة من أربعة تحت وحدات حيث تتشابه الأولى والثانية (2α) وتختلفان عن الثالثة والرابعة اللتان تتشابهان فيما بينهما (2β). يمكن أن يحدث التركيب الرابعي بين تحت وحدات بروتينية وأخرى غير بروتينية كما في التركيب الرابعي لبعض الفيروسات حيث يرتبط الحمض النووي مع بروتين. كما تعد الأنزيمات المتماثلة (Isoenzymes) في عملها لنفس مادة التفاعل Substrate والتي تختلف في خواصها الأخرى (مثل Vmax, Km) ذات تركيب رابعي ومثال ذلك أنزيم Hexokinase, Phosphatase, Lactate Dehydrogenase.



التركيب الرابعي للهيموغلوبين

4-5- الخواص الفيزيائية والكيميائية للبروتينات:

4-5-1- ذوبان وترسيب البروتينات:

يعتمد ذوبان البروتينات على خواص المادة المذيبة بالإضافة إلى نوع المجاميع الوظيفية سواءً كانت حمضية أو قاعدية ونسبتها وكذلك الشحنات النهائية للجزيئات البروتينية. هناك عدة عوامل تؤثر على ذوبان البروتينات سنقوم بشرح أهمها وفقاً لما يلي:

1) **تأثير الأملاح المتعادلة:** يتأثر ذوبان البروتين في المحاليل المائية بتركيز الأملاح المتعادلة المذابة في المحلول فعند استخدام كبريتات الأمونيوم $(NH_4)_2SO_4$.

نلاحظ أن يرسب العديد من البروتينات ولكن تحتاج عمليات الترسيب إلى كميات مختلفة من الملح حسب نوع البروتين ويعود ذلك لاختلاف القوى الشاردية للملح التي تتأثر بتركيز الملح وشحنة الشوارد.

إن البروتينات ذات الشكل الكروي Globular لا تذوب إلا قليلاً في الماء وتزداد درجة ذوبانها كثيراً بفعل الأملاح المتعادلة المستخدمة مثل كبريتات الأمونيوم $(NH_4)_2SO_4$ وكبريتات الصوديوم Na_2So_4 وكبريتات البوتاسيوم K_2So_4 وكلوريد المغنيزيوم $MgCl_2$ وكبريتات المغنيزيوم $MgSO_4$. إن سبب ترسب البروتينات عند وجود تراكيز ملحية عالية هو أن شوارد الأملاح تجذب حول نفسها جزيئات الماء القطبية تاركة جزيئات البروتين ما يؤدي إلى تجمعها مع بعضها وبالتالي ترسيبها وتدعى هذه الظاهرة الترسيب بالتمليح Salting Out بينما التراكيز المنخفضة من الأملاح تزيد ذوبانية بروتينات عديدة وتدعى هذه الظاهرة الإذابة بالتمليح Salting In ويمكن تفسير مثل هذه الظاهرة إلى التغيرات الحاصلة في قابلية التشرد لمجاميع R القابلة للتفكك Dissociable، إذ كما هو معلوم أن أحد العوامل التي تزيد من ترابط البروتين هو اختلاف الشحنات في جزيئة البروتين وتقل باستخدام الأملاح والتي تعمل على إعطاء شوارد ترتبط بمجاميع الشحنات في البروتين وتقلل التداخل وبالتالي زيادة الذوبان.

2) **تأثير درجة الـ pH:** يؤثر pH على ذوبان البروتينات ويكون ذوبان البروتينات أقل ما يمكن عند نقطة التعادل الكهربائي Isoelectric point pHi حيث تكون محصلة الشحنات على البروتين صفراً، بينما يزداد ذوبان البروتينات كلما ابتعدت قيمة الـ pH عن الـ pHi سواء باتجاه القلوية أو الحمضية. عند نقطة التعادل الكهربائي تكون قوى التنافر الكهربائي الساكن Electrostatic Repulsion forces بين جزيئات المذاب في أدنى مستوى وتكون قوى التماسك البللوري Crystal Lattice Forces للحالة الصلبة

في أعلى مستوى أي يزداد الترسيب، أما في حالة وجود شوارد موجبة أو سالبة بكمية كبيرة فقوى التنافر تزيد من ذوبان البروتينات.

3) تأثير المذيبات العضوية: تترسب العديد من البروتينات باستخدام مذيبات عضوية مثل الأسيتون والإيثانول والميثانول وذلك بسبب كون تلك المذيبات العضوية لها ثابت عزل كهربائي Dielectric Constant أقل من الماء وبالتالي تعمل على زيادة الروابط الهيدروجينية مع جزيئات الماء مما يقلل التداخل الحاصل بين البروتين وجزيئات الماء، وبالتالي يمكن استخدام هذه الخاصية في عملية الفصل الجزيئي لبروتينات مختلفة استناداً إلى أوزانها الجزيئية. إن استخدام عملية الترسيب بالمذيبات العضوية تكون عند درجة حرارة مقاربة للصفر المئوي لأن ارتفاع درجة حرارة المحلول كنتيجة للحرارة المنبعثة من المزج وكون الدرجات الحرارية العالية تعمل على تخرب البروتين. وهناك مركبات عضوية كثنائي مثيل سلفوكسيد N,N ,Dimethyl sulfoxide – وثنائي مثيل فورأميد N,N-dimethyl form amide لهما ثابت عزل كهربائي عال وبالتالي تعد مذيبات جيدة للبروتينات.

4) تأثير الشوارد السالبة للأحماض: تؤثر الشوارد السالبة الناتجة من بعض الأحماض العضوية كحمض ثلاثي كلور الإسيتيك، التانيك، الفوسفوتانسغتيك، على البروتينات عندما تكون في وسط حمضي حيث تكون مشحونة إيجابياً وتؤدي إلى ترسيبها وذلك بسبب معادلة شحناتها عن طريق تغيير pH الوسط للمحلول المذاب فيه البروتين وتغيير نقطة التعادل الكهربائي (PI) للبروتين وترسيبه.

5)- تأثير الحرارة: تساعد الحرارة على تخثر العديد من البروتينات وعلى الرغم من أن الحرارة المؤثرة لهذه العملية ما بين 38 و75 درجة مئوية إلا أن عوامل أخرى تؤثر في عملية تخثر البروتينات ويكون البروتين أسهل تخثراً عندما يكون في نقطة التعادل الكهربائي له. وبنتيجة عملية التخثر تتكون هناك مواد غير مذابة Coagulum والتي لا يمكن إذابتها إلا بعد تحللها مائياً أو بعد تخربها.

6)- تأثير شوارد المعادن الثقيلة: تؤثر شوارد المعادن الثقيلة على البروتينات الموجودة في وسط قلوي، حيث تكون درجة الـــ pH للوسط أكبر من درجة pHi للبروتينات، ويؤدي لترسيبها نظراً لمعادلة شحنات البروتينات السالبة بوساطة الشوارد الموجبة مثل شوارد الزئبق والباريوم والزنك والنحاس والفضة والرصاص والحديد، ولا يعود البروتين المترسب بفضل شوارد الفضة والزئبق للذوبان بزيادة المادة المرسبة، بينما تعود البروتينات الراسبة بفعل كبريتات النحاس وكلور الحديد إلى الذوبان بزيادة كميات إضافية من المادة المرسبة.

4-5-2- الخاصة المذبذبة للبروتينات:

تستطيع البروتينات أن تسلك سلوك الأحماض والقواعد الضعيفة بآن واحد وذلك لاحتوائها على مجموعات كربوكسيل وأمين قادرة على التفاعل مع الأحماض والقواعد. مصدر هذه المجموعات الوظيفية هي السلاسل الجانبية لبعض الأحماض الأمينية حيث إن مجموعتي الكربوكسيل والأمين دخلتا في تكوين الرابطة الببتيدية ومن الأمثلة على ذلك مجموعة β- كربوكسيل للاسبارتيك ومجموعة السلفهدريل للسيستيين ومجموعه ϵ-أمين للايسين. ويحتوي البروتين عند نقطة التوازن الكهربائي pHi (الجدول 4-2) على عدد متساوٍ من الشحنات الموجبة والسالبة. تقوم البروتينات بفعل تنظيمي في النظم البيولوجية في جسم الكائن الحي ذلك بفضل وجود الشحنات العديدة لديها، ففي دم الإنسان يقوم هيموغلوبين والبومين وغلوبولين الدم بعمل تنظيمي للمحافظة على درجة الpH في الدم بين 7.3-7.5.

الجدول 4-2: نقطة التعادل الكهربائي لبعض البروتينات

البروتين	pH_i
البيسين Pepsin	1
أوفالبومين Ovalbumin	4.6
فيبرنوجين Fibrinogen	5.5
الهيموغلوبين Hemoglobin	6.9
سيتوكروم Cytochrome C	10.6

4-5-3- تغير تركيب البروتينات Denaturation:

تتكون البروتينات كما سبق وذكرنا من ارتباط الأحماض الأمينية مع بعضها بعضاً كما تأخذ البروتينات أشكالها الثلاثية الأبعاد نتيجة التركيب الثانوي والثالثي والرابعي الخاص بكل منها ويدعى البروتين في هذه الحالة بالبروتين الطبيعي Native Protein. تغير التوضع الفراغي لجزيئات البروتين بدون قطع أي رابطة ببتيدية، يدعى بتغير تركيب البروتين Denaturation، يمكن أن ينتج هذا التغير بسبب عدة عوامل فيزيائية أو كيميائية كالحرارة والأشعة فوق البنفسجية والموجات فوق الصوتية والـ pH والمذيبات العضوية (الأسيتون والإيثانول) ومحاليل اليوريا التي تحطم الروابط الهيدروجينية. يمكن أن يكون تغير البروتين عكسياً كما في تأثير الـ pH أو غير عكسي كما في تأثير الحرارة على الأوفالبومين الموجود في بياض البيض. تطرأ على البروتينات المخربة تغيرات كانخفاض قابليتها للذوبان وتحطم الروابط الهيدروجينية فيها ما يؤدي إلى فقدان التركيب الحلزوني ألفا كما تزداد الفعالية الشاردية للبروتين بسبب تحرر العديد من المجموعات الوظيفية كالثيول، ويفقد البروتين المتحلل لصفاته الحيوية الأساسية ويسهل تحلله بوساطة الأنزيمات. يمكن أن يكون التخرب

عكسياً ويتوقف ذلك على طبيعة البروتين ومدة التعرض لعامل التخرب ودرجة التخرب ونوع عامل التخرب، كما يمكن أن يكون التخرب غير عكوس.

4-6- عزل وتجزيء وتنقية البروتينات

إن الحصول على بروتين نقي اعتباراً من الخلايا عمل ليس بالسهل ويحتاج للمرور بعدة مراحل فنحتاج لعمليات الفصل الغشائي Dialysis لإبعاد الجزيئات الصغيرة وعمليات الترسيب بالملح كسلفات الأمونيوم كما قد نضطر إلى إجراء ترسيب باستخدام خاصية التعادل الكهربائي لفصل البروتينات عن بعضها البعض. نحتاج أيضاً أثناء عمليات الفصل البروتيني لاستخدام كروماتوغرافيا الادمصاص باستخدام الهلام Adsorption Chromatography حيث يتم حجز قسم من البروتينات وجرف قسم آخر وذلك من خلال التحكم بدرجة الـ pH للوسط السائل وقد نحتاج أيضاً لكروماتوغرافيا تبادل الشحنات Ion Chromatography Exchange أو للترحيل الكهربائي Electrophoresis

4-7- تقدير البروتين Protein determination:

هناك عدة طرائق يمكن من خلالها تقدير البروتينات، منها ما يعتمد على تقدير النتروجين الكلي في العينة ومنها ما يعتمد على قياس الشدة اللونية.

4-7-1- طريقة كلدال Kjeldahl method:

تحتاج هذه الطريقة إلى كميات عالية عكس الطرائق التي تستخدم فيها الطرائق الطيفية، ويتم في هذه الطريقة هضم المادة البروتينية مع حمض الكبريتيك المركز بوجود أحد العناصر المعدنية (السيلينيوم أو النحاس أو الزئبق) كعامل مساعد، فتتحول المواد الآزوتية العضوية إلى كبريتات الأمونيوم الحمضية كما في المعادلة الآتية:

تعامل NH_4HSO_4 مع هيدروكسيد الصوديوم فيتولد عن ذلك الأمونيا التي تعامل مع محلول حمضي مثل HCL ذي تركيز معلوم.

$$NH_4HSO_4 + 2NaOH \rightarrow NH3 \uparrow + 2Na^{+} + SO_4^{-2} + H_2O$$

$$\text{Protein} \xrightarrow[\text{Cu, Se, Hg}]{H_2SO_4} CO_2 + H_2O + NH_4HSO_4$$

ومن هذه المعلومات يمكن معرفة وزن الآزوت في العينة. ولما كانت نسبة الآزوت في أية مادة بروتينية تعادل 16% تقريباً لذا يمكن استخراج وزن الآزوت من حاصل ضرب العامل 6.25 (أي 16/100) بوزن الآزوت. يمكن أن يختلف معامل الضرب باختلاف المادة البيولوجية فهو 5.7 للحبوب مثلاً.

4-7-2- امتصاص البروتين للأشعة فوق البنفسجية:

بما أن التربتوفان له معامل امتصاص مولاري Extination coefficient أعلى من بقية الأحماض الأمينية الحلقية، لذا فإن معظم امتصاص البروتين للأشعة فوق البنفسجية يعزى إلى التربتوفان. وبهذه الطريقة يمكن قياس كمية البروتين من قياس كمية الأشعة فوق البنفسجية عند الطول الموجي 280 نانوميتر بوساطة المطياف الضوئي Spectrophotometer .وهذه الطريقة سريعة وبالإمكان استرجاع عينة البروتين بعد التقدير. وهناك مركبات أخرى مثل الأحماض النووية تظهر امتصاصية عند الطول الموجي 260 نانوميتر.وهي بهذا تظهر الامتصاصية عند 280nm لذا فإن مقدار الامتصاصية Absorbance لعينة بروتين ما، تحدد عند 280 وكذلك 260 ثم تحسب النسبة بينهما:

$$\frac{\text{الامتصاصية عند الطول الموجي } 280}{\text{الامتصاصية عند الطول الموجي } 260}$$

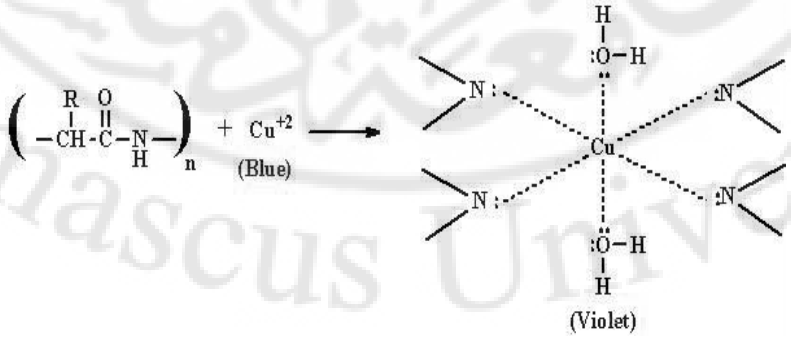
واعتماداً على مقدار هذه النسبة يستخرج عامل التصحيح Correction factor مرجعي ثم يحسب تركيز البروتين كما يأتي:

تركيز البروتين (ملغم/مل)= عامل التصحيح× الامتصاص عند 280 نانوميتر

إذ قيمة عامل التصحيح للبروتين النقي تكون أكثر من 1.7 وللأحماض النووية أقل من 0.5.

4-7-3- طريقة البيوريت Biuret method

تعطي البروتينات التي تحتوي على رابطة ببتيدية واحدة أو أكثر لوناً بنفسجياً عند معاملتها مع محلول يحوي كبريتات النحاس في وسط قاعدي (مثل هيدروكسيد الصوديوم NaOH)، واللون الذي يقاس عند الطول الموجي 570 نانوميتر ناتج عن تكوين معقد بين أيون النحاس Cu^{++} مع أربعة ذرات نيتروجين، كل اثنين من رابطتين ببتيديتين في السلاسل الببتيدية كما في المعادلة الآتية:



هناك بعض المركبات التي يمكن أن تتداخل مع تفاعل البيوريت مثل الأمونيا واليوريا إذ عند تفاعلها تعطي لوناً أزرق مع أيون النحاس ++Cu كما في المعادلة الآتية:

$$Cu^{++} + 4NH_3 \rightarrow Cu(NH_4)_4^{++}$$

وتستخدم طريقة البيوريت لتقدير محتوى البروتين عند تراكيز من 1 إلى 20 ملغ، وهذة الطريقة ليست ذات حساسية عالية لتقدير تراكيز قليلة من البروتين.

4-7-4- طريقة لوري المعدلة Modified Lowery method

تسمى هذه الطريقة أيضاً بطريقة فولن – سيوكالتيو Folin-Ciocalteu وهي طريقة لونية محورة عن طريقة البيوريت في تقدير البروتين، إذ ينتج عنها تكوين لون أزرق يمتص عند الطول الموجي 750 نانوميتر وهذا اللون ناتج من مصدرين هما: تفاعل كبريتات النحاس (اختبار البيوريت) مع البروتين وتكوين مركب النحاس كما في الطريقة السابقة، والمصدر الثاني من اختزال معقد فوسفات المولبيدينوم والتنغستين من قبل وحدات التيروزين الموجودة في البروتين كما في المعادلة أدناه:

Protein+ Phosphomolibdo tungistic Complex → blue color complex

بروتين يحتوي على التيروزين — معقد ذو لون أزرق يقاس عند الطول الموجي 750 نانو ميتر

إن هذا اللون الناتج عن التيروزين الموجود في البروتين الذي يقلل من استخدام هذه الطريقة، لأن البروتينات تحتوي على كميات مختلفة من التيروزين ولا يمكن استخدامها لتقدير البروتينات عند وجود مركبات فينولية أخرى في العينة إضافة إلى كون هذه الطريقة تعطي حساسية عالية لتقدير كميات ضئيلة من البروتين تتراوح بين 25-500 ميكروغرام. هناك طرائق حديثة أخرى تستخدم في البحوث المتقدمة لتقدير كميات ضئيلة من البروتينات ومعظمها تعتمد على تكوين معقدات ملونة مع كواشف مختلفة عند طول موجي معين.

4-8- تصنيف البروتينات Classification Of Proteins

تصنف البروتينات عادة على أساس تركيبها الكيميائي أو اقترانها بالمواد الأخرى العضوية وغير العضوية وهي:

4-8-1- البروتينات البسيطة Simple Proteins

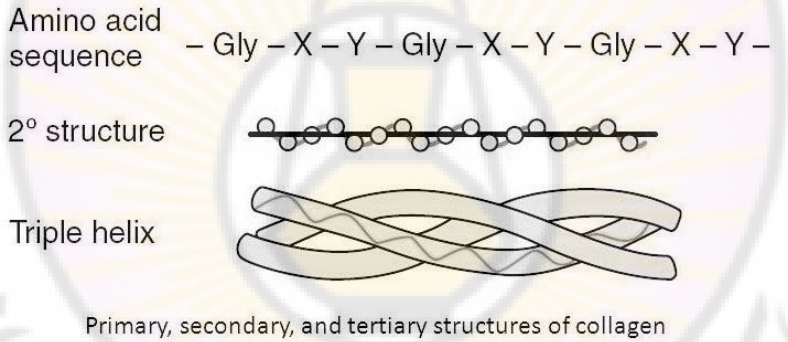
تكون أبسط أنواع البروتينات تتكون من ببتيدات وسلاسل من الأحماض الأمينية فقط وتقسم هذه المجموعة إلى:

4-8-1-1- البروتينات الليفية Fibrous proteins(Scleroproteins):

وتشمل البروتينات غير الذائبة أو المقاومة للمذيبات وتكون الأجزاء الداعمة Protective functions للأعضاء الحيوانية، ويطلق عليها Albuminoids ومن أمثلة هذه البروتينات الكولاجين والكيراتين والإيلاستين

1) الكولاجين Collagens:

يعد الأساس في تركيب الأنسجة الرابطة Connective tissues والجلد والغضاريف والعظام وعادة تكون مقاومة للهضم بأنزيمات الجهاز الهضمي مثل إنزيم الببسين Pepsin والتربسين Trypsin. ويمكن تحويله إلى ما يسمى بالجيلاتين بغليه بالماء وكذلك بالقواعد والأحماض المخففة، ويتكون أساساً من أحماض أمينية كالغلايسين والبرولين (يرمز له X) والهيدروكسي برولين (Y) Hydroxy proline (4 و3- هيدروكسي برولين) و5- هيدروكسي لايسين Hydroxy lysine -5 وهي الأحماض التي تميز هذا النوع من البروتينات.

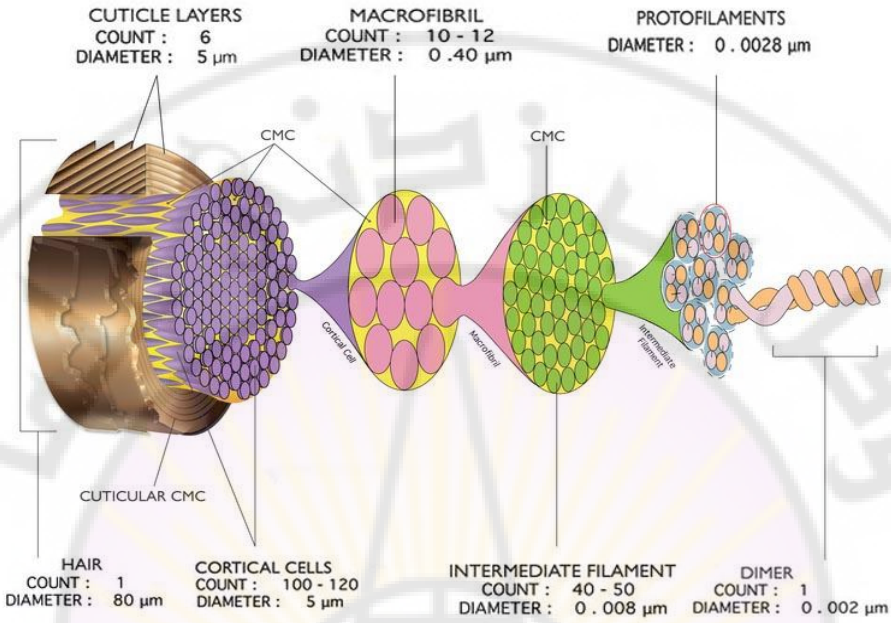


Primary, secondary, and tertiary structures of collagen

تركيب الكولاجين الحلزوني Collagen helix

2) الكيراتين Keratins:

يكون الكيراتين الأنسجة الواقية في الجلد والأظافر والشعر والقرون والحوافر والريش، وهي مقاومة لإنزيمات الببسين والتربسين وغير ذائبة في الاحماض والقواعد المخففة والمذيبات العضوية. وتحتوي على نسبة عالية من الحمض الأميني السيستاين Cysteine ويعزى إليها سبب قوة هذه البروتينات لوجود الرابطة ثنائية السلفيد المكونة من جزيئات الحمض.



3) الإيلاستين Elastins:

توجد هذه المركبات في الغضاريف وجدر الشرايين، إذ تعطيها صفة المرونة، وتجعلها أكثر سهولة للهضم بوساطة الببسين والتربسين من بقية الأنواع الأخرى وعادة يصاحب الكولاجين في تركيب الأنسجة.

4-8-1-2- البروتينات الكروية Globular Proteins:

وتمثل البروتينات الذائبة ولها شكل مكور نتيجة التفافها على بعضها وتكوين روابط ثنائية السلفيد وغيرها بين أجزائها الببتيدية ومن هذه البروتينات:

1) الألبومينات Albumins:

وهي بروتينات تذوب في الماء والأملاح، وتتخثر في الحرارة Coagulable تتغير طبيعتها Denatured ، ومن هذه البروتينات بروتين البيض Ovalbumin وبروتين الحليب Lactlbumin وألبومين المصل Serum albumin

2) الغلوبيولينات Globulins:

من خواص هذه البروتينات أنها لا تذوب في الماء بل تذوب في المحاليل المخففة للأحماض والقواعد وتتغير طبيعتها بالحرارة وتتخثر بسهولة. ومن أمثلة هذه البروتينات غلوبيولين

المصل Serum globulins والحليب Lactoglobulin وفي الغدة الدرقية Thyroglobulin.

3) الغلوتيلينات Glutelins:

الغلوتيلينات بروتينات نباتية عادة غنية بالأحماض الأمينية ولا سيما حمض الغلوتاميك والأرجينين والبرولين وهي تذوب في المحاليل المخففة الحمضية والقاعدية ولا تذوب في الوسط المتعادل ومن أمثلة هذه المجموعة غلوتينين القمح Wheat Glutenin.

4) البرولامينات Prolamins:

وتسمى البروتينات الذائبة في الكحول بتركيز 70–80%، وهي بروتينات نباتية أيضاً ولا تذوب في الماء والمحاليل المتعادلة ومن الأمثلة عليها هو بروتين الزيين Zein في الذرة الصفراء وبروتين الشعير الهوردين Hordein.

5) البروتامينات Protamins:

وهي بروتينات ذات أوزان جزيئية قليلة نسبياً متعددة وتذوب في الماء ولا تتخثر في الحرارة وتحتوي على نسبة عالية من الحمض الأميني الأرجنين وتتحلل بوساطة أنزيم التربسين Trypsin ولا تتحلل بإنزيم الببسين ومن الأمثلة على هذه البروتينات بروتين السالمين Salmin في سمك السلمون.

6) الهستونات Histones:

الهستونات بروتينات تذوب في الماء وفي المحاليل المخففة وتتخثر بالحرارة ويغلب على تركيبها الأحماض الأمينية القاعدية ومنها الأرجنين واللايسين وكذلك حمض التيروزين وتفتقر إلى حمض التربتوفان وتحتوي على كمية قليلة نسبياً من الأحماض الأمينية الحاوية على الكبريت. تتحلل الهستونات بإنزيمات الببسين والتربسين وتتحد بسهولة مع المجموعات السالبة للأحماض النووية مكونة البروتينات النووية (النيوكليوبروتينات) Nucleoproteins ولها دور مهم في مجال الوراثة كالهستونات النووية Nucleohistones في نوى الخلايا.

4–8–2– البروتينات المرتبطة (المقترنة) Conjugated Proteins:

البروتينات المرتبطة عبارة عن بروتينات مكونة من جزء بروتيني مع جزء آخر غير بروتيني يدعى المجموعة الضميمة Prosthetic group مثل: الكربوهيدرات والليبيدات والأحماض النووية ومن هذه البروتينات النووية والكربوهيدراتية والفوسفوبروتينات والبروتينات اللونية والدهنية والمعدنية.

4-8-2-1- البروتينات النووية nucleoproteins

تتكون من ارتباط الأحماض النووية مع جزيئة أو أكثر من البروتين في داخل النواة ويكون البروتين مرتبط مع الحمض النووي DNA وعادة يكون البروتين من نوع البروتامين والهستون، وفي السيتوبلازم مع الحمض النووي RNA ويكون ما يسمى بالريبوزومات Ribosomes الذي له دور في بناء البروتينات.

4-8-2-2-البروتينات الكربوهيدراتية Glycoproteins والبروتينات المخاطية Mucoproteins

هذه البروتينات ترتبط بالكربوهيدرات (قد يكون سكر أحادي أو سلسلة قصيرة نسبياً من الكربوهيدرات) وعادة ما تكون المواد الكربوهيدراتية أقل من 4% كربوهيدرات أما البروتينات المخاطية فمكونة من نسبة أعلى من 4% كربوهيدرات والتي قد تصل نسبة إلى 60% وعادة عند تحليل المواد الكربوهيدراتية تنتج سكريات أمينية Hexosamines وكذلك حمض اليورونيك Uronic acid وتسمى هذه الكربوهيدرات بالسكريات المخاطية Mucopolysaccharides ومثال على هذه البروتينات الميوسين Musin في جدار المعدة Gastric mucoid وكذلك في البيض مثل Ova mucoid والغلوبيولينات في الدم Globulins على شكل (γ, β, α).

4-8-2-3- الفوسفوبروتينات Phosphoproteins

مكونة من بروتينات متحدة مع مركبات تحتوي على حمض الفوسفوريك والذي يرتبط عادة بحمض السيرين والثريونين في سلسلة البروتين، ومثال على هذه البروتينات الكازائين والفيتالين في صفار البيض.

4-8-2-4- البروتينات اللونية (كروموبروتين) Chromoproteins

بروتينات تحتوي على مجموعة أخرى لونية تسمى مجموعة الكروموفور Chromophoric group أو مجموعة ضميمة Prosthetic group كوجود أحد العناصر المعدنية (الحديد أو النحاس)، وتتضمن هذه المجموعة من البروتينات الأنواع الآتية:

1) الصبغات الخاصة بالتنفس، مثل الهيموغلوبين والهيموسيانين وميوغلوبين العضلات.
2) مكونات السلاسل الناقلة للإلكترونات في الميتوكوندريا مثل السايتوكرومات والفلافلوبروتينات.
3) الصبغات البصرية، مثل الرودوبسين Rhodopsin والإيدوبسين Iodopsin.

4) بروتينات لا تحتوي على المعادن ومن أمثلتها البروتينات الحاوية على صبغة الميلانين Melanin الموجودة في الشعر والجلد.

4-8-2-5- البروتينات الدهنية Lipoproteins:

هي بروتينات تتحد بالجليسيريدات Glycerides أو بالدهون وغيرها مثل البروتينات الدهنية الموجودة في الدم المسؤولة عن نقل الدهون وتصنف إلى عدة أنواع اعتماداً على الأوزان الجزيئية لكل نوع مثل البروتينات الدهنية العالية الكثافة (High Density Lipoprotein HDL) ومنخفضة الكثافة (Low Density Lipoprotein LDL) والمتوسطة الكثافة (Intermediate Density Lipoprotein IDL) ومنخفضة الكثافة جداً(Very Low Density Lipoprotein VLDL) والكيلومايكرون Chylomicron

4-8-2-6- البروتينات المعدنية Metalloproteins

وهي بروتينات متحدة بالمعادن والممثلة لهذه المجموعة هي الإنزيمات مثل الأرجنيز Arginase الذي يحتوي على عنصري المغنيزيوم والمنغنيز، وإنزيم Tyrosinase الذي يتطلب وجود عنصر النحاس وإنزيمCarbonic anhydrase والذي يتطلب وجود عنصر الزنك ويمكن تصنيف الهيموغلوبين الذي يحتوي على عنصر الحديد ضمن هذه المجموعة أيضاً.

4-8-3- البروتينات المشتقة Derived Proteins

تنتج البروتينات المشتقة من تحلل البروتينات ومكونة من سلاسل ببتيدية مثل الببتونات Peptones والبتيدات Peptides وكذلك البروتينات المعاملة حرارياً والمخربة Proteins Denatured فضلاً عن البروتينات المتخثرة ومن الأمثلة على البروتينات المشتقة:

1- البروتينات ميتا Metaproteins:

وهي بروتينات عديمة الذوبان في الماء والأحماض المعدنية المركزة أو محاليل الأملاح المتعادلة ولكنها تذوب في الأحماض المعدنية أو القواعد المخففة.

2- الببتونات Peptones:

الببتونات مركبات تذوب في الماء ولا تتكتل بالحرارة وتترسب في خلات الرصاص.

3- البروتيوسيز Proteoses:

بروتينات تذوب في الماء ولا تتخثر بالحرارة والتي تترسب بالتشبع النصفي بكبريتات الأمونيوم وحمض النتريك المركز وتسمى بالبروتيوسيز الثانوي Secondary Proteoses

أما البرتيوسيز الأولي Primary Proteoses فهي تذوب في الماء أيضاً ولا تتخثر بالحرارة وتترسب بالتشبع الكامل بكبريتات الأمونيوم.

4-8-4- بروتينات البلازما Plasma Proteins:

تتراوح نسبة بروتينات البلازما من 6-8 غرام لكل 100 سم3 من الدم. ويحتوي بلازما دم الإنسان السليم على ستة اجزاء من البروتينات أمكن فصلها بوساطة الترحيل الكهربائي Electrophoresis وهي:

1) **الألبومين Albumin**: يتم بناؤه في الكبد. ومن الوظائف المهمة للألبومين المحافظة على الضغط الأسموزي للدم وعلى استقراره، كما يقوم بنقل الأحماض الدهنية الحرة والبليروبين والكالسيوم وبعض الهرمونات كالألدوستيرون وعليه فهو يلعب دوراً كبيراً في استقلاب هذه المركبات.
2) **الفا-1-غلوبيولين α1-Globulin:** يقوم بنقل الستيرويدات والدهون الفوسفورية ويشمل البروتينات الدهنية Lipoproteins والترانسكورتين Transcortin .
3) **الفا-2- غلوبيولين α 2 – Globulin:** يقوم بنقل الدهون والهيموغلوبين الناتج من تحطم كريات الدم الحمر، كما يقوم بنقل النحاس ويشمل البروتينات الدهنية والسيرولوبلازمين Ceruloplasmin والبروثرومبين Prothrombin.
4) **بيتا – غلوبيولين β – Globulin:** تشمل البروتينات الدهنية والترانسفرين Transferrin الذي يقوم بنقل الحديد.
5) **غاما – غلوبيولين γ – Globulin:** يدعى بالأجسام المضادة Antibodies ويقوم بوظائف دفاعية ضد الأجسام الغريبة مثل البكتيريا والفيروسات والذي يصنف إلى أنواع الأمينوغلوبين(Ig) immunoglobulins (الأجسام المناعية) وهي IgD, IgM, IgG, IgE IgA,.

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

الفصل الخامس

الأنزيمات والنشاط الأنزيمي

Enzymes and Enzymatic activity

5-1- تمهيد:

بقيت دراسة الأنزيمات ووظائفها لعدة سنوات مركزة حول عمليات التخمر، كتحويل عصائر الفواكه والحبوب إلى مشروبات كحولية الذي أثار اهتمام العلماء وشغلهم منذ القرن السابع عشر. لقد أظهر لافوزييه Lavoisier أن تخمر السكر يعطي ماء وثاني أكسيد الكربون وإن هذا التخمر مرتبط بوجود نظام حي. وليس قبل بداية القرن التاسع عشر حتى استطاع باستور Pasteur أن يؤكد أنه لا يمكن حدوث أي تخمر بدون وجود كائنات حية دقيقة تساعد على ذلك. أما العالم بوشنر Buchner فقد أظهر أن مستخلص خلايا الخميرة قادر أن يسبب تخمر محلول سكري وبذلك كانت بداية علم الأنزيمات منذ دراسة هذا المستخلص أو Zymase. تم عزل أول أنزيم وهو اليورياز Urease عام 1926 من قبل العالم سمنر Sumner وقد أظهر أن هذا الأنزيم ذو طبيعة بروتينية، ومنذ ذلك التاريخ عزلت مئات من الأنزيمات وتم تنقيتها وبللورتها وثبت أن جميعها مكونة من البروتينات.

وتعرف الأنزيمات بأنها عبارة عن بروتينات قادرة على تسريع تفاعلات كيمائية حيوية في الخلية الحية لمواد التفاعل وذلك لإنتاج مواد أخرى، تقوم الأنزيمات بالاتحاد مع مادة التفاعل في موقع خاص يدعى الموقع الفعال لتشكل معقد أنزيم – مادة تفاعل، وبعد نهاية التفاعل يتفكك هذا المعقد ليعطي أنزيم ومادة ناتجة. يتأثر عمل الأنزيمات بعدة عوامل منها درجة الحرارة والـ pH وبوجود عوامل منشطة أو مثبطة، حيث يمكن للمثبطات الاتحاد مع المواقع الفعالة في الإنزيم وتمنع بذلك حدوث التفاعل المطلوب. تفقد الإنزيمات قدرتها على تسريع التفاعلات الحيوية بارتفاع درجة الحرارة، كما تؤثر الحموض والقواعد بتراكيز معينة على البنية البروتينية للأنزيمات وتبطل عملها.

تتمثل وظائف الإنزيمات بشكل أساسي في حفظ توازن الجسم عن طريق التحكم بالتفاعلات الكيميائية، وتقليل الطاقة اللازمة لبدء التفاعلات الكيميائية. وتختلف الإنزيمات عن بعضها حسب تركيبها الكيميائي وحسب نوع وعدد الأحماض الأمينية الداخلة في تركيبها (التركيب الأولي). وكذلك حسب التوزيع الفراغي للذرات والمجموعات في السلسلة الببتيدية المكونة للأنزيم ودرجة انثناء السلسلة وشكلها (صفيحة أو حلزون) وهذا ما يسمى بالتركيب الثانوي كما يؤثر التركيب الثالثي للبروتين الأنزيمي على نوع وفاعلية الأنزيم، تقسم الأنزيمات حسب

عدد سلاسل الببتيدات الى أنزيمات أحادية monomeric وتحتوي على سلسلة واحدة كالتربسين والرايبونكياز، ومركبة Oligomeric (2-10) سلاسل مثل الهكسوكيناز (4 سلاسل) ومعقدة Multienzyme Complex مثل أنزيم بيروفات ديهدروجيناز.

5-2- استخدامات الإنزيمات:

تستخلص الإنزيمات من الأنسجة الحيوانية أو النباتية أو البكتيريا، ثم يتم تنقيتها وتستخدم للأغراض الآتية:

1) دراسة المسارات الاستقلابية وترتيب التفاعلات الجارية في تلك المسارات.
2) دراسة تركيب وآلية عمل الإنزيمات Mechanism Of action .
3) استخدامها في الصناعة بوصفها عوامل مساعدة بيولوجية لتصنيع الهرمونات والعقاقير في الصناعات الغذائية والصناعات الكيميائية.
4) تعطي الإنزيمات مؤشراً لحدوث حالة مرضية معينة أو عدم حدوثها وذلك عند قياس فعاليتها في سوائل وأنسجة الجسم المختلفة حيث هناك علاقة بين الإنزيم والحالة السريرية للشخص (الجدول 5-1).

الجدول (5-1): بعض الأنزيمات المستخدمة لأغراض التشخيص السريري.

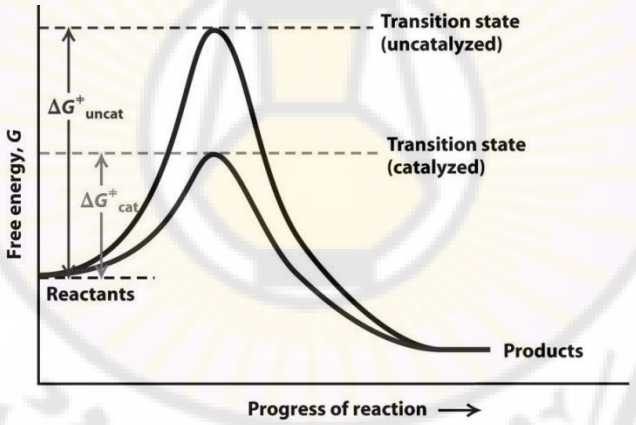
الإنزيم	التشخيص الرئيسي للأمراض
اسبارتات أمينو ترانسفراز (AST Or GOT)	احتشاء العضلة القلبية Myocardial infraction
آلانين أمينو ترانسفراز ALT Or GPT	التهاب الكبد الفيروسي Acute Hepatitis
اميلاز Amylase	التهاب البنكرياس الحاد Acute Pancreatitis
سيليروبلازمين Ceruloplasmin	مرض ولسون (تحطم الكبد) Wilson's disease
إنزيم كرياتين كيناز Creatine Kinase	اضطرابات العضلة واحتشاء العضلة القلبية muscular disorders
لاكتيت ديهيدروجيناز Lactate Dehydrogenase	احتشاء العضلة القلبية
الفوسفاتاز الحمضي Acid Phosphatase	سرطان البروستات Prostate cancer
الفوسفاتاز القاعدي Alkaline Phosphatase	اضطرابات العظام المختلفة وأمراض الكبد الانسدادي.

5) تستخدم بعض الإنزيمات لأغراض علاجية أو مضادات أكسدة أو لقاحات ضد أنواع معينة من الطفيليات. وكمثال لاستخدامها لإذابة خثرة الدم في المصابين بالخثار Thrombosis أو استخدام بروتياز Protease في عقارات المقاومة لفيروس الإيدز.
6) ويستخدم بعضها الاخر بمثابة كواشف في بعض التحاليل المخبرية مثل تقدير الغلوكوز باستخدام الإنزيم غلوكوز أوكسديداز Glucose oxidase أو تقدير اليوريا باستخدام إنزيم اليورياز Urease.

7) استخدام بعض الإنزيمات لغرض تشخيص الأمراض الوراثية مثل إنزيم بوليميراز في تفاعل السلسلة Polymerase Chain reaction (PCR)

5-3- طاقة التنشيط ودور الوسيط:

التفاعل الناشر للحرارة تفاعل يحدث بشكل تلقائي ويعطي طاقة يمكن استخدامها من أجل عمل كيميائي أو ميكانيكي أو كهربائي... الخ، يجب أن نتذكر أن كلمة (تلقائي) لا تعني أبداً (بسرعة) ولكن يقصد بذلك أن مثل هذا التفاعل يتم بدون تقديم طاقة خارجية إليه. فالتفاعل التلقائي، الناشر للحرارة، قد يكون بطيئاً. وكما سبق وذكرنا فإن تفاعل الغلوكوز مع الأوكسجين تفاعل ناشر للحرارة ولكنه بطيء جداً ولتسريع مثل هذا التفاعل يجب استخدام وسيط Catalyst. فالخلية تستخدم مثل هذا الوسيط لتستفيد من طاقة أكسدة الغلوكوز بعد مدة قصيرة جداً. في تفاعل ناشر للحرارة ولكي يتم تحول A+B إلى C+D لابد من المرور بمرحلة وسطية وهي حالة التنشيط، ولكي يتحول A+B إلى معقد منشط يجب إعطائه طاقة تدعى (بطاقة التنشيط).



الشكل (5-1): طاقة التنشيط الضرورية لإحداث بداية تفاعل ناشر للحرارة

فعند درجة حرارة ما، تزداد سرعة التفاعل كلما زاد تركيز المعقد المنشط، فإذا رفعنا درجة الحرارة فإننا نعطي إلى النظام المتفاعل طاقة وذلك بسبب ازدياد تهيج الجزيئات مما يؤدي إلى حدوث التفاعل، ولكن الكائنات الحية لا تستطيع زيادة حرارة أجسامها لأنها تعمل على درجات حرارة منخفضة وثابتة نسبياً لكن وجود المحفزات (الإنزيمات) تعمل على حدوث التفاعلات من خلال خفض طاقة التنشيط. من بين الوسطاء في التفاعلات الكيميائية، الوسطاء البيوكيمائيين، أو الإنزيمات حيث تقوم بخفض طاقة التنشيط، وكلما كانت الطاقة الحرة للتنشيط اللازم إعطائها للنظام المتفاعل قليلة كلما كان الوسيط فعالاً (الشكل 5-1).

ويمكن تلخيص الخواص المهمة للوسيط بما يلي:

1) يوجد الوسيط في نهاية التفاعل سليماً مع أنه يرتبط مع مواد التفاعل أثناء حدوث التفاعل ويمكن أن يشترك الوسيط الواحد في تسيير مراحل متتالية من تفاعل ما وهذا يفسر قلة كمية الوسيط اللازم.

2) لا يؤثر الوسيط على الاتزان النهائي للتفاعلات العكوسة، ولكنه يسمح فقط بأن يصل التفاعل إلى هذا الاتزان بسرعة وذلك بتسريع التفاعلين من ذوات الاتجاهات المتعاكسة معاً وبالطريقة نفسها. تنطبق هذه الخواص على الإنزيمات التي هي وسطاء بيوكيميائيين، الإنزيمات تتميز عن بقية الوسطاء بما يلي:

1- تخفض الإنزيمات طاقة التنشيط اللازمة أكثر من بقية الوسطاء فيلزم لتفكيك 18 كيلو كالوري لكل مول H_2O_2 بدون وسيط، بينما يلزم 11.7 كيلو كالوري في حال وجود وسيط البلاتين الغروي ولكن يلزم فقط 2 كيلو كالوري عند وجود إنزيم الكاتالاز. إن جزيء واحد من إنزيم الكاتالاز يسمح بتفكيك 5×10^6 جزيء من H_2O_2 خلال دقيقة واحدة عند توفر الشروط المثلى من درجة حرارة وpH.

2- الإنزيمات ذات طبيعة بروتينية، وهذا يجعلها ذات تخصص ودقة عالية جداً، لذلك نجد مئات الإنزيمات المختلفة ضرورية لتسريع التفاعلات المختلفة التي تحدث داخل خلايا الكائنات الحية، فالإنزيم المسؤول عن نزع الهيدروجين مثلاً يختلف حسب اختلاف مادة التفاعل.

3- بما أن الإنزيمات عنصر أساسي في معظم التفاعلات الحيوية، فإن نشاطها يخضع للتحكم من أجل تنظيم الاستقلاب الخلوي بشكل عام.

تستخدم الإنزيمات واحداً أو أكثر من الآليات الآتية كمساعدات تحفيزية في التفاعلات المختلفة:

أ) **عامل التحفيز التشاركي** Covalent catalysis: في هذ النوع من التحفيز يحتوي الموقع الفعال على مجموعة فعالة نيكلوفيلية قوية والتي تساعد في عملية التحويرات التشاركية. من الأمثلة على الإنزيمات التي تأخذ هذه الآلية الإنزيمات الهاضمة مثل إنزيم الكيموتربسين.

ب) **التحفيز الحمضي- القاعدي** Acid-base catalysis: في هذا النوع تلعب الجزيئة (عدا الماء) دوراً في إعطاء بروتونات (H^+) أو استقبال بروتونات فمثلاً الكيموتربسين يستخدم الهستيدين عاملاً مساعداً قاعدياً لتحسين القوة النيكلوفيلية للسيرين.

ج) **التحفيز بوساطة الشاردة المعدني:** يمكن أن تعمل الشوارد المعدنية بعدة طرائق كعوامل مساعدة على سبيل المثال الشاردة المعدنية قد يعمل محفزاً إلكتروفيلياً فيؤدي إلى استقرار الشحنة السالبة في التفاعلات الوسطية وعلى العكس من ذلك قد تعمل الشاردة المعدنية على توليد النيكلوفيل بزيادة الحمضية في مكان قريب من الجزيئة مثل الماء المستخدم في إماهة ثاني أكسيد الكربون بوساطة إنزيم كربونيك أنهايدرايز Carbonic anhydrase كما في المعادلة الآتية:

$$CO_2 + H_2O \leftrightarrows H_2CO_3$$

وكذلك الشوارد المعدنية يمكن أن ترتبط بمادة التفاعل وتزيد من عدد التداخلات مع الإنزيم وهذه الاستراتيجية تستخدم بوساطة إنزيم كيناز- نيوكليوتيد أحادي الفوسفات (NMP) الذي يعمل على تحفيز التفاعل الآتي:

$$ATP+NMP \leftrightarrows ADP+NDP$$

د) **التحفيز بالتقريب** Catalysis by approximation: في هذه الحالة يعمل العامل المساعد على زيادة معدل التفاعل بوساطة جلب مواد التفاعل معاً على سطح الإنزيم الواحد مثل إنزيم كيناز NMP الذي يجلب النيوكليوتيدين معاً لتسهيل عملية نقل مجموعة الفوسفات من نيكليوتيد إلى نيكليوتيد آخر.

5-4- حركية التفاعلات الإنزيمية:

تقاس سرعة تفاعل إنزيمي ما بوساطة قياس كمية المادة المتحولة أو الناتجة بالنسبة لوحدة الزمن وذلك بأخذ عينات من وسط التفاعل خلال أوقات مختلفة والقيام بمعايرتها، ويمكن التعبير عن النشاط الإنزيمي بعدة طرق كوحدة الإنزيم والنشاط المولي:

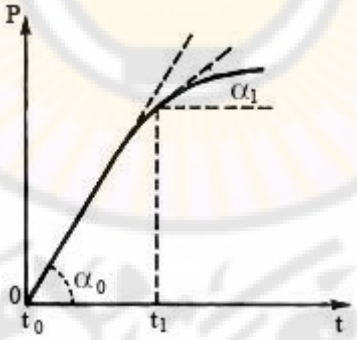
1) وحدة الإنزيم Enzyme Unit أو (فعالية الإنزيم Enzyme Activity): تعرف بأنها كمية الإنزيم التي تسرع تحول 1 ميكرومول من مادة التفاعل إلى مادة ناتجة خلال دقيقة واحدة على درجة 25 درجة مئوية وضمن الشروط المثلى من pH وتركيز مواد التفاعل، ويرمز لها بالحرف υ والذي يشير إلى سرعة التفاعل الإنزيمي.
2) يمكن أن تنسب عدد وحدات الإنزيم إلى الوزن الجزيئي للبروتين الإنزيمي فنحصل على النشاط النوعي Specific Activity والذي يزداد بزيادة نقاوة الإنزيم، وهو عبارة عن عدد وحدات الإنزيم لكل 1 ملغ بروتين (وهو مقياس النقاوة الإنزيمية).
3) النشاط المولي: وهو اصطلاح آخر للتعبير عن النشاط الإنزيمي يقصد به عدد المولات من مادة التفاعل المتحولة (أو من ناتج التفاعل) التي يستطيع تحويلها واحد مول من

الإنزيم خلال زمن قدره دقيقة واحدة، لاستعمال مثل هذا الاصطلاح يجب أن يكون الإنزيم ذا وزن جزيئي معروف أمكن تنقيته بشكل جيد، ويدعى عدد التحول Turnover number.

4) الإنزيمات القاتلة Killer Enzymes: مجموعة من الإنزيمات وخاصة Proteinase تهاجم إنزيمات الأكسدة وتعمل على هضمها وبالتالي لا تثبط الإنزيم إنما تحلله وهذا ما يعرف بأنظمة القتل بوساطة الإنزيمات القاتلة Killing Systems by Killer Enzymes

5-4-1- السرعة الأولية للتفاعلات:

بالنظر إلى منحنى تغير كمية مادة التفاعل المتحولة إلى ناتج مع الزمن (شكل 5-2)، نلاحظ أنه يشمل على جزء مستقيم فيه زاوية الميل ثابتة ثم يميل المنحنى وتنقص سرعة التفاعل وتصبح ثابتة بعد ذلك ويتوقف التفاعل عندما تكون مادة التفاعل كلها قد تحولت إلى ناتج. نستنتج من ذلك أنه لمعرفة السرعة الأولية (V_0) لتفاعل ما يجب قياسها عند بداية التفاعل، أي عندما يكون جزء بسيط من مادة التفاعل قد تحولت إلى ناتج، ويكون ميل المنحنى أعظمي. وهذا ما يسمح لنا بمعرفة السرعة الأساسية حيث $V_0 = tg\ \alpha_0$ درجة، أما سرعة التفاعل (v) عند زمن معين (t) فيساوي d(P)/dt حيث P تركيز ناتج التفاعل ولمعرفة هذه السرعة يكفي قياس الزاوية التي يشكلها مماس المنحني عند الزمن t.

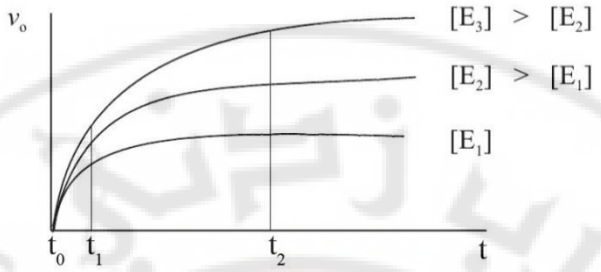


الشكل (5-2) تحديد سرعة التفاعل الأساسية لتفاعل أنزيمي و سرعته عند الزمن t_1

هناك عدة عوامل تؤثر على سرعة التفاعلات الإنزيمية سنقوم بعرض أهمها.

5-4-2- تأثير تركيز الإنزيم على حركية التفاعل الإنزيمي:

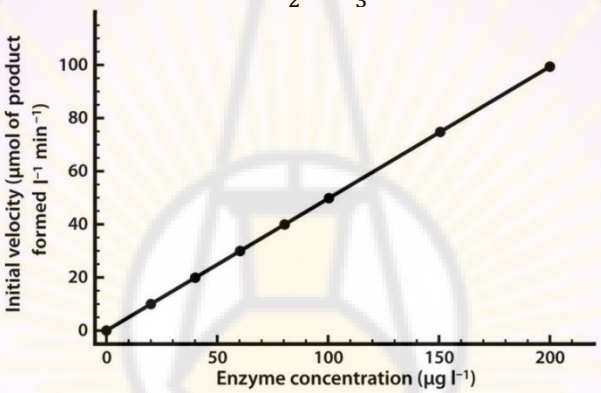
إذا أجرينا عدة تجارب باستخدام كميات متزايدة من الإنزيم، نلاحظ أن كمية ناتج التفاعل بعد مرور زمن (t_1) متزايد أيضاً، على شرط أن يكون ذلك في القسم المستقيم من منحى التفاعل (أي أننا نقيس سرعة التفاعل الأساسية كل مرة) (الشكل 5-3 أ).



الشكل (5-3)

أ) حركية التفاعل الإنزيمي بوجود كميات متزايدة من الإنزيم حيث:

$$E_1 = \frac{E_2}{2} = \frac{E_3}{3}$$

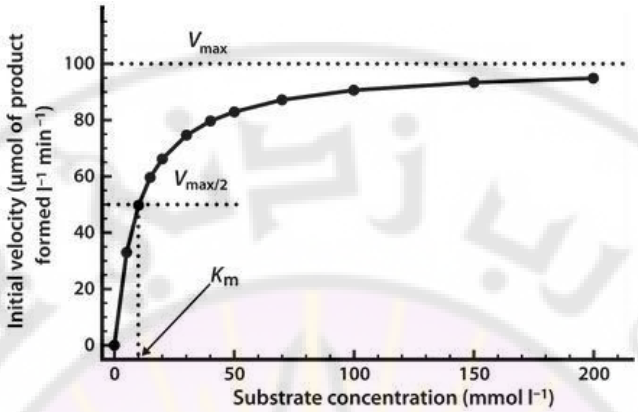


ب) تغير سرعة التفاعل الإنزيمي بوجود كميات متزايدة من الإنزيم.

ولكن عند الزمن (t_2) لم يعد هناك أي تناسب بين سرعة التفاعل وتركيز الإنزيم (شكل 5-3 آ). بعد إجراء عدة تجارب بتراكيز إنزيمية متزايدة. يمكننا تمثيل العلاقة بين تغير السرعة الأساسية للتفاعل وتركيز الإنزيم بيانياً (شكل5-3 ب) ويظهر التناسب بينهما إلى حدود معينة فقط.

5-4-3- تأثير تركيز مادة التفاعل:

في تفاعل إنزيمي، عندما تتم المحافظة على تركيز الإنزيم مع تزايد في تركيز مادة التفاعل substrate(S). يمكن ملاحظة زيادة سرعة التفاعل في البداية ولكن ليس بشكل مستمر ويتلاشى تزايد السرعة عند تركيز معين (S) وتسمى آنذاك بالسرعة القصوى Vmax (الشكل 5-4).



الشكل (5–4) علاقة التفاعل الأنزيمي مع تركيز مادة التفاعل عند تركيز أنزيمي ثابت.

من أجل فهم ما يحدث عند تغير تركيز الإنزيم أو مادة التفاعل بشكل جيد، لا بد من دراسة مفصلة للتفاعلات المسرعة بوساطة الإنزيمات. فعندما نكتب $S \overset{E}{\rightleftarrows} P$، يحصل لدينا انطباع خاطئ بأن الإنزيم يقوم بتسريع التفاعل بوجوده دون المشاركة في ذلك التفاعل، ولكن في الحقيقة يقوم الإنزيم بتشكيل معقد مؤلف من الإنزيم نفسه ومادة التفاعل (إنزيم – مادة تفاعل). لقد اقترح وجود مثل هذا المعقد منذ بداية القرن العشرين، وتم التأكد من حقيقة وجوده في بداية الثلاثينات منه فيمكن كتابة التفاعل بالشكل الآتي:

$$E + S \underset{K_2}{\overset{K_1}{\rightleftarrows}} E - S \overset{K_3}{\rightarrow} E + P$$

هذه المعادلة صالحة في الفترة الأولى من التفاعل حيث تركيز المادة الناتجة P قليل بحيث يمكن اهمال التفاعل العكسي، كما أن كمية P الناتجة تعتمد مباشرة على تركيز المعقد E-S. لقد قام العالمان ميكاليليس ومنتن Michaelis and Menten بدراسة كمية حول **العلاقة بين تغير سرعة التفاعل الإنزيمي مع تركيز مادة التفاعل**، وهذه الدراسة مبنية على أساس التفاعل السابق. ولكن الميزة في المعادلة التي توصل إليها العالمان أنه لدراسة سرعة تفاعل إنزيمي ما فإننا لا نحتاج إلى معرفة تركيز الإنزيم (E) ولا لتركيز المعقد الإنزيمي (E-S) واللذان يصعب تحديد تركيزيهما دائماً. كما نعلم ان سرعة تفاعل الإنزيمي تتناسب مع تركيز المعقد (E-S)، لذلك فإن V=K (E-S) وعندما تكون السرعة قصوى Vmax فإن الإنزيم كله متحد مع مادة التفاعل لذلك فإن:(1) $[E - S] = [E_T]$

حيث (E_T) التركيز الكلي للإنزيم ويكون : $V_{max} = K_3 [E_T]$ (2)

ويمكن كتابة: $\frac{V}{V_{max}} = \frac{K[E-S]}{k[E_T]} = \frac{[E-S]}{[E_T]}$ (3)

إن ثابت الاتزان لتفكك المعقد (E-S) أو ثابت ميكاليليس يساوي:

$$K_m = = \frac{K_2}{k_1} = \frac{[E][S]}{[E-S]}$$

حيث [E] تركيز الإنزيم الحر الذي يعادل: $[E] = [E_T] - [E - S]$

وبالتبديل

$$K_m = \frac{([E_T]-[E-S])[S]}{[E-S]} = \frac{[E_T][S]}{[E-S]} - \frac{[E-S][S]}{[E-S]} = \frac{[E_T][S]}{[E-S]} - [S]$$

ويمكن كتابة المعادلة كما يلي بنقل [S]:

$$\frac{[E_T][S]}{[E-S]} = Km + [S]$$

أو كما يلي بضرب الطرفين والتقسيم نحصل على ما يلي:

$$[E\text{-}S] = \frac{[E_T][S]}{km+[S]}$$

وبعد التقسيم على $[E_T]$ نحصل على الشكل التالي:

$$\frac{[E-S]}{[E_T]} = \frac{[S]}{km+[S]}$$

واعتماداً على ما سبق فإنه وحسب المعادلة (3):

$\frac{V}{Vmax}$ يساوي $\frac{[E-S]}{[E_T]}$

إذاً:

$$\frac{V}{Vmax} = \frac{[S]}{Km+[S]}$$

وهي معادلة ميكايليس ومنتن التي تسمح لنا بحساب الثابت Km بعد أن نكون قد حددنا تجريباً تغيرات السرعة V بالعلاقة مع تركيز مادة التفاعل [S] للحصول على السرعة القصوى Vmax يمكن ملاحظة أنه ليس من الضروري معرفة تركيز الإنزيم أثناء حساب Km وكذلك يمكن حساب هذا الثابت باستخدام أنزيمات غير نقية. عندما نأخذ قيمة V مساوية Vmax/2 فإن

$1/2 = [S] / Km + [S]$

أو

$Km = [S]$

وبذلك يكون ثابت ميكايليس (ثابت اتزان تفكك المعقد E-S) مساوياً لتركيز مادة التفاعل عندما تكون سرعة التفاعل مساوية لنصف السرعة القصوى. وبشكل عام تتراوح قيمة Km بين 10^{-2} و 10^{-8} مول. إن ثابت ميكايليس Km يمكن أن يعطي فكرة ألفه الإنزيم (ميل الإنزيم للاتحاد مع مادة التفاعل) لمادة التفاعل، فإذا كان ميل الإنزيم لتشكيل معقد/غالباً مع

مادة التفاعل S فإن تركيز [E-S] سيكون كبيراً وبذلك يكون ثابت ميكايليس صغيراً، ويعبر عن ألفه إنزيم لمادة تفاعل ما ب 1/Km فإذا كانت قيمة Km مرتفعة (أي يلزم كمية كبيرة من مادة التفاعل للحصول على Vmax/2) فإن ألفه الإنزيم لمادة التفاعل ضعيفة، وأما إذا كانت قيمة Km صغيرة، فإن ألفه الإنزيم عالية أي أنه يلزم تركيز قليل من مادة التفاعل للحصول على سرعة تفاعل Vmax/2. ويمكن استخدام قيمة Km دليل لمعرفة التركيز التقريبي لمادة التفاعل الضرورية للاستخدام في تفاعل إنزيمي عند احتساب السرعة القصوى Vmax لذلك التفاعل.

يمكن لإنزيم ما يؤثر في عدة مواد متفاعلة Substrates أن يكون له عدة ثوابت Km ومثال ذلك إنزيم الهكسوكيناز الموجود في الدماغ فتبلغ قيمة Km 0.5 mmole/l له عندما تكون مادة التفاعل الغلوكوز D وتكون 1.5 mmole/l عندما تكون مادة التفاعل الفركتوزD.

إن الشكل البياني الناتج عن علاقة تركيز مادة التفاعل وسرعة التفاعل الإنزيمي (الشكل 5-4) هو منحني وخاصة في القسم الذي لا تكون كافة جزئيات الإنزيم مرتبطة مع مادة التفاعل، ولحل هذه المشكلة توصل الباحثان لاينويفروبيرك (1934) The Line Weaner – Burk Plotعن طريق قلب البسط إلى مقام في معادلة ميكايليس – منتن أي أخذ القيمة العكسية لطرفي المعادلة كالآتي:

معادلة ميكايليس – منتن

$$v = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]}$$

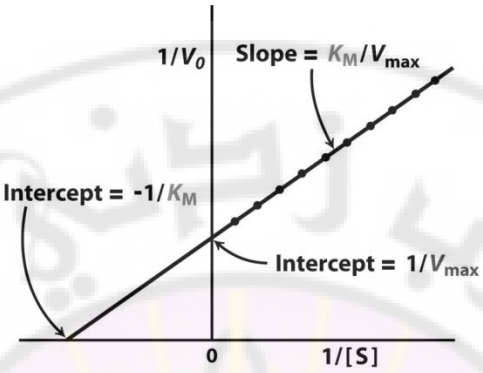
بقلب المعادلة نحصل على ما يلي:

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m + [S]}{V_{max}[S]}$$

(معادلة لاينويفير – برك)

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{max}.[S]} + \frac{1}{v_{max}}$$

تمثل المعادلة الأخيرة معادلة لاينويفير– بيرك وهذه المعادلة مشابهة لمعادلة الخط المستقيم (Y=mX+C) إذ يمكن الحصول أيضاً على خط مستقيم من رسم $\frac{1}{v}$ مقابل $\frac{1}{[S]}$ كما في الشكل 5-5.



الشكل 5-5: مخطط لاينويفر- بيرك لإيجاد قيمة Km و Vmax.

إذ من الرسم البياني نلاحظ أن الميل يساوي $\frac{K_m}{V_{max}}$ والتقاطع $\frac{1}{V_{max}}$ على محور $\frac{1}{v}$

إن أهمية مخطط لاينويفر – بيرك تكمن بما يلي:

1) تعد قيم Km و V_{max} الناتجة من الرسم البياني دقيقة نسبياً.
2) يستفاد من المخطط لإيجاد نوع المثبط عند دراسة تأثير المثبطات على فعالية الإنزيم.

ووجدت عدة نقاط ضعف في مخطط لاينويفر – بيرك والمتمثلة فيما يلي:

1) إن امتداد الخط المستقيم على المحور $\frac{1}{V}$ حتى يلامس المحور $\frac{1}{[S]}$ لتقدير $\frac{1}{K_m}$ قد يصل إلى حافة ورقة الخط البياني ما يستوجب إعادة الرسم مرة أخرى لذا يفضل طريقة رسم الخط البياني على الورقة وملاحظة إن كان هنالك أي انحراف في استقامة الخط الناتج.
2) إعطاء صورة غير صحيحة ونتائج غير دقيقة عند استعمال تراكيز منخفضة من مادة التفاعل.
3) في التفاعلات التي لا تنطبق عليها معادلة ميكايليس – منتن فإن استعمال مخطط لاينويفر – بيرك لا يوضح الإنحراف المتوقع حصوله في استقامة الخط (مقارنة بمخطط أيدي – هوفستي مثلاً)، وتأتي أهمية ذلك بصورة خاصة عند إجراء دراسات متعلقة بآلية عمل الإنزيم. قام كل من العالمين أيدي – هوفستي Eadie – Hofstee باشتقاق معادلة ميكايليس ومنتن

$$v = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]}$$

وبضرب طرفي مقلوب المعادلة بالعامل V_{max} فيكون الناتج:

$$\frac{Vmax}{v} = \frac{Vmax(K_m+[S])}{V_{max}[S]} = \frac{K_m+[S]}{[S]}$$

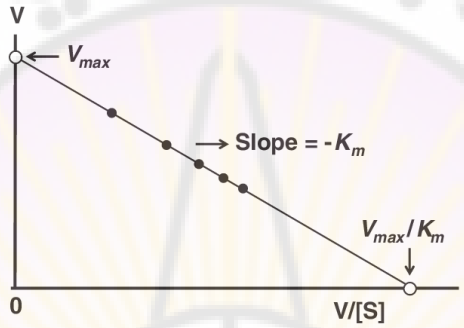
وبالترتيب:

$$Vmax = \frac{vKm}{[S]} + \frac{v[S]}{[S]} = \frac{vKm}{[S]} + v$$

وبفصل v:

$$v = -K_m \frac{v}{[S]} + v_{max}$$

تعطي هذه المعادلة خطاً مستقيماً في الرسم البياني وبالإمكان تقدير Km و Vmax كما موضح في الشكل (5-6).



الشكل 5-6: مخطط أيدي – هوفستي

وعند استخدام أحد المخططين وللحصول على نتائج جيدة يتوجب علينا استخدام مدى واسعاً من تراكيز مادة التفاعل.

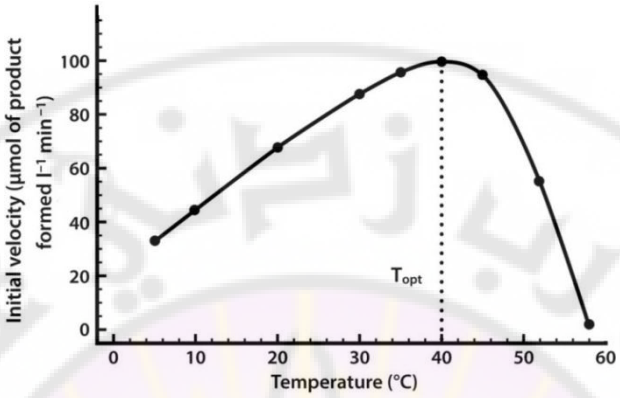
5-4-4- تأثير بعض العوامل الفيزيائية والكيميائية:

سنقوم باستعراض تأثير تغيرات عاملين فيزيائيين، الحرارة ودرجة الpH على حركية التفاعلات الإنزيمية بالإضافة إلى تأثير عدد من العوامل الكيميائية مثل منشطات أو مثبطات التفاعلات الإنزيمية.

أ) تأثير الحرارة:

إن دراسة المنحنى البياني لتغير السرعة الأساسية لتفاعل إنزيمي حسب درجة حرارة التفاعل، تظهر لنا وجود قسمين مختلفين تماماً وهما مرتبطان بظاهرتين مختلفتين ايضاً (شكل 5-7) فالقسم الأول من المنحنى يظهر أن سرعة التفاعل الإنزيمي تزداد بازدياد درجة الحرارة وذلك صحيح بين درجات الحرارة صفر و40 درجة مئوية.

هذه الزيادة يمكن تعليلها بسبب زيادة تركيز المواد الداخلة في التفاعل والمنشطة وذلك لأننا زودناها بالطاقة اللازمة للتنشيط على شكل حرارة، فإذا تجاوزنا حدوداً معينة في درجات الحرارة (حوالي 40 درجة مئوية)، فإنه سيحصل تخثر للبروتين الإنزيمي وبذلك تقل سرعة التفاعل الإنزيمي كما يظهره القسم الثاني من المنحنى البياني.



الشكل 5-7: تأثير درجة الحرارة على سرعة التفاعل الأنزيمي

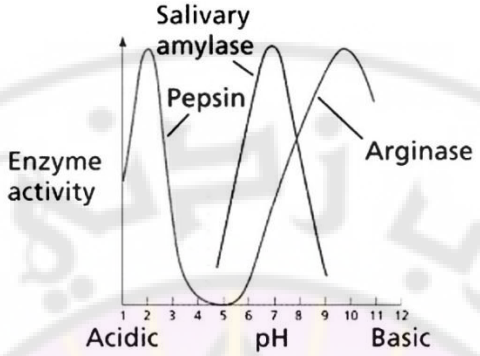
يمكن القول أن الخط المنحني الذي يدل على سرعة التفاعل الإنزيمي هو حصيلة خطي تنشيط وتخثر البروتين الأنزيمي. أما درجة حرارة التفاعل المثلى فهي الدرجة التي تتوازن عندها ظاهرتا التنشيط والتخثر وتجرى عادة تجارب التفاعلات الإنزيمية بين 30 و37 درجة مئوية. وتتأثر سرعة التفاعل بدرجة الـ pH والقوى الشاردية وزمن التفاعل.

وهناك بعض الإنزيمات ذات الوزن الجزيئي المنخفض والتركيب البسيط التي يحتوي تركيبها على جسور ثنائية السلفيد، تكون أكثر تحملاً للحرارة مثل ribonuclease ويمكن تسخينها حتى درجة الغليان دون أن يتأثر نشاطها بذلك، كما أن إنزيمات الكائنات الحية المحبة للحرارة تستطيع أن تمارس نشاطها على درجات حرارة تصل حتى 80 درجة مئوية.

ب) تأثير درجة الـ pH:

إن تغيرات درجة الـ pH يمكن أن يكون لها تأثير على الإنزيم نفسه وكذلك على مادة التفاعل، فدرجة الـ pH يمكن أن تسبب تغيرات في درجة تأين بعض المجموعات الفعالة الموجودة في الإنزيم والضرورية لتشكيل المعقد (إنزيم – مادة تفاعل)، أو للمحافظة على الشكل الفراغي للبروتين الإنزيمي.

كما أن تغيرات درجة الـ pH يمكن أن تؤثر على مادة أو مواد التفاعل وذلك بتغيير درجة تشردها، وهذا يسمح أو يمنع تشكل المعقد أنزيم– مادة تفاعل. لذلك هناك pH مثالي لكل تفاعل إنزيمي وتكون سرعة التفاعل عنده أعلى ما يمكن فإنزيم الاميلاز Amylase الذي يقوم بتفكيك النشاء وتصبح سرعة التفكك أعظمية عند درجة الـpH 7 (الشكل 5-8).



الشكل 5-8: تغير سرعة تفاعل الأنزيم اميلاز بالمقارنة مع درجة الـ PH

إن درجة الـ pH المثالية تختلف من إنزيم لآخر، فدرجة الـ pH المثلى لإنزيم الببسين تتراوح بين 1.5 و 2، أما بالنسبة لإنزيم Arginase فهي من 9.5 إلى 10 ولكنها لغالبية الإنزيمات تتراوح بين 6 إلى 8.

ت) مثبطات الإنزيمات:

يقصد بمثبطات الإنزيمات Inhibitors، كافة المواد التي تؤثر على سرعة التفاعل الإنزيمي فتؤدي إلى خفظها أو إيقاف التفاعل وذلك من خلال تأثيرها على أحد مكونات الإنزيمات كالموقع الفعال أو الجزء البروتيني في الإنزيم Apoenzyme أو المرافق الإنزيمي أو المجموعة الضميمة Prosthetic group فتبطل مفعول هذه الإنزيمات في تسريع التفاعلات الحيوية. تستخدم المثبطات الإنزيمية لدراسة المسارات الاستقلابية في الجسم بالإضافة إلى استقلاب بعض الأدوية والمواد السامة وتأثيرها على التفاعلات الإنزيمية في الجسم.

تقسم مثبطات الإنزيمات إلى عدة أقسام وهي المثبطات التنافسية، والمثبطات اللاتنافسية (العكسية وغير العكسية) والمثبطات غير التنافسية وسنقوم بتفصيل كل منها:

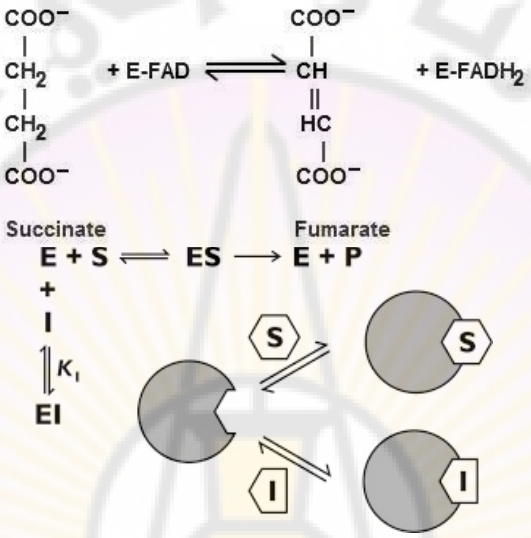
1) المثبطات التنافسية Competitive Inhibitors:

هي عبارة عن مواد تستطيع أن تدخل في تنافس مع مادة التفاعل من أجل الارتباط مع المركز الفعال للإنزيم. لذلك فالإنزيم قادر على الاتحاد مع مادة التفاعل S أو مع مثبط الإنزيم I:

$$E+S \leftrightarrows ES \rightarrow E + P$$
$$E + I \rightleftarrows (EI)$$

أما مدى التثبيط فيتأثر بعدة عوامل وهي تركيز المادة المثبطة وتركيز مادة التفاعل بالإضافة إلى مدى الإلفة النسبية للمركز الفعال للإنزيم لكل من المادة المثبطة ومادة التفاعل. وبشكل عام تتكون المثبطات التنافسية من مركبات ذات تركيب بنائي مشابه لمادة التفاعل، وبذلك

تكون قادرة على الاتحاد مع المركز الفعال في الإنزيم. من الأمثلة الشائعة لهذا النوع من المثبطات هو تثبيط إنزيم Succinic dehydrogenase الذي يعمل كما هو معروف على حمض السكسينيك بوساطة حمض المالونيك $HOOC\text{-}CH_2\text{-}COOH$ Malonic acid (الشكل 5–9).



الشكل 5–9: التثبيط التنافسي

في هذه الحالة يعمل حمض المالونيك كمثبط وذلك لاحتوائه على مجموعتي كربوكسيل كما هو حال حمض السكسينيك بسبب هذا التشابه يمكن الإنزيم من الارتباط مع حمض المالونيك بدلاً من حمض السكسينيك **ولكن لعدم وجود رابطة كربون – كربون في حمض المالونيك فلا يقوم الإنزيم بأكسدتها**، كذلك لا يمكن للمثبط أن يحل محل مادة التفاعل. يمكن تثبيط مثل هذا التفاعل بمواد أخرى مثل حمض الأوكزاليك HOOC-COOH، أو حمض الغلوتاريك $HOOC\text{-}(CH_2)_3\text{-}COOH$ ولكنها أقل فاعلية من حمض المالونيك $HOOC\text{-}CH_2\text{-}COOH$ وذلك لكونه الأكثر شبهاً بتركيب حمض السكسينيك، ويمكن التغلب على هذا النوع من التثبيط بزيادة تركيز مادة التفاعل.

2) المثبطات اللاتنافسية: Non-competitive Inhibitor

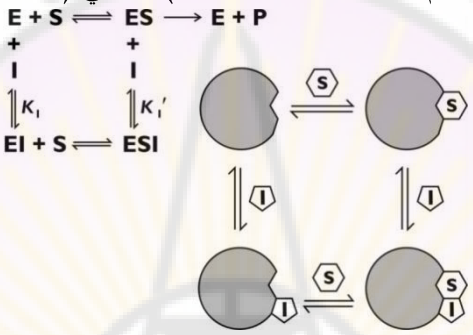
في هذا النوع من التثبيط يكون تركيب المثبط لا يشابه تركيب مادة التفاعل أو قد يتشابه معها قليلاً، ويرتبط المثبط اللاالتنافسي عادة مع الإنزيم في موقع آخر يختلف عن الموقع الفعال أي لا يوجد أي تنافس بين المثبط ومادة التفاعل على الاتحاد مع الموقع الفعال للإنزيم لذا فإن زيادة تركيز مادة التفاعل لا يلغي تأثير عمل هذه المثبطات.

ويقسم المثبطات اللاتنافسية إلى نوعين:

1. المثبطات اللاتنافسية العكسية Reversible non-competitive inhibitor.
2. المثبطات اللاتنافسية غير العكسية Irreversible non-competitive inhibitor.

وفيما يلي وصف للنوعين السابقين:

1-المثبطات اللاتنافسية العكسية: يتكون معقدان بوجود المثبط وهما EI (معقد الإنزيم – المثبط) و EIS (معقد الإنزيم – المثبط – مادة التفاعل) كما في (الشكل 5-10)

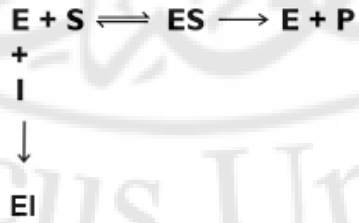


الشكل (5-10): التثبيط اللاتنافسي العكسي

أن المعقد EIS يمكن أن يتحلل ليعطي الناتج ولكن بمعدل سرعة أقل مما هو عليه لتحلل ES.

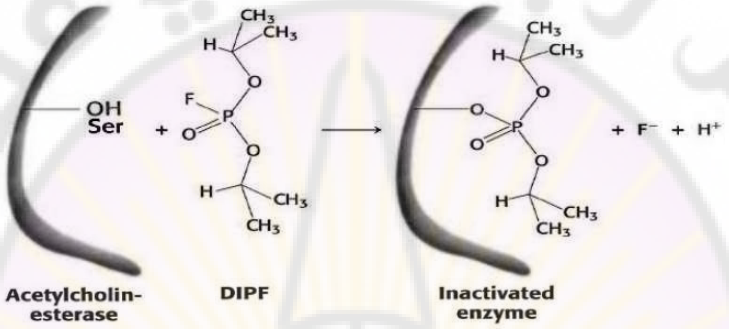
2-**المثبطات اللاتنافسية غير العكسية:** يرتبط المثبط مع وحدة الحمض الأميني للإنزيم بوساطة رابطة تشاركية بحيث لا يمكن فصل المثبط عن الإنزيم بوساطة التخفيف أو الفصل الغشائي Dialysis و تسمى هذه الحالة في بعض الأحيان تسمم الإنزيم Poison enzyme.

إن هذا الارتباط يعمل على تغيير تركيب الإنزيم وخفض فاعليته ثم توقفها كلياً لذلك يقال عن الإنزيم بأنه تسمم بالمثبط. ويمكن توضيح ارتباط المثبط اللاتنافسي غير العكسي بالإنزيم بالشكل 5-11.



الشكل (5-11):التثبيط اللاتنافسي غير العكسي

ومن الأمثلة على هذا النوع من التثبيط شوارد المعادن الثقيلة مثل (الرصاص والزئبق والفضة) التي لها القابلية على الارتباط بقوة مع مجاميع الثيول لبعض الإنزيمات، وكذلك غاز الأعصاب ثنائي أيزوبروبيل فلوروفوسفات Diisopropyl fluorophosphate (DIPF) الذي يعمل على تثبيط أنزيم اسيتيل كولين استيراز بارتباطه مع مجموعة الهيدروكسيل لوحدات السيرين في الإنزيم (5–12).



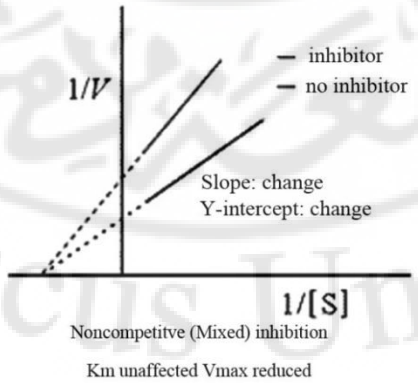
الشكل (5–12). تثبيط إنزيم Acetylcholine esterase بارتباطه مع غاز الأعصاب ثنائي ايزبروبيل فلوروفوسفات Diisopropyl fluorophosphate (DIPF).

إن المخطط البياني لمعادلة لاينويفر – بيرك بوجود أو عدم وجود المثبط غير التنافسي (العكسي أو غير العكسي) يعطي الشكل نفسه (الشكل 5–13) إذ يمكن استنتاج المعلومات الآتية منه:

أ) تنخفض السرعة القصوى V_{max}.

ب) تبقى قيمة K_m ثابتة لأن زيادة تركيز مادة التفاعل ليس لها تأثير في تقليل التثبيط الفة الإنزيم لمادة التفاعل ثابتة أيضاً.

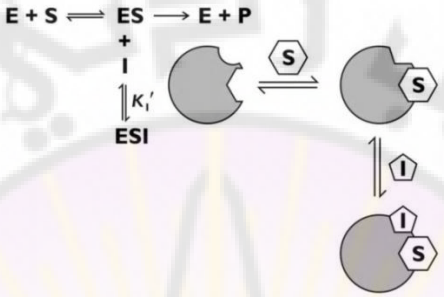
ج) لا يمكن التغلب على التثبيط بزيادة تركيز مادة تفاعل.



الشكل 5–13: المخطط البياني لمعادلة لاينويفر – بيرك بوجود أو عدم وجود المثبط التنافسي.

ج- التثبيط غير التنافسي Uncompetitive Inhibitor:

يعد المثبط غير التنافسي جزءاً من المثبط اللاتنافسي العكسي إذ كلاهما يحتوي على المعقد EIS فالمثبط غير التنافسي يتحد مع المعقد ES فقط ليكون EIS (الشكل 5-14)

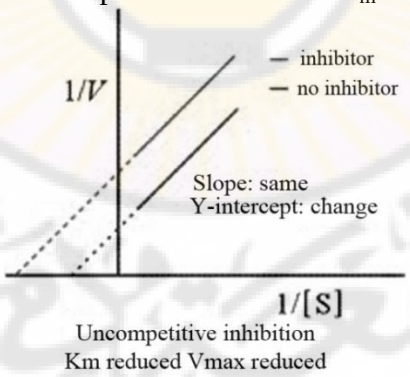


الشكل 5-14: التثبيط غير التنافسي.

إن المثبط غير التنافسي يرتبط بموقع يختلف عن موقع ارتباط مادة التفاعل بالإنزيم. والرسم البياني لمعادلة لاينويفر – بيرك بوجود المثبط اللاتنافسي أو عدم وجوده يوضح بالمعلومات الآتية (الشكل 5-15):

1) انخفاض قيمة السرعة القصوى v_{max}.
2) انخفاض قيمة K_m.
3) لا يمكن التغلب على التثبيط بزيادة تركيز مادة التفاعل

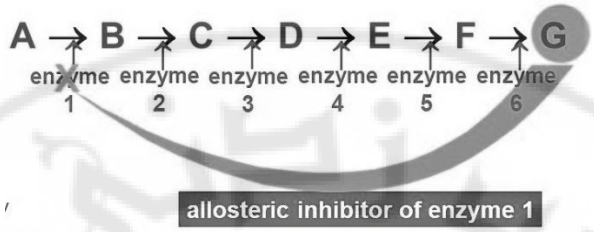
Uncompetitive inhibition K_m reduced Vmax reduced



الشكل5-15: مخطط معادلة لاينويفر– بيرك بوجود مثبط غير التنافسي أو عدمه

د- تثبيط ناتج التفاعل Feedback inhibition:

من النادر أن نجد في التفاعلات الحيوية تفاعل مفرد وإنما تعاقب عدة تفاعلات مرتبطة مع ببعضها. وغالباً ما يكون الناتج النهائي لسلسة التفاعلات هو مثبط للإنزيم EI الذي يسرع التفاعل الأول من السلسلة كما هو موضح في (الشكل 5-16).

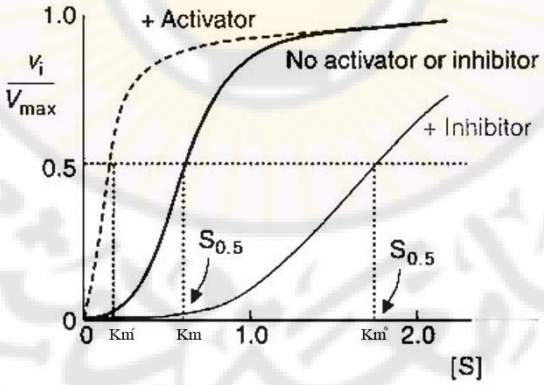


الشكل 5–16: تثبيط الناتج النهائي

لا يسمح هذا النوع من التثبيط بوجود فائض من الناتج النهائي G وبذلك يوفر على الخلية كمية من الطاقة لأن المركب A على الأغلب يكون بحاجة إلى تنشيط بوساطة مركب ذي طاقة كامنة عالية. يتم تثبيط إنزيم Asparate trans carbamylase المسؤول عن تسريع التفاعل الأول من أجل النيكليوتيدات البريميدينية، من قبل الناتج النهائي ساتيدين ثلاثي الفوسفات (CTP).

هـ– الإنزيمات المنظمة:

تتميز الإنزيمات المنظمة عن الإنزيمات الأخرى عند دراسة حركية التفاعلات التي تسرعها بأن المنحنى الناتج عن العلاقة بين سرعة التفاعل والتركيز ليس على شكل جزء من قطع زائد كما هو الحال لدى الإنزيمات العادية (الشكل 5–17) وإنما على شكل سيني (على شكل حرف S)



الشكل 5–17: تأثير التنشيط والتثبيط على حركية تفاعل إنزيمي مسرع بوساطة إنزيم منظم (منحنى متقطع بوجود منشط؛ بدون تنشيط أو تثبيط (منحنى الوسط)؛ 3: بوجود مثبط (الخط أقصى اليمين).

أي لا تنطبق عليه معادلة ميكايليس ومنتن (الشكل 5–17). تعمل الإنزيمات المنظمة على تنظيم مسارات الاستقلاب حسب حاجة الخلايا التي تقع تحت تأثير الهرمونات بطريقة غير مباشرة. تكون سرعة التفاعلات الخاضعة للإنزيمات المنظمة بطيئة في البداية ولكنها تزداد

مع زيادة مادة التفاعل حتى تبلغ السرعة القصوى. كما تمتلك الإنزيمات المنظمة طاقة حرة $\Delta G'$ سالبة وبالتالي فهي تسرع التفاعلات بشكل تلقائي وباتجاه واحد.

تتميز الإنزيمات المنظمة بأنها ذات تركيب رابعي ومؤلفة من تحت وحدات بروتينية ولها تأثير تشاركي على التفاعل أي أن عملية تثبيت الجزيء الأول من مادة التفاعل على إحدى تحت الوحدات يؤدي إلى تثبيت جزيئات أخرى على بقية الإنزيم.

لقد أصبح من الواضح أن تثبيط عمل الإنزيمات أو تنشيطها ذو أهمية كبيرة جداً من الناحية الفيزيولوجية حيث يتم بذلك تنظيم التفاعلات الكيميائية الحيوية وهذا ما يسمى بالتحكم التنظيمي Allosteric Control. يتم هذا التحكم عادة بوساطة منشطات أو مثبطات للإنزيمات والتي تختلف كلياً في الشكل والتوزيع الفراغي عن مادة التفاعل حيث تحتوي الإنزيمات المنظمة على مواقع تدعى بالمواقع التنظيمية Regulatory Sites بالإضافة إلى المواقع الفعالة Catalytic Sites ويمكن أن ترتبط المثبطات أو المنشطات مع هذه المواقع التنظيمية.

1- **المنشطات التنظيمية: Allosteric activators**

عندما يرتبط منشط إنزيمي مع الموقع التنظيمي الموجود لدى الإنزيم فإن التوزيع الفراغي للإنزيم يخضع لتعديل طفيف عكوس يدعى بالتحول التنظيمي. يسبب هذا التحول تعديل في التوزيع الفراغي للموقع بحيث يصبح أكثر قابلية لتثبيت مادة التفاعل وبذلك ترتفع ألفة الإنزيم لمادة التفاعل فيصبح Km بدون المنشط (الحالة العادية) أكبر من Km' مع المنشط، كما يمكن أن يحصل تغير في شكل منحنى حركية التفاعل الإنزيمي ليتحول من سيني الشكل إلى شكل قطع زائد (الشكل 5-17).

كما سبق وأشرنا تتألف الإنزيمات من بروتينات ذات تركيب أولي وثانوي وثالثي ورابعي كما في الإنزيمات المنظمة ولكن البروتين الإنزيمي غير كاف في بعض الأحيان لتنشيط التفاعلات فيتطلب وجود عامل مساعد Cofactor لإجراء التنشيط.

2- **المثبطات التنظيمية Allosteric inhibitors:**

عندما يتحد مثبط تنظيمي مع الموقع التنظيمي للإنزيم فإنه يسبب أيضاً تحولاً في البنية الفراغية للإنزيم بما فيه الموقع الفعال فيقلل من إمكانية اتحاد مادة التفاعل مع الإنزيم ويبقى شكل منحنى حركية التفاعل سيني، كما نلاحظ أن ألفة الإنزيم لمادة التفاعل تقل حيث يصبح K_m مع المثبط أكبر من Km بدون المثبط (الحالة العادية).

5-5- تركيب الإنزيمات:

هناك بعض الإنزيمات مؤلفة من سلسلة ببتيدية واحدة monomeric enzymes كما هو حال إنزيم رايبونوكلياز، ومنها أيضاً إنزيم التربسين والببسين والكيموتربسين وهي أنزيمات تقوم بتحليل البروتينات فلا يتم تصنيعها من قبل الخلية بشكلها النهائي وإنما تصنع بصورة خاملة تدعى عندئذ بمولد الإنزيم Zymogen. يتم نقل مولد الإنزيم إلى المعدة والأمعاء فيتحول إلى شكله الفعال ليمارس عمله في تفكيك البروتينات الغذائية، وفيما يلي توضيح لتحويل هذه الإنزيمات من الشكل غير الفعال إلى الشكل الفعال(جدول 5-2).

الجدول 5-2:الأشكال الفعالة وغير الفعالة وعوامل التنشيط لبعض الأنزيمات.

الشكل غير الفعال	عامل التنشيط	الشكل الفعال
Pepsinogen	H+	Pepsin
Trypsinogen	Enterokinase	Trypsin
Prolastase	Trypsin	Elastase
Chemotrypsinogen A	Trypsin+Chemotrypsin	α – Chemotrypsin
Procarboxypeptidase A	Trypsin	Carboxypeptidase A

5-5-1- البروتين الإنزيمي:

هناك إنزيمات أخرى Oligomeric enzymes أكبر حجماً ومؤلفة من عدة سلاسل ببتيدية (تحت وحدات) متماثلة أو مختلفة وكل سلسلة تتحمل موقعاً فعالاً. فالإنزيم ذو أربع سلاسل ببتيدية له أربعة مراكز فعالة ونجد ضمن هذه المجموعة الإنزيمات المنظمة وكافة إنزيمات التحلل الغليكوليتي.

يوجد ما يسمى الإنزيمات المتماثلة Isoenzymes وهي عبارة عن مجموعة من البروتينات الإنزيمية تقوم بتسريع نفس التفاعل مع أنها مختلفة في تركيبها البروتيني وصفاتها الفيزيائية مثل درجة الحرارة وال pH المثلى وكذلك بالسرعة القصوى Vmax وثابت ميكايليس Km وقيمة Rf أثناء الترحيل الكهربائي. فإنزيم Lactate Dehydrogenase يوجد تحت خمسة أشكال مختلفة يمكن فصلها عن بعضها البعض بوساطة الترحيل الكهربائي ولا تختلف إلا بطريقة ارتباط نوعين من تحت الوحدات monomer الأول يدعى H والذي يوجد في القلب (Heart) والثاني M والذي يوجد بكثرة في العضلات (Muscles) فهناك خمسة احتمالات للارتباط وتكوين أربعة تحت وحدات وهي:

$$H_4, H_3 M_1, H_2 M_2, H_1 M_3, M_4$$

استطاع العلماء بدراساتهم من التوصل إلى معرفة تركيب كثير من الإنزيمات من الأحماض الأمينية وكذلك توزيعها الفراغي وهذا مهم جداً لأن هذه الخاصة الأخيرة لها علاقة كبيرة

بالنشاط الإنزيمي. إن الوزن الجزيئي للإنزيمات مختلف كثيراً فيتراوح بين 10000 (إنزيم رايبونوكلياز 13700) وحتى مئات الألاف كأنزيم β-galactosidase (520.000). أما المعقدات عديدة الإنزيمات Multienzymes Complexes فهي عبارة عن مجموعة من الإنزيمات التي تسرع سلسلة من التفاعلات المتتابعة ويصل وزنها الجزيئي إلى أكثر من 1000.000 ومن الأمثلة على ذلك معقد عديد الإنزيمات المسؤول عن تحويل البيروفات إلى استييل كو إنزيم A ويتألف من ثلاثة إنزيمات.

5-5-2- العوامل المساعدة Cofactors:

تتميز بعض الإنزيمات بحاجتها لعوامل مساعدة لإتمام عملها في تنشيط التفاعلات الإنزيمية، وهناك عدة أنواع للعوامل المساعدة كالشوارد المعدنية والمجموعات غير البروتينية ومساعدات الإنزيمات، ويختلف عمل العوامل المساعدة (المنشطات) كالشوارد المعدنية عن عمل المرافقات أو المساعدات الإنزيمية حيث لا تدخل المنشطات بحد ذاتها في التفاعلات التي تحتوي إنزيماتها على مرافقات إنزيمية، وإنما تتحد هذه المنشطات Activators مع الإنزيم الحر Enzyme أو مع مادة التفاعل Substrate ليتكون معقد ثلاثي إنزيم، مادة تفاعل، منشط. ويمكن أن تكون عملية الارتباط بإحدى الآليات الثلاثة الآتية:

(مادة تفاعل، إنزيم، منشط) أو (منشط، مادة تفاعل، إنزيم) أو (مادة تفاعل، منشط، إنزيم).

أولاً- الشوارد المعدنية: تحتاجها كثير من الإنزيمات لإتمام عملها التنشيطي وأكثر هذه الشوارد المعدنية أهمية هو Zn^{++} فهو ضروري لعمل الـ carboxypeptidase وإنزيمات Phosphatases القلوية وإنزيمات أخرى كثيرة. يرتبط عادة Zn^{++} بالإنزيم بقوة ويقوم بتثبيت التوزيع الفراغي للإنزيم وبذلك يصبح الإنزيم أكثر فاعلية وتوجد هناك إنزيمات تحتاج إلى Mg^{++} وCa^{++} وحتى K^{+} وNa^{+} وكذلك الكوبالت Co^{++}. تعمل الإنزيمات الحاوية على الحديد Fe^{+++} أو النحاس Cu^{++} في مركزها الفعال على تسريع تفاعلات الأكسدة والاختزال.

تتمكن الشوارد المعدنية من المساهمة في عمل الإنزيمات من خلال عدة طرق نذكر منها:

1) يمكن للشوارد المعدنية أن تأخذ أو تعطي إلكترونات لتنشيط مركبات الالكترفيل أو النكليوفيل وحتى في المحاليل المتعادلة تعمل الشوارد المعدنية كإلكتروفيل أو نكليوفيل.
2) تستطيع الشوارد المعدنية أن تحجب النكليوفيل لمنع حدوث تفاعلات جانبية غير مرغوبة.
3) تعمل الشوارد المعدنية على تقريب الإنزيم من مادة التفاعل من بعضهما البعض بوساطة روابط تساهمية.

4) تستطيع الشوارد المعدنية ربط المجموعات المتفاعلة في الشكل ثلاثي الأبعاد.
5) تعمل الشوارد المعدنية على استقرار التركيب الفعال للإنزيم.

أما في حالة الإنزيمات الحاوية على المعادن Metalloenzymes فإن المعدن يرتبط بقوة بالإنزيم ويبقى الإنزيم محتفظاً بالمعدن حتى في حال عزله وتنقيته.

ثانياً- المجموعات غير البروتينية Prosthetic groups: وهي عبارة عن عوامل مساعدة عضوية من طبيعة غير بروتينية ووجودها ضروري لقيام الإنزيم بعمله وهي جزء لا يتجزأ من الموقع الفعال للإنزيم ومثال ذلك مجموعة البورفيرين Porphyrin التي توجد في كل من إنزيم Catalases، Peroxidases والسيتوكرومات والتي ترتبط بروابط تشاركية مع البروتين الإنزيمي.

ثالثاً- مساعدات الإنزيمات Coenzymes: وهي عبارة عن جزيئات عضوية ذات وزن جزيئي منخفض بالمقارنة مع البروتين الإنزيمي، وقد أتى اسم مساعد الإنزيم بسبب بقائه مرتبطاً بالبروتين الإنزيمي طوال عملية فصل وتنقية الإنزيم. تقوم بالمساعدة في تسيير التفاعل الإنزيمي ومن الأمثلة عليها FAD NAD وغيرها وسنقوم بدراستها مفصلاً.

5-5-3- الموقع الفعال للإنزيم The Active Site

الموقع الفعال هو تلك المنطقة التي ترتبط بها مواد التفاعل (والمجاميع المرتبطة الأخرى إن وجدت) والذي هو عبارة عن وحدات من الأحماض الأمينية في الإنزيم، تشترك في عملية التحفيز، ويكون على شكل حفرة أو التفاف لسلسلة متعدد الببتيد. وعلى الرغم من الاختلاف التركيبي الكبير بين الإنزيمات فأنه يمكن تعميم بعض الظواهر الخاصة بالمراكز الفعالة التي يمكن تحديدها بما يأتي:

1) تؤلف المواقع الفعالة جزءاً صغيراً من الحجم الكلي للإنزيم وبذلك فإن معظم الاحماض الأمينية في الإنزيم ستكون بعيدة إلى حد ما عن مادة التفاعل.
2) يتميز الموقع الفعال بكونه ثلاثي الأبعاد فهو ليس بالنقطة ولا بالخط المستقيم ولا حتى بالمستوي ويترتب الشكل الثلاثي الأبعاد من مجاميع مختلف لأنحاء مختلفة من سلسلة الأحماض الأمينية المتعاقبة في الإنزيم فمثلاً قد تكون الأحماض الأمينية في مواقع 101.63.62.52.35 تشارك في الموقع الفعال.
3) ترتبط مواد التفاعل بإنزيماتها بقوى ضعيفة نسبياً، فقد اتضح أن ثوابت اتزان معقدات (ES) تتراوح عادة بين 10^{-8} و 10^{-2} مول وتبين أيضاً عند حساب طاقة التفاعل الحرة إنها تتراوح بين -3 و-12 كيلو كالوري/مول وعند مقارنة هذه الأرقام مع قوة الارتباط

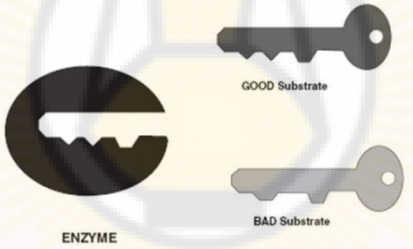
التشاركي التي تتراوح بين – 50 و–110 كيلو كالوري/مول نجد أنها ليست بتلك القوة التي يحسب حسابها.

4) المواقع الفعالة في الإنزيم عبارة عن شقوق (حفر) في الإنزيم والتي ترتبط بها مواد التفاعل وأن خصوصية الارتباط تعتمد على الترتيب للذرات التي تحويها الأحماض الأمينية في الموقع الفعال.

5) هناك نظريتان تتضمنان اتحاد مادة التفاعل بالموقع الفعال وتكوين معقد الإنزيم – مادة التفاعل وهما:

أ) نظرية القفل والمفتاح Lock and Key Theory:

اقترحت هذه النظرية من قبل الباحث ايميل فيشر Emil Fischer في سنة 1890، ففي هذه النظرية وبسبب خصوصية الإنزيم فإنه يتحد مع مادة تفاعل ذات شكل ملائم تماماً للمركز الفعال إذ يؤثر المفتاح (مادة التفاعل) على قفل واحد فقط وليس كل المجموعات الموجودة بجزيئة الإنزيم ،ومن عيوب هذه النظرية صلابة أو عدم مرونة المركز الفعال بالنسبة لمادة التفاعل وتنطبق هذه النظرية على عدد من الإنزيمات ذات الحركية البسيطة (الشكل 5–18).



(الشكل 5–18):أشكال نظرية القفل والمفتاح:

(أ)ارتباط المفتاح (مادة التفاعل) بالقفل (الإنزيم) لكي يؤدي فعاليته.

ب)– نظرية الحث التوافقي Induced Fit Theory

يعتمد اتحاد مادة التفاعل مع الموقع الفعال للإنزيم على المجموعات الجانبية (R-group) للأحماض الأمينية في الموقع الفعال والتي تشترك جميعاً في عملية الاتحاد ويمكن تصنيف وحدات الأحماض الأمينية في الموقع الفعال إلى أربع مجموعات، وهي:

1) وحدات اتحادية: التي تتحد مع مادة التفاعل.

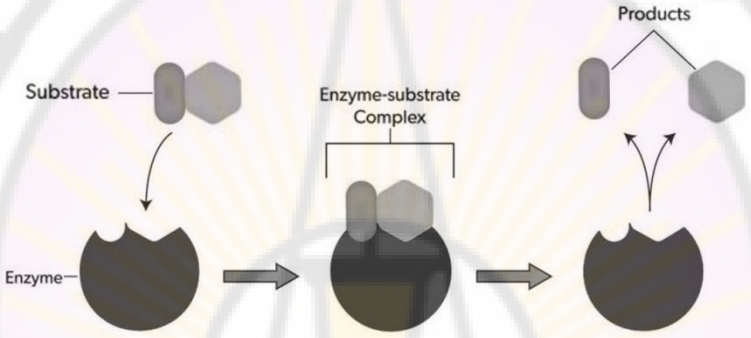
2) وحدات تحفيزية: مسؤولة عن التغيرات الكيميائية.

3) وحدات تركيبية: التي تحافظ على التركيب ثلاثي الأبعاد للإنزيم.

4) وحدات غير أساسية: التي تكون على سطح الإنزيم ولا تشارك في عملية التحفيز.

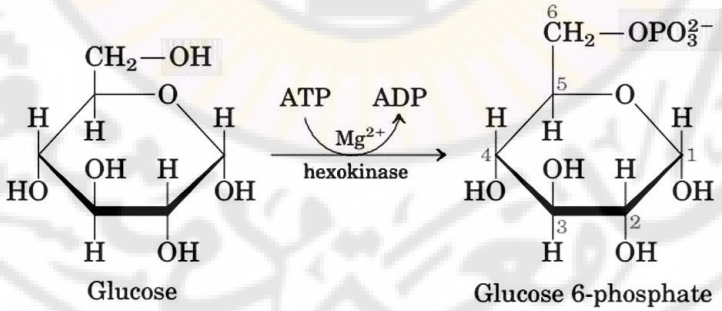
تشترك المجموعات الأربع أعلاه في عملية الاتحاد مع مادة التفاعل، ويمكن تشبيه نظرية التوافق المستحث بالقفاز الذي يغير من شكله عند دخول اليد فيه، فالقفاز هنا، يعد الموقع الفعال في الإنزيم واليد هي مادة التفاعل.

إن أهم ملامح نظرية التوافق المستحث هي مرونة الموقع الفعال. إذ حالما تضاف مادة التفاعل للإنزيم فإن الموقع الفعال في هذا الإنزيم يتحور بشكل خاص ليتمكن من الارتباط بمادة التفاعل، أي أن شكل الموقع الفعال لا يتخذ الشكل المشابه لمادة التفاعل إلا حين يرتبط بها لذلك سميت الحالة الديناميكية هذه بنموذج الحث التوافقي Induced Fit (الشكل 5-19).



الشكل 5-19: نموذج التوافق المستحث لارتباط الإنزيم بمادة التفاعل وتكوين المعقد [ES]

يعد إنزيم الهكسوكيناز Hexokinase أحد الأمثلة على نموذج التوافق المستحث والذي يعمل على تحويل السكريات السداسية (مثل الغلوكوز) إلى غلوكوز 6- فوسفات كما في المعادلة الآتية:

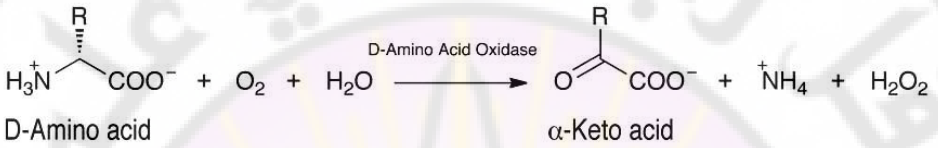


تحول الغلوكوز إلى غلوكوز 6-فوسفات بفعل إنزيم هكسوكيناز.

5-6- دقة عمل الإنزيمات:

تتميز الإنزيمات بدرجة عالية من الدقة في عملها فمنها ما يعمل لتنشيط تفاعل واحد وهناك قسم آخر يقوم بتسريع تفاعلات عديدة ولكنها من طبيعة واحدة. إن اختلاف دقة العمل الإنزيمي عائدة لعدة أسباب منها اختلاف تركيب البروتين الإنزيمي وتوزيعه الفراغي. كما

نعلم أنه يوجد لكثير من المواد البيولوجية عدد كبير من المماكبات الضوئية لذلك نجد أن هناك إنزيمات تسرع تفاعلات المشابهات D وإنزيمات أخرى تسرع تفاعلات المماكبات L ويسمى ذلك بالتخصص الناتج عن التوزيع الفراغي للإنزيمStereochemical Specificity فإنزيم D-amino Oxidase متخصص في تسريع تفاعلات أكسدة الاحماض الأمينية من النوع D فقط كما هو موضح في المعادلة التالية:



بينما لا يستطيع هذا الإنزيم تسريع تفاعلات أكسدة الأحماض الأمينية من النوع L.

إن سرعة تفاعلات أكسدة الأحماض الأمينية من النوع D تختلف من حمض أميني لآخر (الجدول 5–3).

الجدول (5–3): سرعة التفاعل الإنزيمي ل D-Amino acid Oxidase مع مواد تفاعل مختلفة.

الحمض الأميني	سرعة التفاعل النسبية
D – تيروزين	100
D – الآنين	34
D – ليوسين	7.5
D – إيزوليوسين	115
D – لايسين	0.3
L –تيروزين	0.0

هناك نوع ثان من التخصص الإنزيمي يدعى بالدقة الإنزيمية المتعلقة بمجموعة وظيفية ما Functional Specificity، فالإنزيم يؤثر على مجموعة وظيفية واحدة أو أكثر من مادة التفاعل ولا يؤثر على أية مجموعة أخرى موجودة على المادة نفسها ويمكن توضيح ذلك من خلال المثال التالي: فأنزيم Hexokinase يقوم بفسفرة السكريات السداسية الإلدهيدية بوجود ATP.

$$\text{D-Hexase+ATP} \xrightarrow{Hexokinase} \text{D- hexose-6-Phasphate + ADP}$$

يمكن ملاحظة أن جميع السكريات التي تأثرت بفعل الإنزيم لها تركيب مشابه في توزيع المجموعات الوظيفية حول ذرات الكربون رقم 3،4،5،6 أما توزيع المجموعات حول الذرتين

1 و2 ليس مهماً ويعد هذا النوع من التخصص المتعلق بالمجموعة الوظيفية عالياً لأنه يرتبط بوجود عدة مجموعات وظيفية.

هناك درجات أقل لدقة الإنزيم المتعلقة بالمجموعة الوظيفية مثل إنزيمات esterases وتعمل عند وجود رابطة استرية، أو إنزيمات Peptidases وتعمل على تفكيك الرابطة الببتيدية، وهناك نوع آخر من التخصص الإنزيمي يسمى بالتخصص الإنزيمي المطلق لمادة تفاعل واحدة فقط Absolute Specificity كما هو حال إنزيم Fructose 1-6 diphosphatase.

5-7- تصنيف الإنزيمات:

بلغ عدد الإنزيمات المعروفة حتى الآن أكثر من 2000 إنزيم وجرت العادة سابقاً على تسمية بعض الإنزيمات بأسماء أعطيت لها بدون أي مدلول علمي مثل إنزيمات chymotrypsin, Trypsin, Pepsin....الخ، لا يمكن أن يفهم من خلال هذه التسميات ماهية مادة التفاعل التي يرتبط معها الإنزيم ولا التفاعل الإنزيمي الذي سيسرعه الإنزيم أيضاً. لكن في بعض الأحيان قد أعطي اسم مادة التفاعل للإنزيم نفسه مع إضافة اللاحقة (ase) إليها مثل Peptidase, Arginase, Phosphatase . كما كان هناك تسميات أكثر دقة من سابقيتها وتتميز بإعطاء الإنزيم اسم مادة التفاعل ونوع التفاعل الإنزيمي مضافاً إليه (ase) كما في تسمية malate dehydrogenase . أمام هذا المزيج من التسميات المختلفة والكم الكبير من الإنزيمات قامت لجنة الإنزيمات التابعة للاتحاد الدولي للكيمياء الحيوية Commission on Enzymes of the International Union of Biochemistry بعمل تسمية وتصنيف شامل للإنزيمات. يتضمن هذا التصنيف ستة صفوف مقسمة إلى تحت صفوف والتي تقسم بدورها إلى تحت – تحت صفوف وجميعها مرقمة.

5-7-1- ترقيم الإنزيمات Enzyme Numbering

إن لكل إنزيم رقماً يتكون من 4 عناصر، مفصولة عن بعضها بنقاط يسبقها الحرفين E.C. (والتي تعني تسمية لجنة الإنزيمات Enzyme Commission) ومنظمة بالقواعد الآتية:

(أ) **الرقم الأول:** يمثل المجموعة التي ينتمي إليها الإنزيم (في تصنيف الإنزيمات) ويكون من 1 إلى 6.

(ب) **الرقم الثاني**: يلي الرقم الأول يمثل الصنف الإضافي لهذه المجموعة Sub-Class فمثلاً لمجموعة الإنزيمات المؤكسدة والمختزلة يعبر هذا الرقم عن طبيعة المجموعة المعطية Donor والتي تحصل فيها الأكسدة والتي تعطي مكافئات الاختزال (الهيدروجين او الإلكترونات) في التفاعل فمثلاً:

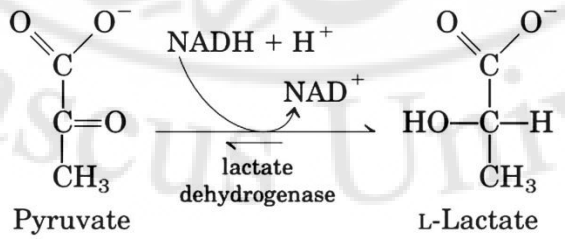
الرقم الثاني	المادة التي تعطي الهيدروجين أو الإلكترون
1	كحول (-CHOH)
2	ألدهيد أو كيتون (>C=O)
3	إيثلين(-CH=CH-)
4	أمين اولي ($-CHNH_2$ or $-CHNH_3$)
5	أمين ثانوي (>CHNH-)
6	مرافقات إنزيمية (مثل NADH or NADPH)

وهكذا في بقية الإنزيمات فمثلاً إنزيمات التحليل المائي Hydrolases فيمثل الرقم الثاني نوع الرابطة التي تتميه وكذلك من الإنزيمات بدون تميه فإن الرقم الثاني يشير إلى نوع الرابطة التي تتحطم بين المجموعة المغادرة وتلك الباقية.

(ج) الرقم الثالث: يمثل الصف الإضافي المضاف (Sub-Sub Class) إذ يشير إلى المادة التي تستقبل (أو تأخذ) الهيدروجين أو الإلكترون في إنزيمات الأكسدة والاختزال كما يأتي:

الرقم الثالث	المادة التي تأخذ الهيدروجين أو الإلكترون
1	NAD^+or $NADP^+$
2	Fe^{+++}
3	O_2

(د) الرقم الرابع: يطلق عليه الرقم التسلسلي للإنزيم Serial number فهو يضاف اعتباطاً بدون تمثيل حقيقي له أو في بعض الأحيان استناداً إلى طبيعة المادة الأساس التي يعمل عليها الإنزيم ويستفاد منه في التفريق بين المجاميع المختلفة فمثلاً يعطي للإنزيمات التي تساعد في تفاعلات متشابهة ولكن ليست متطابقة (تحلل استرات الحموض الكربوكسيلية المختلفة) الأرقام الثلاثة الأولى نفسها أما الرقم الرابع فيختلف بينها (أي بين الاسترات المختلفة المذكورة) وبين المادة الخاضعة الفعلية. أي استر الحمض الكربوكسيلي الذي يقوم الإنزيم بتحليله فعلاً. ونعطي مثالاً على تسمية الإنزيمات استناداً إلى نظام لجنة الإنزيمات في التصنيف ففي التفاعل الآتي الذي يتحول فيه اللاكتات إلى البيروفيت باستخدام إنزيم لاكتات ديهيدروجيناز Lactate Dehydrogenase :



إن تسمية الإنزيم للتفاعل أعلاه تكون كالآتي: (E.C.1.1.1.27) Lactate Dehydrogenase وتدل التسمية على ما يلي: Lactate Dehydrogenase تشير إلى اسم الإنزيم الذي يعمل في التفاعل وهو لاكتيك ديهدروجيناز .E.C تعني تسمية لجنة الإنزيمات Enzyme Commission .

الرقم الأول (1) يشير إلى صنف الإنزيم وهو من إنزيمات الأكسدة والاختزال الواقع في الصف الأول من تصنيف الإنزيمات.

الرقم الثاني (1) يشير إلى المادة المعطية للهيدروجين وهي الكحول.

الرقم الثالث (1) يشير إلى المادة التي تأخذ الهيدروجين وهي +NAD.

الرقم الرابع (27) يشير إلى مادة التفاعل التي يعمل عليها وهي L-Lactate.

وهو أحد إنزيمات دورة كريبس ويساعد على تحويل حمض الماليك إلى أكزالواسيتيك.

5-7-2- تسمية الإنزيمات Enzyme nomenclature:

تقسم الإنزيمات إلى 6 مجموعات تبعاً إلى طبيعة التفاعل الذي تسرعه وفقاً لما يلي:

1) إنزيمات الأكسدة والاختزال Oxidoreductase:

وتتضمن الإنزيمات التي يتم فيها انتقال الإلكترونات والشكل العام للتفاعل هو

$$A_{red} + B_{ox} \leftrightarrows A_{ox} + B_{red}$$

وتشمل الصفوف الإنزيمية المسماة سابقاً باسم Reductases, Dehydrogenases Oxygenases Hydroxylases, Peroxidases, Oxidases وتقسم عادة إلى:

1-1- إنزيمات تؤثر على المجموعة الوظيفية CH-OH– تابعة لمادة معطية للهيدروجين بوجود:

1-1-1- نيكوتين أميد ثنائي النيكلوتيد +NAD، أو مشتقه الفوسفاتي +NADP كمستقبل للهيدروجين مثل L-malate: NAD-Oxidoreductase 1.1.2.37

وهو أحد أنزيمات دورة كريبس ويساعد على تحويل الماليك الى أكزالوأسيتيك.

1-1-2 سيتوكروم كمستقبل للهيدروجين:

1.1.2.3-L-Lactate-ferricytochromic-oxidoreductase.

1-1-3 الأوكسجين الجوي أيضاً كمستقبل.

1.1.3.4 β-D-glucose: oxygen-oxidoreductase.

1-2- إنزيمات تؤثر على المجموعة الوظيفية $-\overset{|}{C}=O$ (سواء ألدهيدية أو كيتونية) بوجود:

1-2-1- نيكوتين أميد ثنائي النيكليوتيد +NAD أو مشتقة الفوسفاتي +NADP كما في (1.2.1.2) –D glyceraldehyde-3-Phosphate: NAD-oxidoreductase

وهو أحد إنزيمات دورة التحلل الغليكوليتي ويساعد على تحول الغليسر ألدهيد 3- فوسفات إلى 3,1 ثنائي فوسفو حمض الغليسريك.

1-2-2- الأوكسجين O_2 كمستقبل مثل:

(1.2.3.2) Xanthine: Oxygen Oxidoreductase

1-2-3- حمض اللايوبيك Lipoic acid كمستقبل.

1- 3- إنزيمات تؤثر على المجموعة -H_2C-CH_2- بوجود:

1-3-1- +NAD أو +NADP كمستقبل مثل:

(1.3.1.1) 4.5 dihydrouracil: NAD+ oxidoreductase

1-3-2- السيتو كروم كمستقبل.

1-3-3- الأوكسجين الجوي O_2 كمستقبل

(1.2.3.1)4.5 Dihydroorotate: oxygen oxidoreductase.

والذي له دور في اصناع النكليوتيدات البريميدينية.

1-4- إنزيمات تؤثر على المجموعة-CH-NH- < بوجود:

1-4-1- +NADP أو NAD كمستقبل مثل:

(1.4.1.2)L-glutamate: NAD-oxidoreductase

ويقوم بالمساعدة على تحول حمض الغلوتاميك إلى حمض α كيتوغلوتاريك.

تشمل مجموعة الاكسدة والاختزال على إنزيمات أخرى ولا يمكن استعراضها جميعاً ضمن مقررنا وهكذا سيكون حال المجموعات الأخرى أيضاً.

2) الإنزيمات الناقلة Transferases

تشمل عادة الإنزيمات التي تساعد على نقل مجموعة ما من مركب لآخر والشكل العام للتفاعل هو: $AB + C \rightleftarrows A + BC$

وتقسم إلى الأقسام التالية:

2-1-1- إنزيمات ناقلة لمجموعة الميثيل Methyl Transferases

ونذكر مثالاً على ذلك

(2.1.1.10)S-adenosyl-methionine:L-homocysteim

والذي له دور في اصناع الحمض الأميني سيستين S-methyl transferase

2-1-2- إنزيمات ناقلة لمجموعة هيدروكسي ميثيل أو هيدروكسي فورميل مثل:
(2.1.1.10)L-Serine: tetrahydrofolate 5, 10 hydroxymethyl transferase.
ويلعب هذا الإنزيم دوراً مهماً في تحول الحمض الأميني سيرين إلى غلايسين.

2-1-3- إنزيمات ناقلة لمجموعة الكاربوكسيل أو الكارباميل مثل:
(2.1.3.2) Carbamylphosphate: L-aspartate carbamyl transferase.
ويعد مسؤول عن تنشيط إحدى مراحل اصطناع النكليوتيد يوريدين5- أحادي الفوسفات.

2-3- إنزيمات ناقلة لمجموعات الأسيل.

2-5- إنزيمات ناقلة لمجموعات الالكيل

2-6- إنزيمات ناقلة للمجموعات الآزوتية وتقسم إلى:

2-6-1- إنزيمات ناقلة لمجموعة الامين مثال:
(2.6.1.1.) L- aspartate: Ketoglutarate amino transferase.

2-7- إنزيمات ناقلة لمجموعة الفوسفات وتقسم إلى عدة أقسام وهي:

2-7-1- إنزيمات ناقلة للفوسفات بوجود مجموعة كحولية كمستقبل

مثال: (2.7.1.1) ATP. D- hexose-6-Phosphotransferase.

وبوساطة هذا الإنزيم تتم فسفرة الهكسوزات بوجود الATP.

2-7-2- إنزيمات ناقلة للفوسفات بوجود مجموعة كربوكسيلية كمستقبل

مثال: (2.7.2.3) ATP 3-Phosphoglycerate I-Phosphotransferase.

وهو أحد إنزيمات التحلل الغليكوليتي، هذا وتوجد تحت صفوف أخرى.

3) إنزيمات التحلل المائي Hydrolases:

وهي مجموعة الإنزيمات التي تسرع التفاعلات التي يحدث فيها تحطيم الروابط ضمن مواد التفاعل بوجود الماء الذي يعد ضرورياً لهذا النوع من التفاعلات والشكل العام للتفاعل هو:

$$A\text{-}B + H_2O \rightleftarrows AH + BOH$$

وتقسم إلى عدة صفوف ومنها:

3-1- إنزيمات قطع الروابط glycerol-ester hydrolase(3.1.1.3) أو Lipase

3-2- إنزيمات قطع الروابط الغليكوزيدية مثل β-D- glucoside (3.2.1.2) glycohydrolase.

3-2- إنزيمات قطع الروابط الببتيدية كأنزيم.Aminoacyl-peptide hydrolase (3.4.1.2) ، بالإضافة إلى تحت صفوف أخرى.

4) الإنزيمات المحللة Lyases:

هي مجموعة الإنزيمات التي تسرع التفاعلات التي يتم فيها تحلل غير مائي للروابط ضمن مواد التفاعل وكذلك بدون أكسدة أو اختزال والشكل العام للتفاعل هو

$$A + B \rightleftarrows A - B$$

وتقسم لعدة أقسام منها:

4-1- إنزيمات تحلل الروابط C-C ومنها:

4-1-1-1- إنزيمات نازعة لمجموعة الكربوكسيل مثل

(4.1.1.12) Asparate decarboxylase.

4-1-2- إنزيمات نازعة لمجموعة الالدهيد

4-2- إنزيمات تحلل الروابط C-O

4-3- إنزيمات تحلل الروابط C-N

5) إنزيمات التماكب Isomerases:

هي مجموع الإنزيمات التي تسرع عملية إعادة تنظيم داخلي للجزيء ما ينتج عنه مماكب فراغي للمركب الأول ويضم هذا الصف من الإنزيمات عدد من تحت الصفوف والشكل العام للتفاعل هو: $A \rightleftarrows Iso - A$

ونذكر منها:

5-1- أنزيمات Epimerases, Racimases: حيث تسرع الأولى عملية تحويل مماكب ضوئي إلى آخر فيكون مخلوط راسيمي من المماكبين الضوئيين، أما الثانية فتسرع عملية تحويل المركب إلى الـ Epimer التابع له.

5-2- إنزيمات المشابهات الهندسية Cis-Trans: وتسرع عملية تحول المشابهة Cis إلى Trans أو التحول العكسي.

5-3- إنزيمات Aldo-Ketoisomerases وتسرع عملية التحول بين الشكل الكيتوني والشكل الألدهيدي.

6) الإنزيمات الصانعة Ligases:

تسرع هذه الإنزيمات مجموعة تفاعلات البناء والتي تشمل تكوين روابط جديدة والتي يرتبط تكوينها بتحطم رابطة ذات طاقة كامنة عالية (كتحطم رابطة بيروفوسفات من جزيء ATP أو أي مركب معطي للطاقة) والشكل العام للتفاعل هو:

$$A + B + XTP \rightleftarrows A - B + XDP$$

حيث X= A, G, U ,C وتشمل هذه المجموعة كافة الإنزيمات المسماة Synthetases وتقسم لعدة تحت صفوف نذكر منها:

6−1− إنزيمات مكونة للروابط O-C

6−2− إنزيمات مكونة للروابط S-C ومن الامثلة المهمة عليها إنزيم
(6.2.1.1) Acetyl-CoA ligase

6−3− إنزيمات مكونة للروابط N-C وتحتوي على صف مهم جداً ويتضمن إنزيمات Acid-Amino acid ligases والتي تقوم بتسريع تفاعل تكون الببتيدات ومنها γ-L-glutamyl-L-Cysteine-glycine ligase (6.3.2.3)

6−4− إنزيمات مكونة للروابط C-C

هذا ويوجد تحت صفوف أخرى عديدة لن يتسع المجال لذكرها.

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

الفصل السادس

الفيتامينات والمرافقات الانزيمية

Vitamins & Coenzymes

6-1- مقدمة:

يحتاج العديد من الإنزيمات إلى عوامل مساعدة وذلك لإتمام عملها وقد تكون هذه العوامل المساعدة مركبات عضوية تدعى بمرافقات الإنزيمات، أو عناصر معدنية بصورة أيونية. وفي بعض الحالات تدخل المرافقات الإنزيمية في التفاعلات بصورة مباشرة وخاصة عند نقل بعض المجموعات الوظيفية. ومع أن مرافقات الإنزيمات لا توجد بكميات كبيرة في الكائنات الحية إلا أنها ضرورية لحدوث معظم تفاعلات الاستقلاب الحيوي.

وسنقوم بعرض التركيب الكيميائي للفيتامينات ومصادرها وأهميتها بالنسبة لنمو وسلامة الإنسان ودور هذه الفيتامينات في تكوين المرافقات الإنزيمية والتي اهتم بها علماء الكيمياء الحيوية منذ الثلاثينات من هذا القرن. لقد استطاع العالم Otto Warburg عزل المرافق الإنزيمي النيكوتين أميد Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate والذي يعد ضرورياً لبعض تفاعلات الأكسدة والاختزال الحيوية. وقد تتالت بعد ذلك اكتشافات المرافقات الإنزيمية الأخرى وتراكيبها الكيميائية وعلاقاتها بالفيتامينات (الجدول 6-1).

ويمكن تقسيم الفيتامينات إلى مجموعتين، الأولى وهي الفيتامينات الذوابة في الماء Hydrosolubles والثانية الذوابة بالدهون Liposolubles، وتتضمن المجموعة الأولى فيتامينات الثيامين Thiamin(B_1)، الرايبوفلافين riboflavin(B_2)، حمض النيكوتينيك Nicotinic acid، حمض البانتوثينيك Pantothenic acid، البيريدوكسين Pyridoxine(B_6)، البيوتين Biotin، حمض الفوليك Folic acid، وفيتامين B_{12}، وحمض الأسكوربيك acid Ascorbic(C). بينما تضم المجموعة الثانية الفيتامينات K, E, D, A.

الجدول (6-1): يبين أنواع الفيتامينات وصورها الفعالة وأدوارها الحيوية.

الفيتامين	الصورة الفعالة	الدور الحيوي
الثيامين	الثيامين بيروفوسفات	نزع الكربوكسيل من الأحماض الفاكيتونية
الرايبوفلافين	الفلافين وحيد وثنائي النكليوتيد	تفاعلات الأكسدة والاختزال
حمض النيكوتينيك	نيكوتين أميد أدينين ثنائي النكليوتيد	تفاعلات الأكسدة والاختزال
حمض البانتوثينيك	مرافق الإنزيم A	نقل مجموعات الأسيل
البيريدوكسين	فوسفات البيريدوكسال	نقل مجموعات الأمين
البيوتين	البيوسيتين	نقل CO_2
حمض الفوليك	حمض رباعي هيدروالفوليك	نقل مجموعات وحيدة الكربون
فيتامين B12	أدينوزيل كوبالامين	نقل الهيدروجين
حمض الأسكوربيك	–	عامل مساعد لتفاعلات إضافة الهيدروكسيل
فيتامين A	ريتينال	يسهم في عملية الرؤية
فيتامين D	ثنائي هيدروكسي كلورو كالسيفرول	تنظيم استقلاب أيونات الكالسيوم
فيتامين E	–	حماية ليبيدات الجدر الخلوية
فيتامين K	–	عامل مساعد لتفاعلات إضافة الكربوكسيل

6-1-1 الخواص العامة للفيتامينات:

1) الفيتامينات مواد عضوية لا تحتوي على النتروجين في تركيبها لصنف الفيتامينات الذوابة في الدهون خلافاً للمجموعة الذوابة في الماء الذي يحتوي في تركيبها على نتروجين عدا فيتامين C (حمض الأسكوربيك).
2) تعد الفيتامينات مواد غير متجانسة إذ لا تتشابه في تركيبها الكيميائي وتأثيرها الفيزيولوجي.
3) يتم الحصول على الفيتامينات من مصادرها الخارجية وبكميات قليلة جداً لأغراض النمو والبناء وتنظيم العمليات الحيوية والبيولوجية. ومصادرها الخارجية تكون من النبات والحيوان وقسم منها تستطيع الكائنات الحية الدقيقة من تصنيعها داخل أمعاء الإنسان مثل فيتامين K و فيتامين B12.
4) لا تتحلل الفيتامينات بالهضم بل تمتص من قبل خلايا الأمعاء كما هي.
5) معظم الفيتامينات وخصوصاً الفيتامينات الذوابة بالماء تدخل بوصفها مرافقات للإنزيمات Coenzymes، إذ تحتاجها الإنزيمات لأداء دورها في التفاعلات المختلفة فهي تستهلك

في التفاعلات ولهذا وجب تزويد الجسم بها باستمرار. وعند غيابها فأن هناك تفاعلات إنزيمية معينة قد تتوقف وينتج عن ذلك أعراض مرضية.

6) يستطيع الجسم أن يتخلص من الفيتامينات الذوابة بالماء بإفرازها عن طريق البول إذ لا يستطيع خزنها (عدا فيتامين B12). ولذلك تعد مواد غير سامة وليس لها تأثير سام عندما يتناولها الجسم بكميات كبيرة Overdoses، أما الفيتامينات الذوابة بالدهون فإن الجسم يستطيع تخزينها في الكبد كفيتامين (D,E,A) فإنها تظهر بعض السمية عند تراكمها بكميات كبيرة إذ ينتج ما يسمى فرط الفيتامين Hypervitaminosis يمكن أن تسبب العديد من الأمراض المختلفة وحسب نوعية الفيتامين.

7) الفيتامينات سريعة التلف عند التسخين والطبخ والخزن وتتخرب نتيجة للتفاعلات الكيميائية التي تحدث في الأغذية.

8) تكون مرافقات الإنزيمات شوارد معدنية (كالحديد والكالسيوم والسيلينيوم ....الخ) أو مركبات عضوية غير بروتينية ترافق الإنزيمات لتساعد عملية نقل مجموعات وظيفية معينة ضمن العمليات الحيوية المختلفة وتدعى مجموعات ضميمة Prosthetic group في حالة عدم قابلية فصلها بتقنية الفصل الغشائي Dialysis لارتباطها بشكل تشاركي بالإنزيم.

9) تشارك بعض الفيتامينات كوحدات بنائية للهرمونات أو قد تشارك البعض منها كمضادات أكسدة (فيتامين E وفيتامين C وغيرها) للتخلص من الأكسدة داخل الجسم أو خارج الجسم عند إضافتها إلى بعض الأغذية للمحافظة عليها لفترة أطول.

10) تختلف الاحتياجات اليومية للفيتامينات من كائن حي إلى آخر وتتأثر أيضاً بالعمر والجنس والتغيرات الفيزيولوجية المختلفة على سبيل المثال الحمل والرضاعة والتمارين الرياضية والتغذية.

11) لا تعطي الفيتامينات طاقة ولكنها تساعد في تحويل الطعام أثناء العمليات الاستقلابية كالكربوهيدرات والدهون والبروتينات إلى طاقة.

6-1-2- العوامل التي تؤثر في توافر الفيتامينات للجسم:

1) **التوافر الحيوي Bioavailability:** هناك عوامل مختلفة تؤثر في قابلية امتصاص الفيتامينات وإيصالها إلى خلايا الجسم ومنها:

أ) قد يرتبط الفيتامين بعنصر من العناصر الغذائية (مثل البروتين) ويصبح من الصعوبة امتصاصه أو توفره في الجسم مثال ذلك وجود النياسين أو حمض النيكوتينك على شكل

نياستين Niacytin في نخالة القمح وهو ببتيد كربوهيدراتي Glycopeptide إذ يرتبط به الفيتامين ويكون غير متوفر وغير مستفاد منه حتى لو حصل امتصاص لهذه المادة.

ب) خلل في عملية هضم وامتصاص الدهون يعرقل امتصاص الفيتامينات الذائبة فيه.

ج) خلل إفراز حمض الهيدروكلوريك المعدي نتيجة لأي إصابة يؤدي إلى قلة توفر فيتامينات معينة مثال ذلك فيتامين B12 عند خلل أو قلة إفراز العامل الداخلي.

د) الإصابة بالإسهال أو بالطفيليات يؤدي إلى فقدان امتصاص الفيتامينات.

هـ) وجود الألياف الغذائية مثل البكتين تقلل من امتصاص العديد من الفيتامينات نتيجة ارتباطها معها.

2) مضادات الفيتامينات Antivitamins:

التي تتواجد في الأغذية أو يمكن أن تعطى بوصفها أدوية والتي تكون مشابهة للفيتامينات من الناحية التركيبية فيمكن أن تقلل عمل الفيتامينات في الجسم.

3) **بعض أنواع العقاقير:** يمكن أن تعرقل عمل العديد من الفيتامينات ومن ثم تؤدي إلى ظهور أعراض نقصها مثل استخدام عقار بيريميثامين Pyrimethamin لعلاج مرض الملاريا تعمل على عمل مضاد لفيتامين حمض الفوليك وبالتالي ظهور نقص حمض الفوليك.

4) **الإدمان على الكحول:** إذ يؤدي إلى سوء امتصاص حمض الفوليك وزيادة طرحه عن طريق البول.

5) **بعض البكتيريا الطبيعية:** تعمل على تكوين العديد من الفيتامينات مثل فيتامين K وحمض النيكوتينيك وحمض الفوليك والرايبوفلافين وبالتالي فإن أي تأثير على البكتيريا عن طريق أدوية أو أمراض طفيلية أو معوية تؤدي إلى التقليل من هذه الفيتامينات.

6-2 الفيتامينات الذوابة في الماء:

1) الثيامين: Thiamin (فيتامين B1):

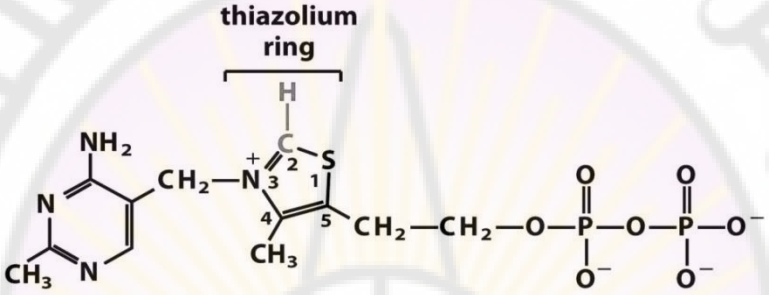
الخواص العامة:

1) يتكون الثيامين من حلقة البريميدين ونواة الثيازول Thiazole التي ترتبط مع بعضها بمجموعة ميثيل (الشكل 6-1).

2) لا يتأثر الثيامين بالحرارة وثابت في المحاليل الحمضية ومتغير في المحاليل القلوية، أبيض اللون سهل الذوبان في الماء.

3) يكثر فيتامين B1 في اللحوم بصورة عامة والكبد والبيض فضلاً عن وجوده في الخبز ولا سيما الحاوية على الألياف.

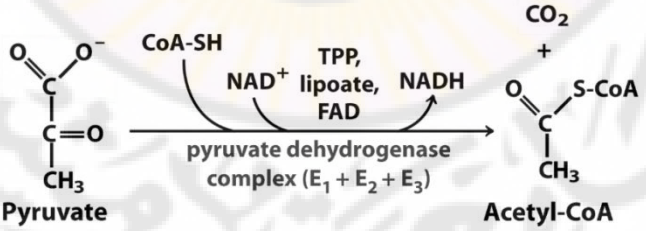
4) يتحول الثيامين في الجسم إلى الشكل الفعال وهو ثيامين بايروفوسفات Thiamine Pyrophosphate (TPP) ويرافق إنزيمات الديكاربوكسيلاز Decarboxylase وينتج من تفاعل ATP مع الثيامين وإنزيم بايروفوسفوكيناز PyrophosphoKinase (الشكل 6-1).



الشكل (6-1): ثايمين بايروفوسفات (Thiamine Pyrophosphate (TPP)

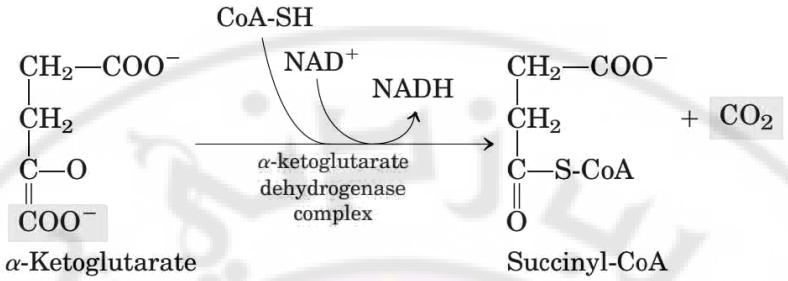
5) يشترك TPP في استقلاب الكربوهيدرات والبروتينات والدهون عبر ارتباطه مع عمليات الأكسدة ونزع الكاربوكسيل Oxidative decarboxylation كما في التفاعلات الآتية:

أ) تحول حمض البيروفيك إلى أسيتيل مرافق الإنزيم A من قبل إنزيم بيروفات ديهايدروجينار المعقد Pyruvate dehydrogenase complex كما في المعادلة أدناه.

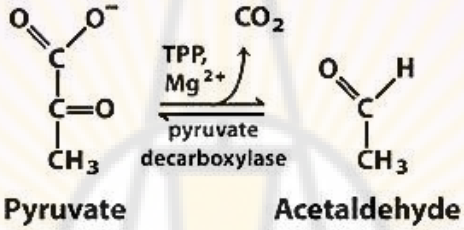


$\Delta G'^{\circ} = -33.4$ kJ/mol

ب) تحول الفا – كيتوغلوتاريت إلى سوكسنيل مرافق الإنزيم A بوساطة إنزيم الفا – كيتوغلوتاريت ديهدروجيناز المعقد a-Ketoglutarate dehydrogenase complex كما في المعادلة أدناه:



ج) يدخل في تفاعل إزالة المجموعة الكربوكسيلية من الأحماض الكيتونية a-Keto acids وتتضمن تحويل البيروفات إلى استالدهيد في الخميرة بفعل إنزيم بيروفات ديكاربوكسيلاز Pyruvate decarboxylase كما في المعادلة الآتية:



د) له دور كمرافق لإنزيم الترانس كيتولاز Transketolase وترانس الدولاز Trans aldolase، فالإنزيم الأول يعمل على نقل ذرتي كربون على شكل غلايكوالدهيد أما الإنزيم الثاني فيعمل على نقل ثلاث ذرات كربون على شكل ثنائي هيدروكسي أسيتون.

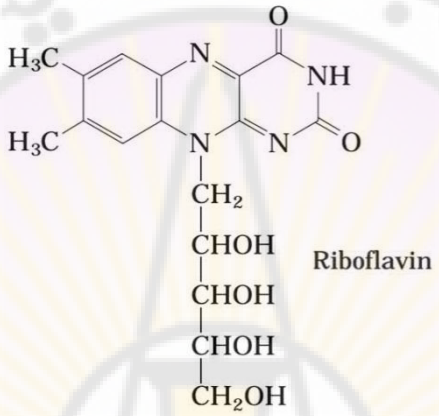
6) يؤدي نقصه إلى مرض البري بري Beri beri وتكون أعراضه تشويش فكري (قلة التركيز) وفقدان الشهية وضعف وشلل عضلي Paralysis وضعف القلب كما أن نقصه يؤدي إلى عدم تحول البيروفات أسيتيل مرافق الإنزيم A وبالتالي فأن تناول الكربوهيدرات بكميات عالية يؤدي إلى زيادة البيروفات واللاكتات في الجسم وحدوث زيادة الحموضة Lactic acidosis عن طريق اللاكتات الفائض.

7) يزداد احتياج الجسم من الثيامين كلما زادت كمية المواد السكرية التي يتناولها الإنسان عن نسبة المواد الدهنية والبروتينية المتناولة نتيجة لعلاقة الثيامين باستقلاب المواد السكرية وتعتمد حاجة الجسم من الثيامين على حجم الجسم وفعاليته ودرجة حرارة الجو والحالة الفيزيولوجية.

2- الرايبوفلافين Riboflavin (فيتامين B2):

الخواص العامة:

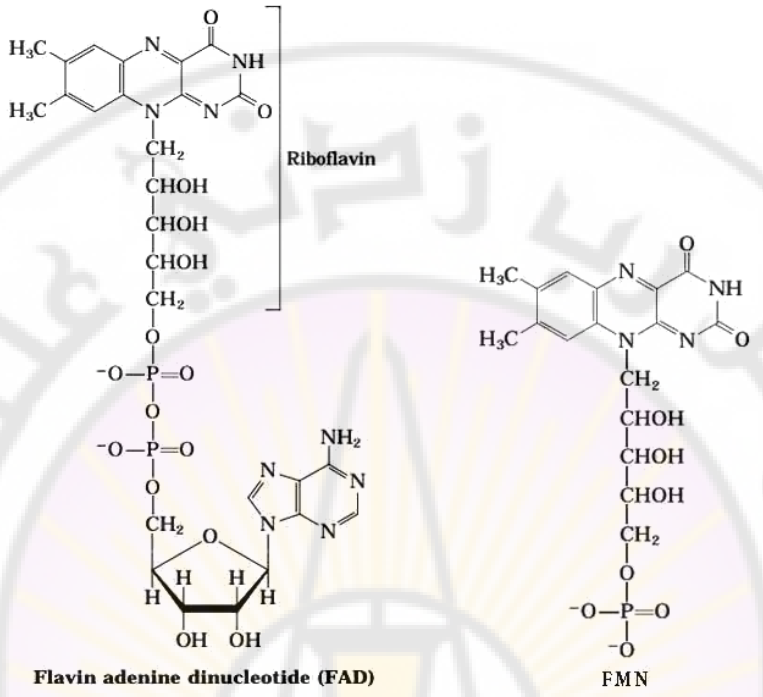
1) يتكون فيتامين B2 من تركيب حلقي يسمى الإيزو ألوكسازين Isoalloxazine مرتبط بنتروجين الحلقة الوسطى وبشكل سلسلة جانبية كحول الرايبتول Ribitol المشتق من السكر الخماسي الرايبوز.



(الشكل 6–2): الرايبوفلافين Riboflavin

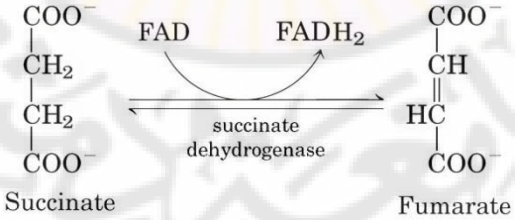
2) لونه برتقالي وعند اختزاله يتحول إلى اللون الأبيض ودرجة انصهار 250 درجة مئوية وقليل الذوبان في الماء وهو ثابت في درجات الحرارة العادية وفي المحاليل الحمضية القوية وغير ثابت عند تعرضه للمحاليل القاعدية أو الضوء (الأشعة فوق البنفسجية) وله أعلى قيمة امتصاص للضوء عند طول موجي 450–460 نانوميتر.

3) يتحول فيتامين B2 في الجسم إلى الشكلين الفعالين فلافين أحادي النيوكليوتيد FMN وفلافين أدنين ثنائي النيوكليوتيد FAD (الشكل 6–3) والتي تدخل مرافقات إنزيمية في العديد من التفاعلات في العمليات الاستقلابية للكربوهيدرات والدهون والبروتينات ويصاحب هذه العمليات انتقال الإلكترونات (الفسفرة التأكسدية) وتكوين طاقة على شكل ATP، وإن استخدام FAD أكثر شيوعاً من FMN.

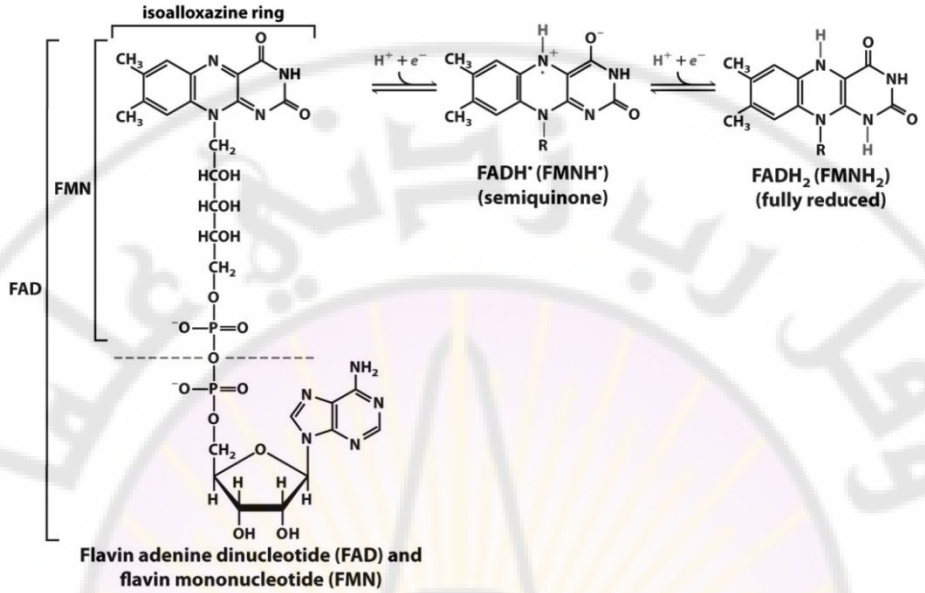


الشكل (6–3): تركيب FAD و FMN

4) هناك العديد من الإنزيمات التي تستخدم فيها المرافقات الإنزيمية الرايبوفلافينية والتي تشمل إنزيمات الأوكسيداز Oxidases وإنزيمات الديهدروجيناز Dehydrogenases ومنها البيروفات والفا كيتو غلوتاريت، وسوكسينات وأسيل مرافق الإنزيم A (Acyl COA)، وكمثال على ذلك تفاعل تحول السوكسينات إلى الفيومارات بفعل إنزيم سوكسينات ديهدروجيناز Succinate dehydrogenase كما في المعادلة التالية:



يشمل تحويل الشكل المؤكسد ل FAD أو FMN إلى الشكل المختزل FADH2 أو FMNH2 إضافة ذرتي هيدروجين (2 إلكترون + 2 بروتون) (الشكل 6–4).



الشكل (6–4): تحول الشكل المؤكسد ل FAD أو FMN إلى الشكل المختزل FADH2 أو FMNH2.

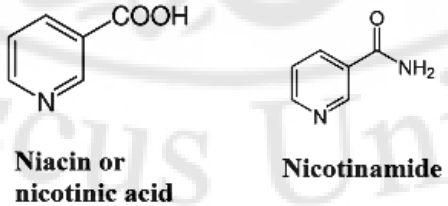
5) يؤدي نقص فيتامين B2 إلى ظهور أعراض منها التهاب وتشقق الشفاه، التهاب الجلد والغدد الدهنية وعادة يصاب الوجه واللسان فيأخذ اللسان لون الاحمر مائلاً إلى الأرجواني وكذلك تحدث اضطرابات للعين والقرنية.

6) يكثر فيتامين B2 في الحليب ومن ثم الكبد والكليتين واللحوم والبيض وفي الحبوب والبقوليات.

3–النياسين Niacin (فيتامين B3):

الخواص العامة:

1) يوجد النياسين على شكل مركبين مشتقين من حلقة البيريدين Pyridine وهما حمض النيكوتينيك Nicotinic acid والنيكوتينيك أميد Nicotinamide (الشكل 6–5) وهما يعدان الأشكال الفعالة للفيتامين ويوجد المركب الأول في المصادر النباتية والمركب الثاني في المصادر الحيوانية.



الشكل (6–5): النيكوتين أميد وحامض النيكوتينك

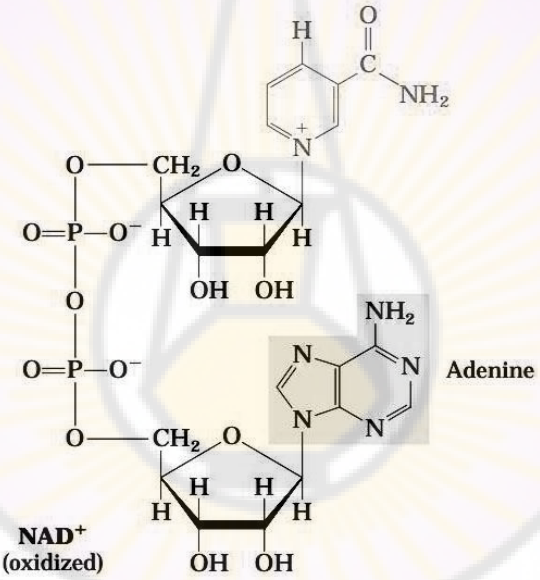
2) النياسين عبارة عن بلورات بيضاء اللون تذوب في الماء والكحول وثابت بالحرارة والأكسدة والعمليات التصنيعية وفي الوسط القاعدي والحمضي.

3) يكثر في اللحوم الحمراء ولحم الدجاج والأسماك ويوجد أيضاً في الحبوب الكاملة والبقوليات مثل الفاصولياء والبازلاء وكميات قليلة في الحليب والبيض.

4) إن أهمية النياسين تكمن في كون أحد مكوناته وهي النيكوتينيك اميد يشتق منه مرافقات إنزيمية (الشكل 6–6) وهي:

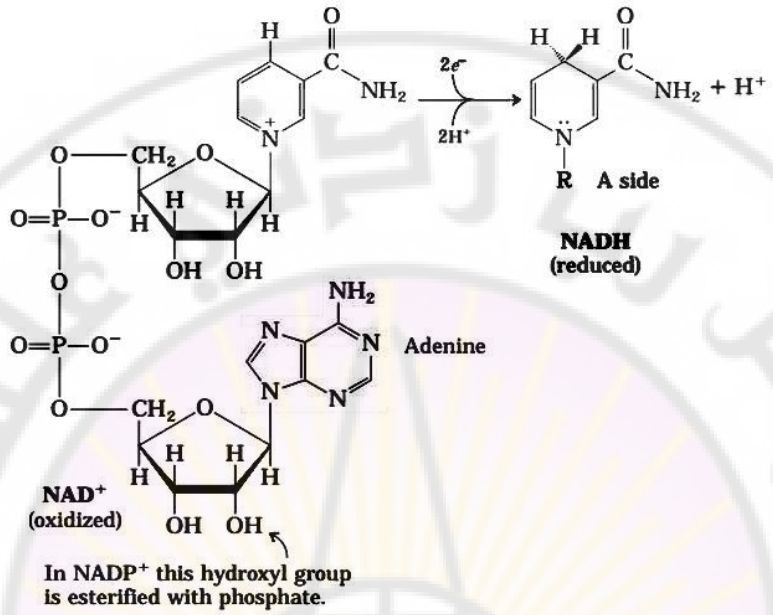
أ) نيكوتين أميد أدنين ثنائي النيوكليوتيد (NAD^+).

ب) نيكوتين أميد أدنين ثنائي النيوكليوتيد فوسفات ($NADP^+$).



الشكل (6–6): نيكوتين أميد أدنين ثنائي النيوكليوتيد NAD^+ ونيكوتين أميد أدنين ثنائي النيوكليوتيد فوسفات $NADP^+$ الذي يتكون عند دخول مجموعة الفوسفات في موقع رقم 2 للسكر الرايبوزي

5) عندما يدخل بروتون واحد وزوج من الإلكترونات إلى حلقة لمركب نيكوتين أميد في +NAD و +NADP يمكن أن تعطي أشكال طنين Resonance متعددة إذ توجد شحنة موجبة على ذرة النيتروجين وأن البروتون المطلوب لمعادلة التفاعل عند إزالة أيون الهيدريد (H^-) من مادة التفاعل يتحرر في المحلول.



(الشكل 6-7): تحول +NAD (الشكل المؤكسد) إلى NADH (الشكل المختزل)

تعرف المرافقات الإنزيمية من هذا النوع في بعض الأحيان بالمرافقات البيريدينية Pyridine Coenzymes وهي تعمل مرافقات لإنزيمات الأكسدة والاختزال Oxidoreductase والتي يطلق عليها إنزيمات الديهدروجيناز المرتبطة بالبيريدين Pyridine- Linked dehydrogenase.

6) تشترك كل من +NAD و +NADP في العديد من تفاعلات الاستقلاب للكربوهيدرات والدهون وتحرير الطاقة. إذ تدخل مرافقات إنزيمية مع إنزيمات الأكسدة والاختزال Oxidoreductase وهناك أكثر من 250 إنزيماً يشترك معها ومن هذه التفاعلات التي تدخل فيها:

أ-تفاعلات نقل الإلكترونات خلال عملية الأكسدة الحيوية لتحرير الطاقة.

ب- تفاعلات إنزيمات الديهدروجيناز dehydrogenase في مسار التحلل الغليكوليتي Glycolysis Pathway ودورة كربس Krebs Cycle ومسار Phosphoguconate Pathway وتفاعلات استقلاب الأحماض الأمينية وبناء الستيرويدات والدهون.

ج- لها دور فعال بمشاركتها كمرافقات لإنزيمات مضادات الاكسدة مثل غلوتاثايون بيروكسيداز Glutathione Peroxidase وغلوتاثايون ريدوكتاز Glutathione reductase (Grd) اللذين يعملان على تقليل الأكسدة الحاصلة في الجسم من خلال

مشاركتهما في تفاعلات إزالة الأصناف الفعالة للأوكسجين Reactive oxygen species (ROS) (مثل سوبر أوكسيد السالب $O_2^{\circ-}$ وبيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 وجذر الهيدروكسيل (OH°—).

د- يدخل +NAD مصدراً لتكوين ADP-ribose في عملية إدخال جزيئة الرايبوز -ADP ribosylation للبروتينات وفي ميكانيكية ترميم (إصلاح) الـ DNA (DNA Repair).

7) يؤدي نقص النياسين والتربتوفان إلى ظهور مرض البلاغرا Pellagra والتي من أعراضه اضطرابات الجهاز العصبي وتشمل القلق والكآبة والخمول وفقدان الذاكرة وغيرها فضلاً عن أعراض في الجهاز الهضمي والفم واللسان وإسهال وتقيؤ.

8) يمكن أن تؤدي زيادة النياسين (وخاصة عند تناول كميات كبيرة لعلاج زيادة الدهون في الدم) إلى توسع في الأوعية الدموية واحمرارها وأخذ كميات من حمض النيكوتينيك أو النيكوتين أميد أكثر من 500 ملغم/100 مل يمكن تؤدي إلى تلف الكبد.

4-حمض البانتوثينيك Pantothenic acid:

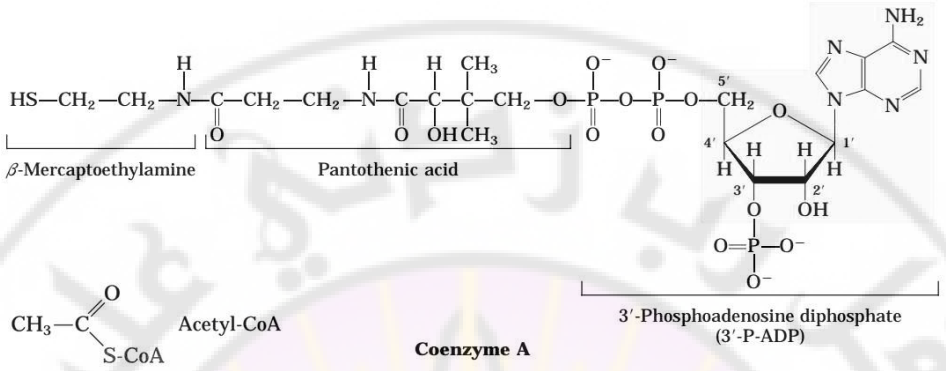
الخواص العامة:

1) يتكون حمض البانتوثينيك من اتحاد بيتا – آلانين ومركب هيدروكسي مثيل حمض البيوتريك Hydroxy methyl butyric acid (الشكل 6-8).

2) هو مادة زيتية صفراء شاحبة لا تتبلور وتذوب في الماء والكحول وغير ثابتة في الوسط الحامضي أو القاعدي وتتأثر بالحرارة.

3) يكثر الفيتامين في صفار البيض والكبد والكليتين واللحوم الحمراء والحليب وتعد الخميرة من أغنى مصادره كما يوجد في البقوليات والحبوب والخضروات كالقرنبيط والبندورة والبطاطا.

4) يدخل الفيتامين في تركيب مرافق الإنزيم A (الشكل 6-8) واختصاره CoA أو CoASH الذي يوجد بكثرة في الأعضاء النشطة كالكبد والكليتين والدماغ والقلب والمجموعة الفعالة في CoASH هي مجموعة الثيول (SH-) التي ترتبط عن طريقها بالمجموعات المختلفة. إذ يدخل في العديد من عمليات استقلاب الكربوهيدرات والدهون والبروتينات، فيدخل مرافق الإنزيم A مع الإنزيمات التي تتضمن نقل مجموعة الإسيتيل أو نقل مجموعة الأسيل Acyl carrier protein (ACP) أو نقل مجموعة السكسينيل أو نقل زمرة البنزويل فضلاً عن دخوله في بناء وأكسدة الأحماض الدهنية وبناء الكوليستيرول وعمليات الأسئلة Acetylation.



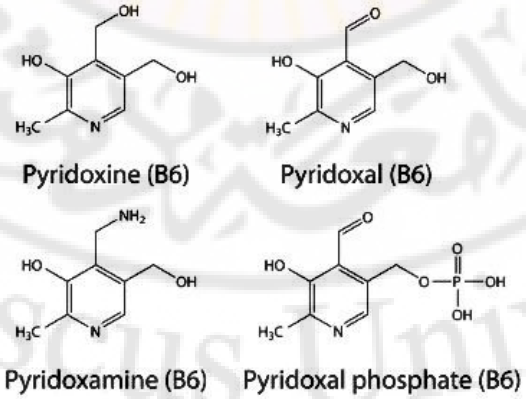
الشكل (6–8): حمض البنتوثينيك Pantothenic acid ومرافق الإنزيم A (Coenzyme A) وأسيتيل مرافق الإنزيم A (Acetyl CoA).

5) يعد الفيتامين ضرورياً للنمو ونقصه يؤدي إلى اضمحلال القشرة الإدرينالية والتهاب المعدة والأمعاء وتساقط الشعر (داء الثعلبة) وتحول الشعر إلى اللون الأبيض فضلاً عن أعراض قد تظهر عند نقص الفيتامين مثل الصداع والإعياء والغثيان والأرق وآلام في البطن. يمكن تكوين حمض البانتوثينيك داخل الجسم عن طريق بكتيريا الكولون E.coli.

5- البيريدوكسين Pyridoxine (فيتامين B6):

الخواص العامة:

1) يشمل فيتامين B6 ثلاث صور مختلفة بتركيبها الكيميائي ومتشابهة بفعالياتها كفيتامين وهي مشتقة من حلقة البيريدين وهذه الصور هي البيريدوكسين Pyridoxine (حاوي على مجموعة كحول) والبيريدوكسال Pyridoxal (حاوي على مجموعة الدهيد) والبيريدوكسامين Pyridoxamine (الحاوي على مجموعة الأمين الأولى) .



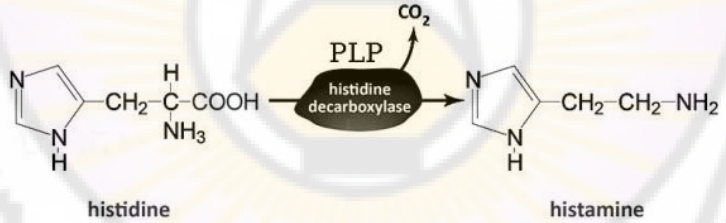
(الشكل 6–9): البيريدوكسين Pyridoxine و البيريدوكسال Pyridoxal و البيريدوكسامين Pyridoxamine

يوجد فيتامين B6 في الجسم في غالبيته على شكل فوسفات البيريدوكسال Pyridoxal Phosphate (PLP) في العضلات إذ يرتبط بشكل رئيس مع إنزيم غليكوجين فوسفوريلاز Glycogen Phosphorylase.

2) إن الشكلين الفعالين الموجودين في الجسم هما بيريدوكسال 5- فوسفات والبيريدوكسامين 5- فوسفات (الشكل6-9)، ويعدان من العوامل المرافقة للإنزيم Coenzyme واللذين يدخلان في العديد من التفاعلات الاستقلابية للأحماض الأمينية ومن هذه التفاعلات:

أ-تفاعل انتقال مجموعة الأمين Transamination من الاحماض الأمينية إلى الأحماض الكيتونية بمشاركته مع إنزيمات ترانس أمينيز Transaminase (والتي تسمى أيضاً أمينوترانسيفرازAminotransferase) مثل إنزيمات غلوتاميت بيروفيات ترانس أمينيز Glutamate Pyruvate transaminase (GPT) وغلوتاميت أوكزاليت ترانس أمينيز Glutamate Oxalate transaminase (GOT).

ب- تفاعلات حذف مجموعة الكاربوكسيل Decarboxylation من الأحماض الأمينية فيتحول الحمض الأميني إلى أمين كما في تحول الهستيدين إلى الهستامين بفعل إنزيم هستيدين ديكاربوكسيلاز Histidine decarboxylase كما في المعادلة الآتية:



ج- تفاعلات التماكب Racemization التي تتضمن تحويل الأحماض الأمينية من الشكل D إلى الشكل L وبالعكس.

د- مرافق إنزيمي مع إنزيم غليكوجين فوسفوليز الذي يعمل على فسفرة الرابطة α (1-4) منتجاً غلوكوز 1-فوسفات في نهايات سلسلة الغليكوجين أثناء هدم الغليكوجين Glycogenolysis Pathway.

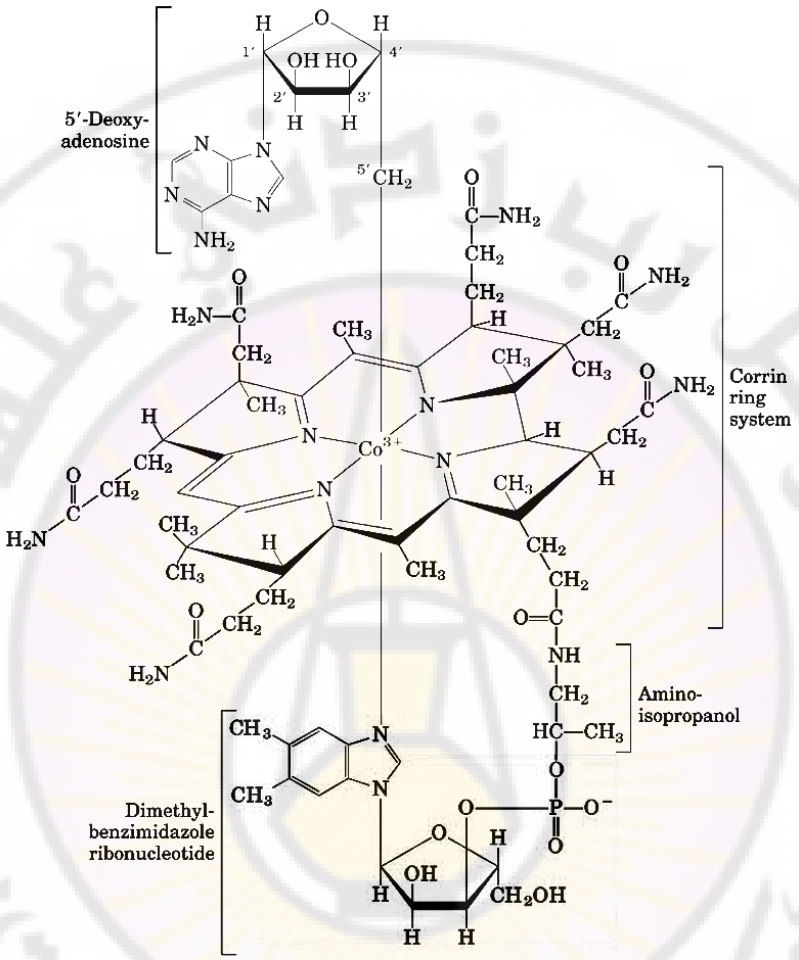
3) يوجد فيتامين B6 على شكل بلورات عديمة اللون تنصهر عند 205 درجة مئوية ويذوب في الماء بسهولة وهو ثابت في الحرارة العادية وفي المحاليل الحامضية والقاعدية ولكنه يتأكسد بالعوامل المؤكسدة مثل الأحماض المعدنية وبيروكسيد الهيدروجين.

4) للفيتامين B6 دور مهم في تكوين الهيم وهي المواد النيتروجينية المكونة للهيموغلوبين ثم تكوين كريات الدم الحمر، وفي بناء الأنسجة البروتينية والعضلات والعظام، كما يشارك مع حمض الفوليك وفيتامين B12 في تقليل الإصابة بالأمراض القلبية، ويحفز الجهاز المناعي ويقلل الإصابة بهشاشة العظام.
5) يؤدي نقص هذا الفيتامين إلى اضطرابات في عمليات استقلاب الأحماض الأمينية ونتيجة لذلك ظهور التهابات جلدية وبقع حول العين والأنف والفم واضطرابات في الجهاز العصبي المركزي وضعف عام وفقر دم.
6) يمكن أن تؤدي زيادة تناول كميات عالية من فيتامين B6 (أكثر من 200ملغم/100مل) إلى اختلال في وظائف الجهاز العصبي.
7) يكثر الفيتامين في اللحوم والكبد وفي الحبوب والبقوليات ولا سيما القشرة الخارجية وفضلاً عن ذلك في الخضراوات كالجزر والسلق ويوجد أيضاً في البيض والحليب.

6- فيتامين B12 (سيانوكوبالامين Cyanocobalamin):

الخواص العامة:

1) إن فيتامين B12 معقد إذ يتكون من عدد من المركبات منها مركب حلقي يدعى الكورين Corrin وهو شبيه بالبورفرين في وسطه عنصر الكوبالت الذي يختلف عن غيره من الفيتامينات الأخرى بهذه الصفة، وعندما ترتبط مجموعة السيانيد (CN) بعنصر الكوبالت في الفيتامين فالناتج يكون سيانوكوبلأمين Cyanocobalamin وعندما تحل مجموعة الهيدروكسيل محل السيانيد يدعى بالهيدروكسي كوبالامين وعندما تحل النترات محل السيانيد يدعى نترات كوبالامين.



فيتامين B12

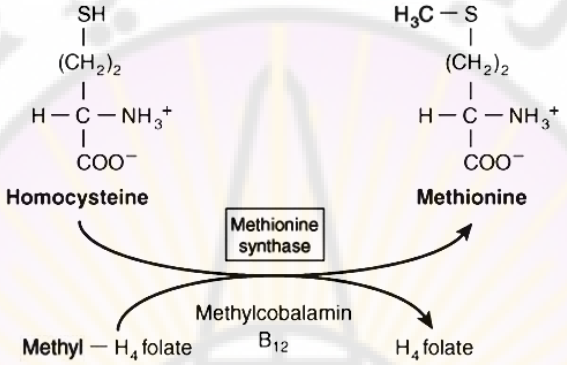
2) يكون الفيتامين على شكل بلورات حمراء اللون قابلة للذوبان في الماء والكحول ويكون حساساً للضوء وغير ثابت في المحاليل القاعدية والحامضية.

3) من أهم مصادر الفيتامين الكبد والكليتان ويوجد أيضاً في البيض والحليب ومنتجاته كالجبن. ولا يوجد في النباتات إذ لا يمكن تصنيعه فيها.

4) للفيتامين دور مهم في تكوين ونضج الخلايا وبصورة خاصة خلايا نخاع العظام وخلايا الجهاز الهضمي المتجددة من خلال مشاركته كمرافق إنزيمي في تكوين القواعد النيتروجينية مع حمض الفوليك.

ويشترك فيتامين B12 كمرافقاً إنزيمياً مع عدد من الإنزيمات التي تدخل في التفاعلات المتضمنة انتقال ذرة كربون Transmethylation.

5) يشترك فيتامين B12 مع حمض رابع هيدروفوليك (THF) وفيتامين B6 في تقليل من مستوى الحمض الأميني الهوموسستين لتحوله إلى المثيونين بفعل إنزيم مثيونين سنثيراز Methionine synthase (الشكل 6–10)، إذ أن زيادة الهوموسستين يؤدي إلى زيادة الجهد التأكسدي Oxidative stress من خلال زيادة تحطم خلايا الأنسجة المبطنة للأوعية الدموية وحدوث حالات تصلب الشرايين وأمراض القلب.



الشكل (6–10) تكوين المثيونين Methionine من الهوموسستين Homocysteine

6) قد يعود نقص الفيتامين لعدم وجود العامل الداخلي بسبب تلف خلايا المعدة نتيجة لقرحة أو للعمليات الجراحية التي تجري للمعدة أو قد يكون السبب نتيجة الإصابة بالديدان المعوية أو استعمال أدوية أو تناول الألياف بكميات كبيرة مما يؤدي طرحه مع البراز وعدم امتصاصه، ومن أعراض نقص الفيتامين ظهور مرض فقر الدم الخبيث Pernicious anemia يصاحب هذا المرض أعراض أخرى منها اضطرابات عصبية وانحلال في النخاع الشوكي وضعف العضلات واضطرابات الجهاز الهضمي.

7- حمض الفوليك Folic acid (الفولاسين Folacin):

الخواص العامة:

1) يتكون حمض الفوليك من نواة بتيريدين Pteridine وإذا أضيف إلى هذه النواة مركب البارا أمينو حمض البنزويك يتكون ما يسمى بحمض بتيرويك Pteroic acid وهذا الأخير يرتبط بالحمض الأميني الغلوتاميك مكوناً ما يسمى بتيرويل حامض الغلوتاميك pteroylglutamic acid (الشكل 6–11).

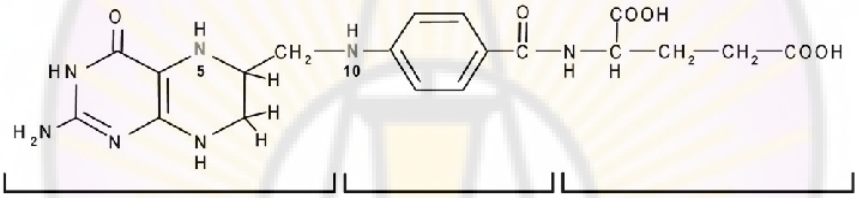
2) حمض الفوليك بلورات صفراء اللون قليلة الذوبان في الماء وثابت في المحاليل القاعدية وغير ثابت في المحاليل الحامضية أو عند تعرضه للضوء.

3) يكثر في الكبد والكليتين والخميرة وكذلك في الخضراوات ذات الأوراق الخضراء الداكنة كالسبانخ والقرنبيط كما يوجد في البقوليات كالفاصولياء والعدس.

4) يتحول حمض الفوليك إلى الشكل المختزل الفعال بعد إضافة أربع ذرات هيدروجين ليكون حمض رابع هيدروفوليك(THF) Tetrahydrofolic acid، الذي يعد ناقلاً لمجموعة حاوية على ذرة كربون واحدة من مركب إلى آخر (مثل: ميثيل CH3، هيدروكسي مثيلين CH2OH، فورميل CHO، مثيلين CH2، فورميمين CH=NH Formimine، ميثينيل CH Methenyl.

وهناك ثلاثة أنواع من مساعدات الإنزيم تعود لحمض رابع هيدروفوليك وهي:

- فورميل حمض رابع هيدروفوليك Formyl FH4 ميثيلين حمض رابع هيدروفوليك Methylene FH4 ميثيلين حمض رابع هيدروفوليك Methenyl FH4.



C_1 unit	Name	Abbreviation
$N^5—CH_3$	5-methyl-THF	CH_3-THF
$OHC—N^{10}$	10-formyl-THF	10-CHO-THF
$N^5{=}CH{=}N^{10}$	5,10-methenyl-THF	CH=THF
$N^5—CH_2—N^{10}$	5,10-methylene-THF	CH_2-THF
$N^5—CHO$	5-formyl-THF	5-CHO-THF

الشكل (6–11): حمض رابع هيدروفوليك وبعض مشتقاته

إذ يكون الهدف من إضافة ذرة كربون واحدة هو تكوين القواعد النيتروجينية (البيورينات والبريميدينات). وفي تكوين كريات الدم الحمر وبناء DNA وRNA واستقلاب الأحماض الأمينية على سبيل المثال تحويل الحمض الأميني الغلايسين إلى السيرين والهوموسستين إلى المثيونين والفينيل ألانين إلى التيروزين وكذلك عملية مثيلة methylation حمض ديوكسي يوريديليك Deoxyuridylic acid (dUMP) إلى حمض ديوكسي ثايمديليك

Deoxyuridylic acid (dTMP) في عملية تكوين ال DNA بفعل إنزيم ثايمديليت سينثاز Thymidylate synthase.

5) تستطيع بكتيريا الأمعاء بناء هذا الفيتامين ولكن قد تحدث حالات نقص نتيجة وجود خلل في عملية امتصاصه من قبل الأمعاء أو بسبب الحاجة المتزايدة له من قبل أنسجة الجسم المختلفة.

6) للفيتامين أهمية لدى النساء الحوامل نظراً لحاجتهم الإضافية لكميات من الفيتامين كمتطلبات نمو الجنين وكذلك للتغييرات الهرمونية التي تحدث أثناء الحمل إذ يحمي من العيوب الخلقية والعصبية للجنين وله دور في الحماية من الأمراض القلبية مع فيتامينات B6 و B12 ومن بعض الأمراض السرطانية.

7) يؤدي نقصه إلى حدوث فقر الدم التضخمي Megaloblastic anemia الذي يتميز بكريات الدم الحمر الكبيرة الحجم مع زيادة عدد كريات الحمر غير الناضجة Megaloblastosis المتكونة في نخاع العظم. كما يسبب نقصه التهابات اللسان والإسهال واضطرابات في الجهاز الهضمي والعصبي فضلاً عن عدم مقدرة الجسم على تكوين DNA و RNA.

8) يشارك حمض الفوليك وفيتامين B12 في تحول الهوموسستين إلى المثيونين (الشكل 6-10)، وبالتالي فإن نقص حمض الفوليك أو فيتامين B12 يؤدي إلى زيادة الهوموسستين وزيادة احتمال حدوث حالات تصلب الشرايين وارتفاع ضغط الدم Hypertension.

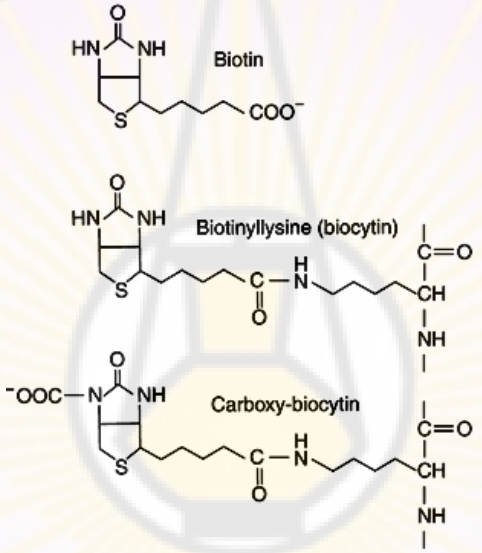
9) تعرف مضادات الفوليت بأنها مركبات تدخل في تكوين المرافقات الإنزيمية لحمض رابع هيدروفوليك THFA وحمض ثنائي هيدروفوليك DHFA وبالتالي فهي تعمل على خفض أو تثبيط تكوين هذه المرافقات الإنزيمية ومن هذه المركبات الأمينوبترين Aminopterin والأميثوبترين Amethopterin التي تستخدم لعلاج سرطان الدم الحاد والترايميثوبريم Trimethoprim لمعالجة الإصابة بالبكتيريا وبعض أنواع الملاريا من خلال تثبيطها إنزيم Dihydrofolate reductase ويكون ارتباطها بشدة بمقدار 1000 ضعف من ارتباط مادة التفاعل الطبيعية. وهكذا فإن هذه المضادات تعمل على منع استخدام الفوليت وثنائي هيدروفوليت وتؤدي إلى عدم اشتراكها في عملية تكوين البيورينات والنيوكليوتيدات الثايميين ومن ثم عملية تكوين الـ DNA.

8-البيوتين Biotin (فيتامين H):

يسمى أيضاً بفيتامين 8(Vitamin8) وبمرافق الإنزيمي R (Coenzyme R) وهو من فيتامينات Bالمعقدة.

الخواص العامة:

1) البيوتين مركب حلقي مشتق من اليوريا ويدخل الكبريت في تركيبه وله ثمان مماكبات فقط على صورة D بيوتين ويكون مرتبطاً بالحمض الأميني اللايسين ويطلق عليه البيوسيتين Biocytin (الشكل 6-12).



الشكل (6-12) البيوتين Biotin و البيوسيتين Biocytin وكاربوكسي بيوسيتين Carboxy-biocytin

2) البيوتين بلورات إبرية الشكل عديمة اللون تذوب قليلاً في الماء ولكن تذوب في الكحول والأسيتون وهو ثابت في المحاليل القاعدية والحامضية وثابت نسبياً بالمعاملات الحرارية والتصنيعية.

3) يكثر الفيتامين في الذرة وفول الصويا والكبد وصفار البيض والخميرة وفي الخضروات كالبندورة.

4) القسم الأكبر من البيوتين يصنع في بكتيريا الأمعاء ويتركز تواجده في الكبد والكليتين.

5) إن مادة الأفدين Avidin تعد من المواد المضادة للبيوتين والتي لها المقدرة على الارتباط بالبيوتين وتؤدي إلى قلة امتصاصه والتقليل من التوافر الحيوي له. إذ تتواجد

الأفيدين في بياض البيض. فضلاً عن ذلك فإن أدوية سلفا Sulpha drugs تؤدي نفس المفعول في إعاقة امتصاص البيوتين.

6) يدخل الشكل الفعال للبيوتين عاملاً مرافقاً لإنزيمات الكاربوكسيلاز Carboxylase والتي تتضمن تفاعلاتها إدخال ثاني أوكسيد الكربون CO_2 في مسارات بناء الغلوكوز Gluconeogenesis وبناء الأحماض الدهنية مثل تفاعل تحول Propinoyl-CoA إلى D-Methylmalonyl-CoA بفعل إنزيم Propinoyl-CoA carboxylase عند أكسدة الأحماض الدهنية الفردية. وكذلك تفاعل تحول البايروفيت إلى الأوكزالواستيت بفعل إنزيم بايروفيلت كاربوكسيلاز Pyruvate carboxylase إذ تدخل جزيئة CO_2 إلى البيوتين ليكون N– كاربوكسي بيوتين ومن ثم تمنحها إلى مادة التفاعل لتتحول إلى ناتج مضافاً له CO_2.

7) عند استهلاك مواد تعيق عملية امتصاص البيوتين يؤدي إلى ظهور أعراض نقصه كالتعب الشديد وفقدان الشهية والصرع والأرق والغثيان والدوار والتقيؤ. وهناك أعراض فيزيولوجية منها التهاب الجلد وتقشره والتهاب الغدد الدهنية يصاحب ذلك ارتفاع بمستوى كوليسترول الدم وانخفاض مستوى الهيموغلوبين نتيجة العجز في عملية استقلاب الدهون والكربوهيدرات.

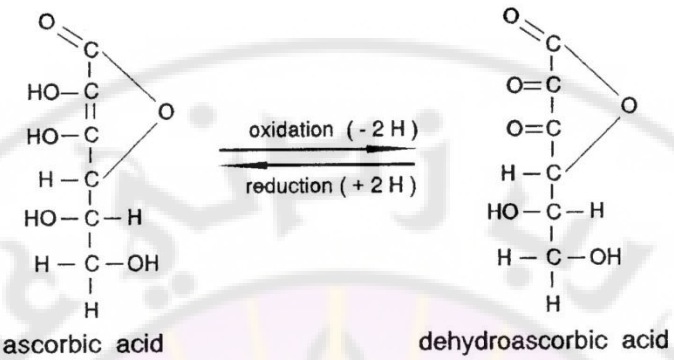
9- فيتامين C (حمض الأسكوربيك) Ascorbic acid:

يعد فيتامين C من مشتقات السكريات السداسية (الغلوكوز) التي تعرضت للأكسدة لتكون سكر حمضي.

الخواص العامة:

1) يعد فيتامين C من أحد أنظمة الأكسدة والاختزال Redox system إذ يمكن أن يكون بشكلين وهما:

- الشكل المختزل L– حمض الأسكوربيك L-Ascorbic acid الذي يعد الشكل الفعال للفيتامين.
- وحمض ديهدرو L– حمض الأسكوربيك Dehydro L-Ascorbic acid الذي يمثل الشكل المؤكسد للفيتامين وكذلك أحادي ديهيدرو L– حامض الأسكوربيك Monodehydro ascorbic acid وهو المركب الوسطي خلال عملية أكسدة الفيتامين أو اختزاله والحاوي على جذر حر. (الشكل 6–12).



الشكل (6-12) أشكال الفيتامين C

2) يكثر فيتامين C في الفواكه بصورة عامة وخاصة الحمضيات ويكثر أيضاً في الخضراوات مثل البندورة والفليفلة والقرنبيط وغيرها.

3) يمكن أن تنتج عملية هدم حمض الأسكوربيك في الجسم كميات من حمض الأوكزاليك وحمض الثيرونيك والتي في حالة زيادة فيتامين C أكثر من الحدود الطبيعية في الجسم يمكن أن تسبب تكوين حصيات في الكلى من نوع أوكزالات الكالسيوم.

4) يتحول ديهدرو حمض الأسكوربيك إلى حمض الأسكوربيك في الجسم.

5) لفيتامين C عدة وظائف تتلخص بما يلي:

- يعد مرافقاً إنزيمياً Coenzyme يساعد في عملية إدخال مجموعة الهيدروكسيل لعديد من المركبات الحيوية منها الأحماض الأمينية البرولين واللايسين أثناء عملية بناء الكولاجين الذي يعد أحد البروتينات المهمة لتكوين الأنسجة كالجلد والغضاريف والعظام والأسنان وبالتالي فإن له دور أيضاً في التئام وشفاء الجروح والحروق أيضاً.
- يساعد في إدخال مجموعة الهيدروكسيل إلى الحمض الأميني فينيل ألانين وتحويله إلى التيروزين ومن ثم مشاركته في تحويل التيروزين إلى ثنائي هيدروكسي فينيل ألانين.
- لفيتامين C دور كمضاد للأكسدة إذ يعد من مضادات الأكسدة الذوابة في الماء ويعمل على إزالة أصناف الأوكسجين الفعالة Reactive Oxygen species (ROS) فعلى سبيل المثال يتفاعل بسرعة مع الشاردة السالبة للأوكسجين (Super oxide anion $O_2^{\cdot-}$) وجذر الهيدروكسيل ($OH^{\cdot}$) وبيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2)، فضلاً عن تحويل جذر فيتامين E المؤكسد إلى شكله المختزل الفعال وبالتالي فهو يعمل على تقليل الأكسدة

الحاصلة في الجسم ومن ثم فهو يقلل الجهد التأكسدي Oxidative stress والتقليل من تلف الأنسجة.

- ينشط عملية امتصاص الحديد خلال الأمعاء الدقيقة من خلال اختزاله لشوارد الحديد غير الذائب وغير القابل للامتصاص إلى شوارد الحديدي القابل للامتصاص فضلاً عن دوره في عملية ترسيب وتخزين الحديد في الجسم خاصة الكبد من خلال تحويل البروتين الحامل للحديد الترانسفرين Transferrin إلى بروتين المخزن للحديد (Ferritin) وبالتالي له دور غير مباشر في تكوين الهيموغلوبين.
- له دور في اختزال حمض الفوليك إلى رابع هيدرو حمض الفوليك Tetrahydrofolic acid الذي يخزن في الجسم على هذه الصورة.
- نتيجة لفعاليته كمضاد للأكسدة فأنه يثبط عملية تحلل الطعام المطبوخ أو المخزون عند إضافته بكميات محدودة.
- يدخل أيضاً في العديد من العمليات الاستقلابية المختلفة مثل استقلاب الكولسترول والعقاقير وبناء الكارنتين Carnitine.
- يتداخل خلال تكوين نيتروزأمين Nitrosamine بوساطة تفاعله مباشرة مع مركبات النتريت Nitrites وبالتالي يمكن أن يقلل من خطر الإصابة بالسرطان الذي يعد مركب نيتروزامين أحد المركبات التي تعمل على حدوث السرطانات المختلفة.
- يخفض أعراض الزكام ويخفض أيضاً خطر الإصابة بنخر العظام Osteoporosis.

6) يتكون لدى جميع النباتات وأغلب الحيوانات حمض الأسكوربيك من D-غلوكوز و D- غالاكتوز، ففي الحيوانات يبدأ بناؤه من D- غلوكوز أما في النباتات فعملية البناء تكون معقدة إذ له مساران بنائيان لتحويل D- غلوكوز وD- غالاكتوز إلى حمض الاسكوربيك.

إن عدم مقدرة الإنسان على بناء حمض الأسكوربيك يعود إلى عدم امتلاكه إنزيم الأوكسديز Oxidase الذي يحول مركب حمض الغلونيك L- Gulonic acid (وهو ناتج سلسلة التفاعلات التي تبدأ بالغلوكوز) إلى حمض الأسكوربيك.

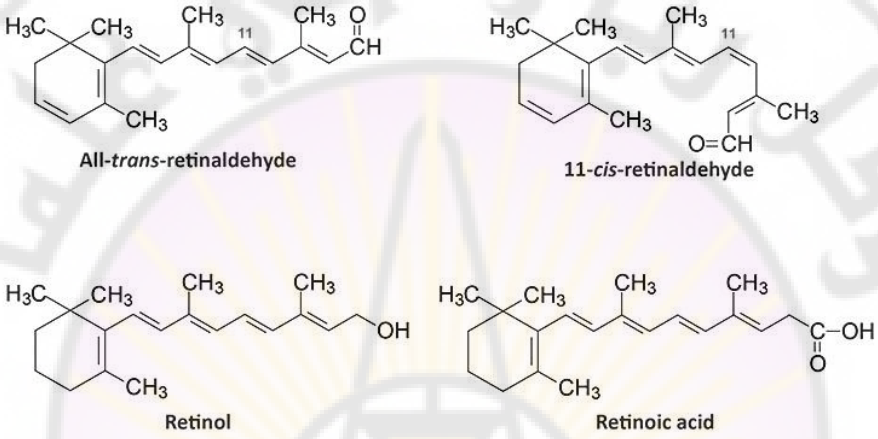
7) نقصه يسبب مرض الأسقربوط Scurvy وفقر الدم فضلاً عن بطء التئام الجروح وفقدان المادة الرابطة في العظام والأسنان.

6-3- الفيتامينات الذوابة في الدهون:

تنشأ جميع الفيتامينات الذوابة في الدهون (K,D,E,A) من مركب الإيزوبرينويد.

1- فيتامين A:

يتكون من البيتا – كاروتين وذلك بانشطار سلسلة الإيزوبرين في منتصفها بوجود إنزيم ثنائي أوكسجينيز Dioxygenase الذي بوساطته تتكون جزيئتين من الريتينال Retinal. والذي يمكن اختزال مجموعة الالدهيد فيه متحولاً إلى Retinol.



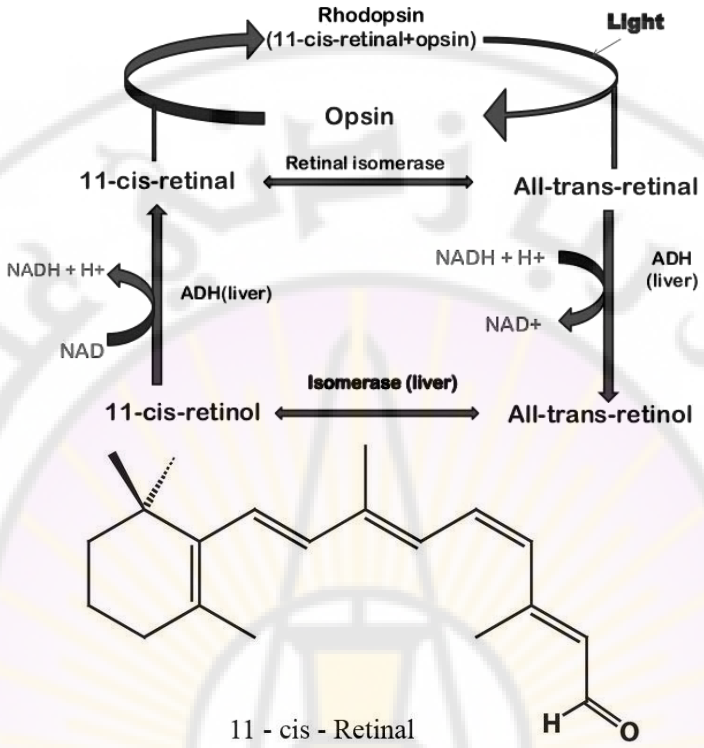
الشكل (6-13): أشكال الريتينال والريتينول وحمض الريتينوييك

الخواص العامة:

1) إن مصادر جميع أنواع فيتامين A هي بعض الصبغات النباتية وتعرف بالصبغات الكاروتينويدية Carotenoid Pigments وتكثر في الجزر وكذلك في الحليب والبيض والكبد ويوجد في المصادر الحيوانية على شكل ريتينول Retinol.

2) للفيتامين عدة وظائف مهمة منها المحافظة على سلامة الأنسجة الظهارية Epithelial tissue وفي غيابه تتحول الأنسجة الظهارية إلى متقرنة وجافة وبالتالي يمكن أن تحدث لها حالات مرضية ويحافظ على صحة الجسم.

3) لفيتامين A دور في الرؤية إذ يعد الريتينال مادة ملونة للصبغة الضوئية رودوبسين Rhodopsin الذي هو عبارة عن بروتين حساس للضوء ناتج عن اتحاد بروتين دهني يدعى أوبسين Opsin مع الريتينال. أن فعل الضوء القادم إلى العين هو تحويل الرتينال من نوع Cis في الموقع 11 إلى Trans ونتيجة لذلك فإن الخلايا الضوئية المستقبلة في العين تستقطب الضوء وتبدأ بإرسال الرسالة الضوئية إلى الدماغ.



11 - cis - Retinal

4) فيتامين A محفز للتناسل ومهم في عملية النمو. إذ أثبتت البحوث إن لفيتامين A دوراً مهماً في تكوين النطاف وتنظيم الدورة الشهرية عند الإناث وكذلك تثبيت الجنين في الرحم.

5) يدخل في وظائف العظام وخلايا الدم الحمراء وله وظائف مناعية، ففي العظام قد يكون لفيتامين A دور في عملية انقسام الخلايا وتكوينها ودور في العمليات الحيوية والفيزيولوجية. ويشارك أيضاً في الجهاز المناعي من خلال دخوله في تكوين الكربوهيدرات المخاطية المكونة للمخاط Mucous والموجودة في القنوات الجسمية المختلفة والتي تستخدم للحماية من البكتيريا والإصابة بالمكروبات والمواد الضارة إذ تمنع نفاذها إلى الجسم ومن هذه الكربوهيدرات المخاطية المخاطية المكونة للدموع التي تكون ضرورية لصحة القرنية Cornea وبقائها بشكل طبيعي.

6) يدخل في تكوين عدد من الهرمونات مثل هرمونات الكورتيزون Cortisone وبالتالي فإن له دور في عمليات استقلاب الدهون والكربوهيدرات والبروتينات والصوديوم والبوتاسيوم.

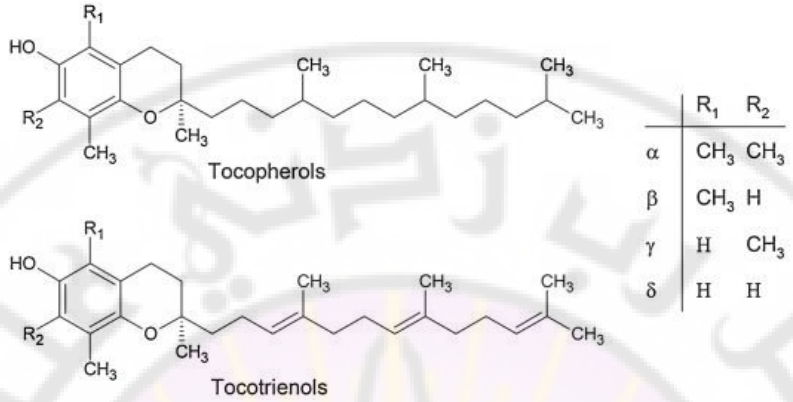
7) ينظم عملية التعبير الجيني Gene expression وتمايز الخلايا Cell differentiation من خلال حمض الريتينويك Retionic acid الذي يرتبط مع مستقبلات نووية Nuclear receptors وهذا الارتباط هو المسؤول عن عملية تنظيم استنساخ المعلومات من الجينات في DNA.

8) يسبب نقصانه العديد من الحالات غير الطبيعية منها: العشى الليلي Night blindness (يعني عدم قابلية المصاب من الرؤية في الظلام والضوء الخافت)، واضطرابات في الجلد ونمو غير طبيعي ونقصان في عمليات التناسل بسبب ضعف في تكوين الحيوانات المنوية فضلاً عن فقدان الشهية وجفاف العين Xerophthalmia بسبب قلة إفراز الدمع. أما زيادته قد تؤدي إلى تحطيم الأنسجة المختلفة وضعف عام في الشهية Anorexia ومن أعراض زيادته على الجهاز العصبي المركزي هي الصداع وغيرها من الأعراض. أما في الكبد فيحدث تضخمه مع زيادة نسبة الدهون فيه Hyperlipidemia وفي العظام تحدث زيادة ثخانتها وخاصة الطويلة منها مع زيادة نسبة الكالسيوم في الدم ويؤدي إلى جفاف الجلد.

2-فيتامين E:

الصفات العامة:

1- يمثل فيتامين E مجموعة من المركبات الكحولية المشتقة من مركب الفايتول Phytol والتي تتكون أساساً من حلقة الكرومان وتدعى هذه المركبات بالتوكوفيرولات Tocopherols توجد منها في الطبيعة حوالي ثمانية أشكال (أو أبيميرات Epimers) وهي الفا وبيتا وغاما ودلتا وايتا وزيتا وابسيلون وايتا و8-ميثيل التوكوترينول Methyl tocotrienol -8 وتتكون الأشكال الأربعة الأولى على شكل توكول Tocol تختلف فيها سلسلة الكربون الجانبية (R4) عن الأشكال الأربع الثانية التي تكون على شكل توكوترابنول Tocotrienol (الشكل 6-14).



الشكل (6–14) التوكوفيرول Tocopherol وتوكوترايانول Tocotrienol

غير أن أكثر هذه الأشكال وفرة وأهمية هي α – توكوفيرول إذ عملية تصنيع α–توكوفيرول في المختبر لا يؤدي نفس الفعالية البيولوجية لجزيئة α– توكوفيرول المتكونة في الجسم.

2- يوجد فيتامين E بكثرة في الخضراوات والبيض والكبد والفستق والجوز والرز وبذور القطن.

3- يتم امتصاص الفيتامين عن طريق الأمعاء الدقيقة وينتقل عن طريق الدم إلى الكبد بوساطة الكيلومايكرون Chylomicron ومن ثم بعدها ينقل إلى الأنسجة المختلفة.

4- تكون التوكوفيرولات على شكل سائل أصفر زيتي لزج يذوب بالمذيبات العضوية ولا يتأثر بالأحماض أو القواعد أو الحرارة العالية لكنه سريع التأكسد ولهذا يعد مضاد للأكسدة Antioxidants.

5- يمتلك فيتامين E عدة وظائف مهمة منها أنه مضاد للأكسدة Antioxidants إذ يعمل على حماية الأغشية البلازمية للخلية والغلاف الخارجي للبروتينات الدهنية (Chylomicron, LDL, HDL,IDL,VLDL) من التحطم نتيجة تكون بيروكسيد الدهون في الدهون المفسفرة للغشاء البلازمي إذ أن عمل فيتامين E وخاصة الشكل الفا – توكوفيرول من أشكال الفيتامين هو منع استمرار تكون بيروكسيد الدهون Lipid peroxidation في سلسلة التفاعل للدهون المتعددة للروابط المزدوجة وبالتالي إيقافها ومنع حصول تأكسدها وتحولها إلى مركبات غير طبيعية في الجسم.

وكونه مضاد للأكسدة يمنع حدوث فقدان الهيموغلوبين من كريات الدم الحمراء Hemolysis والناتج عن طريق أكسدة وتحطم جدارها كما يمنع تمزق الأغشية للأطفال حديثي الولادة غير مكتملي النمو Premature infants مثل أغشية الأوعية الدموية

والقصبات الهوائية والعين. له فوائد صحية أخرى من خلال خفض الإصابة بالأمراض المزمنة كأمراض القلب المختلفة والسرطانات ومرض السكري من خلال فعاليته كمضاد للأكسدة. يوقف عملية تكوين مادة نيتروزأمين Nitrosamine الخطرة والتي تدخل بوصفها أحد المواد المسرطنة في الجسم والقادمة عن طريق الغذاء بعد تفاعلات عدة.

6-يسبب نقصه ضمور العضلات وخاصة الهيكلية وكذلك فقر الدم التحللي Hemolytic anemia نتيجة تمزق كريات الدم الحمراء بعملية بيروكسيد الدهن. كما يسبب العقم في بعض الحالات وكذلك يؤدي إلى الاستسقاء Edema والتي تظهر في الأطفال غير مكتملي النمو Premature والأطفال المصابين بمرض الكواشيوركور Kwashiorkor كما يسبب اضطرابات في الخلايا العصبية العضلية Neuromuscular .

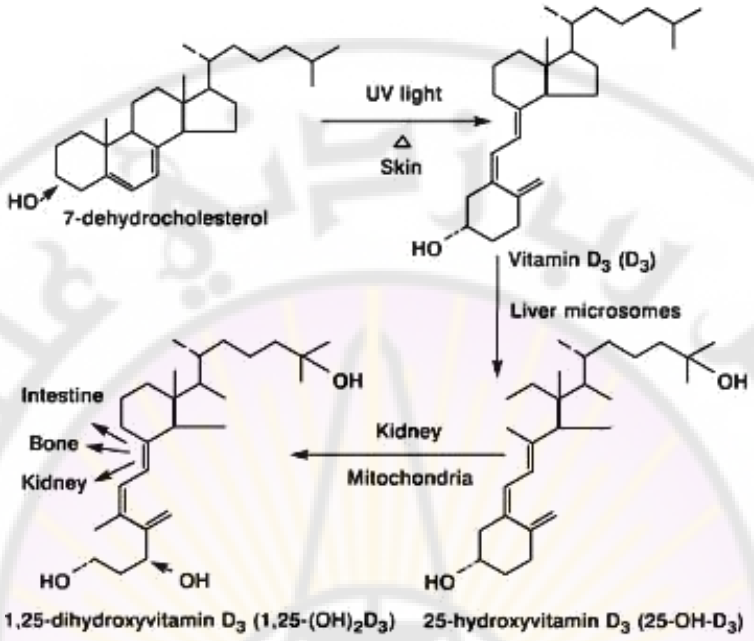
3-فيتامين D:

يدعى فيتامين D أحياناً بفيتامين الشمس Solar Vitamin وذلك لأن تكوينه يشمل تعرض مركبات السيترول للأشعة فوق البنفسجية القادم من الشمس.

الخواص العامة:

1- يمثل فيتامين D مجموعة من المركبات عبارة عن ستيرولات يبلغ عددها نحو 11 مركباً. أهمها فيتامين D2 أو الكالسفيرول Calceferol والذي يتكون من الأرغوستيرول Ergosterol والذي يكون مصدره نباتي ويتكون بتعرضه للأشعة فوق البنفسجية، وفيتامينD3 أو المسمى الكولي كالسيفيرول Cholecalciferol والذي يتكون بتعرض الستيرول الحيواني المشتق من الكوليستيرول وهو 7-ديهدروكوليسيترول Dehydrocholesterol-7 للأشعة فوق البنفسجية (الشكل 6-15)،

2- يكثر فيتامين D في زيت الحوت والزبدة والكبد وصفار البيض.



الشكل (6–15) تحول 7–Dehydrocholesterol الى1,25-dihydroxycholecalciferol

3- يمتص فيتامين D مع المواد الدهنية عن طريق الأمعاء الدقيقة ومن ثم ينتقل إلى الكبد إذ يخزن فيه لوقت الحاجة. وعند الحاجة للفيتامين يتحول في الكبد إلى مركب 25-Dihydroxycholcalciferol ومن الكبد ينتقل إلى الكليتين فيتحول فيها إلى 25,1- ثنائي هيدروكسي كول كالسيفرول الذي يتأثر تكوينه في الكليتين بوجود هرمون الغدة فوق الدرقية Parathyroid والذي يحفز تكوينه.

4- فيتامين D له عدة وظائف نذكر منها أنه يحافظ على توازن الكالسيوم في الجسم إذ يعد ضرورياً لامتصاص الكالسيوم والفوسفور، فعند انخفاض الكالسيوم يفرز هرمون فوق الدرقية الذي يحفز الكليتين على إنتاج مركب 25،1- ثنائي هيدروكسي كولي كالسيفرول وهذا بدوره يعمل على زيادة امتصاص الكالسيوم من الأمعاء الدقيقة عن طريق زيادة تكوين البروتين الحامل للكالسيوم.

لفيتامينD دور في تحفيز إنزيم الفوسفاتاز القاعدي Alkaline Phosphatase وبالتالي زيادة تحرر الفوسفات من مركباته داخل الجسم ومن ثم مشاركته مع الكالسيوم لتكوين العظام والوظائف الأخرى، كما له دور في تحفيز الكلية على إعادة امتصاص الفوسفات مرة ثانية إلى الدم، ويسهل إعادة امتصاص الأحماض الأمينية من خلال الكليتين .

5- يؤدي نقصه إلى الإصابة بمرض الكساح Rickets أو مرض لين العظام Ostemalacia (كساح الكبار) وعادة تصاب فيه النساء الحوامل اللاتي يكن بحاجة إلى كميات من الكالسيوم بصورة خاصة.

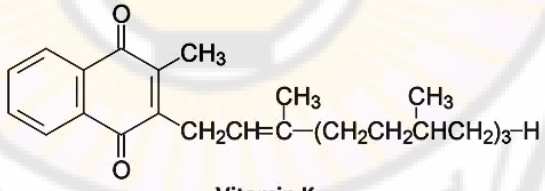
5- تؤدي زيادته إلى زيادة الكالسيوم في الدم Hypercalcemia وبالتالي زيادة كثافة العظام وترسب الكالسيوم في خلايا الكليتين وقنواتها فضلاً عن حصول ترسيب الكالسيوم في المفاصل والشرايين وزيادة تقلص الأوعية الدموية وزيادة ضغط الدم Hypertension.

4- فيتامين K:

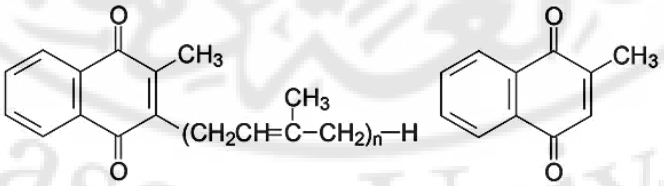
أتت تسمية فيتامين K نسبة إلى فيتامين التخثر من الألمانية Koagulatiou vitamin عند اكتشافه لأول مرة ونسبة لهذه الكلمة سمي Vitamin K.

الخواص العامة:

1- تعود مجموعة فيتامين K إلى الكوينونات Quinines ويوجد فيها على ثلاثة أشكال وهي فيتامين K1 ويدعى Phylloquinone أو الفايتومينوديون Phytomenodione (الشكل الموجود بالنباتات) وفيتامين K2 ويدعى أيضاً Menaquinone (الشكل الناتج من البكتيريا في الأمعاء الغليظة) وفيتامين K3 الميناديون Menadione الذي لديه فعالية ضعف فعالية فيتامين K1 و K2.



Vitamin K_1



Vitamin K_2 Vitamin K_3

2- يوجد فيتامين K بكثرة في الخضراوات ذات الأوراق الخضراء الداكنة كالسبانخ والسلق والخس ويوجد أيضاً في البندورة والكبد وفي الحليب والبيض بكميات قليلة.

3- يمتص فيتامين K مع المواد الدهنية مثل باقي الفيتامينات الذوابة في الدهون وينتقل بالكيلوميكرون إلى الكبد إذ يخزن هناك والكميات المخزونة في الكبد لا تكون كبيرة وتكفي لفترة قصيرة.

4- لفيتامين K عدة وظائف عديدة حيث له دور رئيسي في عملية تخثر الدم من خلال المحافظة على مستويات طبيعية لعدد من عوامل التخثر وهي (X,IX,VII,II) وعوامل التخثر هي عبارة عن بروتينات تصنع في الكبد وتكون خاملة Inactive ويشترك فيتامين K في تحويلها إلى الأشكال الفعالة بإدخال مجموعة CO_2 Carboxylation إلى المجموعة الجانبية في حمض الغلوتاميك المتصلة بهذه البروتينات وتحويلها إلى غاما – كاربوكسي حمض الغلوتاميك الذي يتحد فيما بعد مع الكالسيوم ليشارك في عملية التخثر. ولفيتامين K دور في عملية الفسفرة التأكسدية في الميتوكوندريا ، كما له دور في المحافظة على العظام من خلال مشاركته في تكوين بروتين العظام.

5- نقصه يؤدي إلى بطء تخثر الدم وحدوث النزيف (مرض الرعاف) Hemorrhage disease وزيادة حالة هشاشة العظام كما تؤدي زيادته وخصوصاً عند حديثي الولادة إلى فقر الدم الانحلالي Hemolytic anemia.

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

الفصل السابع

كيمياء الأحماض النووية

Chemistry of Nucleic Acids

7-1 مقدمة:

توجد الأحماض النووية في جميع الخلايا الحية إما بشكل حر أو مرتبطة بالبروتينات مشكلة البروتينات النووية Nucleoproteins تتألف الفيروسات ذات البنية البسيطة من جزيء حمض نووي محاط بغلاف بروتيني فقط.

تتميز الأحماض النووية بأهمية بالغة لأنها إما أن تكون حاملة للمعلومات الوراثية أو أنها تسمح بالتعبير عنها.

تعرف الأحماض النووية بأنها عبارة عن بوليميرات مؤلفة من وحدات تسمى النيكليوتيدات، لذا يطلق على الأحماض النووية اسم النيكليوتيدات العديدة، كما تلعب الأحماض النووية دوراً في تخزين طاقة حيث تدخل في تركيب الـــ ATP وكذلك في تركيب مرافقات الإنزيمات مثل FAD، $NADP^+$، NAD^+ ومرافق الإنزيم A.

تتميز وحدات النيكليوتيدات البنائية عن بقية الوحدات البنائية للبوليمرات الأخرى، التي سبقت دراستها مثل غلوكوز النشاء والغليكوجين أو الأحماض الأمينية للبروتينات، بأنها مختلفة ويعطي التحلل المائي للنيكليوتيدات ثلاثة مكونات مختلفة وهي قاعدة آزوتية وسكر خماسي وحمض فوسفوريك.

يمكن تمييز نوعين من الأحماض النووية حسب السكر الخماسي فقد يكون الرايبوز أو الرايبوز منقوص الأوكسجين.

يدعى الحمض النووي الذي يدخل في تركيبه الرايبوز منقوص الأوكسجين بالـــ(DNA) Deoxyribonucleic acid ويوجد بشكل أساسي في الخلايا النباتية والحيوانية ضمن المورثات ويشكل الـــ DNA عند طليعيات النوى Prokaryotes (بكتيريا، طحالب زرقاء... الخ) أيضاً المادة الوراثية لهذه الكائنات، كما تملك الفيروسات البكتيرية (بكتريوفاج) والفيروسات جينوم مؤلف من الـــ DNA، بالإضافة إلى ذلك فإن الـــ DNA يوجد في المصورات الحيوية النباتية والحيوانية وضمن الجسيمات الصانعة النباتية والمسؤولة عن التمثيل الضوئي.

يوجد الحمض الريبي النووي Ribonucleic acid (RNA) بشكل أساسي في سيتوبلاسم الخلايا الحية ويمكن تمييز عدة أنواع منه مثل RNA–الريبوزومي و RNA–الناقل وRNA– الرسول، ولهذه الأنواع دور أساسي في نقل المعلومات الوراثية. تحتوي بعض الفيروسات النباتية والحيوانية على جينوم مؤلف من الحمض الريبي النووي RNA.

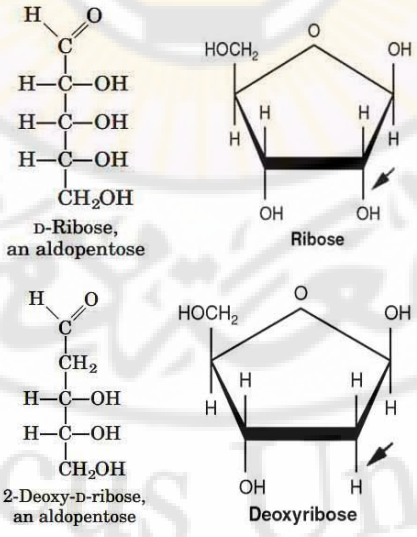
7–2– السكريات والقواعد النتروجينية الداخلة بتركيب الأحماض النووية:

ينتج التحلل المائي الكامل للأحماض النووية أربعة مكونات مختلفة وهي مجموعة فوسفات وسكر، وزوج من القواعد البريميدنية وزوج آخر من القواعد البيورينية (الجدول 7–1).

الجدول 7–1: المركبات الناتجة عن تحلل الـ DNA والـ RNA

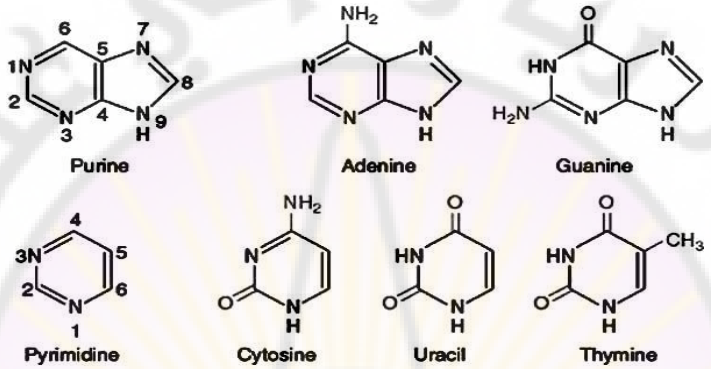
المكون الناتج	RNA	DNA
حمض	حمض فوسفوريك	حمض فوسفوريك
سكر	D – رايبوز	D، 2– دي أوكسي رايبوز
قواعد بورينية	أدينين	أدينين
	غوانين	غوانين
قواعد بريميدينية	سيتوزين	سيتوزين
	يوارسيل	ثايمين

إن كلا السكرين المتواجدين في الأحماض النووية هما من النوع β-D-Ribose فيوجد في الـ DNA سكر β-D-2-deoxyribofuranose، بينما يوجد السكر β-D-ribfuranose في الـ RNA (الشكل 7–1) .



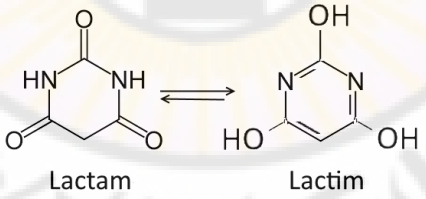
الشكل (7–1) سكر الرايبوز ودي أوكسي رايبوز

أما القواعد الآزوتية فهي مشتقة من القاعدتين ذوات الحلقات غير المتجانسة، البيورين والبيريميدين. يوجد في كل من الـــ DNA والـــ RNA قاعدتين مشتقتين من Purine وهما الأدينين Adenine والغوانين Guanine كما يوجد في بعض الأحماض النووية مثل الـــ RNA كميات قليلة من هذه القواعد النتروجينية السابقة الذكر والحاوية على مجموعة ميثيل.



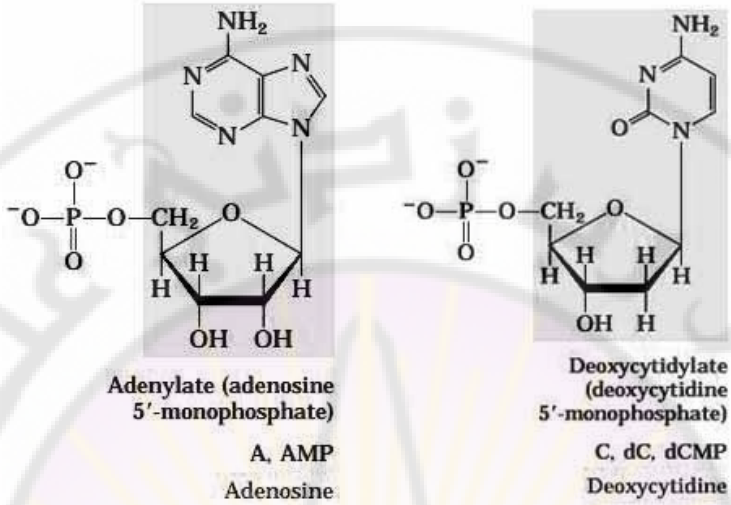
الشكل 7-2: القواعد الازوتية في الـــ DNA وRNA

بالإضافة إلى الأدينين والغوانين، يحتوي الـــ RNA على قاعدتي السيتوزين واليوراسيل، بينما يحتوي الـــ DNA على السيتوزين والثايمين. يمكن للقواعد الحاوية على الأوكسجين التواجد بصورة كيتونية (Lactam) أو بصورة أينولية (Lactim). تعتمد الصورة السائدة عند الاتزان على درجة الـــ pH، ففي الأوساط الفيزيولوجية تكون الصورة الكيتونية هي السائدة.



7-3- النيكليوزيدات Nucleosides:

تنتج النيكليوزيدات من ارتباط قاعدة نيتروجينية (بيورينية أو بيريميدينية) مع سكر الرايبوز أو الرايبوز منقوص الأوكسجين، ويحدث الارتباط بين ذرة الآزوت رقم 9 من القاعدة البيورينية أو ذرة الكربون رقم 1 من القاعدة البيريميدينية وذرة الكربون رقم 1 من السكر الخماسي. عندما يكون السكر الخماسي رايبوز يدعى النيكليوزيد أنذاك رايبونيكليوزيد Ribonucleotide ولكن عندما يكون السكر رايبوز منقوص الأوكسجين ينتج لدينا دي أوكسي رايبو نيكليوزيد Deoxyribonucleoside.



لقد اصطلح على أن تنتهي النيكليوزيدات البيورينية باللاحقة Osine بينما تنتهي النيكليوزيدات البيريميدينية باللاحقة idine كما هو موضح بالجدول رقم 7-2.

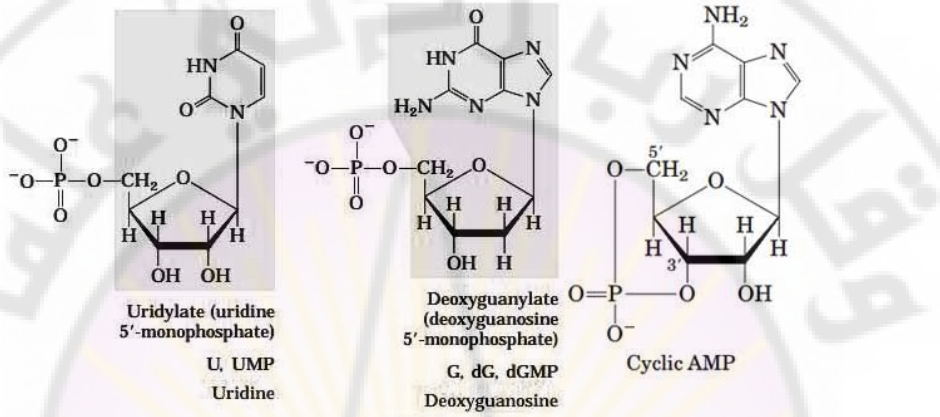
الجدول (7-2): يبين أهم النيكليوزيدات

القاعدة	رايبونيكليوزيد	دي أوكسي رايبونكليوزيد
أدينين	أدينوزين	دي أوكسي أدينوزين
غوانين	غوانوزين	دي أوكسي غوانوزين
سيتوزين	سايتدين	دي أوكسي سايتدين
يوراسيل	يوريدين	دي أوكسي يوريدين
ثايمين	ثايميدين	دي أوكسي ثايميدين

7-4- النيكليوتيدات Nucleotides:

تعرف النيكليوتيدات بأنها الأسترات الفوسفاتية للنيكليوزيدات وتسمى حسب نوع السكر الداخل في تركيبها فإما أن تكون رايبو نيكليوتيد Ribonucleotide أو دي أوكسي رايبو نيكليوتيد Deoxyribonucleoside. يمكن تحلل النيكليوتيد بإحدى طريقتين، إما بوساطة تحلل مائي في وسط حمضي فيعطي قاعدة نتروجينية بالإضافة إلى أستر مؤلف من (سكر وفوسفات)، أو بوساطة تحلل مائي في وسط قلوي ليعطي نيكليوزيد وفوسفات. يحتوي كل ريبونيكليوتيد على ثلاثة مواضع قابلة للاتحاد مع مجموعة فوسفات وهي مجموعات الهيدروكسيل على الذرات 2′، 3′، 5′. بينما لا يحتوي الدي أوكسي رايبو نيكليوتيد إلا على مجموعتين هيدروكسيل واللتان يمكن أن تتحدان مع مجموعة فوسفات وتقعان على الذرات 3′ و5′. يدعى النيكليوتيد

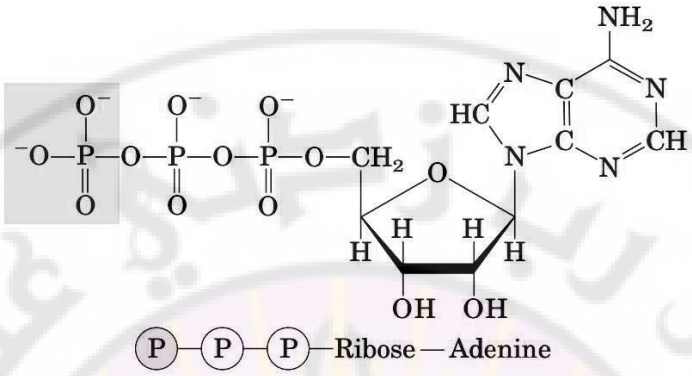
الحاوي على مجموعة فوسفات واحدة نيكليوزيد أحادي الفوسفات Nucleoside monophosphate وتسمى بإحدى طريقتين فإما حمض يوريديليك أو يوريدين –5– أحادي الفوسفات (الجدول 7–3).



الجدول (7–3): يبين تسمية بعض النكليوتيدات.

القاعدة	النكليوتيد
أدينين	حمض 5– أدينيليك أو ادينوزين – 5 – أحادي الفوسفات (AMP)
غوانين	حمض –5 – غوانيليك أو غوانوزين –5 – أحادي الفوسفات (GMP)
سيتوزين	حمض–5– سيتيديليك أو سايتدين – 5 – أحادي الفوسفات (CMP)
ثايمين	حمض –5– ثايميديليك أو ثايميدين –5– أحادي الفوسفات (قليل التواجد)
يوراسيل	حمض –5– يوريديليك أو يوريدين–5– أحادي الفوسفات (UMP)

يوجد هناك بعض النيكليوتيدات الحلقية حيث أن جزيء حمض الفوسفوريك يؤستر مجموعتي هيدروكسيل من السكر دفعة واحدة فإما أن تكون المجموعتين المرتبطتين بالذرات ´2 ، ´3 أو بالذرات ´3 و ´5، وأهم النيكليوتيدات الحلقية الأدينوزين ´3،´5 أحادي الفوسفات الحلقي والذي له وظائف حيوية تنظيمية من خلال مشاركته في استقلاب الهرمونات حيث يطلق عليها المرسال الثانيSecond Messenger لأنه يعمل على نقل الإشارات الكيميائية التي تصل إلى الدم من الهرمونات التي تدعى بالمرسال الأول First Messenger. يمكن أن تتحد مجموعة فوسفات ثانية مع مجموعة الفوسفات التابعة للنكليوزيد ´5 أحادي الفوسفات مشكلة بذلك نكليوزيد ثنائي الفوسفات، كما يمكن أن تتحد مجموعة فوسفات ثالثة مع المجموعة الثانية مشكلة نيكليوزيد ثلاثي الفوسفات كما في الشكل أدناه. يعد الأدينوزين ثنائي الفوسفات وثلاثي الفوسفات من أهم النيكليوزيدات وذلك لدورهما المهم في حفظ الطاقة.



7-4-1- وظائف النيوكليوتيدات:

تتلخص وظائف النيوكليوتيدات بنقاط كثيرة نذكر منها ما يلي:

1) تعد بعض النيوكليوتيدات مركبات حاملة للطاقة الكيميائية في الخلايا مثل GTP و ATP وأن الشكل الرئيس للطاقة الكيميائية هو الأدينوزين ثلاثي الفوسفات ATP إذ يستهلك ATP في تفاعلات الاستقلاب المختلفة ويشارك أيضاً في عمليات أخرى مثل تقلص العضلات والنقل الفعال عبر الأغشية ومصدر للفوسفات.

2) للنيوكليوتيدات دور بنائي بوصفها وحدات متكررة في الأحماض النووية (RNA , DNA) . إذ تستخدم جزيئات ATP.CTP.GTP.UTP كوحدات لبناء RNA، وجزيئات dATP. dCTP. dGTP. dTTP في بناء DNA.

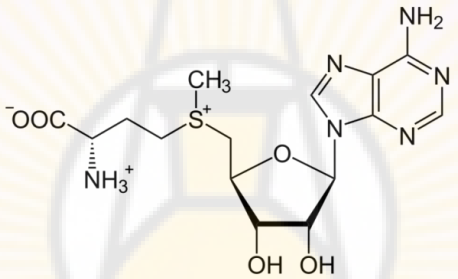
3) للنيكليوتيدات أدوار فيزيولوجية حيث تساهم في العديد من العمليات الحيوية كالنيوكليوتيدات الحلقية التي تعد مرسالاً ثانياً للعديد من الهرمونات.

4) تدخل النيوكليوتيدات بوصفها مكونات للعديد من المرافقات الإنزيمية مثل FMD، FAD، $NADP^+$، NAD^+ ومرافق الإنزيم A والتي تدخل في العديد من التفاعلات الاستقلابية المختلفة.

5) تدخل بعض النيوكليوتيدات بوصفها نواتج وسطية ناقلة للعديد من التفاعلات مثل اليوردين ثنائي الفوسفات غلوكوز UDP-glucose ويوردين ثنائي الفوسفات – غالاكتوز UDP-galactose ويوردين ثنائي الفوسفات لحمض الغلوكورونيك UDP-glucuronic والغوانوزين ثنائي فوسفات المانوز GDP-mannose وتستخدم هذه المركبات لبناء الغليكوجين واستقلاب الغلاكتوز والبليروبين أو نقل وحدات السكر أثناء بناء البروتينات السكرية.

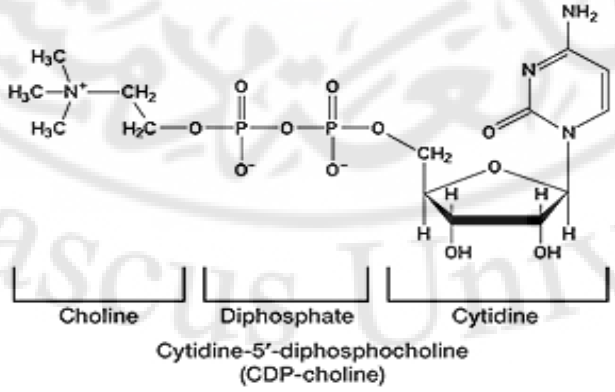
6) تدخل بعض النيوكليوتيدات بوصفها منظمات فراغية Allosteric في المسارات الاستقلابية من خلال تراكيزها في الخلية فمثلاً نسبة ATP إلى ADP تؤثر على تفاعلات مسار تحلل الغلوكوز Glycolysis إذ أن زيادة النسبة أو نقصانها تؤدي إلى تثبيط أو تنشيط بعض إنزيمات المسار.

7) تعد بعض النيوكليوتيدات ناقلة لبعض المجموعات الفعالة، فعلى سبيل المثال تنقل جزيئة ATP مجموعة الميثيل الفعالة Active methyl وتحمل جزيئة AMP الأحماض الأمينية الفعالة أثناء بناء البروتينات فيلاحظ إن مشاركة الحمض الأميني ميثونين في التفاعلات عبر إضافة مجموعة الميثيل تحتاج في البداية تكوين الميثونين النشط وقد وجد بأن هذا المركب هو في الواقع نيوكليوزيد أدينيني هو S- أدينوزيل الميثونين – S Adenosyl methionine (الشكل 7-4)



الشكل (7-4) أدينوزيل ميثيونين

8) يستفاد من السايتدين في بناء سايتدين ثنائي الفوسفات كولين Cytidine diphosphate choline (CDP-choline) وسايتدين ثنائي الفوسفات ثنائي الغليسيريد Cytidine diphosphate diglyceride(CDP-diglyceride) الذين يدخلان في عملية بناء الدهون والدهون المفسفرة.



7-5- الأحماض النووية Nucleic Acids:

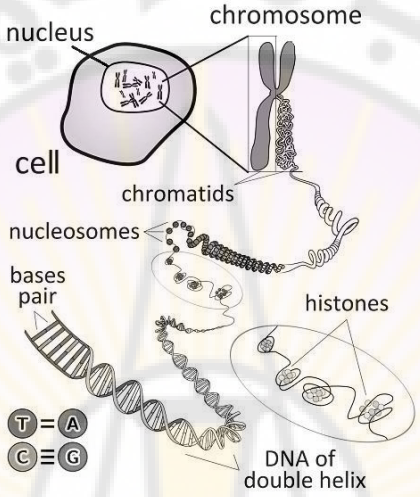
تتكون الأحماض النووية من سلاسل Chains طويلة من النيوكليوتيدات (أي عديدة النيوكليوتيدات Polynucleotides) ترتبط مع بعضها بوساطة روابط ثنائية استر فوسفاتية Phosphate Diester Linkage والتي تزيد عدد وحداتها عن عشرة وكذلك يمكن أن يطلق الأحماض النووية على السلسلة النيوكليوتيدية التي يتراوح عدد وحداتها بين 2-10 وتسمى أيضاً بالنيوكليوتيدات المركبة Oligonucleotides. إذ أن القواعد النيتروجينية سواء كانت بيوريني أو بيرميديني مرتبطة بذرة الكربون رقم 1 للسكر وأن ارتباط أي نيوكليوتيد بالنيوكليوتيد الآخر يكون بين ذرة الكربون´3 لجزيئة السكر وذرة الكربون رقم ´5 لجزيئة السكر التي تليها.

إن السلسلة الطويلة من النيوكليوتيدات والتي يكون فيها السكر الخماسي(رايبوز منقوص الأوكسجين) تسمى بالحمض الريبي النووي منقوص الأوكسجين Deoxyribonucleic acid (DNA) أما إذا كان السكر الخماسي من نوع رايبوز فيسمى الحمض النووي الرايبوزي Ribonucleic acid (RNA). لا يحتوي الـــ DNA على الرايبوز واليوراسيل كما لا يحتوي الـــ RNA على ديوكسي رايبوز وثايمين. يمكن أن يعبر عن تركيب سلسلة الحمض النووي بشكل مختصر فالحروف A،G،C،T تمثل نيوكليوزيدات القواعد أدينين وغوانين وسايتوزين وثايمين على التوالي. والحرف P يرمز للفوسفات، إذ أنه عند وضع الحرف P إلى يسار مختصر النيكليوزيدات يعني أن ارتباط الفوسفات بالسكر هو في الموقع 5 أما إذا وضع الحرف P إلى يمين المختصر فيعني ارتباط الفوسفات بالسكر هو في الموقع´3 فمثلاً dpG يرمز إلى ديوكسي غوانوزين 5 فوسفات والرمز dGp هو ديوكسي غوانوزين َ3 فوسفات وعندئذ يمكن اختصار تركيب مثلاً رباعي النيوكليوتيد إلى (A-T-C-Gp) الذي يعبر عن قطعة من الحمض النووي الحاوي على النيوكليوزيدات أدنين وثايمين وسايتوزين وغوانين مرتبطة مع بعضها بروابط ثنائية الاستر الفوسفاتية بين كربون َ3 لجزيئة سكر وكربون رقم ´5 لجزيئة السكر التي تليها. وبالاتفاق يكتب تسلسل القواعد دائماً من النهاية ´5 باتجاه اليسار إلى النهاية ´3 في اليمين والتي تعبر عنها فقط باستخدام القواعد النيتروجينية في الجزيئة كما في المثال الآتي:

$$AGCTTTAGAAA \longrightarrow$$

تتحد الأحماض النووية DNA في الخلايا حقيقية النواة مع بروتينات قاعدية غنية بالأحماض الأمينية الأرجنين واللايسين ويطلق عليها بالهستونات Histones والبروتامينات Protamines، وتكون على شكل ألياف تسمى الألياف الكروماتينية Chromatin fibers في

النواة والتي تحاط بنظام غشائي مزدوج معقد (الشكل 7–5). أما في الخلايا بدائية النواة فهي تحتوي على جزيئة واحدة من DNA متجمعة في منطقة واحدة تسمى بالمنطقة النووية Nuclear zone أو بعبارة أخرى إن الخلايا بدائية النواة لا تحوي غشاء يحيط بالمادة الوراثية.



الشكل (7–5) يوضح الكروموزوم ومكوناته النهائية من الهستونات والـــ DNA

تتكون الأحماض النووية الرايبوزية RNA من خيوط طويلة من متعدد الرايبونيوكليوتيد لكنها أقصر طولاً من DNA ولكنها أكثر انتشاراً في الخلايا.

وتتألف من ثلاثة أنواع رئيسية وهي الحمض الريبي النووي المرسال Messenger RNA (mRNA) والحمض الريبي النووي الناقل Transfer RNA (tRNA) والحمض الريبي النووي الرايبوزومي Ribosomal→ RNA (rRNA) وكل نوع له وظيفة خاصة يؤديها في عملية البناء الحيوي للبروتين .

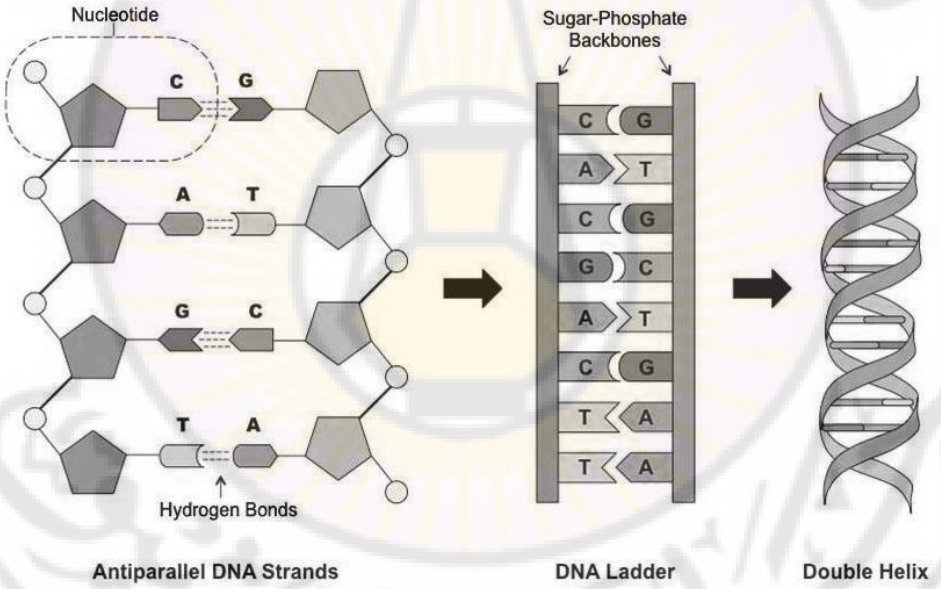
7–5–1– الحمض الريبي النووي منقوص الأوكسجين Deoxyribonucleic acid (DNA)

يتميز DNA بجملة من الخواص يمكن تلخيصها بما يلي:

1) تتألف جزيئة الـــ DNA من سلسلتين طويلتين من متعدد النيوكليوتيد ملتفتين على بعضهما مكونتين الحلزون المزدوج Double Helix (الشكل 7–6).

وتشغل القواعد النيتروجينية المنطقة الداخلية من الحلزون أما الفوسفات والسكر المنقوص الأوكسجين فيشغل المنطقة الخارجية (المحبة للماء) والذي اقترح من قبل العالمين واتسون وكريك (Watson and Crick) عام 1953.

2) وجد العالم شاركاف Chargaff والعاملون معه إن مجموع النيوكليوتيدات البيورين (G+A) في ال DNA مساوية لمجموع نيوكليوتيدات البيريميدين (T+C) أي أن كمية الأدنين A في السلسلة الأولى مساوية لكمية الثايمين في السلسلة الثانية وكذلك الحال بالنسبة لكمية الكوانين G تكون مساوية لكمية السايتوزين C ونسبة A على T تساوي 1. وكذلك نسبة G على C تساوي 1 وتسمى هذه الحالة بتكافؤ القواعد Base equivalences في الـ DNA .

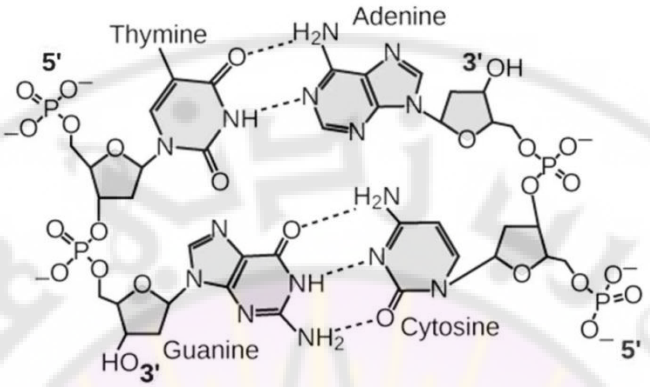


الشكل (7–6): الحلزون المزدوج في ال DNA

3) يعود استقرار السلسلتين بالحلزون المزدوج إلى:

أ) التداخلات الكارهة للماء Hydrophobic interaction بين القواعد النيتروجينية للسلسلتين.

ب) الروابط الهيدروجينية الثلاثة بين الغوانين والساتيوزين (G=C) والرابطتين الهيدروجينيتين بين الأدنين والثايمين (A=T) (الشكل 7–7).



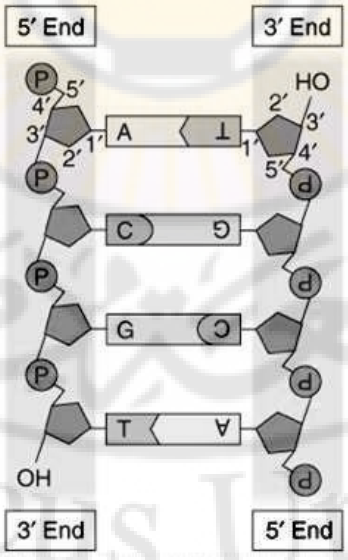
الشكل (7–7) الروابط الهيدروجينية المتكونة بين القواعد النيتروجينية

ت) الروابط التشاركية في تركيب السلسلة الحلزونية الواحدة.

ث) الروابط الشاردية.

ج) تركيب السلسلتين الحلزونيتين يكون بشكل حلقتين (قاعدة البيورين A أو G) مع حلقة واحدة (قاعدة البريميدين T أو C) مشكلة بذلك تناسقاً حجمياً يساعد على زيادة استقرار DNA (الشكل 7–7).

ح) يساعد وجود البروتينات القاعدية (كالهستونات) على زيادة استقرار الـ DNA بالتفاف السلاسل الحلزونية المزدوجة حول هذه البروتينات.



الشكل (7–8) اتجاه النهايتين للحلزون المزدوج المتعاكستين في الـ DNA

4) يحتوي ال DNA على النيوكليوتيدات الأربعة الأساسية بوصفها وحدات بنائية وهي (dAMP. dGMP.dTMP.dCMP) مرتبطة مع بعضها وبتعاقب مختلف باختلاف الكائنات الحية وأجناسها وأنواعها.

5) يختلف تركيب DNA ووزنه الجزيئي وكذلك نسب النيوكليوتيدات المختلفة في الكائنات الحية بدائية النواة عن حقيقية النواة إذ تزداد أوزانها الجزيئية كلما زاد تطور الخلية في الكائنات الحية ويوجد الـــ DNA في النواة بكميات كبيرة وفي المايتوكوندريا بكميات قليلة.

6) يحتوي الـــ DNA على قطع صغيرة تسمى المورثة GENE إذ تمثل تسلسلاً من نيكليوتيدات عديدة قد تصل إلى عدة آلاف والتي يكون لها تسلسل من القواعد النيتروجينية خاص مسؤول عن أداء وظيفة معينة كبناء بروتينات إنزيمية أو غير إنزيمية أو بناء هرمونات وغير ذلك. إذ أن المورثة عبارة عن ترتيب معين من النيوكليوتيدات (القواعد النيتروجينية) في الحمض النووي DNA ويختلف هذا الترتيب من مورثة لأخرى ويعود هذا لاختلاف إما إلى عدد أو نوعية أو تسلسل القواعد النيتروجينية في الـــ DNA.

7) إن حدوث أي تغيير في تركيب القواعد النيتروجينية أو تسلسل القواعد نتيجة لحذف أو إضافة قاعدة نيتروجينية في الـــ DNA يسبب حدوث الطفرة Mutation لتعرضه إلى العديد من العوامل المسببة للطفرة كعوامل إشعاعية (X-ray,UV) أو تعرضه لمواد كيميائية مختلفة (مثل حمض النيتروز HNO_2 وغيرها). يمكن ترميم العديد من الطفرات التي تحدث داخل الكائن الحي في الـــ DNA (DNA Repair) داخل الجسم ولكن هناك طفرات يصعب ترميمها كطفرات الحذف أو الإضافة للقواعد والتي تحدث فيها إزاحة Frame shift للشفرات الوراثية في ال DNA وتعمل على حدوث العديد من الأمراض السرطانية أو الأمراض الوراثية المختلفة.

8) إن نماذج الـــ DNA المعزولة من أنسجة مختلفة لنفس النوع تمتلك نفس المكونات من القواعد النيتروجينية ولا تتغير مع تغير عمر الكائن أو حالته الغذائية أو التغيرات في المحيط.

9) إن السلسلتين الحلزونيتين في الـــ DNA غير متشابهتين ولكنهما متكاملتان Complementary إذ أن وجود الأدنين في السلسلة الأولى يقابله الثايمين في السلسة الثانية والغوانين يقابله السايتوزين وهكذا.

10) إن السلسلتين ليستا باتجاه واحد (نفس الاتجاه) بل السلسلة الواحدة عكس اتجاه السلسلة الأخرى (الشكل7-8) فإذا كانت السلسلة الأولى في الاتجاه ´5←´3 تكون الأخرى باتجاه ´3←´5 .

11) يزداد ثبات السلسلتين اتجاه التخرب بزيادة نسبة G=C في ال DNA مقارنة بنسبة A=T (لوجود ثلاثة روابط هيدروجينية في الأولى) وبالتالي تحتاج إلى طاقة حرارية أكبر (أو استخدام مذيبات مثل الكحول أو اليوريا) لفك الارتباط بين السلسلتين عن بعضهما البعض.

12) إن المعلومات الوراثية Genetic information التي هي عبارة عن تسلسل القواعد النيتروجينية في الـــ DNA والتي تسمى بالمعلومات الخطية Linear information تنتقل إلى الحمض الريبي النووي المرسال mRNA بعملية النسخ ثم يتم ترجمة هذه المعلومات لبناء البروتين، يطلق على هذا التسلسل للقواعد النيتروجينية في DNA اسم البصمة الوراثية للإنسان The DNA finger print إذ عرفت بأنها وسيلة من وسائل التعرف على الشخص عن طريق مقارنة مقاطع الـــ DNA وتسمى في بعض الأحيان الطبعة الوراثية (DNA typing) ويكفي لاختبار البصمة الوراثية قطرة دم (أو شعرة أو لعاب) الشخص للتعرف عليه. وذلك من خلال فك سلسلة ال DNA ومعرفة تسلسل ونوعية وكمية القواعد النيتروجينية فيها.

13) وجود الثايمين بدل اليوراسيل في الـــ DNA (الثايمين هو عبارة عن يوراسيل دخلت عليه مجموعة ميثيل) وذلك من أجل المحافظة على التسلسل الوراثي والمعلومات الوراثية في ال DNA فضلاً عن أن وجود مجموعة الميثيل في الثايمين تجعل عملية ترميم ال DNA سهلة في حالة حدوث طفرات بسيطة.

14) وجود السكر الريبي منقوص الأوكسجين من الرايبوز في ال DNA يجعل ال DNA أكثر ثباتاً تجاه المواد الكيميائية الحمضية أو القاعدية أو إنزيمات النيوكلياز Nuclease التي يمكن أن تهاجم مجموعة الهيدروكسيل في الموقع ´2 في السكر الريبي.

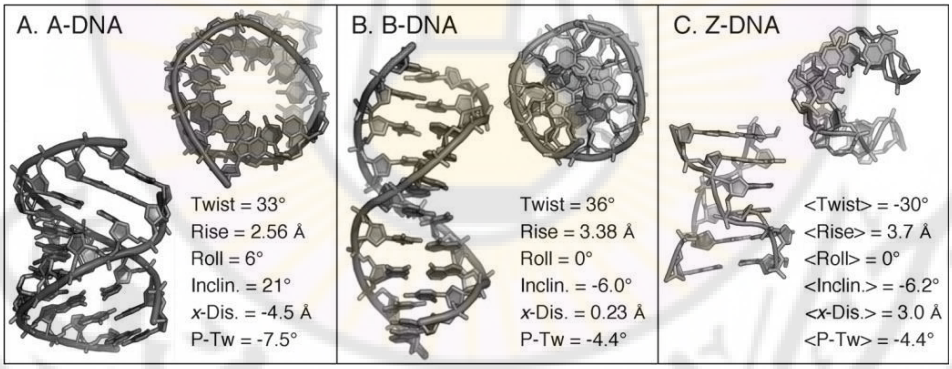
7-5-2- تركيب الأحماض النووية:

1) التركيب الأولي Primary structure:

إن تسلسل أو تعاقب النيوكليوتيدات في سلسلة عديد النيوكليوتيد وباتجاه 5′←3′ يمثل التركيب الأولي للحمض النووي، وإن في هذا التركيب تخزن المعلومات الوراثية إذ أن المورثة Gene هو عبارة عن تسلسل قطعة منفردة صغيرة في الـ DNA.

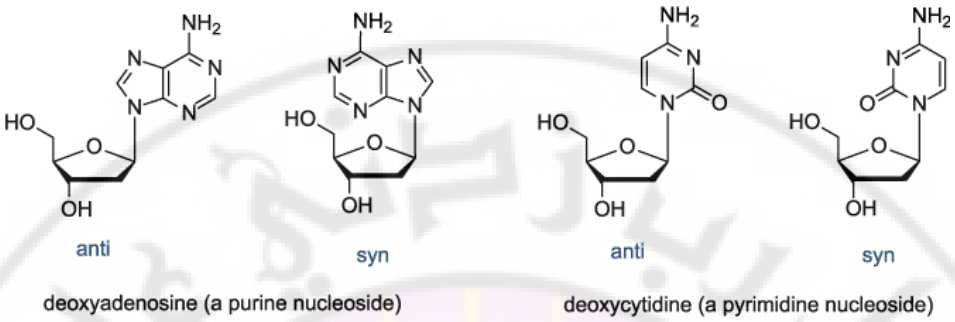
2) التركيب الثانوي Secondary structure:

إن أهم تركيب ثانوي للأحماض النووية هو ما افترضه العالمان واتسون وكريك عام 1953 من خلال استخدام أشعة X (الشكل 7-9) وتماثل القواعد والعديد من الملاحظات عن الخصائص الكيميائية والفيزيائية ل DNA والذي أعطي تركيب يسمى بتركيب B (B-DNA)، وبعد توفر المعلومات الحديثة إضافة لمعلومات واتسون وكريك وجد أن القواعد لا تكون عمودية بصورة تامة على محور الحلزون ولكن مبتعدة عنه تقريباً 6 درجات وإن هيئة السكر تختلف قليلاً عما ذكره واتسون وكريك إذ أعطت ألياف ال DNA تحت ظروف قليلة المحتوى المائي تركيباً يختلف تماماً وسمي بتركيب A (A-DNA) (الشكل 7-9).



الشكل (7-9): التراكيب الثانوية للـ DNA

استطاع العالم الكسندر ريج Alexander Rich عام 1979 من اكتشاف تركيب آخر للـ DNA يكون فيه المنحنيان الحلزوني المزدوج باتجاه اليسار وسمي بتركيب Z (Z- DNA)، ففي كل من أشكال A وB لعديد النيوكليوتيد تكون جميع القواعد ثابتة باتجاه الضد Anti فقط، أما في الشكل Z فتكون قواعد البيرميدينات دائماً باتجاه الضد (Anti) وقواعد البيورينات باتجاه مع (Syn) (الشكل 7-10).



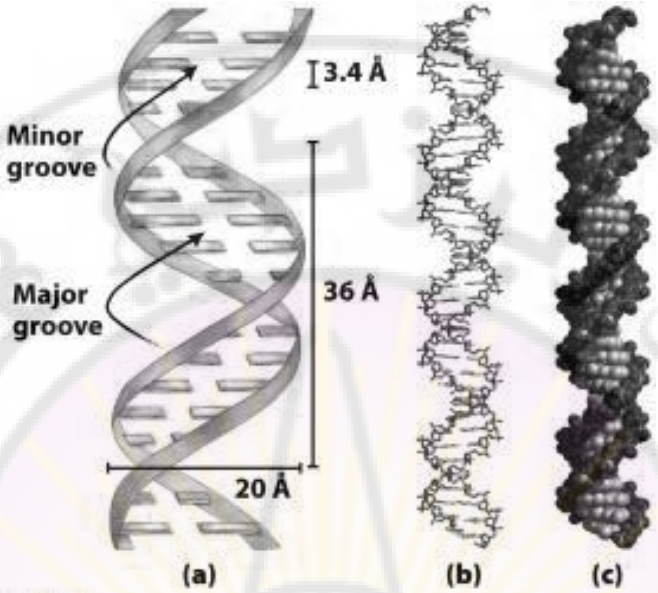
الشكل (7–10) أشكال anti و syn للقواعد الازوتية.

إن تسلسل البيورينات والبريمدينات في كل سلسلة (شكل Z-DNA) هو الذي أعطى الشكل المتعرج Zig zag للفوسفات وأعطى الاسم Z-DNA وإن لهذا الشكل قد تكون له وظيفة محتملة هي تنظيم التعبير الوراثي.

يوضح الجدول (7–4) بعض مميزات التراكيب Z,B,A للـــ DNA .

الخواص	A	B	Z
اتجاه الحلزون	يمين	يمين	يسار
القطر	25.5°A	23.7° A	18.4° A
عدد أزواج القواعد لكل لفة منحني حلزوني	11	10	12(Dimer ثنائي)
التواء المنحني الحلزوني لكل زوج من القواعد	33	36	60(Dimer ثنائي)
ارتفاع كل لفة منحني حلزوني	28°A	34°A	45°A
ارتفاع المنحني الحلزوني لكل زوج من القواعد	2.6°A	3.4°A	3.7°A
الانحدار الطبيعي للقاعدة بالنسبة لمحور الحلزون	20	6	7
الأخدود الرئيسي Major groove	ضيق وعميق	واسع وعميق	سطحي
الأخدود الثانوي Minor groove	واسع وسطحي	ضيق وعميق	ضيق وعميق

ومنشأ الأخدود الرئيسي Major groove والأخدود الثانوي Minor groove من عدم استقامة زوج القواعد في سلسلتي ال DNA لتكوين الروابط الهيدروجينية (الشكل 7–11).



الشكل (7–11): الاخدود الرئيسي Major groove والأخدود الثانوي Minor groove في الـــ DNA

3) التركيب الثالثي tertiary Structure

هناك بعض جزيئات ال DNA توجد بشكل دائري لا تحتوي على النهايتين 5´,3´ كما في الـــ DNA لبكتيريا القولون E.coli إذ تحوي على كروموزوم مفرد دائري كبير. إن مثل هذه الجزيئات من الـــ DNA الدائرية لها صفة مهمة تسمى بالالتفاف الشديد Super Coiled الذي تتقاطع فيه السلاسل فيما بينها عدة مرات لتكون دائرة مغلقة من الحلقات أو الالتواء Linking number والتي تختلف فيما بينها حسب طريقة الالتواء.

يعبر عن الالتفاف المفرط لجزيئات الـــ DNA بمصطلح كثافة الالتفاف الشديد Super helix density ولمعظم جزيئات DNA الطبيعية قيم معينة من كثافة الالتفاف الشديد والذي يتم التعرف عليه بوساطة تقنية الترحيل الكهربائي Electrophoresis.

تخرب الحمض النووي منقوص الأوكسجين DNA Denaturation:

عند حدوث تغيير في قيمة الأس الهيدروجيني pH عن المجال 4 و11 أو زيادة درجة الحرارة لأكثر من 80 درجة مئوية أو التعرض لتراكيز عالية من الكحول أو الفورم ألدهيد أو اليوريا وغيرها يمكن أن يحدث للـــ DNA تغير في الصفات الطبيعية (تخرب Denaturation) ويؤدي ذلك إلى تفكيك التفاف الحلزون المزدوج نتيجة تحطم الروابط الهيدروجينية والتداخلات الكارهة للماء بين السلسلتين مع عدم حدوث تحطم في الروابط

التشاركية في السلسلة الواحدة ل DNA وإن هذه السلسلة الواحدة المتكونة يمكن أن تتحول إلى شكل التفاف عشوائي Random coil .

عند استخدام الحرارة في عملية التفكك بين السلسلتين تدعى هذه العملية بالانصهار Melting، ولكن خفض درجة الحرارة دون درجة حرارة الانصهار يمكن أن يعيد الحلزون المزدوج إلى وضعه السابق وتدعى هذه العملية إعادة الشكل الطبيعي له Renaturation. يمكن معرفة حدوث التخرب أو عدم حدوثه من خلال استخدام إنزيمات النيوكليز Nucleases التي لها القدرة على تحليل سلسلة واحدة من الـ DNA فقط وليس سلسلتين أو استخدام المطياف الضوئي Spectrophotometer لقياس الامتصاصية عند الطول الموجي 260 نانوميتر. إذ تزداد الامتصاصية في السلسلة المنفردة عن السلسلتين المزدوجة والزيادة العالية بالامتصاصية تدعى اصطلاحاً Hyperchromicity .

7-5-3- الحمض الريبي النووي (RNA):

يتميز الحمض الريبي النووي RNA بعدة صفات يمكن إجمالها بما يلي:

1) يتركب RNA من سلسلة طويلة من عديدة النيوكليوتيدات ذات وزن جزيئي يتراوح ما بين 10^4x25 إلى10^6x1 دالتون والذي يتكون من سكر الرايبوز و4 قواعد نيتروجينية هي الأدنين والغوانين واليوراسيل والسيتوزين.
2) يكون الحمض النووي الرايبوزي بشكل سلسلة منفردة كما أن جزءاً منه يحتوي على التواءات ضمن السلسلة نفسها مكونة حلزوناً مزدوجاً والذي تكون فيه القواعد النيتروجينية (U,C,G,A) غير متممة الواحدة مع الأخرى فإن عدد قواعد الأدنين لا يساوي عدد قواعد اليوراسيل والغوانين لا يساوي السيتوزين، وكذلك من الممكن أن يرتبط الغوانين مع اليوراسيل ولكن بكمية قليلة وهي ذات استقرارية أقل من الغوانين مع السيتوزين.
3) يوجد الحمض النووي RNA بصورة موزعة في الخلية فالجزء الأكبر في السيتوبلاسم و10% تقريباً في النواة وجزء قليل في الميتوكوندريا.
4) توجد ثلاثة أنواع من RNA وهي الحمض الريبي الرسول Messenger RNA (mRNA) والحمض الريبي الريبوزومي(rRNA) Ribosomal RNA والحمض الريبي الناقل (tRNA) Transfer RNA وتشترك جميعاً بصورة فعالة في بناء البروتين.

5) يتم بناء الـــ DNA من الوحدات الأساسية لـــ RNA باستخدام إنزيم يدعى رايبونيوكليوتيد المرجع Ribonucleotide reductase إذ تحول الرايبونيوكليوتيدات (الحاوية على سكر الرايبوز) إلى رايبونيوكليوتيدات منقوصة الأوكسجين .

7-5-3-1- الحمض الريبي النووي المرسال m-RNA:

يتكون الحمض الريبي النووي المرسال بطريقة النسخ من الـــ DNA في النواة، ويسهم في اصطناع البروتين Protein Synthesis في السيتوبلازم، تبلغ نسبة الحمض m-RNA حوالي 5% من إجمالي الحمض الريبي الكلي في الخلية، يعد الحمض الريبي النووي m-RNA غير ثابت حيث يتفكك عند انتهاء مهمته يتراوح نصف عمره Half-life بين 17 إلى 24 ساعة فقط.

وهناك عدة أنواع من m-RNA وكل نوع يحمل تسلسلاً للقواعد النيتروجينية تحدد تكوين نوع واحد من البروتين، وفي بعض الأحيان هناك جزيئات الـــ m-RNA تحمل تسلسلاً تحدد تكوين أكثر من نوع واحد من جزيئات البروتين وتدعى Polycistronic m-RNA.

7-5-3-2- الحمض الريبي النووي الرايبوزومي (r-RNA):

للحمض الريبي النووي الرايبوزومي عدة صفات نستعرض أهمها بما يلي:

1) تكون نسبة r-RNA أعلى من بقية أنواع الـــ RNA في الخلية (وتصل إلى 80% من RNA الكلي) ويكون 65% من وزن الريبوزومات.

تتكون الريبوزومات من حمض نووي مرتبط مع بروتين يسمى رايبونيوكليوبروتين Ribonucleoprotein أو قد تسمى اختصاراً Polysomes وتوجد في الخلايا حقيقية النواة.

2) يوجد عدة أنواع من ال r-RNA اعتماداً على الوزن الجزيئي وهي 5S و16 S و23S ....الخ. ويرمز الحرف S إلى وحدة سفيدبيرك Svedberg وهي عبارة عن الوحدة الأساسية لقياس معامل الترسيب Sedimentation coefficient في مجال الطرد المركزي الفائق السرعة Ultracentrifuge.

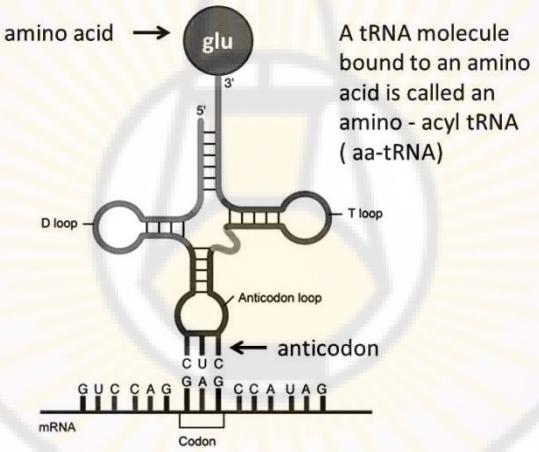
3) يحوي r-RNA على عدد قليل من القواعد النيتروجينية غير الشائعة والتي تختلف عن القواعد النيتروجينية(A,U,C,G) باحتوائه على مجموعة الميثيل.

4) يحوي r-RNA في الغالب على القواعد النيتروجينية C و G بنسبة 50-60% من التركيب الكلي.

7-5-3-3-الحمض الريبي النووي الناقل (t-RNA):

يسمى هذا الحمض أيضاً بالحمض النووي الريبوزي الذائب Soluble RNA (sRNA) ويشبه ورق البرسيم في شكله الخارجي ويحتوي على ثلاث حلقات Loops (الشكل 7-12) وتختلف صفاته العامة بما يلي:

1) تعد جزيئات t-RNA صغيرة نسبياً مقارنة بالأحماض النووية الريبوزية m-RNA و-r RNA ولكن توجد بأعداد كثيرة (أكثر من 60 نوع) من t-RNA تستخدم لعملية نقل الأحماض الأمينية المنشطة أثناء عملية بناء البروتين.
2) توجد في t-RNA منطقة خاصة تحتوي على ثلاثة نيوكليوتيدات وتسمى هذه المنطقة الشيفرة المضادة (عكس الشيفرة الوراثية) Anticodon تكون متممة في تركيبها للنيوكليوتيدات الثلاثة المسماة بالشيفرة Codon (التي هي عبارة عن تسلسل ثلاث قواعد نيتروجينية في m-RNA) (الشكل 7-12).



الشكل (7-12) الحمض النووي الرايبوزي الناقل

3) للـــ t-RNA نهايتان، النهاية في الموقع 5′ تحتوي قواعد نيتروجينية إما G أو C والنهاية في الموقع 3′ تحتوي تعاقب لنيوكليوتيدات (C-C- A) وفي نهاية A مجموعة الهيدروكسيل (HO) للسكر الريبي الخماسي الذي يرتبط بوساطة رابطة استرية مع الحمض الأميني الذي يقوم بنقله في البناء الحيوي للبروتين (الشكل 7-12).
4) يحوي t-RNA على تركيب ثالثي يتضمن مناطق حلزونية والتفافات والذي يمكن أن يكون تركيباً عالي الاستقرار على شكل ورقة البرسيم Clover leaf بسبب الروابط الهيدروجينية بين القواعد النيتروجينية التي فيه والجدول (7-5) يوضح بعض صفات أنواع الـــ RNA العائدة للبكتيريا E.coli.

الجدول (7–5) يوضح بعض صفات أنوع RNA للبكتريا E.coli

النوع	نسبته المئوية في RNA الكلي	عدد النيوكليوتيدات	معامل الترسيب S	موقع البناء	الوزن الجزيئي كيلو دالتون	أنواعه
rRNA	80	120 1700 3700	5 16 23	النوية	35 550 1100	3
tRNA	15	90–75	4	النواة	30–23	أكثر من 60
mRNA	5	3000–75	25–6	النواة	1000–25	أكثر من 10

7–5–4– مقارنة بين الأحماض النووية DNA و RNA:

يختلف الحمض الريبي النووي منقوص الأوكسجين بعدة صفات عند مقارنته مع الحمض الريبي النووي ويعود ذلك إلى اختلافات تركيبية وبنائية ووظيفية والتي يمكن إجمالها بشكل عام كما بالجدول (7–6)

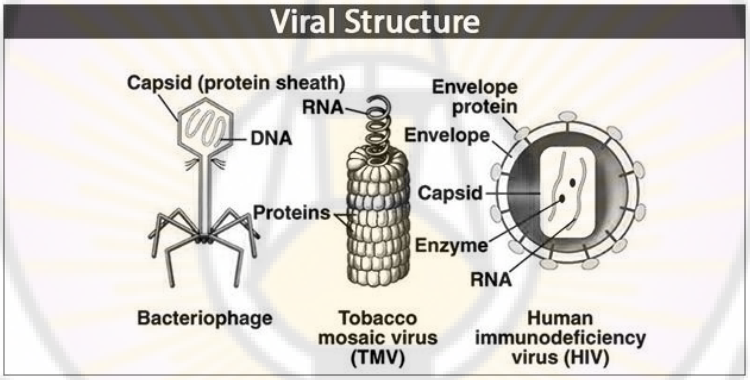
الجدول (7–6) يوضح مقارنة بين الأحماض النووية DNA و RNA

الحمض النووي الديوكسي رايبوزي DNA	الحمض النووي الرايبوزي RNA
1) يحتوي على القواعد النيتروجينية A,G,T,C	1) يحتوي على القواعد النيتروجينية A,G,U,C
2) يحتوي على سكر ديوكسي رايبوز	2) يحتوي على سكر الرايبوز
3) يعد مركباً أساسياً يحتوي على جميع المعلومات الوراثية.	3) يعد مركباً وسطياً في عملية التعبير الوراثي Gene expression.
4) يكون على شكل سلسلتين حلزونيتين مزدوجة وتكون كل سلسلة متممة للأخرى (أي أن أعداد T=A,C=G)	4) يكون على شكل سلسلة واحدة يمكن أن تكون حلزوناً مزدوجاً حول نفسها ولكن لا تكون متممة.
5) يعد أكثر ثباتاً إذ يبقى في داخل الخلية دون تغير في تركيبه.	5) أقل ثباتاً ويتفكك بعد أداء وظيفته بالإنزيمات الهاضمة.
6) أكثر استقراراً لاحتوائه على روابط هيدروجينية وتداخلات كارهة للماء ووجود بروتينات قاعدية (كالهستونات) التي تزيد من استقرار الـ DNA.	6) أقل استقراراً.
7) ذو وزن جزيئي عال	7) ذو وزن جزيئي أقل.
8) يحتوي ال DNA نوع واحد يؤدي وظيفة واحدة.	8) يحتوي على ثلاثة أنواع هي m-RNA, r-RNA, t-RNA ولكل نوع له وظيفة في بناء البروتين.
9) له تراكيب ثانوية مثل B-DNA و A-DNA و Z-DNA	9) لا يحوي على مثل هذه التراكيب.
10) يحتوي على مواقع تنظيمية gene On و gene Off	10) لا يحتوي على هذه المواقع التنظيمية.
11) يتضاعف بالاستنساخ الذاتي	11) لا يتضاعف بالاستنساخ الذاتي.

7-6- الفيروسات:

إن أكثر أنواع البروتينات النووية التي درست من قبل العلماء هي لدى الفيروسات وهي كائنات طفيلية لا تستطيع التضاعف إلا داخل خلايا المضيف. لقد ساعدت دراسات العالم Stanley عام 1935 على فهم الطبيعة الكيميائية للفيروسات عندما استطاع عزل وبلورة فيروس موزاييك التبغ. لقد وجد ستانلي أن هذا الفيروس مؤلف من جزيء واحد من الـــ RNA محاط بتحت وحدات من البروتين مشكلة غطاء واقي (الشكل7-13).

إن القيام بعملية العدوى هو مهمة الـــ RNA فقط، بينما يقوم البروتين في عملية حماية وتثبيت المادة الفيروسية، تختلف الفيروسات فيما بينها بالوزن الجزيئي أو بنوع الحمض النووي، أو بنوعية البروتين الداخل في تركيبها، كما أن كمية الحمض النووي يمكن أن تختلف اختلافاً كبيراً من فيروس لآخر (الجدول7-7).



الشكل (7-13) يبين تركيب الفيروس

الجدول (7-7) خواص بعض الفيروسات:

نوع الفيروس	نوع الحمض النووي	الوزن الجزيئي للفيروس Daltons x10	الوزن الجزيئي للحمض النووي $Dx10^{-6}$	نسبة الحمض النووي في الفيروس%
فيروس البقع الحلقية في البندورة	RNA	1.5	0.66	44
موزاييك التبغ	RNA	40	2.2	6-5
فيروس شلل الأطفال	RNA	6.7	2.0	30-223
فيروس الأمراض التنفسية	DNA	200	10	5
بكتريوفاج-T2	DNA	220	134	61
انفلونزا الإنسان	RNA	280	2.2	0.8

لا يتم تضاعف الفيروسات إلا داخل خلايا المضيف وذلك على عدة مراحل.

تتميز الفيروسات بأنها ذات تخصص عال ويعود ذلك لقابليتها للتثبت في مواقع خاصة من خلايا المضيف، ولا تهاجم الفيروسات الخلايا التي لا تحتوي على مثل هذه المواقع. بعد عملية دخول الفيروس إلى خلايا المضيف والتي تتم بطرق مختلفة، يقوم الحمض النووي الفيروسي بالإيعاز بتصنيع إنزيمات خاصة ضرورية لتسهيل تضاعفه بالإضافة إلى القيام بتصنيع محفظته البروتينية، وبذلك يضعف تصنيع DNA و RNA والبروتينات اللازمة لخلايا المضيف.

الباب الثاني

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

الفصل الأول

استقلاب المادة والطاقة

1-1-الاستقلاب الوسطي:

تعد الخلية الحية، التي تمتلك تكويناً داخلياً معقداً، مركزاً لعشرات الآلاف من المواد المختلفة الموجودة في ترتيب منتظم وفي حركة كيميائية وفيزيائية مستمرة.

وتتحقق الخاصية الأولى بفضل احتواء الخلية على عدد كبير من القنوات التي ترتبط أجزاءها المختلفة ببعضها، بينما تنحصر الثانية في التحول المستمر للمواد الكيميائية عن طريق التفاعلات العديدة لهدم الكربوهيدرات واللبيدات والبروتينات والحموض النووية وبنائها. ويتم توجيه كل هذه التفاعلات بوساطة مئات الإنزيمات كما سنرى فيما بعد. وأهم ما في الأمر هو أنها تسير بسرعات هائلة وتكون ذاتية التنظيم.

ويؤلف اجتماع هذه التفاعلات المختلفة مسارات استقلابية متشعبة ومتنوعة بحيث يمكن لمركب وسطي ينتج عن أحد هذه المسارات أن يدخل لاستكمال استقلابه مساراً من ضمن مجال مؤلف من مسارين أو أكثر.

يؤمن تقسيم المسارات الاستقلابية إلى خطوات أو مراحل متعاقبة للعضويات ثلاث فوائد:

1- تزويد تفاعلات البناء بالطاقة على شكل جزيئات ATP.

2- إنتاج مركبات وسطية تستخدم كطلائع بناء لاصطناع الجزيئات الضخمة.

3- التحكم بدقة في المسارات الاستقلابية كافة.

تتوضح فوائد هذه النقاط المهمة من خلال استعراضنا الخطوط الرئيسية لمسارات الهدم ومسارات البناء أو الاصطناع، وكذلك من خلال دراستنا المعمقة للمسارات الاستقلابية المختلفة.

1-2-الخطوط الرئيسية لمسارات الهدم Catabolic Pathways:

تستطيع الكائنات الحية ضوئية التغذية استخدام مخزونها من مواد الطاقة عندما يحجب الضوء عنها.

وفي المقابل فإن الكائنات الحية عضوية التغذية تعمل على هدم المواد الغذائية التي تأتيها من الوسط المحيط للحصول على الطاقة الضرورية لتسيير التفاعلات الكيميائية الماصة للطاقة. تشترك جميع الكائنات الحية عضوية التغذية بمسارات استقلابية ذات ملامح رئيسية واحدة لهدم الكربوهيدرات واللبيدات والبروتينات وغيرها من المواد. تقسم مسارات الهدم التي

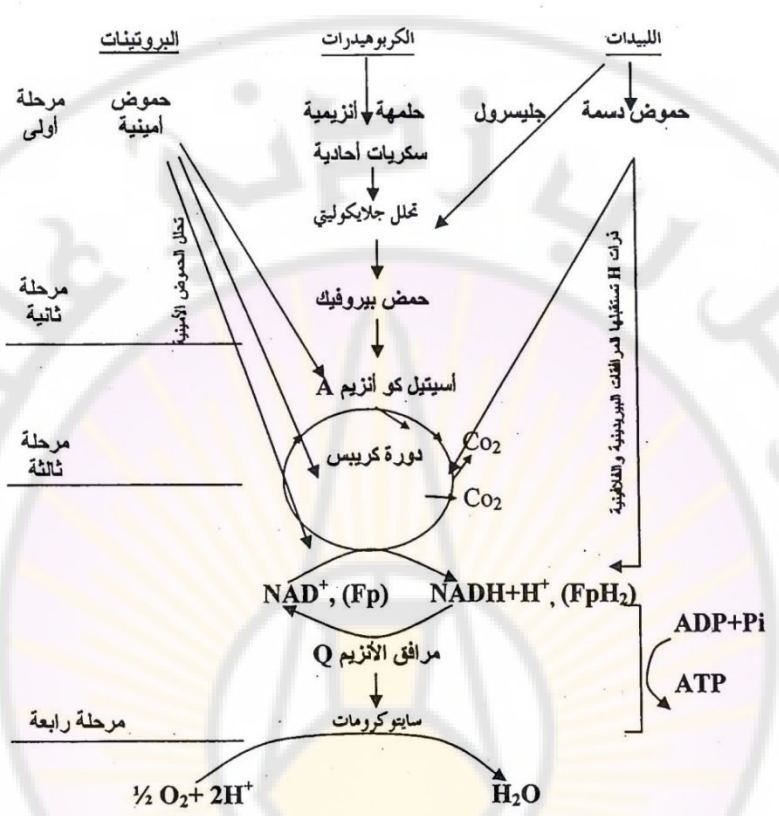
تعطي لجميع الكائنات الحية عضوية التغذية الطاقة اللازمة لحياتها إلى أربع مراحل يلخصها الشكل (1-1).

- في المرحلة الأولى تخضع الكربوهيدرات واللبيدات والبروتينات إلى عملية تحلل سريعة تؤدي إلى إعطاء مكوناتها الطبيعية من السكريات البسيطة، والحموض الدهنية، والحموض الأمينية.
- في المرحلة الثانية تخضع الجزيئات الصغيرة الناتجة عن المرحلة الأولى إلى عملية تحلل عبر مسارات استقلابية متعددة تؤدي إلى إعطاء عدد قليل من المركبات الوسطى كالبيروفات (أو حمض البيروفيك) وأسيتيل كو أنزيم A.
- في المرحلة الثالثة يوجد مسار استقلابي وحيد، يسمى بدورة كريبس، أو حمض الستريك، ويتم فيها الأكسدة الكاملة للمركبات الوسطية للمرحلتين الأولى والثانية إلى CO_2 وذرات هيدروجين تستقبلها المرافقات البيريدية والفلافينية. كما يتم خلال تفاعلات دورة كريبس إنتاج قليل من الطاقة، وتستخدم مركباتها الوسطية كطلائع اصطناع على درجة كبيرة من الأهمية.
- في المرحلة الرابعة والأخيرة تنتقل الإلكترونات المحمولة على المرافقات البريدينية والفلافينية إلى الأكسجين لإنتاج الماء، وتحرير طاقة كبيرة تستخدم في فسفرة جزيئات الـــ ADP لإنتاج جزيئات الـــ ATP، وذلك بعملية تسمى الفسفرة التأكسدية التي تحصل بالازدواج مع تفاعلات انتقال الإلكترونات.

1-3-المبادئ العامة لتفاعلات الاصطناع: Anabolic Reactions

تلجأ الكائنات الحية إلى استخدام الطاقة الناتجة عن مسارات الهدم في الاصطناع الحيوي لجزيئات عملاقة تحتاجها لنموها وتكاثرها، بدءاً من مركبات وسطية، أو طلائع بناء ناتجة عن مسارات الهدم الآنفة الذكر.

يحتاج الاصطناع في الجسم الحي إلى طاقة تأتيه من التفاعلات الناشرة للطاقة (ΔG سالبة)، وهذا ما يطلق عليه اسم ازدواج التفاعلات الكيميائية.



الشكل (1-1) الخطوط الرئيسية لمراحل هدم المواد الغذائية بمسارات مترابطة مع الأكسدة الحيوية وإنتاج الطاقة.

تشترك جميع تفاعلات الاصطناع بملامح عامة مشتركة حيث يحتاج الاصطناع الحي إلى طاقة تأتيه من نيكلوتيدات ثلاثية الفوسفات مثل مركب الادينوزين ثلاثي الفوسفات (ATP) كما يتضح من المثال الآتي:

لدينا فيما يلي تفاعل اصطناع نموذجي يتم فيه حذف جزيء ماء من المركبين المتفاعلين لتكوين مركب جديد برابطة جديدة.

1) $X - OH + H - Y \rightleftarrows X - Y + H_2O \quad \Delta G_o` = 4 \quad Kcal/mol$

هذا التفاعل، كما هو مبين أعلاه، ماص للطاقة، ولا يمكن أن يتم تلقائياً، لأنه يحتاج إلى طاقة خارجية مقدارها 4 كيلو كالوري لكل مول.

من جهة أخرى فإن تفاعل تحلل المركب ATP هو تفاعل ناشر للطاقة:

2) $ATP + H_2O \rightleftarrows ADP + Pi \quad \Delta G_o` = -7.3 \quad Kcal/mol$

وبذلك تربط الخلية التفاعلين معاً، بوجود الأنزيم المناسب، لتسيير التفاعل الأول على حساب الطاقة الناتجة عن التفاعل الثاني

3) $X - OH + H - Y + ATP \rightleftarrows X - Y + ADP + Pi \quad \Delta G_o` = -3.3 Kcal/mol$

وتجدر الإشارة إلى أن ازدواج حلمأة المركب ATP مع المركب المتفاعل X-OH يؤدي في البداية إلى تكون مركب وسطي نشيط [X-O-P] مزدوج مع المركب المتفاعل الثاني H-Y ويعطي الناتج ويتحرر جزء الطاقة الزائد عن حاجة الرابطة المتشكلة في المركب الناتج.

يحتاج الاصطناع الحيوي إلى قوة مرجعة على هيئة $NADPH_2$ لتحويل الطلائع المتأكسدة إلى حالة مرجعة كما في المثال النموذجي:

$$RCHO + NADPH_2 \rightarrow R\text{-}CH_2OH + NADP^+$$

1-4-الطاقة الحيوية:

تحتاج الكائنات الحية للطاقة من أجل الحصول على الحرارة والضوء والكهرباء وذلك بهدف إمكانية الحركة والتنقل وغير ذلك من النشاطات الحيوية الأخرى. والطاقة في أي نظام حيوي لا يمكن أن تخلق من العدم كما لا يمكن فناؤها بل تتحول من شكل إلى آخر وتنتقل من نظام إلى نظام آخر (مثال ذلك من خلية إلى خلية مجاورة أو حتى من جزيء إلى جزيء آخر).

توجد الطاقة في الطبيعة بأشكال عدة، كيميائية، ميكانيكية / كهربائية... إلخ لكن الطاقة الكيميائية هي التي تلعب الدور الرئيسي والمباشر في الخلايا الحية. هذه الأخيرة تستمد طاقتها بشكل أساسي من مصدرين هما:

أ- بعض الإشعاعات الضوئية وبشكل خاص الأشعة الشمسية المستخدمة من قبل الكائنات الحية ذاتية التغذية (Organisms autotrophs) مثل النباتات الخضراء المزودة بصبغة الكلوروفيل القادرة على تحويل الطاقة الضوئية للأشعة الشمسية إلى طاقة كيميائية وذلك من خلال الاصطناع الحيوي لعدد من المركبات العضوية المعقدة (السكريات، بروتينات، دهون) اعتباراً من جزيئات معدنية بسيطة (NH_3 , H_2O , CO_2).

ب- الطاقة الكيميائية للمواد العضوية المصنعة من قبل الكائنات الحية ذاتية التغذية (autotrophs) كالنباتات الخضراء. هذه الطاقة تشكل بمجملها مصدر الطاقة الوحيد لجميع الكائنات الحية الأخرى التي تدعى بالكائنات الحية غيرية التغذية (Heterotrophs).

وإذا انتقلنا من استعراض مصادر الطاقة للكائنات ككل إلى تقييم دور الطاقة في أدق الوحدات البنائية للكائنات الحية وهي الخلية، فإنه سوف تبرز هنا بصورة أوضح قيمة تحولات الطاقة

في ظواهر الحياة. والخلية بحد ذاتها تعد مركزاً لعشرات الآلاف من المواد المختلفة المتواجدة في ترتيب منتظم وفي حركة كيميائية وفيزيائية مستمرة عن طريق التفاعلات العديدة لهدم Catabolism وبناء Anabolism البروتينات والأحماض النووية والكربوهيدرات والليبيدات... إلخ، ويتم توجيه كل هذه التفاعلات بوساطة مئات الأنزيمات كما سنرى فيما بعد. وأهم ما في الأمر أن عملية التمثيل الغذائي أو الاستقلاب Metabolism التي تحدث في الخلية الحية تتم بشكل آني حيث تستخدم الطاقة الناتجة عن أكسدة المواد الغذائية (Catabolism) لتسيير عمليات الاصطناع (Anabolism) وصلة الوصل بينهما مركبات خاصة تعرف باسم المركبات الغنية بالطاقة.

ولكي نستطيع أن نقيّم أهمية أي تفاعل كيميائي على مستوى الخلية نحتاج إلى بعض المعرفة عن مقدار الطاقة الناتجة عن التفاعل الكيميائي أو عن مقدار الطاقة التي يحتاجها التفاعل الكيميائي للوصول إلى حالة الاتزان والتي تسمى بالطاقة الحرة. هذه الطاقة التي يمكن الاستفادة منها في عمل ما يرمز لها بالرمز G وفي بعض المراجع بالرمز F.

تحتوي كافة المركبات العضوية التي تدخل في تركيب المادة الحية على مخزون من الطاقة لا يمكن قياس مقدار التغير في الطاقة الحرة عندما تتحول المادة من شكل إلى آخر ويرمز لهذا التغير بـــ ΔG.

1-4-1-مفهوم التغير في الطاقة الحرة ΔG:

إذا أخذنا بعين الاعتبار التفاعل التالي $A+B \rightarrow C$ نجد أن المزيج A+B يمثل الحالة الأولية للمادة وأن المركب C يمثل الحالة النهائية للمادة. إن كل حالة من هاتين الحالتين تتميز بمستوى معين من الطاقة (على التوالي G_1 و G_2) المتعلقة بالطبيعة الكيميائية للمواد المتفاعلة وبتراكيزها إضافة إلى عدد من العوامل الفيزيائية أهمها الحرارة والضغط الجوي.

إن مقدار التغير في الطاقة الحرة ΔG الناتجة عن تغير في التركيب الجزيئي للمواد. يتعلق بشكل أساسي بالحالة الأولية والحالة النهائية للمواد المتفاعلة أي:

$$\Delta G = G_2 - G_1$$

وهذه تمثل الكمية العظمى من الطاقة القابلة للاستخدام في عمل ما.

1-4-2-تغير الطاقة الحرة ΔG في التفاعلات الناشرة والماصة للحرارة:

من العلاقة السابقة نستنتج أن التغير في الطاقة ΔG هو بالتعريف حاصل طرح الطاقة الحرة للمادة أو المواد المتفاعلة من الطاقة الحرة للمواد الناتجة. فإذا كانت الطاقة الحرة للمواد المتفاعلة (G_1) أعلى من الطاقة الحرة للمادة أو المواد الناتجة (G_2) فإن تحول A+B إلى C

سينتج عنه طاقة أو حرارة ولذلك يسمى هذا التفاعل ناشراً للطاقة Exergonic وتكون قيمة ΔG سالبة. أما إذا كانت الطاقة الحرة للمادة أو المواد المتفاعلة (G_1) أقل من الطاقة الحرة للمادة أو المواد الناتجة (G_2) فإن قيمة ΔG لهذا التفاعل موجبة وبالتالي لا يمكن أن يحصل هذا التفاعل إلا إذا امتص طاقة قدرها ΔG ولذلك يسمى التفاعل ماصاً للطاقة Endrgonic.

إن قيمة مقدار التغير في الطاقة الحرة لتفاعل ما تدل على كيفية حدوثه، هل يحدث تلقائياً (ΔG له سالبة) أم لا (ΔG له موجبة). فإذا كانت قيمة ΔG سالبة فالتفاعل يمكن أن يحدث تلقائياً وتنتج عنه حرارة. وإذا كانت قيمة ΔG تساوي الصفر فإن التفاعل يكون في حالة توازن. أما إذا كانت قيمة ΔG موجبة فالتفاعل لا يحدث إلا إذا امتص حرارة.

ويجب هنا أن نؤكد على أن قيمة ΔG مستقلة تماماً عن التحولات التي يمر بها التفاعل حتى يصل إلى حالته النهائية. ولذلك فإن ΔG لا تحدد مطلقاً سرعة حدوث التفاعل ولا علاقة لها به. وعلى سبيل المثال نذكر أن قيمة ΔG لتفاعل أكسدة الجلوكوز:

$$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O$$

كبيرة وسالبة (−686 كليو كالوري/ مول). ومع ذلك يمكن أن نترك سكر الجلوكوز معرضاً للأوكسجين الجوي (الهواء) عدة سنوات دون أن يحدث أي تفاعل بينهما.

أخيراً نشير إلى أن تغير الطاقة الحرة لتفاعل ما لا يعبر بالضرورة عن كمية الحرارة ولكن قد يبدو كله أو بعضه أو لا يبدو في صورة حرارية. والكائنات الحية تمتاز بقدرتها الفائقة على تحويل جزء كبير من الطاقة الحرة الناتجة عن التفاعلات الحيوية تحويلاً مباشراً إلى الأشكال اللازمة لها دون أن تظهر أولاً على شكل حرارة. فالعضلات مثلاً تحول الطاقة الكيميائية مباشرة إلى طاقة ميكانيكية، بينما الطاقة الحرة الكبيرة الناتجة عن أكسدة الفحم ومشتقاته بالأوكسجين لا يمكن تحويلها مباشرة إلى طاقة ميكانيكية قبل ظهورها أولاً على شكل حراري ثم يجري تحويلها والاستفادة منها بعد ذلك.

1−4−3− تغير الطاقة الحرة القياسية للتفاعلات الكيميائية وعلاقتها مع ثابت الاتزان:

إن العلاقة التي تربط بين تغير الطاقة الحرة لتفاعل كيميائي وبين ثابت توازنه هي العلاقة المسيطرة على جميع أوجه علم الطاقة الحيوية. فجميع التفاعلات الكيميائية تفاعلات عكوسة. ومن أجل التفاعل العكوس التالي:

$$aA + bB \rightleftarrows cC + dD \quad (1)$$

حيث فيه a , b , c , d، تمثل عدد جزيئات A , B , C و D التي تشارك في التفاعل، فإن ثابت اتزان التفاعل يعبر عن النسبة بين جداء تراكيز النواتج إلى جداء تراكيز المواد المتفاعلة أثناء الاتزان:

$$K = \frac{[C]^c[D]^d}{[A]^a[B]^b} \qquad (2)$$

وكلما كانت قيمة ثابت الاتزان كبيرة كانت الطاقة الحرة لمواد التفاعل A و B أعلى من الطاقة الحرة لنواتج التفاعل C و D أو بعبارة أخرى كان التفاعل مائلاً إلى اليمين أي نحو الاكتمال. ومن الناحية الحيوية يدل ثابت الاتزان على الاتجاه المحتمل للتفاعل داخل الخلية. فكلما كانت قيمته كبيرة وأكبر من الواحد الصحيح كان التفاعل الأصلي باتجاه النواتج هو المحتمل والمفضل. وكلما كانت قيمته صغيرة وأصغر من الواحد الصحيح كلما كان التفاعل العكوس هو المفضل باستثناء بعض الحالات الشاذة كما في المثال التالي: إذا كان ثابت اتزان تفاعل ما كبيراً (10.000 مثلاً) فهذا يعني أن التفاعل يسير باتجاه اليمين لكي يصل إلى حالة الاتزان وأن التفاعل العكوس قليل الأهمية. ولكن يمكن أن يكون التفاعل العكوس هو المفضل إذا تمت إزالة أحد مواد التفاعل A أو B باستمرار بحيث يبقى تركيز المواد A و B أقل من التركيز المطلوب للوصول إلى حالة الاتزان.

وهكذا يمكن أن يسير التفاعل في الاتجاه العكوس ولو لم تدل قيمة ثابت الاتزان على ذلك وهو ما يحصل في بعض التفاعلات الحيوية.

يختلف مقدار التغير في الطاقة الحرة لتفاعل ما تبعاً لعوامل عدة أهمها نوع التفاعل وقيمة ثابت الاتزان ودرجة الحرارة وتراكيز المواد. أما حساب التغير في الطاقة الحرة ΔG عند أي تركيز من تراكيز المواد المتفاعلة والناتجة وعند أي درجة حرارة فيتم طبقاً للمعادلة التالية:

$$\Delta G = \Delta G^0 + R\ T \ln\frac{[C]^c[D]^d}{[A]^a[B]^b} \qquad (3)$$

حيث:

ΔG^o: تغير الطاقة الحرة القياسية في شروط نظامية ثابتة (درجة الحرارة 25مْ، وتراكيز 1 مول/ليتر)

R: ثابت الغازات العام ويساوي 1.982 كالوري لكل مول درجة (الكالوري هو كمية الحرارة اللازمة لرفع حرارة غرام واحد من الماء درجة مئوية واحدة، وتساوي 4.184 جول. والكيلو كالوري يساوي 1000 كالوري).

T: درجة الحرارة المطلقة $298 = 25 + 273$

$\ln\frac{[C]^c[D]^d}{[A]^a[B]^b}$: اللوغاريتم الطبيعي لجداء تركيز النواتج إلى جداء تركيز المواد المتفاعلة.

إن المعادلة الأخيرة (3) تشير إلى تغير الطاقة الحرة لتفاعل كيميائي متمثل بحدين: الحد الأول ΔG^o يعبر عن التغير القياسي للطاقة الحرة ذو قيمة ثابتة مميزة للتفاعل الكيميائي المدروس. أما الحد الثاني فيمثل قيمة متغيرة تعكس تراكيز المواد الداخلة في التفاعل. وهكذا نستطيع أن نحسب بدقة تغير الطاقة الحرة لتفاعل ما عند درجة حرارة معينة إذا علمنا مقدار التغير القياسي للطاقة الحرة المميزة لهذا التفاعل، وتراكيز المواد الداخلة في التفاعل والناتجة عنه.

وإذا دققنا النظر في المعادلة (3) نجد عند الاتزان أن التفاعل لا يسير في أية جهة ولا ينتج عنه أي تغير في الطاقة أي أن:

$\Delta G = 0$ ومنه:

$$0 = \Delta G^0 + R\,T \ln\frac{[C]^c[D]^d}{[A]^a[B]^b} \qquad (4)$$

والتي تصبح:

$$\Delta G^0 = -\,R\,T \ln\frac{[C]^c[D]^d}{[A]^a[B]^b} \qquad (5)$$

وبما أنه عند الاتزان يكون جداء تراكيز النواتج مقسوماً على جداء تراكيز المواد المتفاعلة مساوياً لثابت الاتزان K نجد أن:

$$\Delta G^0 = -\,R\,T \ln K \qquad (6)$$

وبما أن اللوغاريتم الطبيعي لثابت الاتزان = $\log K \times 2.303$ فإن ΔG^0 تصبح كما يلي:

$$\Delta G^0 = -\,2.303\,R\,T \log_{10} K \qquad (7)$$

وبتعويض قيم R و T نجد

$$\Delta G^0 = -\,2.303 \times 1.987 \times 298 \log_{10} K$$

$$\Delta G^0 = -\,1363 \log_{10} K \qquad (8)$$

وهكذا نستطيع أن نحسب بدقة مقدار التغير القياسي للطاقة الحرة ΔG^0 بدءاً من ثابت التوازن من أجل تفاعل معين عند درجة حرارة معينة. إذا كان ثابت توازن تفاعل ما مساوياً الواحد الصحيح فإن مقدار التغير القياسي ΔG^0 عندئذ يكون معدوماً ولا يحدث أي تغير للطاقة الحرة، أما إذا كان ثابت التوازن أكبر من الواحد الصحيح فإن تغير الطاقة الحرة يكون سالباً وبالتالي يكون التفاعل ناشراً للطاقة. وفي حال كون ثابت التوازن أصغر من الواحد الصحيح فإن ΔG^0 له يكون موجباً والتفاعل الذي يترافق بتغير إيجابي للطاقة الحرة القياسية يسمى بتفاعل ماص للطاقة، ويبين الجدول (1–2) العلاقة بين ثابت التوازن K وتغير الطاقة الحرة القياسية لمجال من قيم K يتراوح بين 0.001 و 10^6.

وبما أن معظم التفاعلات الكيميائية التي تتم على مستوى الخلية تحدث عند قيم pH قريبة من 7، فيجب في هذه الحالة إجراء التعديل في قيم ΔG^0 وحساب مقدار التغير في الطاقة الحرة عند pH=7 والذي يرمز له بالرمز ΔG^0.

1-4-4- الطبيعة الإضافية للتغير القياسي في الطاقة الحرة:

إن التغير في الطاقة الحرة لعدة تفاعلات متتالية هو في الحقيقة قيمة تراكمية. فمثلاً لنتأمل سلسلة التفاعلات التالية المرتبطة فيما بينها بمركبات انتقالية مشتركة:

التفاعل	تغير الطاقة الحرة القياسية
$A \rightarrow B$	ΔG_1^0
$B \rightarrow C$	ΔG_2^0
$C \rightarrow D$	ΔG_3^0

جدول (1-2) يبين العلاقة بين ثابت التوازن (K) وتغيرات الطاقة الحرة القياسية (ΔG^0) عند الدرجة 25مْ.

K	log K	$\Delta G^0 = -1363 \log K$ كالوري / مول
0.001	-3	+4089
0.01	-2	+2726
0.1	-1	+1363
1	0	0
10	+1	-1363
100	+2	-2726
1000	+3	-4089
10000	+4	-5452
100000	+5	-5815
1000000	+6	-8178

إن مجموع التفاعلات يكون A→D، حيث تغير الطاقة الحرة القياسية ΔG_S^0 يكون عبارة عن المجموع الجبري للتغيرات ΔG^0 لكل تفاعل:

$$AG_s^0 = \Delta G_1^0 + \Delta G_2^0 + \Delta G_3^0$$

يستفاد من هذه الخاصية من أجل حساب تغير الطاقة الحرة القياسية لتفاعل ما عندما يكون من غير الممكن قياس ثابت توازنه مباشرة. وفي هذه الحالة يكون التفاعل مقترناً بتفاعل أو عدة تفاعلات أخرى حيث ثوابت التوازن تكون معروفة وكذلك التوازن الإجمالي لهذه السلسلة من

التفاعلات. ففي المثال السابق إذا كانت قيم ΔG_1^0 و ΔG_3^0 و ΔG_s^0 معروفة فإن قيمة ΔG_2^0 يمكن حسابها بسهولة.

1-4-5- مفهوم الأكسدة والاختزال والجهود القياسية وعلاقتها بالتغير في الطاقة الحرة:

إن التغير في الطاقة الحرة لتفاعلات الأكسدة والاختزال يرتبط بفرق الجهد القياسي بين العوامل المؤكسدة والمختزلة والذي يرمز له بالرمز ΔE_o. ولابد قبل التعرض للعلاقة التي تربط بين تغيرات الطاقة الحرة (ΔG) وفرق الجهد القياسي لتفاعلات الأكسدة والاختزال من أن نعرف ولو بشكل مبسط الأكسدة والاختزال والعوامل المؤكسدة والمختزلة.

تعرف الأكسدة بأنها فقد الإلكترونات بينما الاختزال هو كسب الإلكترونات. والعامل الذي تحصل له الأكسدة، أي المعطي للإلكترونات هو العامل المختزل كما في نصف التفاعل التالي:

$$\underset{\text{عامل مختزل}}{H_2} \overset{\text{أكسدة}}{\longleftrightarrow} \underset{\text{عامل مؤكسد}}{2H^+ + 2e^-}$$

والعامل الذي يحصل له الاختزال، أي الآخذ للإلكترونات، هو العامل المؤكسد كما في نصف التفاعل التالي:

$$\underset{\text{عامل مؤكسد}}{Fe^{+3}} + e^- \overset{\text{اختزال}}{\longleftrightarrow} \underset{\text{عامل مختزل}}{Fe^{+2}}$$

إذا كن الحديديك ذا قدرة عالية على اكتساب الإلكترونات أي عاملاً مؤكسداً قوياً فإن الحديدوز بالضرورة ذو قدرة منخفضة على إعطاء الإلكترونات فهو عامل مختزل ضعيف. والأمر نفسه ينطبق على نصف تفاعل الهيدروجين. لا يمكن أن يحصل أي نصف تفاعل بمفرده بل لابد لكي يسير التفاعل من وجود مادة مختزلة تعطي الإلكترونات للمادة المؤكسدة. فغاز الهيدروجين يمكن أن يختزل الحديدك وهذه هي حصيلة نصفي التفاعلين السابقين ويكون التفاعل الكلي مائلاً بشدة باتجاه اليمين:

$$2\,Fe^{+3} + H_2 \rightleftarrows 2Fe^{+2} + 2H^+$$

وعلى مستوى الخلية تقوم المركبات العضوية مثل أسيتالدهيد بدور العامل المؤكسد كما في التفاعل التالي:

$$\underset{\text{أسيتالدهايد}}{CH_3CHO} + 2H^+ + 2\,e^- \rightarrow \underset{\text{كحول ايتيلي}}{CH_3CH_2OH}$$

إلا أن هذا التفاعل الأخير هو في الحقيقة تفاعل حيوي حيث يستقبل فيه العامل المؤكسد أسيتالدهايد الاترونين (بروتونين) من العامل المختزل وهو المرافق الأنزيمي $NADH_2$ والتفاعل عكوس يتحدد اتجاهه في الخلية بتراكيز المواد المتفاعلة والناتجة. والأنزيم هو مجرد عامل مساعد لتسريع التفاعل:

$$\underset{\text{أسيتالدهايد}}{CH_3CHO} + \underset{\text{مرافق أنزيمي}}{NADH_2} \underset{\text{أنزيم}}{\rightleftarrows} \underset{\text{كحول ايتيلي}}{CH_3CH_2OH} + NA\ D$$

عامل مؤكسد — عامل مختزل

خلال تفاعلات الأكسدة والاختزال تختلف المواد فيما بينها اختلافاً كبيراً من حيث ميلها لاكتساب الإلكترونات أو إعطائها خلال تلك التفاعلات. لذلك كان من الضروري وضع مقياس تنسب إليه كافة التفاعلات الأخرى التي يقاس جهد اختزالها بالنسبة إليه. هذا المقياس يعبر عن جهد الاختزال القياسي الذي يرمز له بالرمز E_o أي عن ميل المادة لاستقبال الإلكترونات (مقدرتها كمادة مؤكسدة). وبناءً على ذلك فقد اعتبر الهيدروجين المركب القياسي. وقد اصطلح العلماء على إعطائه قيمة الصفر (E_o=0.00) في الشروط النظامية (H^+ = 1مول/ليتر، الضغط = 1 ضغط جوي). وهكذا تقدر الجهود القياسية للمواد بالنسبة لجهد الاختزال القياسي للهيدروجين. فكلما زاد جهد الاختزال القياسي عن الصفر كانت الصورة المؤكسدة للمادة أكثر قدرة على استقبال الإلكترونات وبالتالي تكون مادة مؤكسدة قوية.

وكلما انخفض الجهد القياسي غن الصفر كانت الصورة المختزلة للمادة أكثر قدرة على إعطاء الإلكترونات وبالتالي تكون مادة مختزلة قوية. وإذا رمزنا للصورة المؤكسدة بالرمز OX وللصورة المختزلة للمادة بالرمز Red فإن الأولى تتحول إلى الثانية بعد استقبالها عدد من الإلكترونات قدره n:

$$OX + ne^- \rightleftarrows Red$$

ونظراً للدور الكبير الذي يلعبه شاردة الهيدروجين في معظم تفاعلات الأكسدة والاختزال داخل الخلية والمتمثل بنصف التفاعل التالي:

$$H^+ + e^- \rightarrow 1/2\ H_2$$

فإن جهده مرتبط بشكل مباشر بدرجة الـــ pH للوسط الخلوي. وعلى اعتبار أن شاردة الهيدروجين لا يوجد بالتركيز القياسي (1 مول/ليتر) وإنما بتركيز يصل إلى 10^{-7} مول/ليتر قيمة (pH=7)، لذلك كان عند الضرورة قياس جهد الاختزال القياسي للهيدروجين عند

pH=7 وهو ما يرمز له بالرمز $E_o`$. ولدى قياسه وجد أنه يساوي 0.42−. فولت مقارنة بالجهد القياسي الذي هو صفر.

وبالاعتماد على التفاعل السابق المستخدم كتفاعل قياسي أمكن قياس جهود الاختزال لعدد كبير من التفاعلات البيولوجية المهمة حيوياً عند pH=7 كما يتضح من الجدول التالي (الجدول 1−3) لبعض المواد المؤكسدة (OX) والمختزلة (Red).

جدول (1−3): جهد الاختزال لعدد من المواد المهمة عند pH=7

جملة أكسدة – إرجاع OX / Red	$E_o`$ بالفولت $pH = 7 , 30^o$
$2H^+ / H_2$.....	-0.42
$NAD^+ / NAD + H^+$....	-0.32
CH_3CHO / CH_3CH_2OH...	-0.20
Cytochrome b Fe^{+3} / Fe^{+2}	+0.04
= C Fe^{+3} / Fe^{+2}.....	+0.26
= a Fe^{+3} / Fe^{+2}....	+0.29
Fe^{+3} / Fe^{+2}....	+0.77
$1/2\ O_2 / O^{-2}$.....	+0.82

يتبين من القيم الواردة في الجدول السابق (1−3) أن شاردة الحديديك مثلاً مادة مؤكسدة قوية وبالتالي فإن شاردة الحديدوز مادة مختزلة ضعيفة، أما شاردة الهيدروجين فهو مادة مؤكسدة ضعيفة (جهدها القياسي سالب فقابليتها لاستقبال الإلكترونات ضعيفة) ولكن غاز الهيدروجين يستطيع بسهولة اختزال شاردة الحديديك (أو بتعبير آخر يستطيع شاردة الحديديك أكسدة غاز الهيدروجين) ويكون اتجاه التفاعل مائلاً إلى اليمين كما ذكر في معادلة تفاعلهما السابقة.

إن تغير الطاقة الحرة بين جملتين ($\Delta G^{o`}$) يكون مرتبطاً بفرق الجهد القياسي للجملتين ($\Delta G^{o`}$) بوساطة العلاقة التالية:

$$\Delta G^{o`} = - nF\ \Delta E_o`$$

حيث:

$\Delta G^{o`}$: التغير في الطاقة الحرة عند pH=7.

n: عدد الإلكترونات المنتقلة في التفاعل.

F: ثابت فاراداي ويساوي 23.06 كيلوكالوري لكل مكافئ/ فولت.

$\Delta E_o`$: فرق الجهد القياسي بين العامل المؤكسد والمختزل عند pH =7

ففي تفاعلا الحديديك والهيدروجين السابق الذكر يكون التغير في الطاقة الحرة:

$\Delta G^{o`} = - 1 \times 23.06 \times 0.77 - (-0.42)$

$= -27.44$ K.cal

فالتفاعل ناشر للحرارة (ΔG^o سالبة) وينتج عنه 27.44 كيلو كالوري. وإذا أردنا أن نحسب مقدار التغير في الطاقة الحرة الناتج عن أكسدة جزيء من $NADH + H^+$ بوساطة جزيء من الأوكسجين وهو تفاعل عام يحدث في جميع النسج الحية:

$NADH + H^+ + 1/2O_2 \rightarrow NAD^+ + H_2O$

نحسب أولاً عدد الإلكترونات المنتقلة خلال التفاعل، أي أن $n = 2$ ثم نطبق العلاقة السابقة كما يلي"

$\Delta G^{o`} = - 2 \times 23.06 \times 0.82 - (-0.32) = -52.6$ K.cal

فالتفاعل ناشر للحرارة ($\Delta G^{o`}$ سالبة وكبيرة) وينتج عنه 52.6 كيلو كالوري. ولكن هذه الطاقة لا تتحرر دفعة واحدة وإنما على مراحل كما سنرى فيما بعد.

ونشير أخيراً إلى أن فرق الجهد لأي نصف تفاعل، شأنه شأن مقدار التغير في الطاقة الحرة، يرتبط بتراكيز المواد المتفاعلة والناتجة. وأن الاصطلاح ΔE_o يعني وجود المواد المتأكسدة والمختزلة بنسبة 1:1 وإذا اختزلت هذه النسبة فإن E_o يتعلق بـــ E بالعلاقة التالية:

$$E = E_o + \frac{0.059}{n} log \frac{[OX]}{[Red]}$$

حيث:

E: فرق الجهد لنصف التفاعل عند أي تركيز للمواد المؤكسدة والمختزلة فيها.

E_o: فرق جهد الاختزال القياسي.

n: عدد الإلكترونات المنتقلة خلال التفاعل.

[OX]: تركيز المادة أو المواد المؤكسدة.

[Red]: تركيز المادة أو المواد المختزلة.

1-4-6- المركبات الغنية بالطاقة:

الخلايا الحية تكون بطبيعتها مضطرة للقيام بعدد من التفاعلات الماصة للحرارة. هذه التفاعلات ليست بالضرورة من طبيعة بنائية كالاصطناع الحيوي للجزيئات الضخمة لمتعددات السكريات والبروتينات والأحماض النووية وغيرها وإنما أيضاً ذات طبيعة تهديمية: خاصة بعض المواد الواجب تنشيطها قبل أن تتمكن الخلية من تخريبها. والخلية تحصل على الطاقة الضرورية لذلك من قبل التفاعلات الناشرة للطاقة. ومن وجهة نظر ترموديناميكية بحتة فإن الشيء الوحيد الذي يهم خلال ربط تفاعلين أحدهما ماص للطاقة والآخر ناشر

للطاقة هو أن مقدار التغير في الطاقة الحرة للتفاعل الناشر للطاقة يجب أن يكون أكبر (بالقيمة المطلقة) من مقدار التغير في الطاقة الحرة للتفاعل الماص للطاقة. فإذا كان لدينا على سبيل المثال التفاعل الناشر للطاقة:

$A + B \rightarrow C + D \quad , \Delta G = -7 \text{ K.cal / mol} \quad (1)$

فإنه سيستطيع حسب المبدأ أن يسمح التفاعل التالي الماص للطاقة.

$E + F \rightarrow G + H \quad , \Delta G = +3 \text{ K.cal / mol} \quad (2)$

وهكذا نستطيع أن نستنتج أن عملية الربط بين هذين التفاعلين تترك ميزانية أيضاً ناشرة للطاقة بشدة (-4 K.cal).

وعليه فإنه يمكن أن نتصور أن كل تفاعل ماص للطاقة مقترناً بتفاعل نوعي ناشر للطاقة. ومن جهة النظر الكيميائية فإن نقل الطاقة يمكن أن يكون مؤمناً إذا كان أحد نواتج التفاعل الناشر للطاقة مادة التفاعل الماص للطاقة. ويبدو أنه من المفيد جداً أن يكون للخلايا مركب انتقالي مشترك وحيد. يتشكل خلال جميع التفاعلات الماصة للطاقة. وفي الواقع أن هذا المركب الانتقالي موجود فعلاً في الخلايا الحية. إنه الـــ ATP (أدينوزين ثلاثي الفوسفات) وهو أحد مجموعة من المركبات التي تعرف باسم المركبات الغنية بالطاقة وسبب هذه التسمية راجع إلى أنها تعطي طاقة حرة عالية حينما تتحلمأ وهي بشكل عام غير ثابتة للحموض أو في القلويات عند درجة عالية من الحرارة.

وفيما يلي أمثلة عن أهم تلك المركبات الغنية بالطاقة:

أولاً- أدينوزين ثلاثي الفوسفات ATP:

يشتمل الأدينوزين ثلاثي الفوسفات ATP كما يتبين من صيغته على ثلاث مجموعات فوسفاتية أو بتعبير أدق على ثلاث روابط O-P وهي:

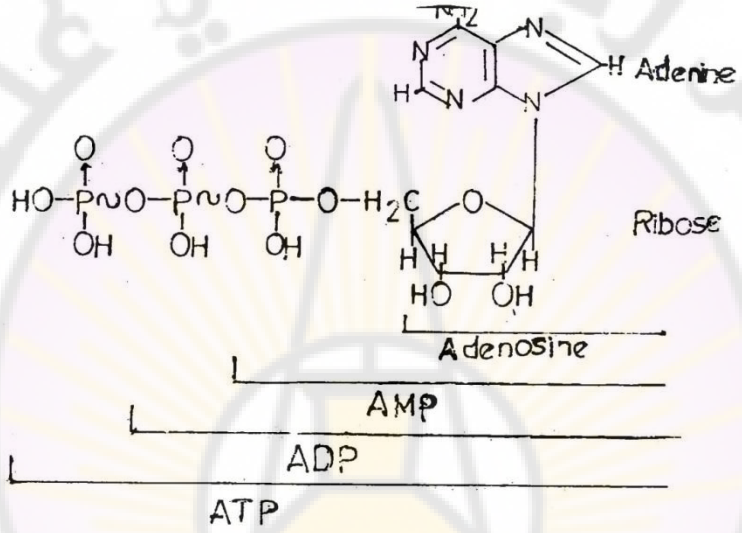
-رابطة $-CH_2-O-\overset{O}{\underset{|}{\uparrow}}P-$ التي هي رابطة استيرية مشابهة لتلك التي توجد في السكريات المفسفرة. وحيث الحلمهة تترافق بتغير طاقة حرة قياسية ΔG^o= -3 K. cal/mol أثناء التفاعل التالي:

$AMP + H_2O \rightarrow Adenosine + Pi$

-رابطتان $-\overset{O}{\underset{|}{\uparrow}}P-O-\overset{O}{\underset{|}{\uparrow}}P-$ ، يطلق عليهما اسم بايروفوسفات حيث الحلمهة، بسبب تبدلات في توزع الإلكترونات وثبات كبير جداً للنواتج المتشكلة، تترافق بتناقص كبير في الطاقة الحرة، وبعبارة أخرى بتغير طاقة حرة قياسية: ΔG^o = -7 K.cal/mol، خلال أحد التفاعلين التاليين:

$ADP + H_2O \rightarrow AMP + Pi$
$ATP + H_2O \rightarrow ADP + Pi$

إن هذا النموذج الثاني للرابطة يكون أحياناً ممثلاً بخط متموج يطلق عليه اسم الرابطة الغنية بالطاقة. ونورد فيما يلي صيغة المركب ATP (الشكل 1−2) ومراحل تحلله الثلاث وكمية الطاقة الناتجة بالتقريب في كل مرحلة من المراحل مقدرة بالكيلو كالوري بشكل تقريبي.



الشكل (1−2) بنية الـ ATP (Adenosine triphoshte)

$ATP + H_2O \rightleftarrows ADP + Pi , \quad \Delta G^o = -7.3$ K.cal
$ADP + H_2O \rightleftarrows AMP + Pi , \quad \Delta G^o = -7.0$ K.cal
$AMP + H_2O \rightleftarrows Adenosine + Pi , \quad \Delta G^o = -3.0$ K.cal

تكون كافة هذه المجموعات متشردة في ظروف الخلية وبالتالي حاملة لشحنات سالبة لذلك ترتبط عادة مع شوارد المغنزيوم. كما أن حمض الفوسفوريك الناتج عن التحلل المائي يوجد متشرداً في الظروف الفيزيولوجية للخلية pH=7 أي بشكل فوسفات ولذلك يرمز له بالرمز Pi. أما بالنسبة للاختلافات الكبيرة بكمية الطاقة الحرة الناتجة عن كل مرحلة من المراحل السابقة، فهذا يعود إلى زيادة عدد الشحنات المتنافرة الناتجة عن تأين المجموعات الحمضية الفوسفوريك حيث تكون هذه الشحنات من ATP أكثر منها في ADP وفي هذا الأخير أكثر منها في AMP. وكلما زاد عدد تلك الشحنات كان التنافر كبيراً بين الذرات وبالتالي احتوى المركب على طاقة عالية لمقاومة هذا التنافر والمحافظة على ارتباط الذرات بعضها مع بعض في الجزيء.

إن كمية الطاقة الجاهزة تتغير حسب الشروط لاسيما تبعاً للتراكيز الخاصة للمواد وكذلك درجة الـــ pH وتركيز شوارد المغنزيوم بحيث أنه سيكون لدينا قيم ΔG بعيدة كثيراً أو قليلاً عن ΔG^o.

يحتل الـــ ATP المكان الأول والأساسي في عمليات نقل الطاقة. وهو يعد بحق من أهم المركبات الغنية بالطاقة في الخلايا الحية، حيث يزودها بالطاقة المطلوبة للقيام بالعديد من الوظائف الحيوية المهمة، فالتفاعلات التي تزود الطاقة، بعد امتصاص الضوء أو أكسدة الجلوكوز، تسمح كما سنشاهد فيما بعد، بتشكيل الـــ ATP اعتباراً من الـــ ADP + Pi، بينما التفاعلات المتطلبة للطاقة تكون مرتبطة إما بحلمهة الـــ ATP إلى ADP + Pi أو بحلمهة مركب آخر غني بالطاقة مرتبط بدوره بحلمهة الـــ ATP كما سنرى فيما بعد.

ومن أجل توضيح الطريقة التي يسمح معها الـــ ATP بتحقيق عمل كيميائي أي بتحقيق تفاعل ماص للطاقة يمكن أن نذكر المثال التالي: وهو تكاثف جزيء جلوكوز وجزيء فركتوز من أجل تشكيل جزيء سكاروز:

$$Glucose + Fructose \rightarrow Saccharose + H_2O$$
$$\Delta G^o = + 5.5 \text{ K.cal / mol}$$

إن الطاقة اللازمة لتحقيق هذا التفاعل تكون مزودة بوساطة حلمهة الـــ ATP (تفاعل ناشر للطاقة كما بينا أعلاه):

$$ATP + H_2O \rightarrow ADP + Pi , \quad \Delta G^o = 7.3 \text{ K.cal /mol}$$

في الواقع أن هذين التفاعلين لا يكونان مستقلين كما أتينا على كتابتهما انما يكونان مقترنين بالشكل التالي:

$$ATP + Glucose \rightarrow Glucose\text{ -1- }Phosphate + ADP$$
$$Glucose\text{ -1- }phosphate + Fructose \rightarrow Saccharose + Pi$$
$$ATP + Glucose + Fructose \rightarrow Saccharose + ADP + Pi$$

إن عملية اصطناع السكاروز بهذه الطريقة تحدث فقط عند بعض الكائنات الدقيقة مثل Pseudomonas Saccharophilia ، أما عند النباتات فآلية اصطناعه تتطلب تدخل مركبات أخرى سنأتي على شرحها تفصيلياً في الفصل المخصص لاستقلاب الكربوهيدرات.

أخيراً نشير إلى أن حلمهة الـــ ATP خلال معظم تفاعلات الاستقلاب تتم حسب المراحل السابقة الذكر إلا في بعض التفاعلات المهمة والتي تتطلب حلمهة مجموعة بايروفوسفات من الـــ ATP حسب التفاعل التالي:

$$ATP + H_2O \rightleftarrows AMP + PPi$$

والطاقة الناتجة عن هذا التفاعل تقدر بـــ: ΔG^o = - 8.6 K.cal وهي أعلى منها في الحالات السابقة التي هي الحالات الأكثر شيوعاً في الخلية الحية.

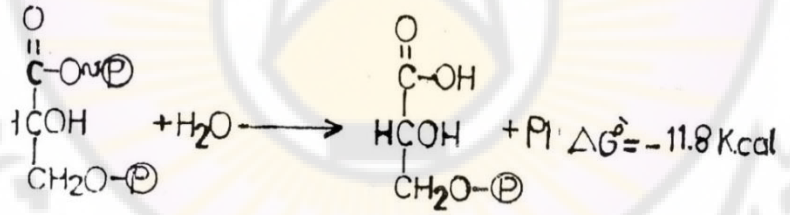
يعرف هذا النوع من الحلمأة بحلمأة البابروفوسفات بينما تعرف الحلمأة المؤدية إلى تشكل ADP بحلمأة أورثو فوسفات.

ثانياً- مركبات أخرى غنية بالطاقة:

يوجد عدد من بين المركبات ذو زمرة فوسفاتية (يرمز لها بـــ P). ومع أن ΔG° المطابق للحلمأة يكون سلبياً بشدة بما فيه الكفاية، فإن حلمهة هذه المركبات ليست بالضرورة سريعة في وسط مائي. ومن أجل أن تحدث بسرعة كبيرة فإنه يجب في أغلب الأحيان أن تكون محفزة بوساطة أنزيم نوعي. ونورد فيما يلي أهم هذه المركبات:

1-فوسفات الأسيل:

يعد المركب 1-3- ثنائي فوسفو حمض الجليسريك مثالاً معبراً عن فوسفات الأسيل. وهي عبارة عن أملاح الفوسفات للأحماض العضوية، الذي يتحلل داخل الخلية إلى المركب 3- فوسفو حمض الجليسريك والفوسفات وتنطلق طاقة قدرها 11.8 كيلو كالوري لكل مول كما يتضح ذلك من المعادلة التالية:



١،٣ ثنائي فوسفو حمض الجليسريك

٣- فوسفو حمض الجليسريك فوسفات

حيث:

P: ترمز لمجموعة الفوسفات.

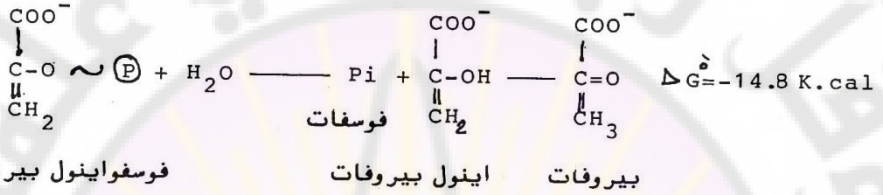
Pi: ترمز للفوسفات المتحررة أو حمض الفوسفوريك المتأين.

~: ترمز للرابطة الغنية بالطاقة.

هذه الطاقة الحرة الناتجة عن حلمأة هذا المركب تعود إلى التنافر الكهربائي الساكن والمؤدي إلى توتر الروابط في الجزيء. ولهذا السبب يحتاج الجزيء إلى طاقة ليتمكن من التغلب على التنافر الإلكتروني الموجود بين الشحنات المتماثلة على الكربون والفوسفور. وتحرر هذه الطاقة بالحلمأة يؤدي إلى إعطاء ΔG عالية.

2-الفوسفات الإينولية:

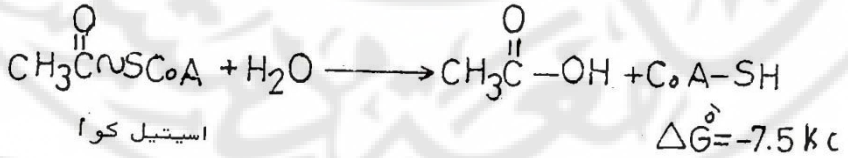
ومثالها المركب فوسفو أينول حمض البيروفيك الذي يوجد في مسار تحلل الجلوكوز إلى حمض بيروفيك مؤدياً من خلال تحلله إلى فسفرة الـــ ADP لإنتاج الـــ ATP هذا المركب يتحلل في ظروف الخلية إلى بيروفات وفوسفات مع تحرر كمية من الطاقة الحرة قدرها 14.8 كيلو كالوري لكل مول وذلك حسب التفاعل التالي:



ويرجع السبب في تحرر هذه الكمية العالية من الطاقة إلى أن الشكل الاينولي غير ثابت، فهو يتحول إلى الشكل الكيتوني الأكثر ثباتاً مع تحرير كمية من الطاقة تقدر بحوالي 8 كيلو كالوري لكل مول، وهذا ما زاد في قيمة الطاقة الكلية الناتجة عن التفاعل والتي قدرت بـــ – 14.8 كيلو كالوري لكل مول. ولذلك يعد فوسفو اينول حمض البيروفيك أحد أهم المركبات الغنية بالطاقة في النظم الحيوية.

3-الثيوأسترات أو الأستيرات الكبريتية:

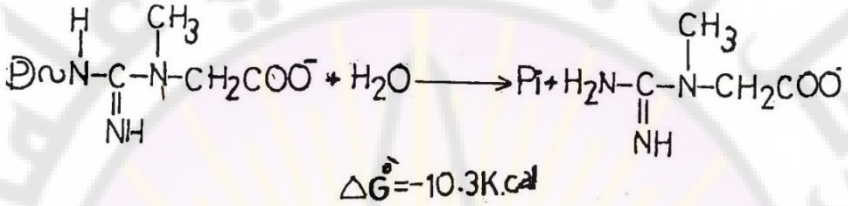
وهي من المركبات الغنية بالطاقة المستخدمة في فسفرة الـــ ADP لإنتاج الـــ ATP. وأهم مثال عليها المركب المعروف باسم مرافق الأنزيم أ (Co enzyme A) الذي يرمز له بالرمز Co A-SH لاحتوائه على مجموعة سلفوهيدريل. يمكن لهذا المركب أن يرتبط بالأسيتات فينتج أسيتيل كو أ وهو مركب غني بالطاقة وينتج عن تحلله مائياً أسيتات ومرافق الأنزيم أ وطاقة قدرها 7.5 كيلو كالوري لكل مول حسب التفاعل التالي:



4-فوسفات الكرياتين وفوسفات الأرجنين:

وهي أيضاً من المركبات الغنية بالطاقة التي تلعب دوراً مهماً في نقل وحفظ الطاقة. بل تعد مستودعات الفوسفات ذات الطاقة المرتفعة.

يقتصر وجود فوسفات الكرياتين على الفقاريات بينما توجد فوسفات الأرجنين فقط عند اللافقاريات، وكلاهما ينتجان عن فسفرة كل من الكرياتين والأرجنين بوساطة الـــ ATP وبوجود الأنزيم المتخصص لهذا النوع من التفاعلات. تبلغ الطاقة الناتجة عن تفاعل هذا النوع من المركبات 10.3 كيلو كالوري تقريباً لكل مول كما في معادلة تحلل فوسفات الكرياتين:



وبما أن ΔG لهذا التفاعل أكبر من الطاقة الضرورية لتكوين ATP بـــ 3 كيلو كالوري لكل مول فالتوازن يميل إلى جهة تشكيل ATP كما في التفاعل التالي:

Cneatine ~ P + ADP ⇄ Creatine + ATP

$\Delta G^{o'}$ = - 3 K. cal/mole

أما الزيادة الكبيرة في تركيز ATP فيمكنها أن تقود التفاعل من اليمين إلى اليسار وتحفظ الطاقة على شكل فوسفات الكرياتين مما يجعل لهذا التفاعل أهمية في تخزين الطاقة في الخلية.

1-5-ازدواجية التفاعلات الكيميائية:

خلال تفاعلات الاستقلاب تلجأ الخلية الحية للاستفادة من التفاعلات الناشرة للطاقة (ΔG لها سالبة) لتسيير تفاعلات ماصة للطاقة (ΔG لها موجبة). ولكي تتمكن الخلية من ازدواج التفاعلين يشترط وجود مادة تفاعل مشتركة.

لنتأمل تفاعلين مشتركين بالناتج B:

-تفاعل ماص للطاقة:

$A \rightleftarrows B , \Delta G^{o} = + 1.362$ K. cal / mol (1)

-تفاعل ناشر للطاقة:

$B \rightleftarrows C , \Delta G^{o} = - 4.086$ K. cal / mol (2)

إن حدوث هذين التفاعلين في آن واحد تسمح للتفاعل الناشر للطاقة أن يقود التفاعل الماص للحرارة. وبذلك يصبح التفاعل الإجمالي على النحو التالي:

$A \rightleftarrows C , \Delta G^{o} = - 2.724$ K. cal / mol (3)

وهكذا على الرغم من كون التفاعل (1) ماص للطاقة وغير مفضل فإن تتابع التفاعلين A→B→C ناشر للطاقة ومفضل ويقال عندها أن التفاعل (1) قد تم بفعل تغيرات الطاقة الحرة للتفاعل (2)

إن المركب الانتقالي في الخلية الحية والذي يربط بين عدة تفاعلات هو مركب الأدينوزين ثلاثي الفوسفات (ATP) كما يتضح من المثال التالي:

لكي تتمكن الخلية من تحليل سكر الجلوكوز فلابد من تحويله أولاً إلى جلوكوز 6-فوسفات وهذا التفاعل ماص للطاقة:

$$Glucose + Pi \rightarrow Glucose\text{-}6\text{-}P + H_2O \quad \Delta G^o = +3\ K.cal/mol \quad (1)$$

ومن العلوم أن تفاعل تحلل ATP هو تفاعل ناشر للطاقة:

$$ATP + H_2O \rightarrow ADP\ ,\ \Delta G^{o`} = -7.3\ K.cal/mol \quad (2)$$

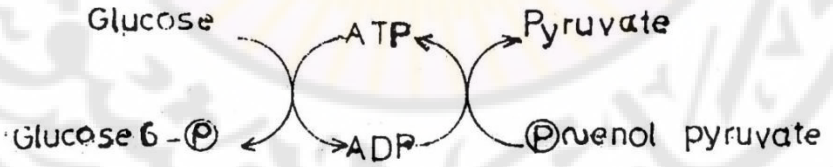
وبذلك تربط الخلية التفاعلين معاً بوجود الأنزيم المتخصص وذلك لتسيير التفاعل الأول على حساب الطاقة الناتجة عن التفاعل الثاني:

$$Glucose + ATP \rightarrow Glucose\text{-}6\text{-}P + ADP$$
$$\Delta G^{o`} = -4.3\ K.cal/mol \quad (3)$$

ولضمان استمرار إنتاج ATP في الخلية لابد من إعادة تكوينه من ADP والفوسفات وهنا يتم الاعتماد على تفاعلات ناشرة للطاقة (وذات طاقة تفوق الطاقة المطلوبة لتكوين ATP من ADP وهي 7.3 كيلو كالوري /مول) مثل التفاعل التالي:

$$P\sim enol\ pyruvate \rightarrow pyruvte + Pi \quad \Delta G^{o`} = -14.8\ \ K.\ cal\ /\ mol \quad (4)$$

وبذلك يمكن تمثيل التفاعلات الأربعة المزدوجة بالشكل التالي:



وهذا ما يعرف بازدواج التفاعلات الكيميائية.

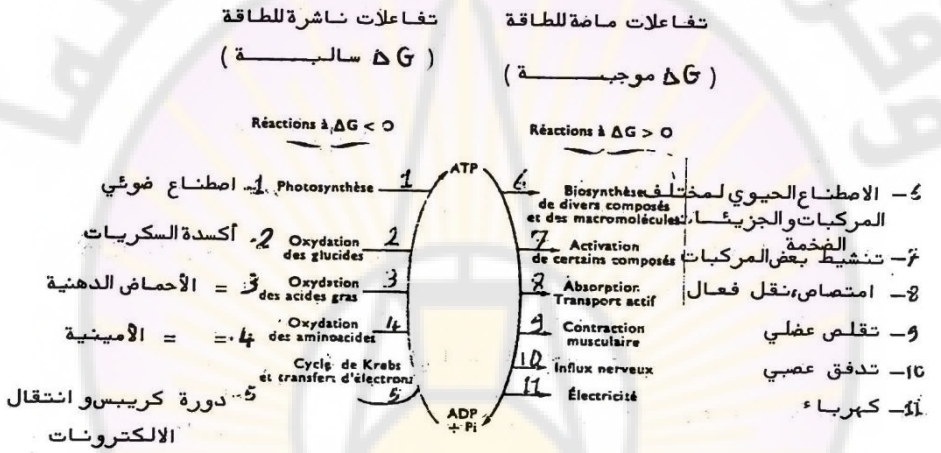
ولكي نوضح دور ATP في الربط بين التفاعلات الماصة للطاقة والتفاعلات الناشرة لها بالمخطط التالي: (شكل 1-3).

وفي الحقيقة يعد نقل الطاقة الكيميائية عبر مركبات وسطية مشتركة خاصة مهمة من خواص التفاعلات الكيميائية المتتابعة وهي تفاعلات لا تتطلب بالضرورة وجود ATP. فالخلية تلجأ

إلى نقل كثير من الذرات والمجموعات (كذرة الهيدروجين ومجموعة الأمين) في تفاعلات متتابعة لها مركبات وسطية مشتركة كما سنرى فيما بعد.

ولكن الطريقة الرئيسية للخلية في نقل الطاقة أثناء عمليات الاستقلاب غالباً ما تستخدم المجموعات الفوسفاتية الغنية بالطاقة كما أوردنا في المخطط أعلاه.

ويجب أن لا ننسى أن الخلية النباتية هي وحدها القادرة على القيام بالتمثيل الضوئي أي وحدها القادرة على الاستفادة من الطاقة الضوئية.



الشكل (1-3) دور ATP في الربط بين التفاعلات الماصة والناشرة للطاقة.

كما أن الخلية الحية غير قادرة على الاستفادة من الأشكال الأخرى للطاقة كالطاقة الحرارية وإنما تستفيد فقط من الطاقة الكيميائية الناتجة عن تحلل الأغذية. لذلك تسعى الخلية للمحافظة على الطاقة الكيميائية بتخزينها في المركبات الغنية بالطاقة والتي ذكرنا أمثلة عنها، ثم تستفيد من هذه الطاقة بازدواج التفاعلات المشار إليها أعلاه.

إن مسارات الاصطناع الحيوي للكربوهيدرات والدهون تختلف عن مسارات هدمها بأوجه عديدة، سنأتي على ذكرها لاحقاً. ومن الجدير ذكره أن الاصطناع الحيوي لسكر الجلوكوز في الحيوانات يتم بشكل رئيسي على حساب الحموض ثلاثية الكربوكسيل، بينما في النباتات والكائنات الأخرى التي تعتمد على البناء الضوئي يتم تصنيعه من السكريات الثلاثية.

من جهة أخرى فإن الاصطناع الحيوي للدهون لا يتبع بالضرورة مساراً معاكساً لحلمأتها. أما الحموض الأمينية المكونة للبروتينات فموادها الأولية المركبات الوسيطة في مسارات هدم السكريات باستثناء الحموض الأمينية التي سنأتي على ذكرها لاحقاً.

مما تقدم نجد أن المسارات الاستقلابية للمواد الغذائية الرئيسية متداخلة مع بعضها، بحيث يمكن لمركب وسطي أن يربط بين عدة مسارات استقلابية ذات توجهات مختلفة. وكمحصلة لهذه التفاعلات تحصل الخلية على الطاقة الضرورية، إضافة إلى المواد الأولية لتفاعلات الاصطناع.

Damascus University

الفصل الثاني

استقلاب الكربوهيدرات

CARBOHYDRATE METABOLISM

2-1-مقدمة:

تشكل الكربوهيدرات مجموعة من المركبات التي تحتل مركزاً مهماً في تغذية الإنسان والحيوانات المختلفة. وعلى الرغم من تنوع الغذاء الإنساني فإن الكربوهيدرات تؤلف الجزء الأعظم منه، حيث يتألف هذا الجزء في المتوسط 60% نشاء ودكسترينات و30% سكروز و5% لاكتوز و5% جلوكوز ومالتوز وسائر السكريات الأخرى.

وتتركز الوظيفة الرئيسية للكربوهيدرات في توفير الطاقة الضرورية لتحقيق متطلبات الجسم من التفاعلات الكيميائية الأخرى، وفي كونها المصدر الرئيسي لعدد كبير من المركبات العضوية التي تستخدم كمواد أولية في الاصطناع الحيوي للمواد الدسمة والبروتينات والأحماض النووية.

تنفرد النباتات عن بقية الكائنات الحية بمقدرتها على تصنيع الكربوهيدرات من غاز ثاني أكسيد الكربون والماء مستخدمة بذلك الطاقة الشمسية "Photosynthese" بينما الإنسان والحيوانات المختلفة تحصل على احتياجها من الكربوهيدرات من الوسط الخارجي مع الأغذية المختلفة، جزء ضئيل منها فقط يمكن تخزينه على شكل جلايكوجين في الكبد والعضلات، أما الزائد فيتحول إلى دهن يخزن في الأنسجة الدهنية.

إن السكريات الرئيسية التي تتمثل داخل الجسم هي الجلوكوز والفركتوز والجالاكتوز أما السكريات الثنائية والعديدة فيتم تحويلها أولاً إلى سكريات أحادية قبل أن يبدأ الجسم بتمثلها، كما يتم تصنيع السكريات الخماسية المهمة كالرايبوز داخل الجسم من أجل تصنيع الأحماض النووية.

يعد سكر الجلوكوز السكر الرئيسي في الكائنات الحية، حيث تتلقى الخلايا مواداً من الكربوهيدرات على شكل جلوكوز الذي يوجد على شكل محلول حر في دم الفقاريات وفي دم معظم اللافقاريات علماً أن معظمه يكون على شكل معقد جلوكوز – بروتين في الرخويات ويبقى تركيز الجلوكوز في الدم وفي السوائل المحيطة بالخلايا النسيجية ثابتاً ضمن حدود معينة سواء أكان استهلاكه كبيراً أم قليلاً.

ونظراً لأهمية الجلوكوز سندرس استقلابه بالتفصيل. ولكن قبل ذلك لابد من التعرض لتحلل الكربوهيدرات إلى سكريات أحادية وأخذ فكرة عن استقلاب تلك السكريات.

2-2-تحلل الكربوهيدرات إلى سكريات أحادية:

إن التحلل المائي للكربوهيدرات يتم بمساعدة مجموعة من الأنزيمات المفرزة من قبل الخلايا الحية تعرف باسم جلايكوسيداز (Glycosidases). وتشمل هذه المجموعة عدة أنزيمات تختلف في نوع الرابطة التي تحللها.

تعد أنزيمات الأميلاز Amylases أهم الأنزيمات التي تقوم بالتحلل المائي للسكريات العديدة كالنشاء والجلايكوجين أثناء الهضم وتتبع مجموعة جلوكوسيداز ولها نوعان:

أ-ألفا أميلاز α-amylase:

يظهر هذا الأنزيم بكميات كبيرة خلال مرحلة إنبات الحبوب والبذور النباتية، كما يفرز مع اللعاب ومن غدة البنكرياس وهو يعمل على قطع الروابط α(1→4) بشكل عشوائي داخل جزيء السكر العديد (أميلوز أو أميلوبكتين أو جلايكوجين) ولا يستطيع قطع الروابط α(1→6) وهذا يفسر ظهور السكريات المركبة والمكونة من ست أو سبع وحدات جلوكوز (وهي ديكسرينات منخفضة الوزن الجزيئي) كنواتج لتحلل النشا بهذه الأنزيمات.

يمكن لأنزيمات ألفا أميلاز بعد ذلك أن تقطع الروابط الوسطية α(1→4) في السكريات معطية كمية قليلة من المالتوز.

ب-بيتا أميلاز β-amylase:

يوجد هذا الأنزيم بشكل أساسي في النسج النباتية وبشكل خاص في البذور الغنية بالنشاء. ويقوم بفصل جزيء مالتوز في كل مرة من الطرف الخارجي غير المختزل لسلسلة السكر العديد. وبذلك يمكن لهذه الأنزيمات أن تحلل الأميلوز بشكل كامل إلى مالتوز، أما الأميلوبكتين فلا يتحلل سوى نصفه تقريباً لأن هذه الأنزيمات كسابقتها لا تستطيع أن تحلل الرابطة α(1→6) فنواتج تحلل النشاء بهذه الأنزيمات هي كمية كبيرة من المالتوز وكمية قليلة من الدكسترينات المتشعبة مرتفعة الوزن الجزيئي.

إن الأنزيم المسؤول عن قطع α(1→6) هو أميلو 1-6- جلوكوسيداز (Amylo -1 , 6- glucosidase) المفرز من قبل الخلايا المخاطية للأمعاء. كما يعرف أيضاً تحت اسم الأنزيم المزيل للتفريع.

السكريات الناتجة عن تحلل السكريات العديدة تخضع بدورها إلى تأثير أنزيمات من نوع ألفا جلوكوسيداز تؤدي إلى تحويلها أخيراً إلى سكريات أحادية. فمثلاً تحلل أنزيمات المالتاز

الرابطة α(1→4) لوحدات المالتوز (الناتجة عن التأثير المشترك لكل من الأميلاز وأميلو 1–6 جلوكوسيداز) لتعطي عن كل منها جزيئين من الجلوكوز.

من جهة أخرى يوجد في الأمعاء أنواع أخرى من الأنزيمات التي تهاجم السكريات الثنائية:

- أنزيمات الأنفرتاز أو السوكراز (بيتا فركتو فيورانوسيداز) تحلل رابطة السكروز مائياً فينتج الجلوكوز والفركتوز.
- أنزيمات اللاكتاز (بيتا جلاكتوسيداز) تعمل على تحلل سكر اللاكتوز إلى جلوكوز وجالاكتوز.

وينطبق الأمر نفسه على السكريات العديدة الأخرى مثل السيليلوز فأنزيم السيللولاز Cellulase (بيتا جلوكوسيداز) يحلل السيللوز إلى جلوكوز. يفرز هذا الأنزيم بوساطة بعض الأحياء الدقيقة التي تتواجد في كروش المجترات أما الإنسان فليس لديه مثيل له، ولذلك لا يستطيع تحليل السيلليوز.

بالإضافة لأنزيمات التحلل المائي السابقة الذكر يمكن أن تحلل السكريات العديدة (سواء داخل النبات أو الحيوان) بعملية أخرى مماثلة تسمى التحلل الفوسفوري (phosphorolysis) نوضحها بطريقة تحلل الجلايكوجين في الكبد.

في التحلل الفوسفوري للسكريات العديدة تلعب شاردة الفوسفات دوراً مشابهاً لدور الماء في التحلل المائي وذلك حسب التفاعل التالي:

$$[\text{Glucose}]_n + \text{pi} \overset{phosphorylase}{\rightleftarrows} [\text{Glucos}]_{n-1} + \text{Glucose-1-P}$$

يقوم أنزيم فوسفوريلاز بكسر الرابطة الجلايكوسيدية α(1→4) في كل مرة من الطرف الخارجي غير المختزل لسلسلة الجلايكوجين.

ثم يعاود الأنزيم نشاطه لفصل جزيء جديد على شكل جلوكوز 1–فوسفات، وهكذا إلى أن يتوقف قبل 4–6 وحدات من منطقة التفرع حيث توجد الرابطة α(1→6) التي يقوم بكسرها الأنزيم أميلو 1–6 جلوكوسيداز وبذلك تكتمل عملية تحلل الجلايكوجين إلى جلوكوز 1–فوسفات. وهذا الأخير يتحول إلى جلوكوز 6–فوسفات بوساطة فوسفو جلوكوميوتاز phosphoglucomutase الموجود أيضاً في الكبد. وتجب الإشارة إلى أن الجلوكوز المفسفر لا يمكنه النفاذ إلى الدم عبر الأغشية الخلوية ليصل إلى أماكن الاحتياج قبل تحلله إلى جلوكوز وفوسفات وهذا يتم بمساعدة أنزيم فوسفاتاز.

2-3-تحلل السكريات الأحادية:

إن التحلل المائي للكربوهيدرات المتناولة عن طريق الغذاء يؤدي بشكل رئيسي إلى تكون الجلوكوز (ناتج تحلل النشاء، الجلايكوجين، اللاكتوز، السكروز) والفركتوز (ناتج تحلل السكاروز) والجلاكتوز (ناتج تحلل اللاكتوز) ولابد لتحلل هذه السكريات السداسية (الهكسوزات) من تحويلها أولاً إلى مشتقات فوسفاتية للجلوكوز أو الفركتوز قبل دخولها إلى مسار الجلوكوز المسمى بالتحلل الجلايكوليتي أو مسار أمبدن مايرهوف Embden-Meyerhof نسبة للعالمين اللذين ساهما بأبحاثهما في توضيح خطوات هذا التحلل وفيما يلي بعض الأمثلة على تحولات الهكسوزات:

تمتلك بعض الكائنات الحية وبشكل خاص الخمائر أنزيماً يدعى هكسوكيناز Hexokinase قادر على فسفرة كل من الجلوكوز والفركتوز والمانوز إلى هكسوز-6 فوسفات المناظر. يدخل كل من جلوكوز 6-فوسفات وفركتوز 6- فوسفات (مركب وسطي في دورة التحلل الجلايكوليتي) مسار أمبدن مايرهوف بينما يخضع المانوز 6- فوسفات إلى عملية تحول فركتوز 6-فوسفات إلى أنزيم فوسفومانوز أيزومراز قبل دخوله إلى الدورة المذكورة.

وأخيراً سوف ندرس بشكل سريع التفاعلات الرئيسية لاستقلاب الجالاكتوز الناتج عن التحلل المائي لسكر اللاكتوز وذلك لكونه يشكل مصدراً كربوهيدراتياً مرتفعاً نسبياً في بعض المواد الغذائية (الحليب)، كما يتيح لنا الفرصة للتعرف على أحد الأمراض الوراثية عند الأطفال الرضع. يخضع سكر الجالاكتوز إلى التحولات التالية:

أ) فسفرة الجالاكتوز بوساطة أنزيم خاص هو جالاكتوكيناز بوجود الـ ATP كما يلي:

$$\alpha\text{-D-glactose} + ATP \xrightarrow{galactokınase} \alpha\text{-D-galactose-1-P} + ADP$$

ب) تنشيط الجلاكتوز 1-فوسفات بوصله برابطة غنية بالطاقة في المركب يوريدين ثنائي الفوسفات (UDP) فيتشكل يوريدين ثنائي فوسفات الجلاكتوز. ولكن هذا التنشيط لا يتم مباشرة بل يتم بالتبادل بين الجلوكوز والجلاكتوز في المركب UDP- جلوكوز كما في المعادلة:

$$\text{Galactose-1-P} + \text{UDP-glucose} \leftrightarrow \text{UDP-galactox} + \text{glucose -1- P}$$

والأنزيم الذي يساعد هذا التفاعل هو فوسفو جالاكتوز يوريديل ترانسفراز

Phosphogalactose- uridyl-Transfiraer

ج) المركب الناتج UDP – جالاكتوز، إما أن يدخل في تركيب أنواع مختلفة من مركبات السفينجو جليكو لبيدات (Sphingoglyco lipides) مثل السيريبروزيدات

(galactolipides cerebrosides) وإما أن يتحول إلى UDP– جلوكوز بوساطة أنزيم ابيمراز"

UDP-galactose $\xrightarrow{UDP-galactose-epimerase}$ UDP-glucose

د) تحول UDP– جلوكوز الناتج إلى جلوكوز 1–فوسفات بوجود البروفوسفات (PPi) فينتج اليوريدين ثلاثي الفوسفات UTP:

UDP-glucose + PPi ⇄ UTP + glucose -1- P

ه) يحول أخيراً الجلوكوز 1–فوسفات إلى جلوكوز 6–فوسفات بوساطة الأنزيم فوسفو جلوكوميوتاز، والناتج يدخل مسار التحلل الجلايكوليتي.

ولكن الأطفال الرضع المصابين بالمرض الوراثي المعروف باسم جالاكتوسيمي (galactosemie) الناتج عن نقص في أنزيم فوسفوجالاكتوز يوريديل ترانسفيراز يقفون عاجزين عن هضم الجالاكتوز 1–فوسفات وتظهر عليهم بالتالي أعراض التسمم بالحليب التي قد تؤدي إلى الموت السريع إذا لم يتم استبدال سكر اللاكتوز في غذائهم بسكر آخر.

ويبين المخطط التالي (شكل 2–1) بعض الأمثلة على تحولات الهكسوزات.

2–4–التحلل الجلايكوليتي GLYCOLYSIS:

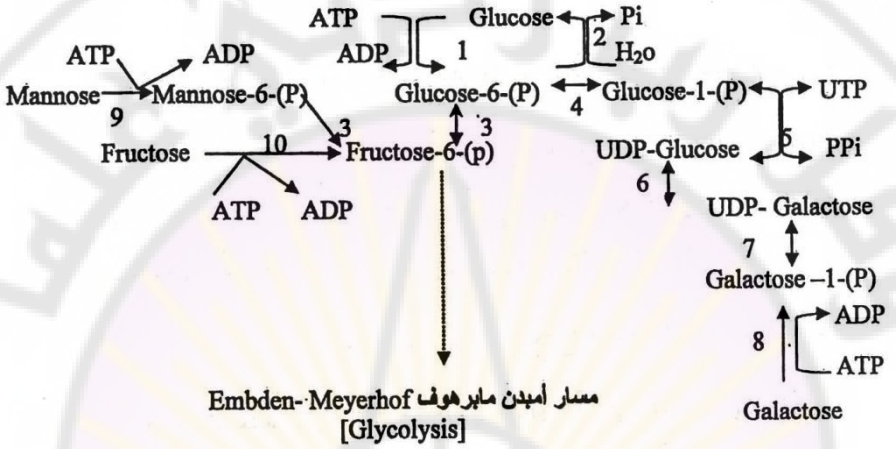
يقسم استقلاب الجلوكوز إلى مرحلتين: مرحلة لا هوائية وأخرى هوائية. ويطلق تعبير التحلل الجلايكوليتي عموماً على التفكك اللاهوائي للجلوكوز في الخلايا الحية. ويستعمل هذا التعبير بصورة خاصة للدلالة على سلسلة التفاعلات المؤدية إلى تشكل حمض اللاكتيك (حمض اللبن) في عضلات الحيوانات العليا، علماً بأن التحلل الهوائي للجلوكوز يشترك في جميع خطوات التحلل الحلايكوليتي ما عدا الخطوة الأخيرة وهي الخطوة التي ينتج فيها حمض اللاكتيك من حمض البيروفيك كما يطلق تعبير التخمر الكحولي على التفكك اللاهوائي للجلوكوز في الخميرة. وإن خطوات التخمر الكحولي تتبع المسار نفسه وتتفرع أيضاً عند مرحلة هضم/تمثيل البيروفيك فيتحول إلى كحول ايتيلي بدلاً من حمض لاكتيك.

وقد يتبادر إلى الذهن أن عملية تحلل الجلوكوز تعني تفككه ولكن امبدن ومايرهوف اللذين اكتشفا هذا المسار من التحلل أوضحا أنه عبارة عن سلسلة من التفاعلات النسيجية اللاهوائية المادة الناتجة عنها النهائي هو حمض اللاكتيك. وبذلك يمكن تقسيم خطوات التحلل الجلايكوليتي إلى ثلاثة أقسام رئيسية:

أ) تحويل الجلوكوز إلى جزيئين من فوسفات السكريات الثلاثية وهذا يتطلب طاقة مصدرها ATP.

ب) تحويل فوسفات السكريات الثلاثية إلى حمض بيروفيك وإنتاج طاقة.

ج) هضم / تحول حمض البيروفيك لاهوائياً إلى حمض لاكتيك في العضلات أو إلى كحول ايتيلي في الخميرة.



الأنزيمات Enzymes:

1- جلوكوكيناز Glucokinase

2- جلوكوز 6- فوسفاتاز Glucose-6- Phosphatase

3- فوسفو هكسوز أيزوميراز Phosphohexose isomerase

4- فوسفو جلوكوميوتاز Phosphoglucomutase

5- UDP- جلوكوز بيروفوسفوريلاز UDP- Glucose- Pyrophosphorylase

6- UDP- جالاكتوز -4 أبيميراز UDP- Galactose -4- epimerase

7- فوسفو جالاكتوز يوريديل ترانسفيراز Phosphogalactose- Uridyl- Tranaserase

8- جالاكتوكيناز Galactokinase

9- مانوكيناز Mannokinase

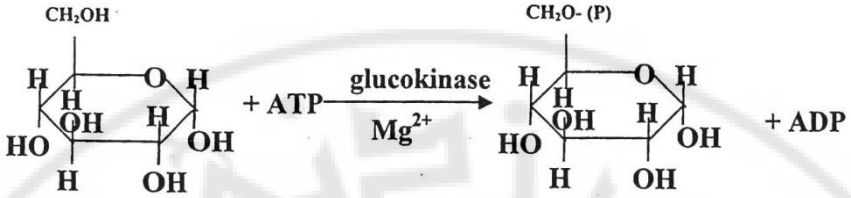
10- فركتوكيناز Fructokinase

الشكل 2-1 التحولات الاستقلابية لأهم السكريات السداسية.

وفيما يلي شرح مفصل للتفاعلات الكاملة للتحلل الجلايكوليتي:

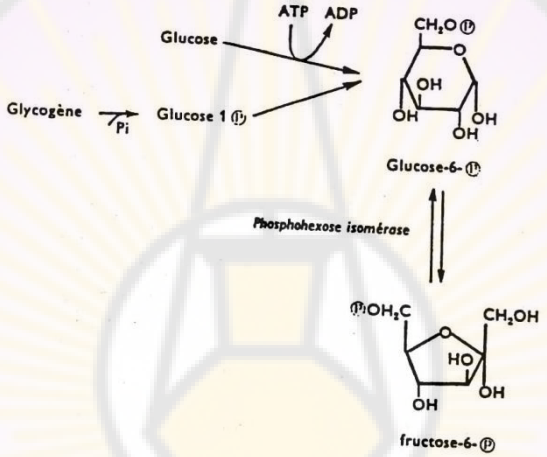
1-فسفرة الجلوكوز:

يدخل الجلوكوز مسار امبدن – مايرهوف بتحوله إلى جلوكوز 6-فوسفات بوساطة أنزيم هكسوكيناز Hexokinase، أو أنزيم جلوكو كيناز، بوجود الأدينوزين ثلاثي الفوسفات (ATP)، ووجود شوارد المغنزيوم لتنشيط التفاعل. وهذا التفاعل غير عكوس في ظروف الخلية.



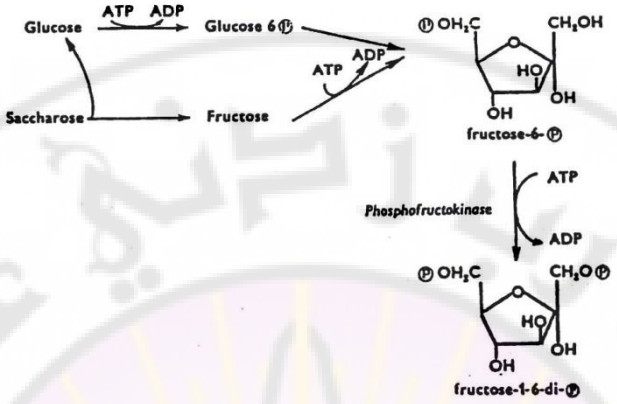
2–تماكب الجلوكوز –6–فوسفات:

يتحول الجلوكوز –6–فوسفات إلى مماكبة فركتوز –6–فوسفات بوساطة الأنزيم فوسفو هكسوز أيزوميراز، والتفاعل عكوس:



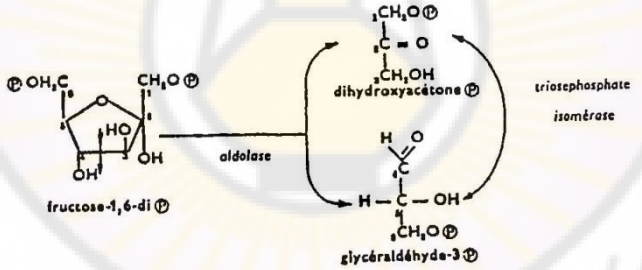
3–فسفرة الفركتوز 6–فوسفات:

يتبع عملية التماكب عملية فسفرة ثانية، إذ يضاف إلى جزيء الفركتوز 6–فوسفات مجموعة فوسفات آتية من ATP. يتم التفاعل بوساطة الأنزيم فوسفوفرو كتوكيناز الذي يتطلب وجود شوارد المغنزيوم، كعامل مساعد والتفاعل غير عكوس في ظروف الخلية. وكما هو الحال بالنسبة للأنزيم السابق هكسوكيناز، فإن الطاقة الناتجة عن تحلل الـ ATP تستعمل لربط الفوسفات بجزيء الفركتوز 6–فوسفات فينتج المركب فركتوز 1–6 ثنائي الفوسفات.



4-انقسام الفركتوز 6،1 ثنائي الفوسفات:

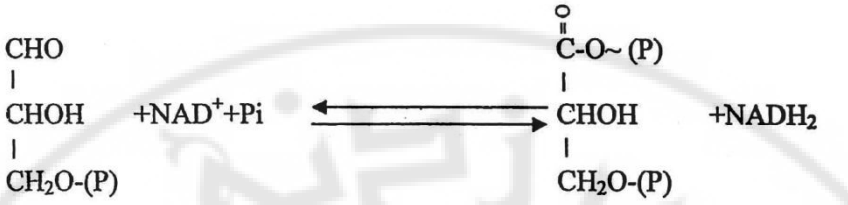
ينقسم الفركتوز 6،1 ثنائي الفوسفات إلى جزيئين من السكريات الثلاثية المفسفرة هما:: ثنائي هيدروكسي فوسفات الأسيتون و D-جليسر الدهيد 3- فوسفات. الأنزيم الذي يسيطر على التفاعل يدعى الدولاز والتفاعل عكوس في ظروف الخلية. لا يتابع ثنائي هيدروكسي فوسفات الأسيتون طريقه إلى نهاية مسار تحلل السكر وإنما D-جليسر الدهايد 3-فوسفات هو الذي يتأكسد مباشرة متابعاً طريقه إلى نهاية مسار تحلل السكر.



يتحول ثنائي هيدروكسي فوسفات الأسيتون مباشرة إلى جليسر الدهايد 3-فوسفات بوساطة الأنزيم فوسفو ترايوز أيزومراز. وهكذا يعطي جزيء الجلوكوز جزئين من الجليسر الدهيد 3-فوسفات.

5-أكسدة الجليسر الدهايد 3-فوسفات:

تتأكسد المجموعة الألدهيدية في الجليسر الدهايد 3-فوسفات إلى مجموعة كربوكسيلية بوساطة الأنزيم فوسفو جليسر ألدهيد يدهايدروجيناز بوجود المرافق الأنزيمي NAD^+ كعامل مؤكسد ووجود الفوسفات اللاعضوية (Pi) فينتج المركب 1،3-ثنائي فوسفو حمض جليسريك.



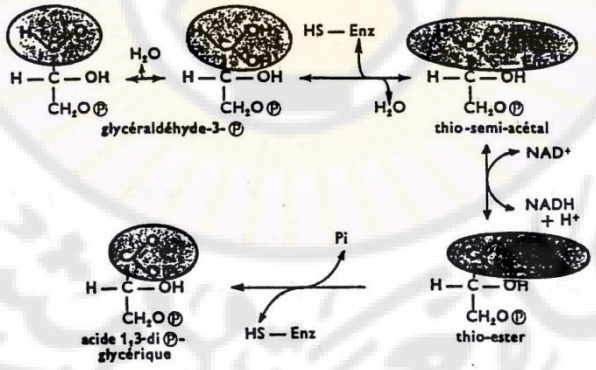
3،1 ثنائي فوسفو حمض جليسريك جليسريدات 3- فوسفات

في التفاعل السابق تم إدخال مجموعة فوسفات لا عضوية Pi (po_3H_2) إلى دجزيء الجليسر ألدهيد بعد أكسدة المجموعة الألدهيدية إلى مجموعة حمضية. وقد اهتم الباحثون بآلية هذا التفاعل لأنها توضح بعض النقاط التي بموجبها تشكل المركبات الفوسفاتية ذات الطاقة العالية. وحسب الآلية المقترحة فإن هذا التفاعل يمر في ثلاث مراحل:

أ) تفاعل المجموعة الألدهيدية للمركب جليسر ألدهيد 3-فوسفات مع مجموعة السلفوهيدريل لأنزيم فوسفو جليسر ألدهيد ديهايدروجيناز، فينتج المركب Thio- semi- acetal.

ب) أكسدة المركب Thio- semi- acetal بوساطة NAD^+ المرتبطة بالأنزيم فينتج المركب Thio- ester.

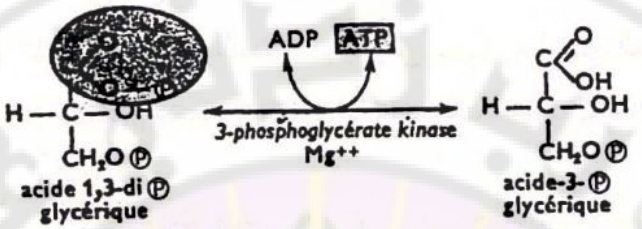
ج) فسفرة المركب Thio-ester فينتج المركب 1، 3 ثنائي فوسفو حمض جليسريك الغني بالطاقة.



6-تكوين ATP من 1، 3 ثنائي فوسفو حمض جليسريك:

يتكون جزيء ATP من تحول 3،1 ثنائي فوسفو حمض جليسريك إلى 3- فوسفو حمض جليسريك بوجود شوارد المغنزيوم و ADP، الذي يلتقط الطاقة الناتجة والفوسفات. يساعد هذا التفاعل أنزيم 3- فوسفو جليسرات كيناز.

بما أن جزيء الجلوكوز يعطي جزيئين من السكريات الثلاثية، فإنه ينتج عن هذا التفاعل جزيئان من ATP.



7-تماكب المركب 3- فوسفو حمض جليسريك:

يتحول المركب 3- فوسفو حمض جليسريك إلى 2-فوسفو حمض جليسريك بوساطة الأنزيم فوسفو جليسرات ميوتاز (الشكل 2-2)

8-نزع الماء من المركب 2- فوسفو حمض جليسريك:

يزال جزيء من الماء من المركب 2-فوسفو حمض جليسريك بمساعدة أنزيم أينولاز، الذي يحتاج لشوارد ثنائية كالمغنزيوم أو المنغنيز (الشكل 2-2).

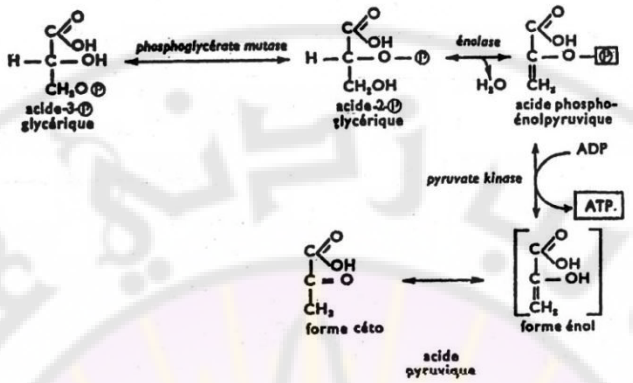
إن عملية نزع الماء من المركب 2- فوسفو حمض جليسريك تؤدي إلى إعادة توزيع الطاقة ضمن الجزيء بشكل كاف لتشكيل الـ ATP. والمركب الناتج في هذه المرحلة هو مركب غني بالطاقة، يطلق عليه اسم فوسفو اينول حمض البيروفيك.

9-تكوين ATP من فوسفو اينول حمض البيروفيك:

تنتقل الطاقة المتشكلة في المركب فوسفو اينول حمض البيروفيك إلى الـ ADP مؤدية إلى تكوين الـ ATP. يتوسط هذا التفاعل أنزيم بيروفات كيناز، الذي يتطلب لنشاطه وجود شوارد المغنزيوم والبوتاسيوم.

ويتشكل في الوقت ذاته المركب أينول بيروفات، الذي لا يلبث أن يتحول تلقائياً إلى الشكل الكيتوني أي حمض بيروفيك.

ومن الواضح أن هذه الخطوة تنتج جزيئين من ATPلكل جزيء جلوكوز (شكل 2-2).



الشكل 2-2 : المراحل الثلاثة الأخيرة من التحلل الجلايكوليتي المؤدية إلى تشكل حمض البيروفيك.

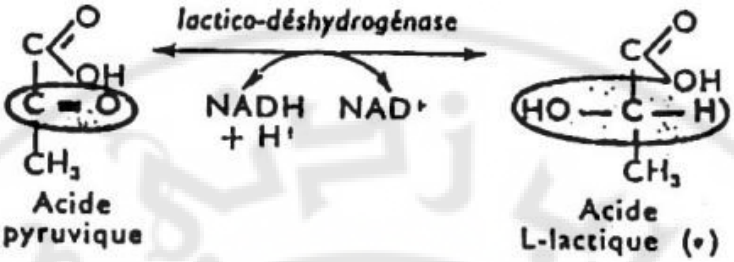
10-تفاعلات حمض البيروفيك:

إن مصير حمض البيروفيك المتشكل يتوقف على وجود الأكسجين بكمية كافية، أو عدم وجوده.

فعندما يكون الأكسجين شحيحاً، كما في العضلات، تتعطل آلية إعادة أكسدة الـ $NADH_2$ الذي تشكل خلال تحول جليسرالدهايد 3- فوسفات إلى 3،1-ثنائي فوسفو حمض جليسريك.

وفي هذه الظروف تلجأ الخلية إلى تحويل حمض البيروفيك إلى حمض لاكتيك بوساطة أنزيم لاكتات ديهايدروجيناز وبذلك يتحول $NADH_2$ إلى NAD^+. والغاية الرئيسية من هذه الخطوة هي إعادة إنتاج NAD^+ لاستخدامه ثانية في الخطوة الخامسة، والاستمرار في تحلل الجلوكوز. هذه هي خطوات أو مراحل التحلل الجلايكوليتي، أو مسار أمبدن مايروهوف. والمعروف أن هذا التحلل لا هوائي، ولكن يجب التأكيد أن التفاعلات التسع الأولى تتم سواء أكان التحلل هوائياً أم غير هوائي. ففي الظروف الهوائية حيث يتوافر الأكسجين يتأكسد حمض البيروفيك، وتنزع مجموعته الكربوكسيلية، فيتحول إلى مركب غني بالطاقة، يدعى أسيتيل كو أنزيم A. هذا الأخير قد يستعمل من قبل الخلية في تفاعلات اصطناع الحموض الدسمة والستيرولات وبعض الحموض الأمينية، أو يدخل في دورة كريبس لاستكمال تحلله فيها. كما سنوضح ذلك فيما بعد. أما المرافق الأنزيمي $NADH_2$ الذي نتج في المرحلة الخامسة من التحلل الجلايكوليتي فتتم أكسدته هوائياً في السلسلة التنفسية (أو سلسلة الانتقال الإلكتروني) ويعاد إلى NAD^+ الذي يشترك ثانية في التحلل الجلايكوليتي.

أما في الظروف اللاهوائية فيتحول حمض البيروفيك إلى حمض لاكتيك ويتأكسد $NADH_2$ إلى NAD^+ . هذا التفاعل العكوس يتم بمساعدة أنزيم لاكتيكو – ديهايدرجيناز.



يبين الشكل 2–3 المخطط التوضيحي الكامل لمرحلة التحلل الجلايكوليتي، كما يوضح أيضاً التفاعلات غير العكوسة في ظروف الخلية.

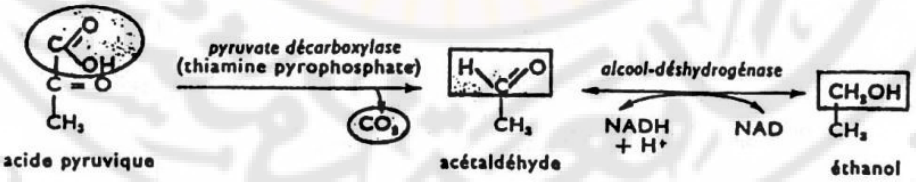
2–5–التخمر الكحولي Alcoholic Fermention:

تعمل بعض أنواع الأحياء الدقيقة، وبشكل خاص، خميرة الخبيز على تمثيل السكريات، وإنتاج الكحول الإيتيلي وثاني أكسيد الكربون. والغاية من ذلك بالنسبة للخميرة هي إعادة إنتاج المرافق الأنزيمي NAD^+ ، لكي تتمكن من الاستمرار في تحليل الجلوكوز.

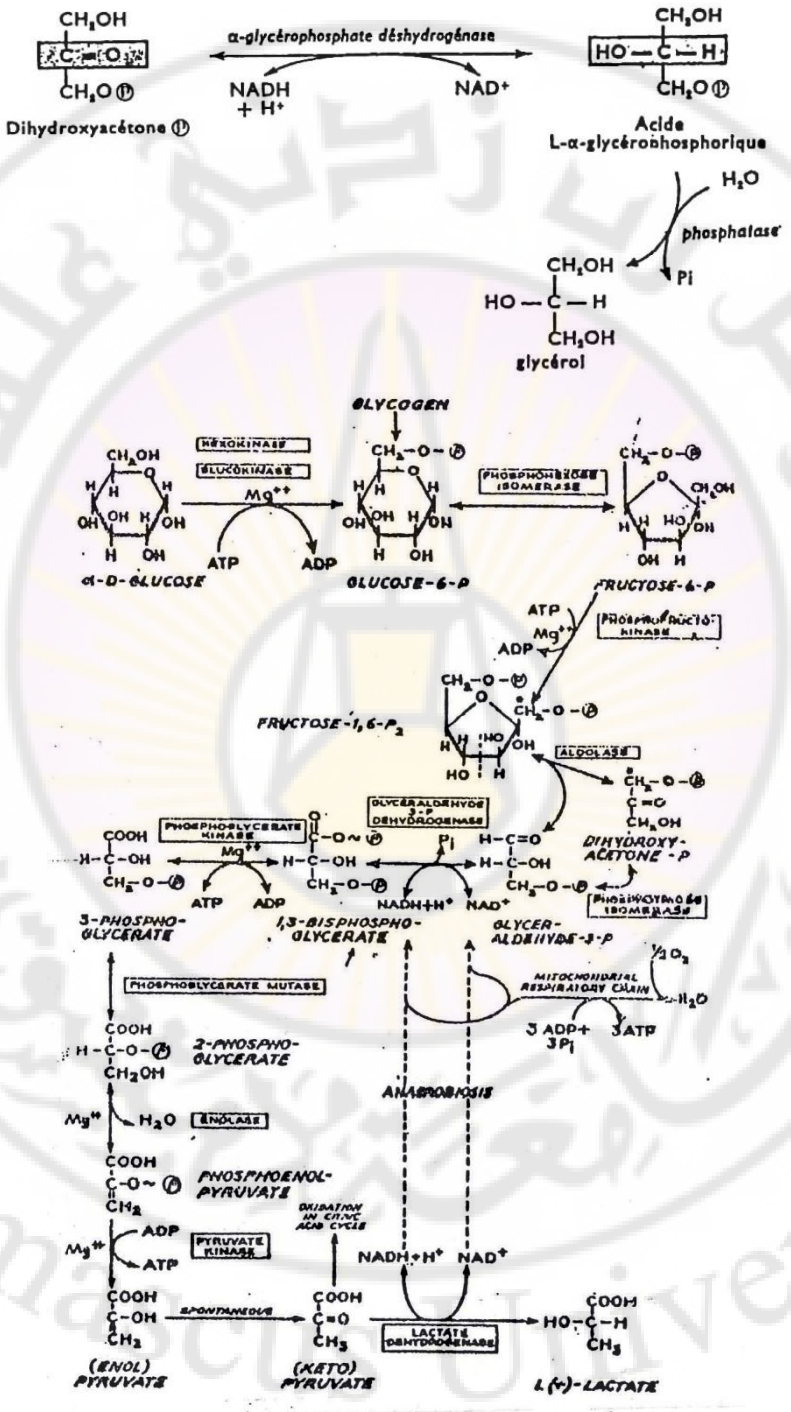
إن تحول حمض البيروفيك إلى كحول ايتيلي يتم على مرحلتين متتاليتين؛ ففي المرحلة الأولى يتدخل أنزيم بيروفيك ديكاربوكسيلاز، الذي يعمل على نزع مجموعة الكربوكسيل من حمض البيروفيك لإنتاج ثاني أكسيد الكربون والأسيت ألدهيد. والمرافق الأنزيمي الضروري لعمل هذا الأنزيم هو بيروفوسفات الثيامين (TPP) أو فيتامين B_1.

كما يحتاج الأنزيم لنشاطه إلى وجود شوارد الزنك (Zn^{++}).

الاسيت ألدهيد الناتج عن المرحلة الأولى يختزل مباشرة إلى كحول ايتيلي بوساطة أنزيم ديهايدروجيناز الكحول، وبوجود مرافقه الأنزيمي المختزل $NADH_2$، الذي يعطي الهيدروجين ويتحول إلى NAD^+.



إن خطوات التخمر الكحولي للجلوكوز بوساطة الخمائر تترافق دائماً بتشكل كميات قليلة من الجليسرول. والسبب يعود إلى امتلاك الخميرة لنوع آخر من الأنزيمات، يدعى ألفا جليسروفوسفات ديهايدروجيناز، وهو قادر على اختزال المركب الوسطي ثنائي هيدروكسي فوسفات الأسيتون، لتشكل المركب L – ألفا جليسروفوسفوريك.



الشكل 2–3: خطوات مسار امبدن – مايرهوف

هذا التفاعل يتطلب بالضرورة أكسدة المرافق الأنزيمي $NADH_2$ إلى NAD^+. ثم يتدخل أنزيم متخصص من نوع فوسفاتاز يعمل على كسر الرابطة الاستيرية لتحرير الفوسفات والجليسرول.

تلجأ الخلية إلى مثل هذا النوع من التفاعلات عند افتقارها للأسيت ألدهيد، وذلك من أجل أكسدة $NADH_2$ إلى NAD^+ ، لكي تتمكن من الاستمرار في تحلل الجلوكوز.

2-6-حسابات الطاقة في التحلل الجلايكوليتي:

من أجل حساب كمية الطاقة الناتجة في التحلل الجلايكوليتي، يجب أن نتذكر أن كل جزيء جلوكوز تتم أكسدته يتحول إلى جزيئين من فوسفات السكريات الثلاثية، ومن ثم إلى جزيئين من حمض البيروفيك. وتجدر الإشارة إلى أن القسم الأعظم من الطاقة ينتج عن أكسدة المرافقات الأنزيمية المختزلة هوائياً بنظام معقد ينتهي بانتقال الهيدروجين للأكسجين الجوي؛ فينتج الماء وروابط غنية بالطاقة يتم اختزانها بتكوين ATP، حيث يتكون ATP3 لكل جزيء $NADH_2$ ويتكون ATP2 لكل جزيء $FADH_2$ تتم أكسدته.

أ-حسابات الطاقة في التحلل الجلايكوليتي في وجود الأكسجين:

التفاعل الكيميائي	ATP مستهلك	ATP متشكل
جلوكوز ← جلوكوز 6-فوسفات	1	–
فركتوز 6-فوسفات ← فركتوز 6،1 ثنائي الفوسفات	1	–
(1، 3 ثنائي فوسفو حمض جليسريك ← 3-فوسفو حمض جليسريك) × 2	–	2
(حمض فوسفو أينول بيروفات ← حمض بيروفيك)×2	–	2
أكسدة $NADH_2$ بالنظام الناقل للإلكترونات) × 2	–	6
المجموع	2	10

مما تقدم، نجد أنه في الشروط الهوائية يؤدي تحول جزيء جلوكوز إلى جزيئين من حمض البيروفيك إلى إنتاج طاقة قدرها 8 جزيئات ATP.

الفصل الثالث

استقلاب الكربوهيدرات

3-1- دورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل (دورة كريبس):

لقد شاهدنا في الفصل السابق أن حمض البيروفيك المتكون من مسار أمبدن مايروهوف يتفاعل، في غياب الأكسجين، مع $NADH_2$ المتراكم في الخلية ليعطي حمض اللاكتيك (أو الكحول الإيتيلي) ويسمح بالتالي في إعادة تكون NAD^+ الضروري لنشاط أنزيم فوسفو جليسرألدهيد ديهايدروجيناز المسؤول عن تسيير التفاعل الخامس في مسار التحلل الجلايكوليتي. ولكن عندما يصبح الأكسجين متوفراً فإن $NADH_2$ المتراكم في الخلية يخضع إلى تفاعل أكسدة بمساعدة النظام الناقل للإلكترونات، وإن حمض البيروفيك يتأكسد بالكامل إلى $H_2O + CO_2$. هذه الأخيرة إذن تمثل نواتج الاستقلاب الغذائي للكربوهيدرات، وما حمض البيروفيك وحمض اللاكتيك إلا نواتج وسطية لا تبقى طويلاً، بل تتأكسد هوائياً خلال سلسلة من التفاعلات تعرف باسم دورة كريبس. ويعد العالم الكيميائي الحيوي الإنكليزي هانس كريبس Hans Krebs من أهم العلماء الذين أسهموا في كشف المسار الاستقلابي الذي يحقق الأكسدة الهوائية لحمض البيروفيك وحمض اللاكتيك. وقد مكنته دراسته في عام 1937 من وضع دورة التفاعلات التي تعلل أكسدة حمض البيروفيك إلى CO_2 و H_2O فعرفت باسمه، مع أنه هو نفسه فضل تسميتها بدورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل، أو دورة حمض الستريك. وقد منح جائزة نوبل للطب عام 1953 تقديراً لاكتشافاته المهمة. والجدير بالذكر أن هذه الأحماض تكون متشردة في ظروف الخلية شأنها بذلك شأن حمض البيروفيك وحمض اللاكتيك، فهي موجودة فعلاً على شكل أملاح ($Rcoo^-$)، لا على شكل أحماض، ولو أن صيغها الكيميائية وأسماءها تشير إليها كأحماض.

إن الأكسدة الهوائية لحمض البيروفيك (أو البيروفات) تتم داخل المصورات الحيوية (الميتوكوندريا) حيث توجد دورة كريبس. ولكن قبل أن يدخل حمض البيروفيك هذه الدورة يجب أن يتأكسد أولاً إلى أسيتيل كو أنزيم A بخطوة معقدة تشمل عدة مراحل يتوسطها معقد الأنزيمات المؤكسد لحمض البيروفيك (بيروفات أوكسيداز أو بيروفات ديكربوكسيلاز) وبوجود NAD^+، FAD، TPP، حمض اللايبويك وشوارد المغنزيوم.

إن المراحل المختلفة لأكسدة حمض البيروفيك وتحويله إلى أسيتيل كوانزيم A يمكن إيجازها بما يأتي:

أ–تفاعل نزع مجموعة الكربوكسيل (-COOH):

يرتبط حمض البيروفيك بالمرافق الأنزيمي ثيامين بايرو فوسفات (TPP) المرتبط بدوره بالأنزيم الأول (E_1) في معقد الأنزيمات المؤكسدة لحمض البيروفيك فينتج CO_2 والاسيت ألدهيد الذي يبقى مرتبطاً بالمعقد الأنزيمي.

1) $CH_3\text{-}CO\text{-}COOH + E_1 - TPP \rightarrow CO_2 + E_1 - TPP - CH_3CHO$

ب–تفاعلات الأكسدة:

يتفاعل الاسيت ألدهيد المنشط مع حمض اللايبويك (مرافق أنزيمي تحت شكل مؤكسد أو ثنائي السلفيد) بمساعدة الأنزيم الثاني (E_2) في معقد الأنزيمات المؤكسد لحمض البيروفيك. الاسيت ألدهيد يتأكسد ويرتبط في الوقت نفسه بحمض الايبويك الذي تم اختزاله

2) $E_1\text{- TPP - } CH_3CHO + E_2 - Ac,Lipoique\ oxyde \rightarrow E_1 - TPP + E_2 - Acetyl - Lipoate$

الرابطة المتشكلة بين الاسيت ألدهيد وحمض اللايبويك هي من نوع ثيواستر.

ج– تشكل أسيتيل كوأنزيم A:

تنتقل مجموعة الأسيتيل إلى مركب آخر يحتوي في تركيبه على مجموعة سلفو هيدريل (-SH)، وهو مرافق الأنزيم A، ويتشكل بذلك أسيتيل كو أنزيم A وحمض اللايبويك المختزل (أو حمض داي هايدرو لايبويك)

3) $E_2\ Acetyl - Lipoate + Coenzyme\ A\text{ - }SH \rightarrow Acetyl - Coenzyme\ A + E_2 - Acide\ Lipoique\ Reduit$

د–أكسدة حمض اللايبويك:

في هذه المرحلة يتدخل أنزيم داي هايدرولايبوات ديهايدروجيناز (E_2) وبوجود المرافق الأنزيمي FAD.

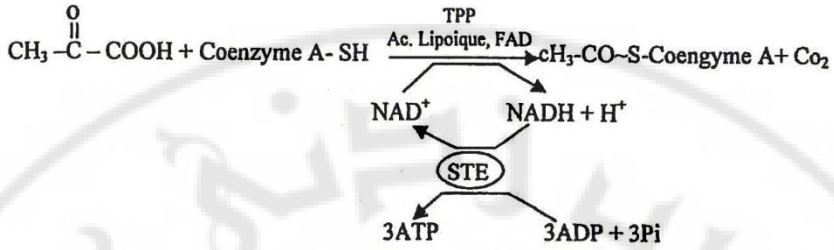
4) $E_2 - Acide\ lipoique\ Reduit + E_3 - FAD \rightarrow E_2 - Acide\ lipoique\ oxyde + E_3 - FADH_2$

هـ–أكسدة المرافق الأنزيمي $FADH_2$:

يتم ذلك بمساعدة المرافق الأنزيمي NAD^+ حسب التفاعل الأتي:

5) $E_3 - FADH_2 + NAD^+ \rightarrow E_3 - FAD + NADH + H^+$

المرافق الأنزيمي $NADH_2$ يتأكسد بدوره في وجود الأكسجين بمساعدة النظام الناقل للإلكترونات مؤدياً بذلك إلى تشكيل ثلاث جزيئات غنية بالطاقة من ATP. كما سنرى فيما بعد، ويمكن إيجاز تفاعلات نزع مجموعة الكربوكسيل تأكسدياً من حمض البيبروفيك بالتفاعل التالي:



3-2- حسابات الطاقة في التحلل الجلايكوليتي في غياب الأكسيجين:

في الظروف اللاهوائية يتأكسد $NADH_2$ خلال تحول حمض البيروفيك إلى حمض لاكتيك في العضلات، أو إلى كحول ايثيلي في الخميرة، ويكون النظام الناقل للإلكترونات في غياب الأكسجين متوقفاً عن العمل، وبذلك يكون الناتج الصافي من الطاقة ATP2 لكل جزيء جلوكوز، أو ما يعادل 14 كيلو كالوري تقريباً. مما تقدم يتبين لنا بوضوح أن مقدار الطاقة التي تحصل عليها الخلية خلال مسار أمبدن – مايرهوف قليل حتى بوجود الأكسجين إذا ما قورن بكمية الطاقة التي تحصل عليها الخلية بالأكسدة الكاملة لسكر الجلوكوز، كما سنرى فيما بعد.

3-3- تأثير الأكسجين على مسار التحلل الجلايكوليتي (تأثير باستور Effet Pasteur):

يخضع مسار التحلل الجلايكوليتي إلى عدد من وسائل التحكم، وبشكل خاص الهرمونات. ويعد العالم باستور Pasteur أول من أشار إلى تدني سرعة استهلاك الجلوكوز من قبل الخمائر في الشروط الهوائية، مقارنة مع الشروط اللاهوائية. وبشكل أدق يمكن القول إن وجود الأكسجين يؤدي إلى حدوث انخفاض ملموس في سرعة التحلل الجلايكوليتي. هذا التأثير المؤكد للأكسجين الهوائي على مسار أمبدن مايرهوف يسمى بتأثير باستور. ومن أجل تفسير ما يحصل وضعت فرضيات عديدة يمكن إيجاز أهمها بما يأتي:

(1) في وجود الأكسجين يتحول جزء كبير من حمض اللاكتيك (حمض اللبن) إلى جلوكوز، وهذا يؤدي بالضرورة إلى انخفاض ملحوظ في سرعة استهلاك الجلوكوز.

(2) في وجود الأكسجين تستعمل الخلية ADP و Pi ($H_2 PO_3$) لتشكيل الـ ATP خلال تفاعلات أكسدة البيروفات إلى H_2O+CO_2. وعلى اعتبار أن مسار أمبدن مايروهوف يضم ثلاثة تفاعلات تتم بمساعدة ثلاثة أنزيمات هي: جليسر الدهيد 3-فوسفو ديهايدروجيناز، فوسفو جليسرات كيناز وبيروفات كيناز.

إن مادة التفاعل لهذه الأنزيمات هي Pi أو ADP، وبذلك تدخل هذه الأنزيمات في منافسة على هذه المواد مع سلسلة الانتقال الإلكتروني أو السلسلة التنفسية، مما ينعكس سلبياً على سرعة التحلل الجلايكوليتي.

(3) بعض أنزيمات مسار أمبدن مايرهوف وبشكل خاص أنزيم جليسر الدهيد -3- فوسفو ديهايدروجيناز يحتوي في تركيبه على مجموعة سلفو هيدريل حرة (SH-) ضرورية لنشاطه. ففي وجود الأكسيجين يمكن أن تتأكسد هذه المجموعة ويتوقف بالتالي عمل الأنزيم، مما ينعكس سلبياً على مسار التحلل الجلايكوليتي.

إن نزع مجموعة الكربوكسيل تأكسدياً من حمض البيروفيك يؤدي إلى فائدة مضاعفة، فهو يسمح من جهة أولى وبمساعدة النظام الناقل للإلكترونات في إنتاج ثلاثة جزيئات ATP لكل جزيء بيروفيك تم تشكيله. ويؤدي من جهة ثانية إلى تشكيل مجموعة أسيتيل منشطة على شكل أسيتيل كو أنزيم A قادرة على التفاعل مع حمض أوكزالو أسيتيك، والدخول في دورة كريبس. كما يعد أسيتيل كو أنزيم A مركباً وسطياً مهماً في تمثيل الدهون، وبعض الحموض الأمينية، وتصنيع مركبات حيوية كثيرة أخرى. وتجدر الإشارة إلى أن الحرف "A" في المركب أسيتيل كو أنزيم A يشير إلى المرافق الأنزيمي الذي يتوسط في تفاعلات نقل مجموعة الأسيتيل.

3-4-المسار الاستقلابي لدورة كريبس:

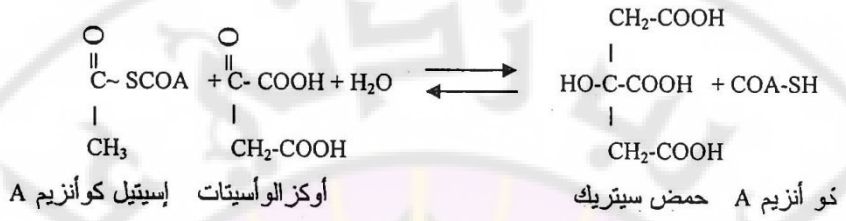
قبل البدء في دراسة التفاعلات المختلفة لهذه الدورة وجدنا من الأهمية الإشارة إلى المكانة التي تحتلها في مجمل الاستقلاب الخلوي. فدورة كريبس تقع على مفرق ثلاثة طرق استقلابية:

استقلاب الكربوهيدرات، واستقلاب اللبيدات واستقلاب البروتينات، وتؤدي في النهاية إلى حصول الأكسدة الكاملة وإنتاج H_2O+CO_2. ونقدم فيما يأتي شرحاً موجزاً لتفاعلات الدورة التي تبدأ بالمركب أسيتيل كو أنزيم A الناتج عن حمض البيروفيك كما أسلفنا.

1-تكون السيترات أو حمض الستريك:

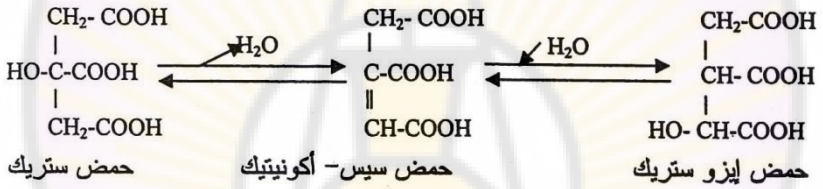
يتوسط الأنزيم المكثف سيترات سينثاز Citrate Synthase في تفاعل أسيتيل كو أنزيم A مع حمض الأوكزالو أسيتيك بوجود الماء لتشكيل حمض الستريك. والطاقة اللازمة لدفع تفاعل اصطناع السيترات تتوافر من حلمأة أسيتيل كو أنزيم A إلى جذر الأسيتيل، أي بحلمأة

الرابطة الثيواسترية الموجودة في أسيتيل كو أنزيم A، وهذا التفاعل غير عكوس في ظروف الخلية.



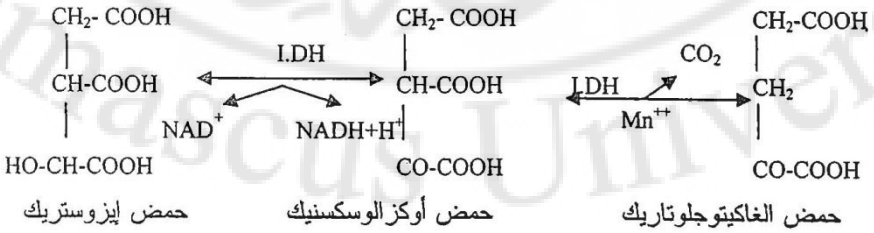
2-تماكب السيترات:

يتحول حمض الستريك إلى مماكبه حمض أيزوستريك بمساعدة أنزيم أكونيتاز Aconitase وبوجود شوارد الحديدوز (Fe^{++}) مع المرور بمرحلة وسطية يتشكل فيها حمض سيس – أكونيتيك Cis – Aconitic، والتفاعل عكوس:



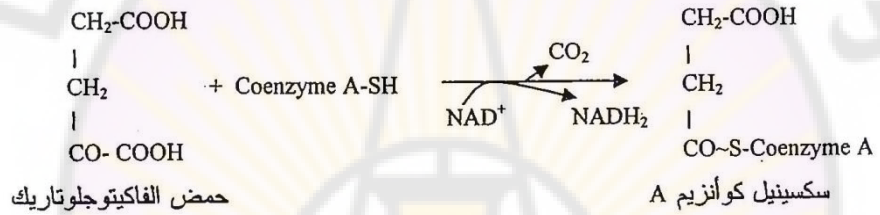
3-أكسدة حمض أيزوستريك:

يقوم أنزيم أيزوسترات ديهايدروجيناز .Isocitrate DH برعاية تفاعلين متتالين يتم بهما تحول الأيزوسترات إلى الفاكيتوجلوتارات. ويتضمن التفاعل الأول نزع ذرتي هيدروجين من حمض أيزوستريك وتحويله إلى حمض أوكز الوسكسنيك بوجود المرافق الأنزيمي NAD^+، الذي يستقبل ذرتي الهيدروجين ويتحول إلى $NADH_2$. وفي التفاعل الثاني يتم نزع CO_2 تأكسدياً من الوظيفة الكربوكسيلية الموجودة في الموضع بيتا بالنسبة للوظيفة الكيتونية المتشكلة في حمض أوكزالوسكسنيك بوجود شواردالمنغنيز فينتج حمض الفاكيتوجلوتاريك، وينطلق CO_2، والتفاعل عكوس.



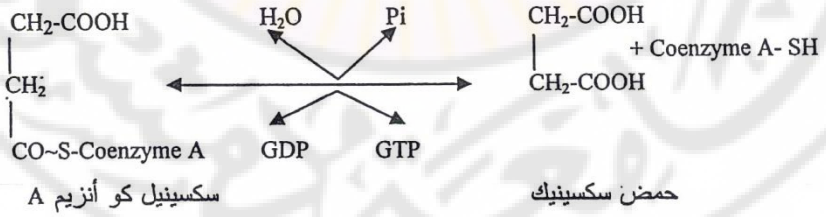
4-نزع جزيء CO_2 تأكسدياً من حمض الفاكيتوجلوتاريك:

يشبه حمض الفاكيتوجلوتاريك حمض بيروفيك، فكلا الحمضين كيتوني. وفي هذه المرحلة من مراحل دورة كريبس يخضع حمض الفاكيتوجلوتاريك إلى عملية أكسدة ونزع مجموعة الكربوكسيل في الوقت نفسه بمساعدة معقد الأنزيمات المؤكسد لحمض الفاكيتوجلوتاريك بخطوات مماثلة لمراحل أكسدة حمض البيروفيك. فينفصل سكسينيل كو أنزيم A – (Succinyl Coenzyme A) عن حمض الفاكيتوجلوتاريك بشكل يماثل انفصال أسيتيل كو أنزيم A عن حمض بيروفيك. يضم سكسينيل كو أنزيم A رابطة غنية بالطاقة هي رابطة ثيواستر، وهذا التفاعل غير عكوس في ظروف الخلية



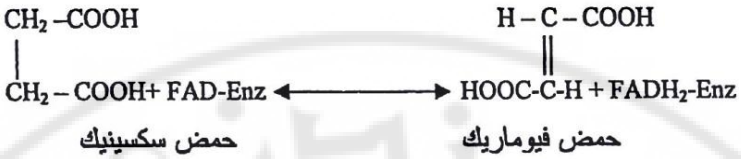
5-تكوين السكسينات (أو حمض السكسينيك):

تتكون السكسينات من حلمأة سكسينيل كو أنزيم A بتفاعل ناشر للطاقة يشبه تفاعل حلمأة استيل كو أنزيم A، ولذلك يتكون جزيء من ATP. إلا أن عملية الفسفرة هذه لا تتم مباشرة؛ بل تنقل مجموعة الفوسفات اللاعضوية أولاً إلى GDP ويتكون GTP (جوانوزين ثلاثي الفوسفات)، الذي يمنح بدوره مجموعة الفوسفات إلى جزيء ADP، معطياً ATP. يرعى تفاعل تكوين السكسينات أنزيم سكسينيل ثيوكيناز Succinyl Thiokinas والتفاعل عكوس.



6-أكسدة السكسينات (أو حمض السكسينيك):

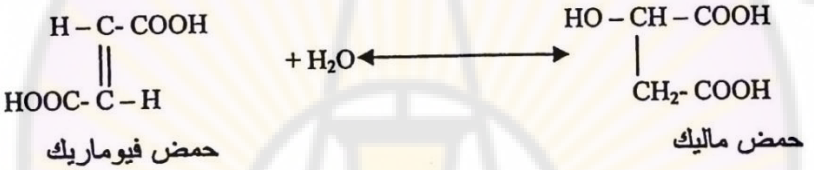
يفقد حمض سكسينيك ذرتي هيدروجين، ويتأكسد إلى حمض فوماريك. يرعى تفاعل الأكسدة أنزيم سكسينات ديهايدروجيناز Succinate Dehydrognase بوجود المرافق الأنزيمي FAD الذي يتحول إلى $FADH_2$ وهذا التفاعل عكوس



يرتبط أنزيم سكسينات ديهايدروجيناز بمعقد من نواقل الإلكترونات موجود في الغلاف الميتوكوندري، مما يؤدي إلى أكسدة الشكل المختزل لـــ FAD وعودة FAD إلى متابعة أكسدة السكسينات.

7-إماهة حمض الفوماريك (الفيومارات) وإنتاج حمض المالئيك (مالات):

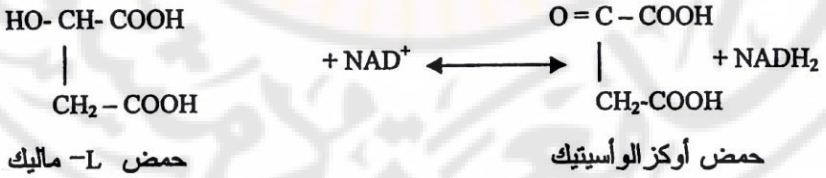
تتمية الفومارات بضم جزيء ماء، وتتحول إلى الماليئينات بوساطة أنزيم تميه خاص يدعى فوماراز Fumarase.



وتجدر الإشارة إلى أن تفاعل تميه حمض الفوماريك ذو نوعية تماكبية فراغية خاصة؛ ولذلك يتكون الشكل (L) فقط، أي حمض L- ماليك.

8-أكسدة المالات (أو حمض الماليك):

يؤكسد أنزيم ماليئينات ديهايدروجيناز الوظيفة الكحولية الموجودة في حمض المالئيك لتحويلها إلى وظيفة كيتونية، وينتج عن ذلك حمض أوكزالو أسيتيك. يتطلب الأنزيم لنشاطه وجود المرافق الأنزيمي NAD^+ الذي يستقبل ذرتي الهيدروجين.



إن حمض الأوكزالوأسيتيك الناتج في هذه المرحلة هو الحمض الأخير في دورة كريبس، وهو الذي يغلق هذه الدورة. بمعنى أنه يتحد من جديد مع جزيء جديد من أستيل كو أنزيم A وهكذا دواليك. ويجب التأكيد هنا أن حمض الأوكزاالو أسيتيك ليس هو نفسه في كل دورة، لأن ذرتي كربون منه تتأكسدان كل مرة، وتدخل بدلاً منهما ذرتان من أستيل كو أنزيم A وهكذا.

وتجدر الإشارة إلى أن المركب أستيل كو أنزيم A (حجر الأساس في دورة كريبس) لا ينتج فقط عن استقلاب الكربوهيدرات، بل ينتج أيضاً عن استقلاب الدهون وبعض الحموض الأمينية. وبذلك تكتسب دورة كريبس أهمية خاصة حيث تشكل بمفردها قاسماً مشتركاً في تحلل المواد الغذائية، وليست مقصورة على تحلل الكربوهيدرات. وبالإضافة إلى ذلك فإن دورة كريبس تتداخل، كما سنرى بعد قليل، مع تفاعلات الاصطناع كما في إعادة اصطناع الجلوكوز في حمض الأوكزالوأسيتيك، وفي تصنيع بعض الحموض الأمينية، مثل حمض الجلوتاميك من حمض الفاكيتوجلوتاريك.

تتم تفاعلات دورة كريبس في المصورات الحيوية (الميتوكوندريا)، وينحصر تأثير كثير من المواد السامة على الخلايا الحية بتثبيطها لبعض أنزيمات الدورة.

إن CO_2 المتشكل خلال دورة كريبس يسلك أحد المسارين:

أ–تستخدمه الخلية لتسيير عدة تفاعلات مهمة نذكر منها تفاعل إضافة CO_2 إلى الحموض الكيتونية، واصطناع اليوريا، واصطناع النيوكليوتيدات.

ب–يطرح خارج الجسم عن طريق الرئتين بعد نقله من أماكن تشكله بوساطة التيار الدموي، وذلك حسب التفاعل الناقل الآتي:

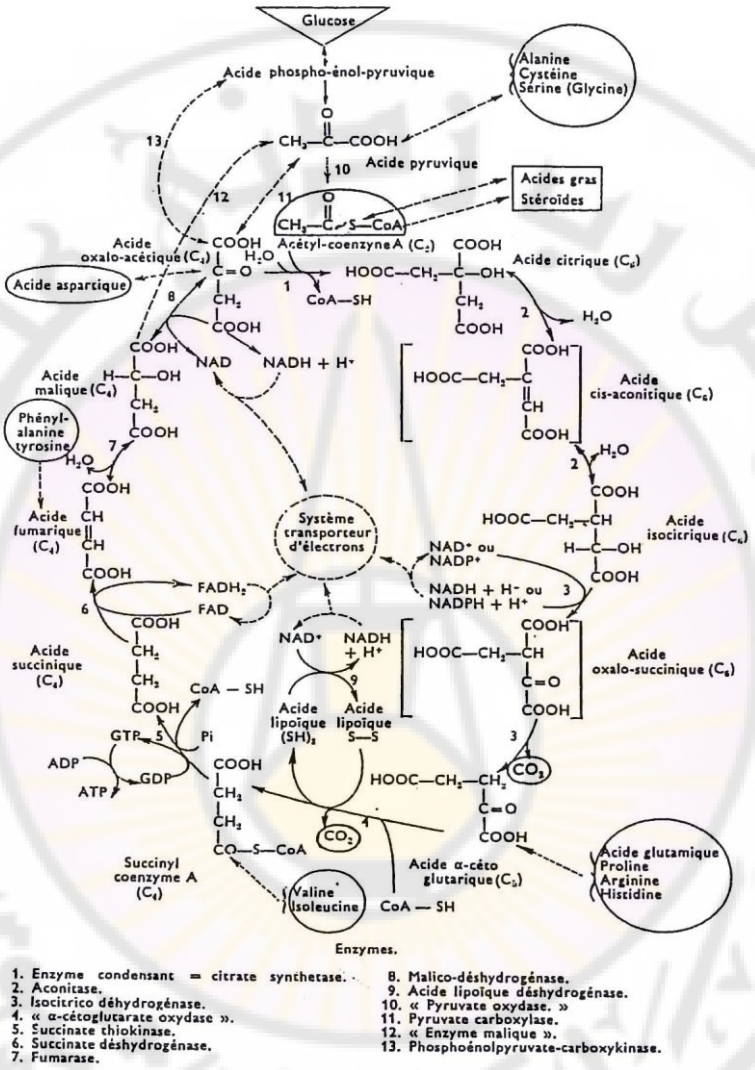
$$CO_2 + Proteine - NH_2 \rightarrow Proteine - NH - CO - OH$$

الشكل 3–1 يبين المخطط الكامل لخطوات دورة كريبس بأسماء المركبات الداخلة في التفاعل وأسماء الأنزيمات ومرافقاتها في كل خطوة، كما يوضح المخطط التفاعلات غير العكوسة بسهم واحد، والتفاعلات العكوسة بسهم مزدوج الاتجاه.

3–5– حسابات الطاقة في التحلل الهوائي للكربوهيدرات:

إذا أردنا حساب عدد جزيئات ATP المتشكلة من الأكسدة الكاملة لجزيء جلوكوز إلى CO_2 خلال دورة كريبس، وإلى H_2O خلال السلسلة التنفسية يجب الأخذ بعين الاعتبار أن كل جزيء جلوكوز يعطي جزيئين من حمض البيروفيك، ومن ثم جزيئتان من أسيتيل كو أنزيم A يدخلان دورة كريبس.

التفاعل الكيميائي	ATP المتشكلة
-ثلاث تفاعلات أكسدة تقوم بها أنزيمات الديهايدروجيناز البيريدينية (NAD^+ أو $NADP^+$) والتي بمساعدة النظام الناقل للإلكترونات يسمح كل منها بتشكيل 3 ATP. [أيزوسيترات ديهايدروجيناز، الفاكيتوجلوتارات أوكسيداز، مالات ديهايدروجيناز]	9
-تفاعل أكسدة بمساعدة أنزيم سكسينات ديهايدروجيناز (FAD كمرافق أنزيمي) يسمح بمساعدة النظام الناقل للبإلتكرونات بتشكيل 2 ATP	2
-تفاعل انقسام المركب سكسينيل كو أنزيم A	1
المجموع لكل دورة من دورات كريبس	12



شكل 3–1: مخطط توضيحي لتفاعلات دورة كريبس

Damascus University

ونتيجة لما سبق، يمكننا الآن حساب عدد جزيئات ATP، المتشكلة من تفاعلات الأكسدة الكاملة لجزيء جلوكوز في الشروط الهوائية.

التفاعل الكيميائي	ATP المتشكلة
1 جزيء جلوكوز ← 2 جزيء حمض بيروفيك. [الناتج الصافي من أكسدة الجلوكوز هوائياً إلى حمض بيروفيك ← 10−2 =]	8
2 جزيء حمض بيروفيك ← 2 جزيء أسيتيل كو أنزيم A + 2 جزيء CO_2. [نزع مجموعة الكربوكسيل تأكسدياً]	6
2 جزيء أسيتيل كو أنزيم A ← 4 جزيء CO_2. [دورتان من دورات كريبس]	24
المجموع لكل 1 جزيء جلوكوز ← 6 CO_2	38

هذا المجموع الكبير من عدد الروابط الفوسفاتية الغنية بالطاقة يحتل أهمية خاصة إذا ما قورن بعدد الروابط الغنية بالطاقة الناتجة عن مسار أمبدن مايرهوف في معزل عن الهواء (ATP2).

إن المردود الطاقي الناتج عن أكسدة الجلوكوز يجب ألا ينسينا أهمية الجلوكوز كمصدر لذرات الكربون. وبتعبير أدق، إن الخلايا الحية تستطيع بالاعتماد على المركبات الوسطية الناتجة عن تمثيل الجلوكوز تصنيع أعداد كبيرة ومتنوعة من المركبات المهمة. ونذكر على سبيل المثال الاصطناع الحيوي للحموض الدهنية والستيروئيدات الذي يتم اعتباراً من المركب أسيتيل كو أنزيم A. كما أن بعض الحموض الأمينية (مثل ألانين، جلوتاميك، أسبارتيك...) يمكن تصنيعها من الحموض الكيتونية المناظرة (بيروفيك، وألفاكيتوجلوتاريك، وأوكزالو أسيتيك) عند وجود مصدر نتروجيني مناسب كما سنرى فيما بعد.

3-6-دورة فوسفات البنتوز Pentose Phosphate Cycle:

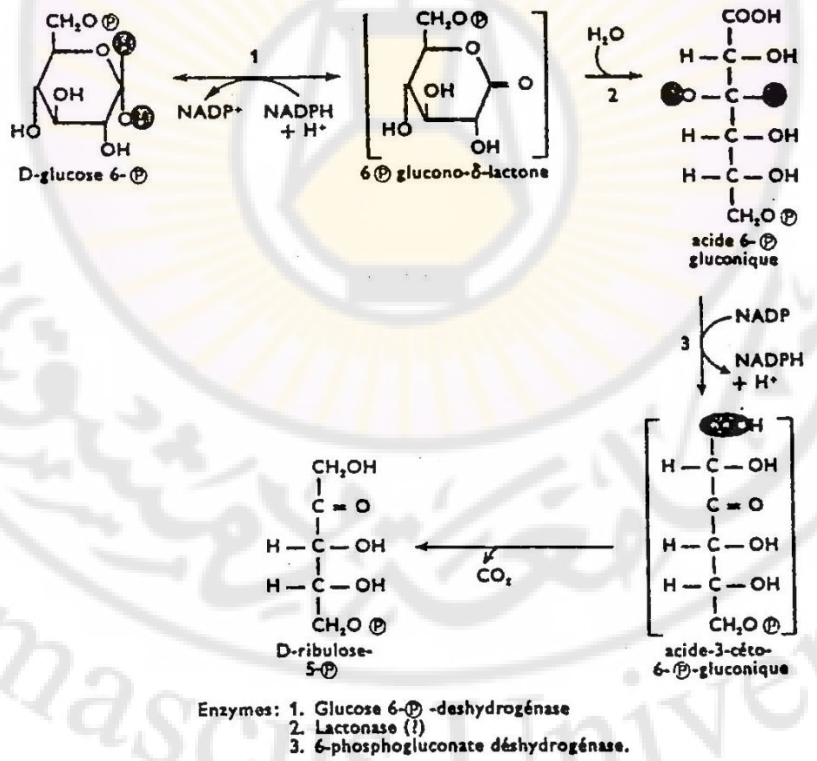
تتأكسد الكربوهيدرات عادة في معظم الكائنات بمسار أمبدن – مابرهوف ودورة حمض السيتريك. وتشكل أكسدتها بدورة فوسفات البنتوز مساراً بديلاً. وأكسدة السكريات في دورة فوسفات البنتوز تبقى من الناحية الكمية أقل أهمية من أكسدتها بمسار تحلل السكر ودورة كريبس. ولكن وجود هذه الدورة مهم وضروري لتكامل وظائف الاستقلاب في الخلية.

إن الأعمال التي قام بها واربورغ Warburg وديكنز Dickens أدت إلى اكتشاف هذا المسار الجديد لاستقلاب الجلوكوز. وقد دعيت طريقة الأكسدة هذه بأسماء عديدة نذكر منها مسار الأكسدة المباشرة، أو مسار فوسفات البنتوز. وسنقدم فيما يأتي فكرة مبسطة عن خطوات تفاعلات هذه الدورة.

1-أكسدة جلوكوز 6-فوسفات وتحويله إلى D- رايبولوز 5- فوسفات.

يقوم أنزيم جلوكوز 6-فوسفات ديهايدروجيناز المرتبط بالمرافق الأنزيمي NAD^+ بتحريض أكسدة الجلوكوز 6- فوسفات وتحويله إلى حمض 6- فوسفو جلوكونيك مع المرور بمرحلة وسطية يتشكل فيها المركب 6- فوسفو جلوكونو لا كتون (شكل 3-2).

وتحت تأثير أنزيم 6- فوسفو جلوكونات ديهايدروجيناز المرتبط أيضاً بالمرافق الأنزيمي $NADP^+$ فيتأكسد حمض 6-فوسفو جلوكونيك إلى D رايبولوز 5 فوسفات مع المرور بمرحلة وسطية يتشكل فيها حمض 3 كيتو 6- فوسفات جلوكونيك (شكل 3-1).

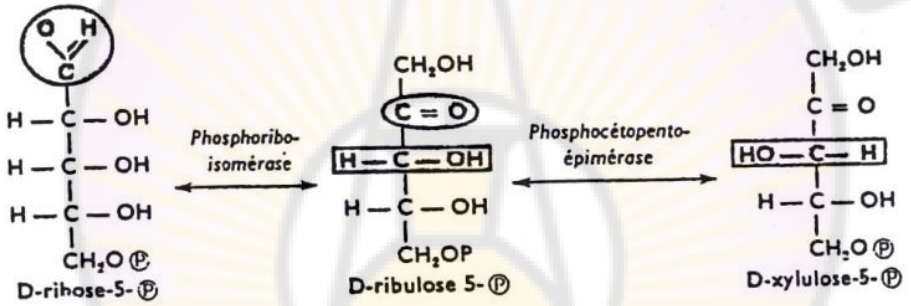


شكل 3-2: تفاعلات أكسدة جلوكوز 6- فوسفات إلى رايبولوز 5- فوسفات

2–تماكب المركب رايبولوز 5 – فوسفات:

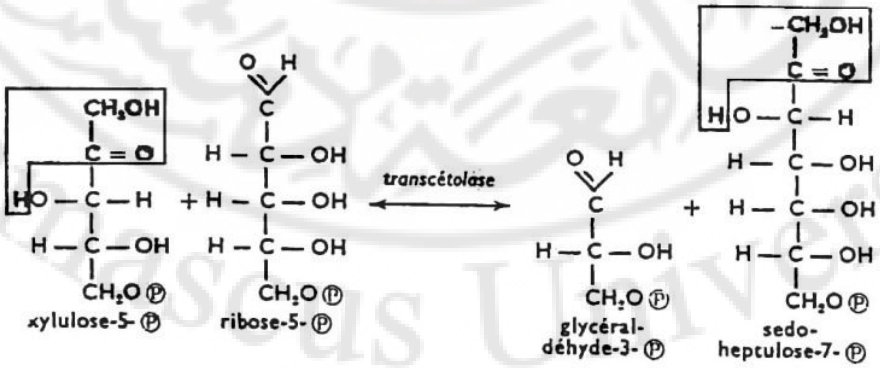
إن أكسدة ثلاث جزيئات جلوكوز 6– فوسفات تنتج ثلاثة جزيئات رايبولوز 5– فوسفات. يخضع جزيئان منهما إلى تأثير أنزيم فوسفو كيتوبنتو أبيمراز Phospho cetopento epimerase الذي يقوم بتغيير موضع مجموعة الهيدروكسيل على ذرة الكربون رقم 3 ليتشكل كزايلولوز – 5 فوسفات (P) – 5 – D-xylulose.

أما الجزيء الثالث من الرايبولوز 5– فوسفات (سكر كيتوني) فيتحول بتأثير أنزيم فوسفو ريبو أيزوميراز Phophoribo ismerase إلى سكر الدوزي هو ريبوز 5– فوسفات الضروري لتشكل النيوكليوتيدات الداخلة في الاصطناع الحيوي للمرافقات الأنزيمية النيوكليوتيدية والحموض النووية.



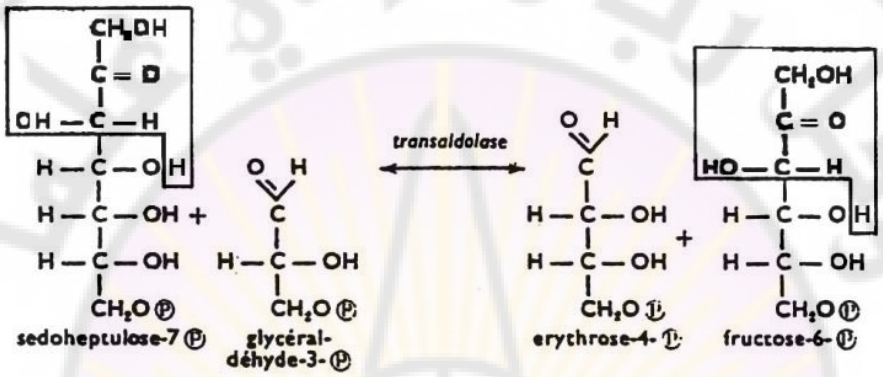
3–تفاعل نقل مجموعة مكونة من ذرتي كربون:

يتم نقل مجموعة مكونة من ذرتي كربون $(CH_2OH\text{-}\overset{O}{\overset{\|}{C}}\text{-})$ من جزيء فوسفات بنتوز إلى جزيء آخر منه بوساطة أنزيم ترانس كيتولاز ووجود المرافق الأنزيمي TPP فينتج سكر سباعي مفسفر (Sedoheptulose – 7 - P)، وسكر ثلاثي مفسفر (جليسر الدهيد 3 – فوسفات).

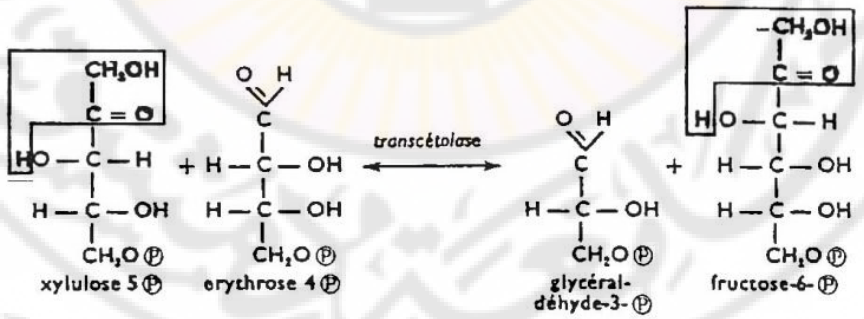


4–تفاعل نقل مجموعة مكونة من ثلاث ذرات كربون:

يتم نقل مجموعة من ثلاث ذرات كربون $[CH_2OH - \overset{\overset{O}{\|}}{C} - CHOH]$ من السكر السباعي إلى السكر الثلاثي جليسر الدهيد 3 فوسفات بوساطة أنزيم ترانس الدولاز فينتج سكر سداسي هو فركتوز 6– فوسفات وسكر رباعي هو أريثروز 4 – فوسفات [Erythrose -4-P].



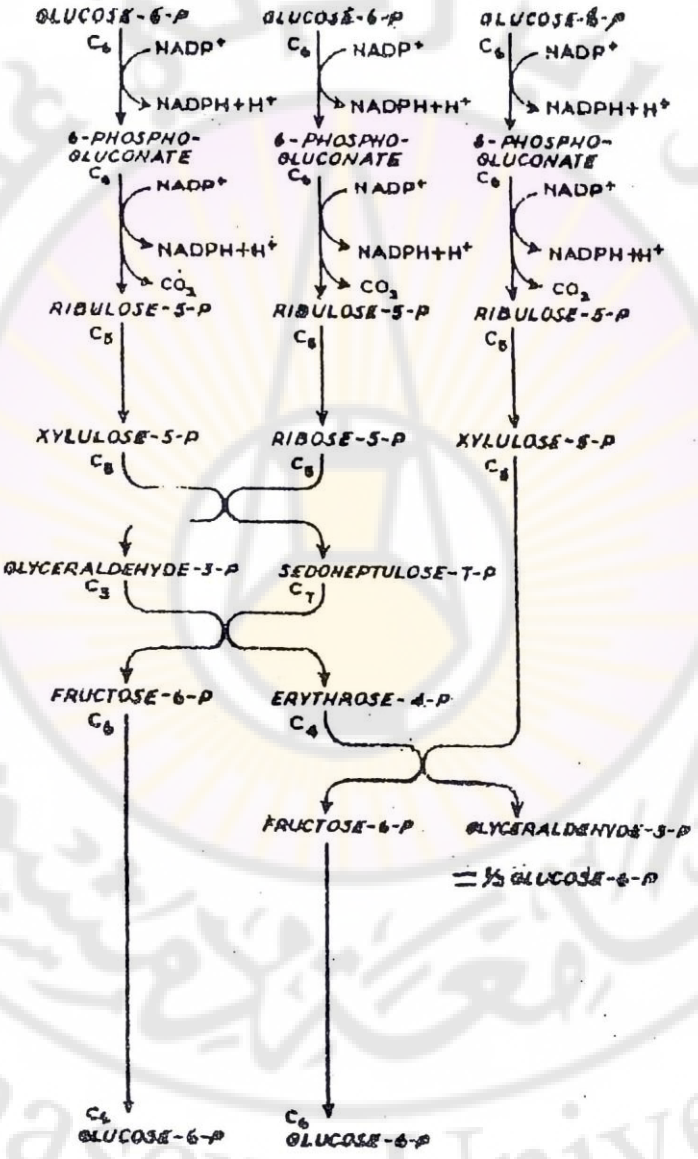
يتفاعل السكر الرباعي الناتج بدوره مع جزيء كزايلولوز 5– فوسفات (الذي كان قد تشكل بفعل تماكب الريبولوز 5– فوسفات) بوساطة أنزيم ترانس كيتولاز الذي يعمل على نقل مجموعة ذرتي كربون من كزايلولوز 5– فوسفات وتركيبها على السكر الرباعي أريثروز 4– فوسفات فيتشكل سكر سداسي هو فركتوز 6–فوسفات وسكر ثلاثي هو جليسر الدهيد 3– فوسفات.



5–تحول فركتوز 6– فوسفات إلى جلوكوز 6–فوسفات:

يحدث هذا التحول بوساطة أنزيم فوسفو هكسوز أيزوميراز، الذي يعمل على تحويل الجزيئين المتشكلين من الفركتوز 6– فوسفات إلى جلوكوز 6– فوسفات وعلى هذا فعند البدء بثلاثة جزيئات من الجلوكوز يعاد تشكيل اثنتين منهما ويستقلب الثالث.

إن معظم تفاعلات دورة فوسفات البنتوز عكوسة باستثناء التفاعل الذي يتوسطه أنزيم جلوكوز لاكتون هايدرولاز والمخطط المبسط الآتي (شكل 3–3) يوضح توازن ذرات الكربون في دورة فوسفات البنتوز.



شكل 3–3: مسار فوسفات البنتوز

3-6-1-وظائف دورة فوسفات البنتوز:

يمكننا التعرف على الوظائف التي تؤديها هذه الدورة من خلال مناقشة أهمية المركبات التي تعطيها:

أ) إنتاج مركبات فوسفات البنتوز الضرورية للاصطناع الحيوي للنيوكليوتيدات العديدة الموجودة في عدد كبير من المرافقات الأنزيمية، وبشكل خاص في الحموض النووية.

ب) تسمح بتشكيل المرافق الأنزيمي المختزل $NADPH_2$ الذي يستعمل كقوة مرجعة في جميع تفاعلات الاصطناع الحيوية، كاصطناع الحموض الدهنية والستيرويدات وتفاعلات إرجاع أخرى مهمة.

ج) إنتاج كمية مناسبة من الطاقة على شكل ATP.

د) تسمح هذه الدورة أخيراً، في الكائنات الحية ذاتية التغذية [Photosytnthetic] بالاصطناع الحيوي للسكريات اعتباراً من CO_2 الناتج عن تحلل الجلوكوز.

3-6-2-حسابات الطاقة في دورة فوسفات البنتوز:

إذا أخذنا بالنظر نقطة البداية، ونقاط الانتهاء في هذه الدورة دون النظر إلى المركبات الوسطية لاستطعنا أن نكتب:

$$3\text{Glucose -6-(P)} + 6\ NADP^+ \rightarrow 2\text{Glucose -6-(P)} + \text{Glyceraldehyde-3-(P)} + 3CO_2 + 6NADPH_2$$

ففي نهاية كل دورة كما لو أن نصف جزيء جلوكوز قد تأكسد إلى H_2O+CO_2، ولكن ما يحصل في الواقع هو نزع مجموعات الكربوكسيل لثلاثة جزيئات من الجلوكوز 6-فوسفات، وإعادة اصطناع جزيئين منها.

ولو فرضنا أننا انطلقنا من ست جزيئات جلوكوز 6- فوسفات نحصل بنتيجة الأكسدة على 6 جزيئات من CO_2، و 6 جزيئات من ريبولوز 5-فوسفات. هذه الأخيرة تتحول بسلسلة من التفاعلات إلى 5 جزيئات من جلوكوز 6- فوسفات.

وهذا يعني، أنه خلال دورة واحدة من دورات فوسفات البنتوز، تحصل أكسدة كاملة لجزيئة جلوكوز من أصل 6 جزيئات، على الرغم من أن الجزيئات الستة من CO_2 تنشأ من 6 جزيئات جلوكوز، وليس عن جزيئة واحدة. ولكن الذي يحصل عملياً هو إعادة توزيع مهمة لذرات الكربون خلال تفاعلات نقل مجموعتي الكيتون والألدهيد، وبذلك يمكننا تلخيص التفاعلات الحاصلة خلال دورة واحدة بالمعادلة الآتية

$$6\text{Glucose -6-(P)} + 12\ NADP^+ \rightarrow 5\text{Glucose -6-(P)} + 6CO_2 + 12NADPH_2 + Pi$$

وبتبسيط هذه العلاقة نجد:

$$1Glucose\text{-}6\text{-}(P) + 12\ NADP^{+} \rightarrow 6CO_2 + 12NADPH_2 + Pi$$

أي أن أكسدة جزيء جلوكوز خلال دورة فوسفات البنتوز يؤدي إلى إنتاج 12 جزيئة $NADPH_2$، التي يمكن لها أن تدخل إما كمرافقات أنزيمية مختزلة في العديد من التفاعلات الحيوية أو تتم أكسدتها على النحو الآتي:

$$12NADPH_2 + 12\ NAD^{+} \rightarrow 12\ NADP^{+} + 12\ NADH2$$

المرافقات الأنزيمية البيريدينية المختزلة تتأكسد بدورها خلال النظام الناقل للإلكترونات في السلسلة التنفسية وتسمح بذلك من تشكل 36 جزيئة ATP.

وإذا أردنا أن نحسب الناتج الصافي من الطاقة في تحلل الجلوكوز يجب طرح جزيء ATP الذي استهلك في فسفرة الجلوكوز إلى جلوكوز 6- فوسفات، وبذلك فإن مقدار ما تربحه الخلية من الطاقة يساوي ATP35. ومع ذلك ليست الغاية من أكسدة الجلوكوز بهذه الدورة إنتاج الطاقة كبديل لعمليات التحلل الجلايكوليتي، ولكنها تهدف إلى إنتاج البنتوزات وNADPH. كما أن للدورة أهمية بالغة في التمثيل الضوئي في النبات حيث إن البنتوزات المفسفرة هي التي تستقبل غاز CO_2، وتتحول بسلسلة تفاعلات إلى سكريات سداسية.

3-7-الاصطناع الحيوي للكربوهيدرات:

إن غالبية السكريات الثنائية، ومتعددات السكر المنتشرة على نطاق واسع، كالسكروز والجلايكوجين والنشاء والسيللوز، تصنع حيوياً بنقل وحدات جلايكوزيل (وحدات سكر أحادي) كالجلوكوز من حوامل لها من نيوكيلوزيدات ثنائية الفوسفات إلى جزيء قابل هو وحدة سكر أحادي في السكريات الثنائية أو جزيء بادئ من سلسلة متعدد السكر، كما في الجلايكوجين والنشاء. ويتكون نيوكليوزيد ثنائي فوسفات السكر الذي يختصر أسمه نيوكليوتيد سكري، من تفاعل نيوكليوتيدات ثلاثية الفوسفات مع سكر أحادي مفسفر عند ذرة الكربون 1، ونذكر على سبيل المثال تكون يوريدين ثنائي فوسفات الجلوكوز:

$$UTP + Glucose\text{-}1\text{-}(P) \rightarrow UDP - Glucose + PPi$$

يوريدين ثنائي فوسفات الجلوكوز يوريدين ثلاثي فوسفات

وتنتقل وحدة الجلوكوز التي يحملها UDP – Glucose إما إلى جزيء فركتوز مثلاً لتكوين السكروز، أو إلى جزيء من سلسلة جلايكوجين لتكوين الجلايكوجين، أو إلى جزيء من سلسلة نشاء لتكوين جزيء نشاء. ويلعب جزيء السلسلة الذي ينقل إليها الجلوكوز في اصطناع الكسريات المتعددة دور البادئ. إذ المعروف أن اصطناع الجزيئات الضخمة يتطلب

وجود بادئ. وهو سلسلة قصيرة يختلف طولها حسب نوع الجزيء الضخم. يضاف على البادئ وحدات بناء الجزيء الضخم حتى يكمل اصطناعه. ونورد فيما يأتي مثالين عن اصطناع الكسريات:

3-7-1- إعادة اصطناع الجلوكوز: Gluconeogenesis

إن إعادة اصطناع الجلوكوز ضرورة ملحة منبثقة عن قلة كمية السكريات في الوجبات الغذائية. فالجلوكوز ضروري لمد النسيج العصبي والكريات الحمراء بالطاقة. فإذا ما نقصت كميته في الدوران بدأت عملية إعادة اصطناعه تأخذ مجراها. أضف إلى ذلك أن الجلوكوز هو بمثابة الوقود الوحيد الذي يؤمن الطاقة للعضلات الهيكلية تحت شروط لاهوائية. وهو أيضاً طليعة سكر الحليب (لاكتوز) في الغدد اللبنية. إن عملية اصطناع الجلوكوز تعني بكل وضوح اصطناعه من مركبات أو طلائع غير سكرية. وهذه الطلائع هي:

1- حمض البيروفيك وحمض اللاكتيك.
2- المركبات الوسطية في دورة كريبس.
3- الأحماض الأمينية المولدة للسكر: وهي الأحماض الأمينية التي تعطي بنتيجة تحللها أحد المركبات الوسطية في دورة كريبس.

وبشكل عام يمكن اعتبار إعادة اصطناع الجلوكوز ممكنة بخطوات معاكسة لخطوات التحلل الجلايكوليتي إلا بالنسبة لثلاث تفاعلات غير عكوسة في ظروف الخلية وهي:

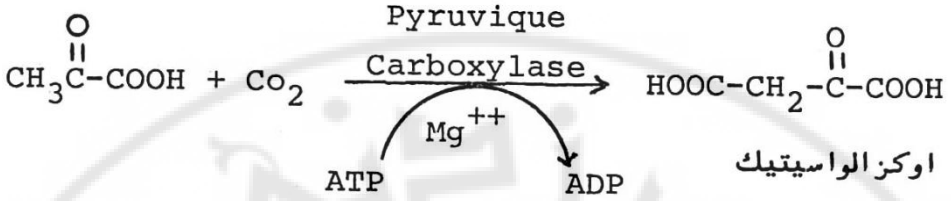
1- تحول البيروفات إلى فوسفو اينول بيروفات.
2- تحول فركتوز 1-6 ثنائي الفوسفات إلى فركتوز 6- فوسفات.
3- تحول جلوكوز 6- فوسفات إلى جلوكوز.

ونورد فيما يلي شرحاً مبسطاً لهذه التفاعلات:

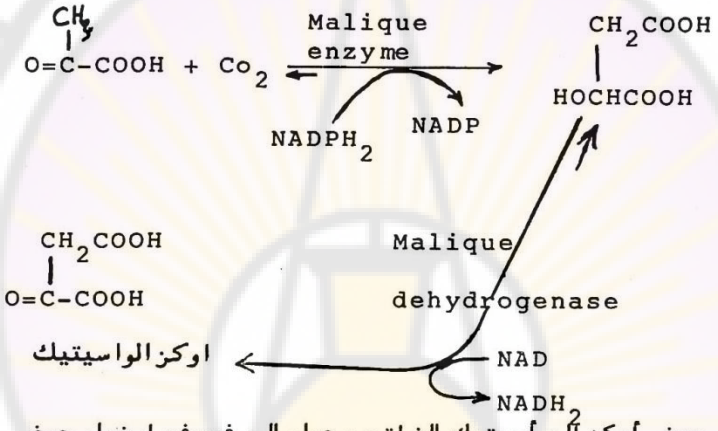
1-فسفرة حمض البيروفيك:

إن فسفرة حمض البيروفيك عملية في غاية الصعوبة. ولذا يلجأ الكبد إلى تحويل حمض البيروفيك إلى حمض أوكزالوأسيتيك أولاً وذلك بإحدى طريقتين تعتمد كلتاهما على إضافة ثاني أوكسيد الكربون وهما:

أ-إضافة جزيئة من غاز الفحم (بعد تنشيطه بربطه بأنزيم بيروفيك كربوكسيلاز) إلى حمض البيروفيك. علماً أن تنشيط CO_2 يحتاج لربطه بالأنزيم إلى طاقة يستمدها من تحلل ATP، وأن الأنزيم يحتوي على فيتامين البيوتين في تركيبه وأنه يحتاج إلى شوارد المغنيزيوم.

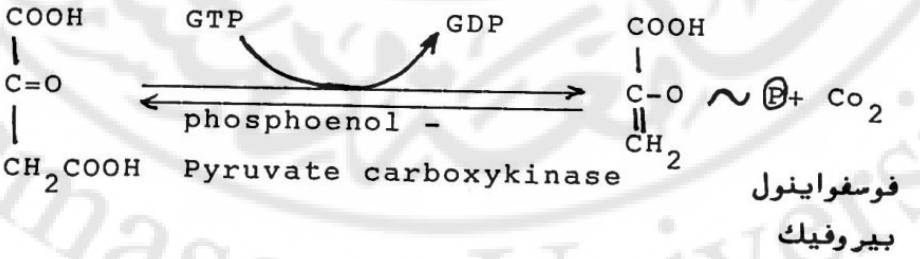


ب–إنتاج حمض الماليئيك بإضافة CO_2 إلى حمض البيروفيك بوساطة أنزيم الماليئيك وبوجود المرافق الأنزيمي $NADPH_2$. يتم بعد ذلك تحويل حمض الماليئيك إلى أوكزأسيتيك في دورة كريبس بوساطة أنزيم ماليك – ديهايدروجيناز وبوجود NAD^+:



حمض أوكزألوأسيتيك الناتج يحول الى فوسفو اينول حمض

حمض أوكزألوأسيتيك الناتج يحول إلى فوسفواينول حمض البيروفيك بوساطة أنزيم فوسفو أينول بيروفيك (أو بيروفات) كربوكسيكيناز وبوجود المركب الغني بالطاقة جوا نوزين ثلاثي الفوسفات GTP لإعطاء الفوسفات والطاقة اللازمة لربطها، وينتج CO_2 من نزع مجموعة الكربوكسيل.



2–تحول فركتوز 1–6 ثنائي الفوسفات إلى فركتوز 6– فوسفات يتابع حمض فوسفو اينول بيروفيك تحولاته عكس خطوات التحلل الجلايكوليتي حتى تكون المركب فركتوز 1–6 ثنائي

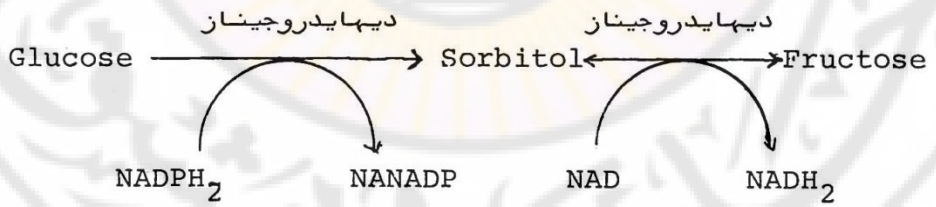
الفوسفات. ولتحويل هذا الأخير إلى فركتوز 6- فوسفات يتطلب تدخل أنزيم فركتوز 1-6 ثنائي فوسفاتاز المنتشر بكثرة في النسج النباتية والحيوانية.

3-تحول جلوكوز 6- فوسفات إلى جلوكوز:

يتم هذا التحول بوساطة أنزيم جلوكوز 6- فوسفاتاز الموجود في الكبد وفي بعض النسج الحيوانية والنباتية. وهكذا تستطيع الخلية الحية إعادة تصنيع الجلوكوز اعتباراً من حمض اللاكتيك والبيروفيك شريطة توفر الأنزيمات الضرورية والعوامل المساعدة التالية: NADPH , NADH, ATP التي يمكن الحصول عليها من تحطم الجلوكوز نفسه. وتجدر الإشارة إلى أن إعادة تصنيع الجلوكوز من حمض اللاكتيك تتطلب ست روابط فوسفاتية غنية بالطاقة (ATP6) في حين لا يعطي تحلل الجلوكوز إلى حمض اللاكتيك سوى رابطتين فقط (ATP2). ومن ذلك يتبين أن عملية الاصطناع تستهلك طاقة.

3-7-2- تحول الجلوكوز إلى السكريات الأحادية الأخرى:

يشكل الجلوكوز مادة التصنيع الأولى للسكريات الأخرى، حتى في حالة توفرها عن طريق الغذاء. فالجسم نادراً ما يلجأ إلى الاستخدام المباشر لهذه السكريات وإنما يعمل على تحويلها إلى جلوكوز أولاً في الكبد ومن ثم يتحول الجلوكوز إلى السكريات المطلوبة من قبل الخلية. ونذكر على سبيل المثال أن الفركتوز المفرز من الحويصلات المنوية يتشكل من اختزال الجلوكوز إلى سوربيتول ومن ثم أكسدة هذا الأخير إلى فركتوز بوساطة نوعين من أنزيمات الديهايدروجيناز المتخصصة كما توضحه المعادلة التالية:

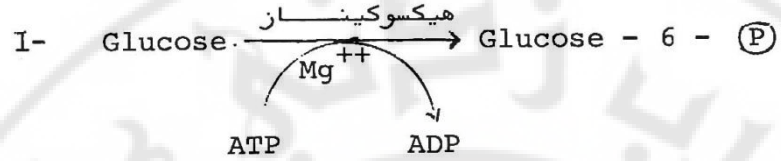


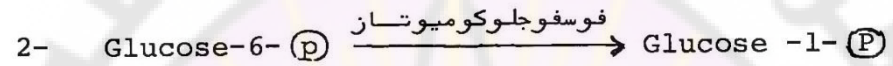
3-7-3- اصطناع السكريات الثنائية:

إن الاصطناع الحيوي للسكريات الثنائية المهمة مثل السكروز واللاكتوز نادراً ما يتم على حساب السكريات الأحادية الحرة؛ وذلك بسبب تغير الطاقة الموجب لهذا النوع من التفاعلات؛ ولذلك تلجأ الخلية إلى تنشيط جزيء السكر الأحادي بربطه برابطة غنية بالطاقة لكي تتمكن أنزيمات من نوع ترانس جلايكوسيداز (أو ترانس جلايكوزيلاز) من إضافته لجزء آخر.

أ-اصطناع السكروز في النبات:

تنشط السكريات الأحادية بربطها بالمركب يوريدين ثنائي الفوسفات UDP الذي يمكن اعتباره مرافقاً لأنزيمات ترانس جلايكوسيداز والمثال التالي يوضح كيفية تنشيط الجلوكوز:



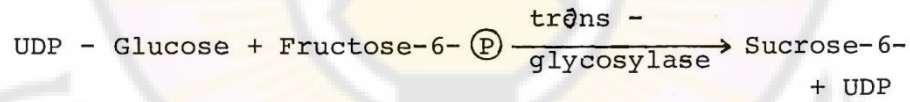


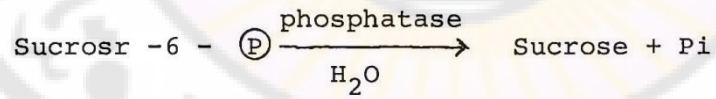


يدخل الجلوكوز المنشط في تفاعلات اصطناع السكريات الثنائية والعديدة وأن التفاعل الأساسي في عملية الاصطناع هذه هو انتقال جذر الجلوكوزيل على سكر آخر:

UDP-Glucose + HO-< → UDP + Glucose-O-<

وهكذا فإن اصطناع السكروز لدى النباتات يمكن أن يتم إلى الشكل التالي:



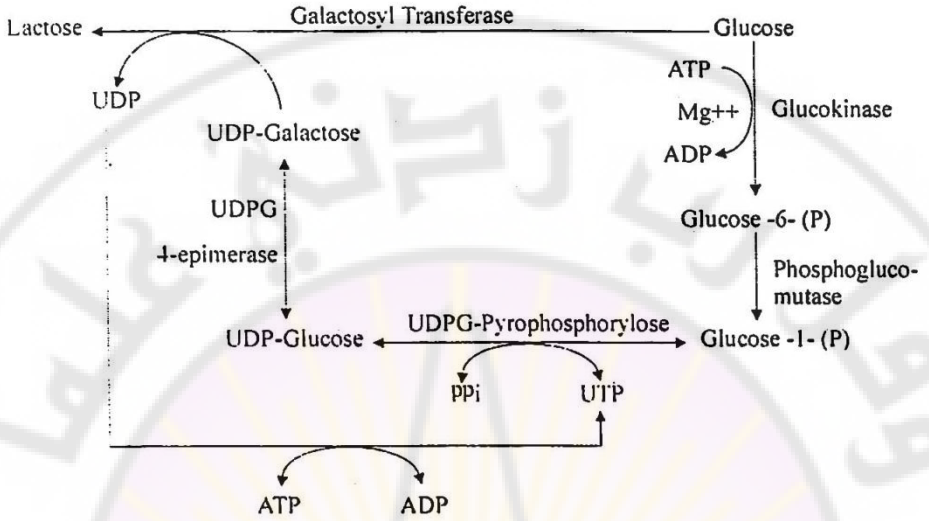


وهناك نوع آخر من أنزيمات ترانس جلايكوسيلاز يساعد على تصنيع السكروز كما يلي:

UDP-Glucose + Fructose ⇄ Sucros + UDP

ب- اصطناع اللاكتوز في الغدد اللبنية:

يصنع اللاكتوز في الغدد اللبنية للثديات بطريقة مماثلة لطريقة اصطناع السكروز في النبات ولكن في حالة اللاكتوز يكون السكر المنشط هو الفالكتوز وليس الفولكوز. ونبين فيما يأتي مخططاً توضيحياً لاصطناع اللاكتوز في الغدد اللبنية للثديات. (شكل 3-3)



الشكل 3-3: الاصطناع الحيوي لسكر اللاكتوز

3-7-4-اصطناع السكريات العديدة:

عند وجود سكر ثنائي أو سلسلة من سكر عديد يمكن لأنزيمات ترانس جلايكوسيداز أن تعمل على إضافة جزيء من السكر الأحادي المنشط في كل مرة، مما يساعد على إطالة السلسلة. وعملية الإضافة تتم إلى النهاية الطرفية غير المختزلة للسلسلة. وكمثال عن السكريات العديدة نورد فيما يأتي خطوات الاصطناع الحيوي للجلايكوجين.

أ-اصطناع السلاسل الخطية:

يتم اصطناع الجلايكوجين على حساب الجلوكوز 1-فوسفات الذي يجري تنشيطه كما أسلفنا أعلاه من خلال ربطه بالمركب يوريدين ثنائي الفوسفات (UDP).

المركب يوريدين ثنائي فوسفات الغلوكوز (UDPG) يقدم جذر الغلوكوزيل إلى سلسلة مكونة من وحدتي جلوكوز أو أكثر في النهاية الطرفية غير المختزلة للسلسلة، ويتم ذلك بتفاعل الكربون الأول من الـ UDPG مع الكربون الرابع للغلوكوز الموجود في الطرف غير المختزل للسلسلة مجرداً بذلك من الـ UDP. ويتوسط هذا التفاعل أنزيم صانعة الجلايكوجين Glycogen Synthase الموجود في عضلات الثديات وفي البكتريا.

UDPG + Glycogen (n Glucose) → UDP+ Glycogen (n + 1 Glucose)

يعاد إنشاء UTP على حساب ATP.

ب-اصطناع السلاسل المتفرعة:

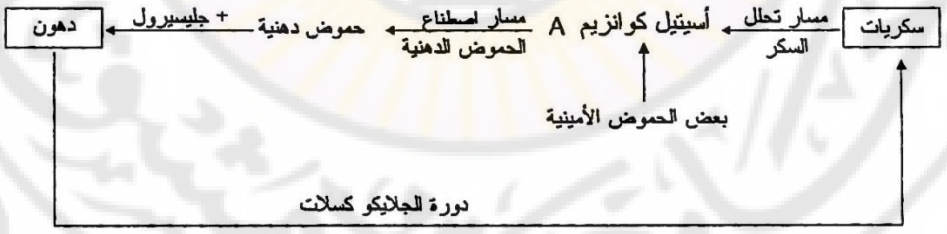
عندما يصبح طول السلسلة الخطية المتكونة بالرابطة α(1→4) ما بين 6-11 جزيئاً من الغلوكوز يبدأ تفرع السلسلة الخطية بالرابطة α(1→6) بأنزيم التفريع Enzyme Branchant الذي يطلق عليه اسم أميلو 1-4 ← 1-6 ترانس جلايكوزيلاز. ويقتصر عمل هذا الأنزيم على نقل قسم من السلسلة α(1→4) التي تم بناؤها إلى السلسلة المستقيمة المجاورة، مكوناً بذلك نقطة تفرع في جزيء مولد السكر (الجلايكوجين) بالرابطة α(1→6).

مما تقدم نجد أن الاصطناع الحيوي للسكريات الثنائية والعديدة لا يتم بطريقة معاكسة تماماً لطريقة تحللها.

إذ لابد من وجود تفاعل أو أكثر من تفاعلات التحلل، لا يمكن عكسه في ظروف الخلية، فتلجأ الخلية إلى طرق بديلة لعكس هذا التفاعل. وهذه التفاعلات البديلة هي التي تحدد سير الاستقلاب باتجاه الاصطناع، أو باتجاه التحلل وغالباً ما تتحكم الأنزيمات المنظمة والضوابط الحيوية (الهرمونات) في هذه التفاعلات البديلة بالتنشيط أو التثبيط بحسب ما تقتضي الحاجة.

3-8-دورة الجلايكوكسلات Glycoxalate Cycle:

تهدف هذه الدورة إلى اصطناع الجلوكوز من الحموض الدهنية وبعض الحموض الأمينية. وتوجد الأنزيمات المسؤولة عنها في النباتات، وبخاصة البذور المنبتة، وكثيراً من البكتريا والأشنيات، ولا توجد في الحيوانات؛ فالحيوانات غير قادرة على تحويل مدخراتها الدهنية إلى سكريات (شكل 3-4).

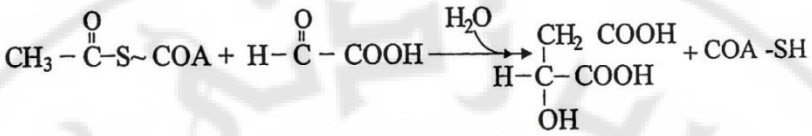


الشكل 3-4: دورة الجلايكوكسلات في البذور الزيتية.

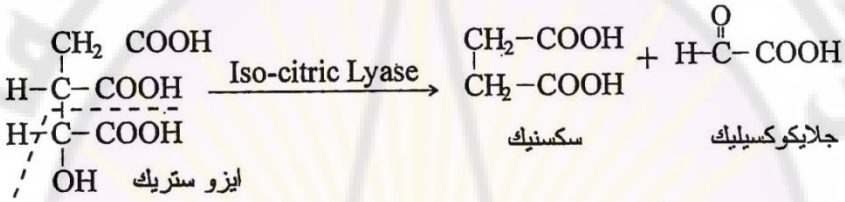
بعض الأحياء الدقيقة تستطيع النمو بوجود الدهون (أو الخلات) كمصدر وحيد للكربون، فتستخدمها لتصنيع الكربوهيدرات وبعض الحموض الأمينية.

عرفت إن آلية تحول الدهون إلى كربوهيدرات في النباتات والأحياء الدقيقة منذ عام 1957 عندما تبين وجود نقطتي عبور إلى دورة كمربيس. إحداهما عن طريق تفاعل أسيتيل كو

أنزيم A مع الأوكزالو أسيتيك بوساطة الأنزيم المكثف والنقطة الثانية عن طريق التفاعل الذي يتوسط فيه الأنزيم ماليك سينثاتاز.



وينتج الجلايكوكسيليك المطلوب والضروري للتفاعل السابق من تحلل المركب أيزوستريك بمساعدة أنزيم أيزوستريك لياز.



ويعطي التفاعلان السابقان مع تفاعلات دورة كريبس ما يسمى بدورة حمض الجلايكوكسيليك.

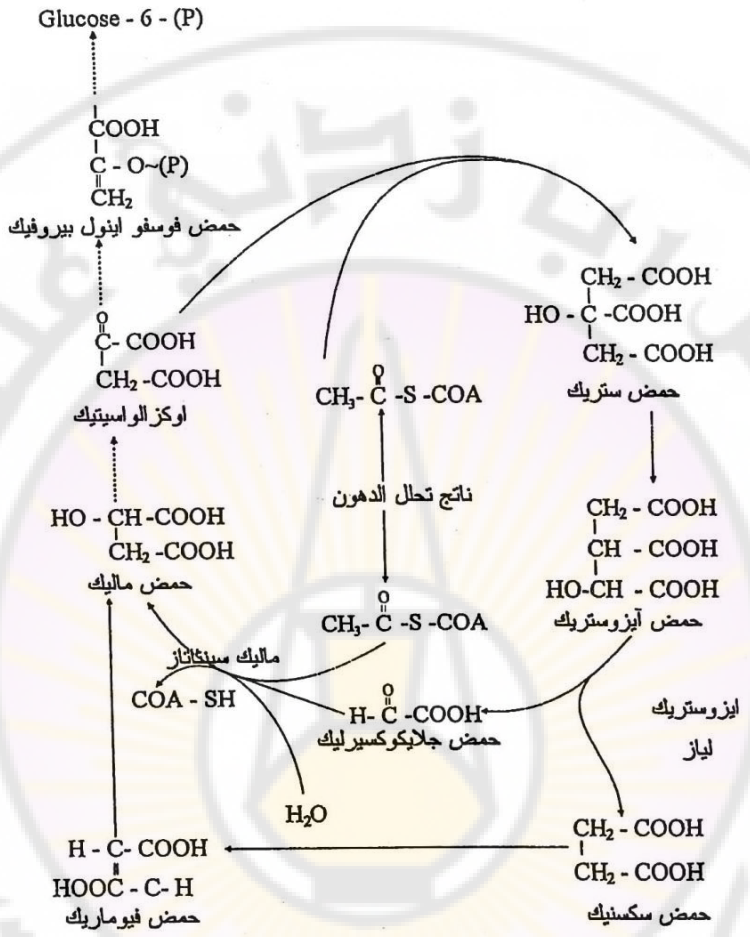
إن الأنزيمين الأساسيين في هذه الدورة هما: أيزوستريك لاياز وماليك سينثاتاز وهما غير موجودين في الأنسجة الحيوانية (شكل 3-5).

إن المركب أسيتيل كو أنزيم A الناتج عن تحلل الدهون يستطيع ضمن هذه الظروف أن يدخل دورة حمض الجلايكوكسيليك من مكانين مختلفين:

المكان الأول: من خلال تكثفه مع حمض الجلايكوكسيليك.

المكان الثاني: من خلال تكثفه مع حمض أوكزالو أسيتيك (الناتج النهائي لدورة كريبس) فينتج حمض الستريك والأيزوستريك الذي يتحلل إلى حمض سكسينيك وحمض جلايكوكسيليك بدلاً من أكسدته في دورة كريبس، فتبدأ الدورة الثانية من جديد وهكذا.

إن كل دورة من دورات حمض الجلايكوكسيليك، تؤدي إلى إعطاء جزيء واحد من حمض السكسنيك على حساب جزيئين من أسيتيل كو أنزيم A.



الشكل 3-5: دورة حمض الجلايكوكسيليك

حمض السكسنيك الناتج، يتأكسد بدوره إلى حمض أوكزالوأسيتيك، بعد سلسلة من التفاعلات التي تعرفنا عليها سابقاً من خلال دراستنا لدورة كريبس وحمض أوكزالوأسيتيك يتعرض إلى تفاعلين متعاقبين:

ففي التفاعل الأول يفقد مجموعه الكربوكسيلية، وفي التفاعل الثاني تتم فسفرته ليعطي حمض فوسفو إينول بيروفيك. هذا الأخير يتحول بعد سلسلة من تفاعلات الاصطناع إلى جلوكوز 6- فوسفات (شكل 3-5)

إن المحصلة النهائية لدورة حمض الجلايكوكسيليك هي استهلاك أربعة جزيئات من أستيل كو أنزيم A. (2 جزيء حمض سكسنيك ← 2جزيء حمض أوكزالو أسيتيك ← 2 جزيء

حمض فوسفو أينول بيرونيك + 2 جزيء CO_2) من أجل الحصول على جزيء واحد من الجلوكوز.

وتجدر الإشارة إلى أن حمض السكسنيك الناتج عن هذه الدورة يمكن أن يسلك مسارات استقلابية أخرى نذكر منها:

(1) التحول إلى سكسنيك كو أنزيم A الذي يعد طليعة اصطناع البورفيرين، والتي منها الكلوروفيل والهيم.

(2) التحول إلى حمض أوكزالو أسيتيك، ثم حمض أسبارتيك، الذي يشتق منه بعض الحموض الأمينية ومركبات البيريميدن.

(3) الانضمام إلى أسيتيل كو أنزيم A وإعطاء حمض الستريك الذي يتأكسد في دورة كريبس

الفصل الرابع

استقلاب الليبيدات Lipid metabolism

4-1-مقدمة:

تشكل الليبيدات مجموعة متغايرة من المركبات التي تتمتع بعدد من الوظائف البيولوجية المهمة وهي:

1- تساهم في بنية الأغشية الخلوية وكريات الدم والمصورات الحيوية (الميتوكوندريا).

2- شكل من أشكال الادخار ونقل الإيضات الطاقية.

3- تلعب دوراً واقياً على سطح عدد كبير من العضويات.

4- ولأنها مكونات للسطح الخلوي فهي تشارك في معرفة الخلايا وفي التعرف على الأنواع وكذلك في المناعة الخلوية.

والليبيدات، وبالإضافة إلى وظائفها البيولوجية الآنفة الذكر، تعد مصدرا للأحماض الدهنية الضرورية وحاملة للفيتامينات وبعض الهرمونات الذوابة في الدهون.

تدخل الليبيدات في تركيب نسج الإنسان والحيوانات والنباتات وذلك إلى جانب كل من البيروتينات والسكريات. وتوجد المواد الدسمة في العضوية على صورة لبيدات بروتوبلازما (أي أنها تدخل في تركيب بروتوبلازما الخلية)، وأيضا على صورة لبيدات احتياطية متوضعة في نسج خاصة تسمى بالنسج الشحمية.

تلعب الليبيدات دوراً مهماً في عملية تغذية الإنسان والحيوان حيث تتحرر عند أكسدتها في العضوية كمية كبيرة من الطاقة. (9.3 كيلو كالوري/ غرام واحد من الدهن) تزيد على ضعف ما يعطيه الوزن نفسه من الكربوهيدرات. وتختلف النسج في كمية الدهن التي تحطمها، فأنسجة الكبد، كمثال، تحطم قسماً كبيراً من الدهون، بينما أنسجة الدماغ لا تحطم أي شيء. وبصورة عامة فإن حوالي ثلث الطاقة المنتجة يأتي من أكسدة الدهون.

4-2- حلمهة الجليسريدات الثلاثية والفوسفوليبيدات:

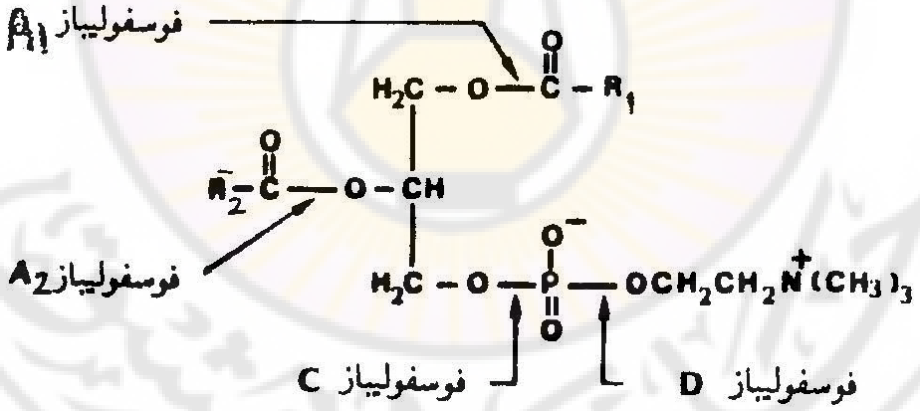
من وجهة نظر كمية تعد الجليسريدات الثلاثية من أهم المركبات الدهنية على الإطلاق، حيث تشكل غالباً ما يزيد عن 10% من وزن الكائن الحي. وهي تتحلمأ بشكل رئيسي في الأمعاء الدقيقة لتعطي جليسرول وأحماض دهنية وذلك بمساهمة أنزيمات الليباز التي تتواجد بعدة أشكال تختلف فيما بينها بفعاليتها وفي بعض خواصها. نذكر من أمثلتها ليباز البنكرياس وليباز الأمعاء والعديد من أنزيمات الليباز النباتية. يوجد أيضا أنزيم لايبوبروتين ليباز في

بعض الأنسجة كالقلب والرئتين والأنسجة الدهنية وبلازما الدم، ويكون بعضها على شكل غير فعال يتحول إلى الشكل الفعال بآلية معقدة وبتأثير بعض الهرمونات.

جميع تفاعلات الحلمهة هذه تكون عكوسة مما يجعلها طريقة محتملة لاصطناع الغليسيريدات الثلاثية.

تزيد الأحماض الصفراوية وأملاحها من سرعة التفاعلات السابقة وذلك لتشكيلها مع الدم مستحلبات أكثر انحلالاً. أهم هذه الأحماض حمض الكوليك، حمض الكولانيك وحمض الليثوكوليك.

توجد الحموض والأملاح الصفراوية في عصارة الصفراء التي يفرزها الكبد. وينشط انتقالها بوساطة هرمون Cholecystokinine الذي يصطنع في الأمعاء الدقيقة ويطرح في الدم نتيجة ظهور المواد الدسمة في الأمعاء الاثني عشرية. أما الفوسفوليبيدات يمكنها أيضاً أن تتحلمه أنزيمياً بوساطة أنزيمات من نوع فوسفوليباز Phospholipases نوعية ولها أربعة أنواع: A_1 . A_2 . C . D. يبين المخطط التالي (شكل 4–1) عمل هذه الأنزيمات في تحليل الليسيتين (فوسفاتيديل كولين) علما بأنها تحلل الفوسفو ليبيدات الأخرى مثله تماماً:



الشكل (4–1) الصيغة الكيميائية للمركب فوسفاتيديل كولين مع أسماء الأنزيمات المحللة لها وأماكن عملها.

فأنزيم فوسفو ليباز A_1 يزيل تخصيصاً الحمض الدهني في الموضع 1 بينما يزيل أنزيم فوسفوليباز A_2 الحمض الدهني في الموضع 2. هذا الأخير يوجد بتركيز مرتفع في سموم بعض لأفاعي مؤدياً إلى تشكل المركب لايزوليسيثين، وهو مركب انتقالي لاستقلاب الفوسفو جليسريدات يتمتع بصفات سمية ومخربة للأغشية في التراكيز العالية حيث يؤدي إلى تحلل كريات الدم الحمراء.

أنزيم فوسفوليباز B هو عبارة عن مزيج من فوسفوليباز A_1 وفوسفوليباز A_2 حيث يستطيع أن يزيل على التعاقب الحمضين الدهنيين للفوسفو جليسريدات. أما فوسفوليباز C فيحلمه الرابطة بين الجليسرول وحمض الفوسفوريك، بينما يزيل أنزيم فوسفوليباز D المركب الكحولي مؤديا إلى تشكل مركب يدعى حمض فوسفاتيديك.

4-3-هضم وامتصاص اللبيدات في القناة الهضمية:

تتعرض المواد الدسمة في القناة الهضمية لعدد من التحولات تؤدي إلى إعطاء الوحدات الأساسية المكونة لها.

أ- هضم اللبيدات في الفم والمعدة:

لا يطرأ أي تغيير على تركيب اللبيدات في الفم وذلك لانعدام الأنزيمات المحللة لها في اللعاب. بينما تتحلل الدهون جزئياً في المعدة لاحتوائها على كمية ضئيلة من أنزيم الليباز.

ب- هضم اللبيدات في الأمعاء:

تتعدل حموضة المواد الدسمة بعد خروجها من المعدة بفعل البيكربونات الموجودة في العصارة البنكرياسية. وفي الوقت نفسه تبدأ عملية استحلاب الدهون بفعل أملاح الحموض الصفراوية التي تتشكل في الكبد وتطرح في الأمعاء عن طريق القناة الصفراوية إذ تعمل هذه الأملاح على خفض التوتر السطحي وتجعل امتزاج الدسم مع الماء سهلا مما يؤدي إلى تفكك الدسم إلى قطيرات صغيرة معلقة ضمن الماء (مستحلب، قطر القطيرات لا يتجاوز 0.5 ميكرون) يسهل مهاجمتها من قبل الليباز البنكرياسية التي تهاجم الجليسريدات الثلاثية، فينتج جليسرول وأحماض الدهنية وبعض الجليسريدات الأحادية والثنائية.

ج- امتصاص اللبيدات في الأمعاء:

تمتص الخلايا المخاطية للأمعاء نواتج تحلل اللبيدات. وفي هذه الخلايا تتم إعادة تصنيع جليسريدات ثلاثية من جديد. أما بالنسبة للفوسفوليبيدات فيحصل لجزء منها تحلل وإعادة تصنيع في الأمعاء كما يحصل للجليسريدات. أما الجزء الآخر فيمكن أن يمتص مباشرة كما هو بسبب قابليته النسبية للذوبان في الماء، ثم ينقل بوساطة الدم إلى الكبد.

تنضم في خلايا الأمعاء الجليسريدات الثلاثية المصنعة من جديد مع الكوليسترول الآتي من الغذاء (بعد أستره معظمه بالأحماض الدهنية) وقسم من الفوسفوليبيدات سوية وترتبط مع بعض البروتينات الخاصة مشكلة دقائق صغيرة الحجم قطرها حوالي ربع ميكرون وتسمى

كايلوميكرونات Chylomicrons تتكون الكايلوميكرونات من 0.2–0.5% بروتين، 6–10% فوسفوليبيدات، 2–3% كوليسترول وحوالي 80–90% جليسريدات ثلاثية.

تمر الكايلوميكرونات إلى الشعيرات الدموية عبر الجملة الليمفاوية أولا، أما أملاح الصفراء فلا تمر عبر الجملة الليمفاوية بل تنتقل إلى الكبد بوساطة الدم وتتجمع في المرارة لكي يتم إفرازها ثانية إلى الأمعاء.

تزال الكايلوميكرونات من الدم بسرعة لأن نصف عمرها (أي الزمن الذي تنخفض فيه كميتها إلى النصف) يبلغ عشر دقائق فقط. تنقل معظم الكايلوميكرونات إلى الأنسجة الدهنية للتخزين في ظروف التوازن الحراري. أما بوجود ظروف عدم التوازن الحراري كالصيام مثلا فتستخدم الكايلوميكرونات بشكل رئيسي من قبل العضلات المخططة الحمراء والعضلة القلبية والكبد لإنتاج ما تحتاجه من الطاقة. وفي كل هذه الأحوال لا بد من حلمأة الجليسريدات الثلاثية في الكايلوميكرونات إلى جليسرول وأحماض دهنية بوساطة أنزيم متخصص يدعى لايبوبروتين ليباز Lipoproteine Lipase قبل أكسدتها لإنتاج الطاقة أو قبل تخزينها في الأنسجة الدهنية.

ويجب أن ننوه إلى أنه لا يمكن نقل الأحماض الدهنية في الدم إلا مرتبطة مع البيومين السيروم لأنها بدون ذلك الارتباط تكون غير ذوابة وفي بعض الحالات سامة. كما يجدر بالذكر أن العامل الذي يحدد فيما إذا كانت الأحماض الدهنية تذهب للتخزين في الأنسجة الدهنية أو للأكسدة وإنتاج الطاقة هو مدى حاجة الجسم للطاقة ومدى توفر المصادر الأخرى كالكربوهيدرات. ففي ظروف التوازن الحراري فان أنزيم لايبوبروتين ليباز الذي يوجد بكميات كبيرة في جدران الأوعية الشعرية للنسج السابقة، له فعالية عالية في النسج الدهنية، وهكذا فان الأحماض الدهنية الحرة الآتية من الكايلوميكرونات تنقل إلى النسج الدهنية للتخزين. ويحدث عكس ذلك في ظروف الصيام فإن نشاط هذا الأنزيم ينخفض إلى أدنى حد له في النظم الناقلة المتواجدة في النسج الدهنية، ويرتفع في العضلات والكبد ونسيج القلب، وهي النسج المحتاجة إلى الطاقة. ويجب التنويه إلى أن أنزيم لايبوبروتين ليباز المتواجد بكثرة في النسج الدهنية يكون بشكل غير فعال في ظروف التوازن الحراري. وفي حالات الحاجة الماسة للطاقة ونفاذ المصادر الأخرى لها يتحول هذا الأنزيم إلى الشكل الفعال بآلية معقدة تنظمها هرمونات الأدرينالين. ثم يقوم الأنزيم المنشط بحلمأة الجليسريدات الثلاثية إلى جليسرول وأحماض دهنية حرة. هذه الأخيرة تنتقل إلى الدم بعد أن ترتبط مع البيومين

السيروم لتشكل معقدات ذوابة من الحموض الدهنية والبيومين السيروم. هذا المعقد ينقل بسرعة إلى الكبد والأنسجة المختلفة لأكسدة الأحماض الدهنية وإنتاج الطاقة المطلوبة.

يعود البيومين السيروم إلى التيار الدموي بعد أن يكون قد أفرغ حمولته من الأحماض الدهنية الحرة.

من بين الأنسجة المشار إليها أعلاه يحتل الكبد مكان الصدارة من حيث أهميته في استقلاب اللبيدات، فهو يستقبل اللبيدات من الكايلوميكرونات والأحماض الدهنية من المعقدات (حموض دهنية حرة – البيومين) الناتجة عن تحلل الأنسجة الدهنية. وفي الكبد تجري عدة مسارات استقلابية للمواد الدسمة تهدف إلى أكسدة الأحماض الدهنية وإنتاج الطاقة منها. كما يقوم الكبد أيضاً بتصنيع الأحماض الدهنية من أسيتيل كوأ الناتج عن استقلاب الكربوهيدرات.

4-4 أكسدة الأحماض الدهنية:

تؤكسد الأحماض الدهنية بعدة مسارات استقلابية أهمها الأكسدة في الموضع بيتا (β) أو ما يسمى بالأكسدة بيتا أو الأكسدة الباقية، أما الأنواع الأخرى لأكسدة الأحماض الدهنية فتسمى بالأكسدة ألفا (α) الأكسدة أوميغا (ω)، وسوف نشرح بالتفصيل أهم أنواعها وهي الأكسدة بيتا.

1-4-4 الأكسدة β للأحماض الدهنية:

لقد استطاع العالم كنوب Knoop (عام 1904)، وقبل أن تعرف طريقة الوسم بالنظائر المشعة، أن يتوصل إلى معرفة الطريقة التي تتأكسد فيها الأحماض الدهنية وذلك بوسم هذه الأحماض في ذرة الكربون النهائية بجذر الفنيل، ثم متابعة مصيرها في نسج الأرنب. لقد تبين لهذا الباحث ظهور حمض البنزويك في بول الحيوانات عند هضمها للحموض الدهنية الموسومة ذات العدد الفردي من ذرات الكربون، بينما تشكل فنيل حمض الخل عندما قامت بهضم الحموض الدهنية ذات العدد الزوجي من ذرات الكربون.

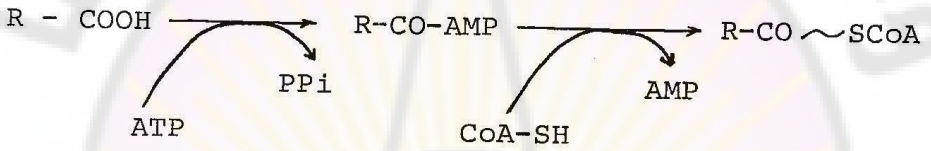
وبالاعتماد على هذه النتائج، ونظراً لامتلاك معظم الأحماض الدهنية الطبيعية عدداً مزدوجاً من ذرات الكربون، فقد افترض كنوب أن أكسدة الأحماض الدهنية حيوياً تتم على مراحل تنفصل في كل واحدة منها ذرتا كربون من النهاية الكربوكسيلية للحمض الدهني. وقد تأكدت الفرضية السابقة تماما بعد استخدام العناصر المشعة في الدراسات الحديثة. وسميت طريقة الأكسدة بيتا (B-oxidation) نظراً لأنها تحصل لذرة الكربون بيتا بالنسبة لمجموعة الكربونيل، أما آلية الأكسدة فقد توضحت بعد عدد كبير من التجارب، وتبين أن عملية الأكسدة

تجري في الخلية داخل المصورات الحيوية (الميتوكوندريا) بصورة متتابعة، لأن الأنزيمات موجودة معاً في معقد واحد.

ونورد فيما يلي شرحاً مبسطاً لخطوات الأكسدة بيتا المشار إليها في الشكل 4-2.

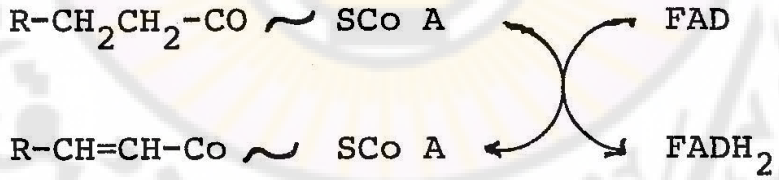
1-تنشيط الحموض الدسمة:

لا بد قبل كل شيء من تنشيط الحموض الدسمة وذلك بربطها بروابط غنية بالطاقة (ثيو ايستر) عن طريق تحويلها إلى مشتقات للمرافق الأنزيمي كوا فينتج أسيل كوأ Acyl COA، وذلك بوساطة أنزيم ثيوكيناز وبوجود أيونات المغنيزيوم وATP الذي يعطي الطاقة المطلوبة بعد تحوله إلى AMP ومجموعة بايروفوسفات حسب المعادلة التالية:



2-نزع الهيدروجين من أسيل كوأ:

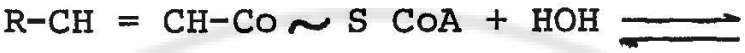
تتم هذه العملية بفضل أنزيم فلافيني يدعى أسيل كوأ ديهايدروجيناز المحتوي على المرافق الأنزيمي FAD حيث يعمل على نزع ذرتي هيدروجين من ذرتي الكربون الفا وبيتا المجاورتين لمجموعة الكربونيل فتتشكل رابطة زوجية من الشكل ترانس وينتج $FADH_2$ والمركب أيونيل كوا (α-β- ترانس ديهايدروو أسيل كوأ).

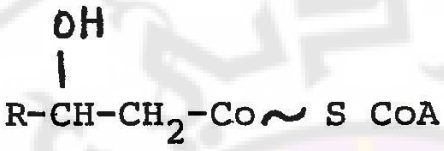


يمكن للأنزيم السابق أن يقوم بالعملية العكوسة، أي هدرجة الرابطة الزوجية إذا توفر في وسط التفاعل $NADPH+H^+$ كمعط للهيدروجين.

3-إضافة الماء إلى اينويل كوأ:

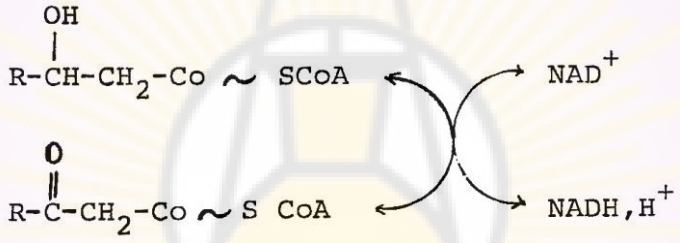
يضم المركب الناتج عن المرحلة السابقة (اينويل كوأ) جزيء ماء بوساطة أنزيم اينويل كوأ هيدراتاز بحيث تنتج مجموعة OH- على ذرة الكربون بيتا فتصبح تلك الذرة غير متناظرة. ولكن الأنزيم متخصص بحيث ينتج المماكب L فقط. فالناتج هو L- بيتا هيدروكسي اسيل كوا.





4-نزع الهيدروجين من بيتا هيدروكسي أسيل كوأ:

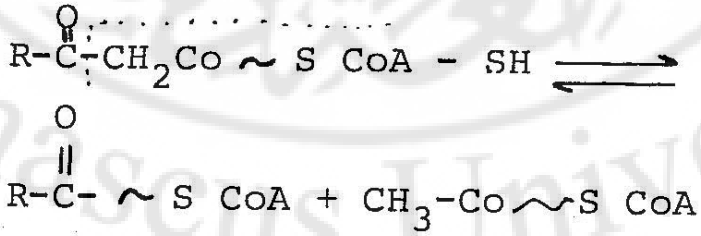
تتم هذه العملية بوساطة الأنزيم β-L هيدروكسي أسيل كوأ وبوجود المرافق الأنزيمي NAD^+ فينتج عن نزع الهيدروجين في الموقع β تشكل مركب كيتوني هو β- كيتو أسيل كو أ الذي يحتوي على مجموعة كربونيل تشكلت على ذرة الكربون بيتا. ومن هنا أتت التسمية (الأكسدة بيتا)



5- تقصير السلسلة الكربونية بفصل ذرتي كربون على شكل أسيتيل كو أ:

حتى هذه المرحلة نلاحظ أن الكربون بيتا للحمض الدهني قد تأكسد بشكل كامل، ولذلك ينقسم الحمض الدهني (بيتا - كيتو أسيل كو أ) ليعطي ذرتي كربون على شكل أسيتيل كو أ وبقية من الحمض أقصر بذرتي كربون من الحمض الدهني الذي ابتدأت به الأكسدة (أسيل كو أ).

الأنزيم المنشط لهذا التفاعل هو بيتا كيتو ثيولاز بوجود المرافق الأنزيمي الحر كوأ (- CoA SH).

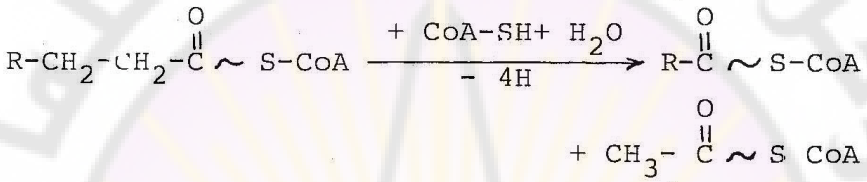


المركب الجديد الناتج أسل كوأ لا يحتاج إلى تنشيط بل يدخل دورة الأكسدة مباشرة في الخطوة رقم /2/ فتقصر سلسلته الكربونية في نهايتها بذرتي كربون جديدين وهكذا دواليك.

نقدم فيما يلي (شكل 4-2) مخططاً عاماً لكافة مراحل الأكسدة بيتا. لاحظ أن جميع التفاعلات عكوسة ماعدا التفاعل الأول الذي يتم فيه تنشيط الحمض الدهني.

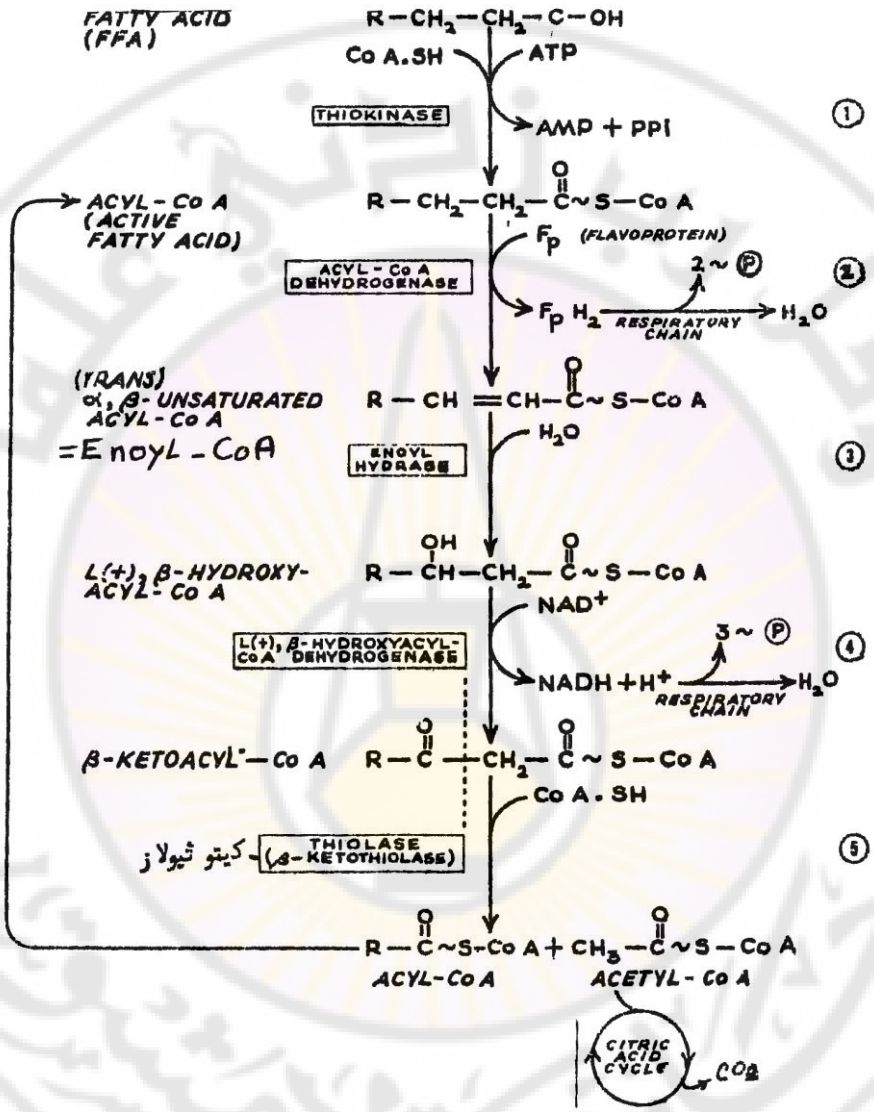
4-4-2-حسابات الطاقة في الأكسدة بيتا للأحماض الدهنية:

أن مجموع التفاعلات الأربعة السابقة التي تلي مرحلة التنشيط الأولى تؤدى إلى:



إذن ينتج أسيتيل كوأ أقصر بذرتي كربون من الحمض الدهني الذي بدأنا به مع تشكل جزيء من أستل كو أ. وان أسيل كو أ الجديد يتابع سلسلة الأكسدة بيتا وفي كل مرة يشكل جزيء جديد من أسيتيل كو أ وهكذا ...

إن المركب أسيتيل كو أ هو نفسه الذي ينتج عن استقلاب الكربوهيدرات، أي أن ناتج أكسدة الدهون (كما هو موضحا بالشكل 4-2) يدخل دورة الأحماض ثلاثية الكربوكسل لإتمام أكسدته فيها وذلك بعد تكاثفه مع الأوكز الوأسيتيك كما مر سابقاً.



الشكل 4–2: مراحل الأكسدة بيتا للأحماض الدهنية

لحساب الطاقة الناتجة عن أكسدة الأحماض الدهنية نأخذ مثالاً أكسدة حمض البالميتيك (C_{16}) الذي يجري تنشيطه مرة واحدة. ويدخل سبع دورات أكسدة بيتا ينتج عن كل منها جزيء $FADH_2$ وآخر $NADH_2$ كما تنتج ثمانية جزيئات أسيتيل كو أ.

لقد مثل العالم Lynen الأكسدة بيتا بحلزون، بحيث تؤدي كل دورة منه إلى تشكل جزيء من اسيتيل كو أ مع نزع أربع ذرات من الهيدروجين. إن حلقات حلزون لينين تتم في المصورات

الحيوية – الميتوكوندريا – حيث توجد دورة كريبس وأنزيمات السلسلة التنفسية التي تقوم بأكسدة المرافقات الأنزيمية المختزلة $FADH_2$, $NADH_2$.

وقد سبق أن ذكرنا في حسابات الطاقة في الكربوهيدرات أن كل جزيء $FADH_2$ ينتج ATP2، وأن كل جزيء $NADH + H^+$ ينتج ATP3. أي أن نقل 4 ذرات من الهيدروجين إلى الأوكسجين خلال السلسلة التنفسية يؤدي إلى تشكل ATP5.

أما جذور الأسيتيل كو أ فتتأكسد خلال دورة كريبس كما رأينا سابقاً بحيث أن كل جزيء أسيتيل كو أ ينتج عن أكسدته الكاملة ATP 12، وبذلك نجد أن كل دورة من الحلزون تؤدي إلى تشكل ATP 5، وخلال 7 دورات أكسدة بيتا نحصل على: 7×5 = 35 ATP.

أما ثمانية الجزيئات الأسيتيل كو أ الناتجة عن الأكسدة الكاملة لحمض البالميتيك فإنها تؤدي إلى تشكل: 12×8=96 ATP. وأن مجموع الطاقة التي يمكن أن تحصل عليها الخيلة من أكسدة مول واحد من حمض البالميتيك: 35+96=131 ATP.

يطرح منها ATP2 استهلكتها عند تنشيط الحمض لأول مرة فيبقى ATP 129 أو ما يعادل 980 كيلو كالوري تقريباً.

وعلى هذا فإن الحمض الدهني المحتوى على (n) من ذرات الكربون يعطي بأكسدته الكاملة $(\frac{n}{2})$ استيل كوا و $(1-\frac{n}{2})$ من جزيئات $FADH_2$ أو $NADH+ H^+$

إن عدد الروابط الغنية بالطاقة الناتجة عن الأكسدة الكاملة لهذا الحمض الدهني يساوي:

$$\text{ATP } \frac{n}{2} \times 12 + 5 \times (1-\frac{n}{2})$$

وباختصار العلاقة نجد:

عدد الروابط الغنية بالطاقة (ATP) = $5 - \frac{n}{2} \times 17$

فاذا كان الحمض الدهني هو حمض الستاريك (C_{18}) فانه يعطي بالأكسدة الكاملة.

$$\text{ATP الـ من جزيئاً 148} = 5 - \frac{18}{2} \times 17$$

ويكون الربح الصافي من الطاقة:

148−2 = ATP 146 أو ما يعادل 1100 كيلو كالوري تقريباً.

لنقارن الآن بين مردود ATP الناتج عن أكسدة جزيء حمض ستايريك والمردود الناتج عن أكسدة جزيء من الجلوكوز.

إن الطاقة الكاملة الناتجة عن أكسدة حمض الستايريك تعادل أربعة أضعاف ما ينتج عن أكسدة جزيء من الجلوكوز في حين يحتوي حمض الستايريك ثلاث أضعاف ما يحتويه الجلوكوز

من ذرات الكربون فقط. أي أن الدهون تنتج بأكسدتها الحيوية طاقة أكثر مما تنتجه الكربوهيدرات.

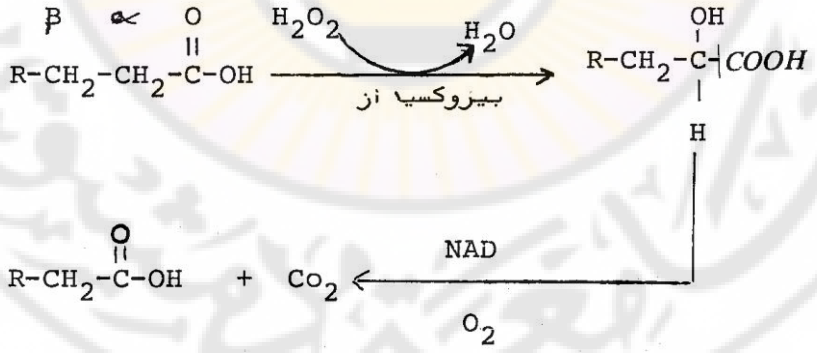
4-4-3-الأكسدة الفا -α Oxidation:

بالرغم من أن الأكسدة بيتا هي المسار الرئيسي لتحلل الأحماض الدهنية في جميع الكائنات الحية نباتية وحيوانية توجد أنواع أخرى من الأكسدة تحدث بشكل أقل تواتراً من الأكسدة بيتا. وقد برهنت الأبحاث العديدة في هذ المجال على وجود نوع من الأكسدة تتحول فيها الأحماض الدهنية طويلة السلسلة (C_{24}) إلى أحماض من نوع الفا هيدروكسي.

حمض ألفا – هيدروكسي R -αCHOH - COOH

هذا النوع من الأحماض يعد أحد مكونات الدماغ كما يوجد في نسج الأوراق والبذور. وتتم الأكسدة ألفا بتحول الأحماض ألفا – هيدروكسي إلى أحماض من نوع ألفا – كيتو:

حمض ألفا – كيتو، ثم تجري عليها عملية نزع مجموعة الكربوكسيل فينتج $R-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-COOH$ عن ذلك أحماض دهنية طويلة السلسلة ذات عدد فردي من ذرات الكربون تدخل دورة الأكسدة بيتا. ونذكر على سبيل المثال طريقة الأكسدة ألفا التي تحدث في البذور أثناء الإنبات وذلك بوساطة أنزيم بيروكسيداز وبوجود فوق أوكسيد الهيدروجين. تنفصل بعد ذلك مجموعة الكربوكسيل على شكل CO_2 تتأكسد ذرة الكربون ألفا المحتوية على مجموعة الهيدروكسيل فتتحول إلى كربوكسيل بوساطة أنزيمات خاصة وبوجود الأوكسجين وهكذا دواليك.



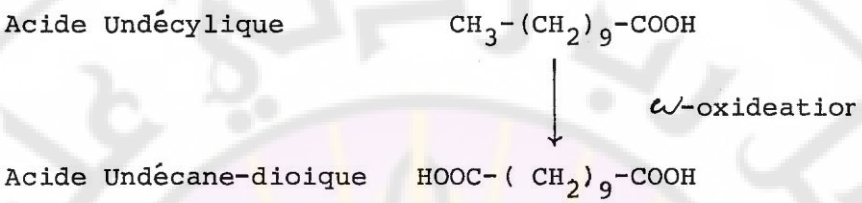
4-4-4-الأكسدة أوميغا (ω) w- oxidatiom

إن نسبة الأحماض الدهنية التي تتأكسد بهذه الطريقة ضئيلة جداً. ولكن تتمثل أهميتها بتشكل المركب مالونيل كو أ الضروري جداً للاصطناع الحيوي للأحماض الدهنية المشبعة.

أثبت فيركاد Verkade عام 1932 أن الأكسدة أوميغا للأحماض الدهنية متوسطة الطول تتم بمساعدة مجموعة من الأنزيمات التي تحتاج في وسط تفاعلها إلى وجود الأوكسجين

و $NADPH_2$ وسايتوكروم P_{450}. ولدى أكسدة الأحماض الدهنية بهذه الطريقة نحصل على أحماض دهنية ثنائية الكربوكسيل:

مثال:

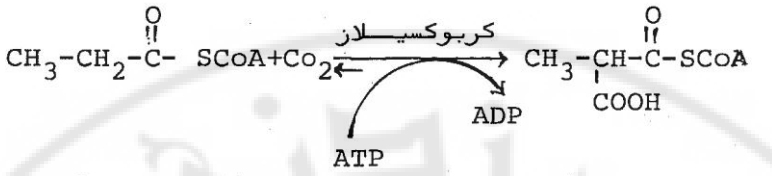


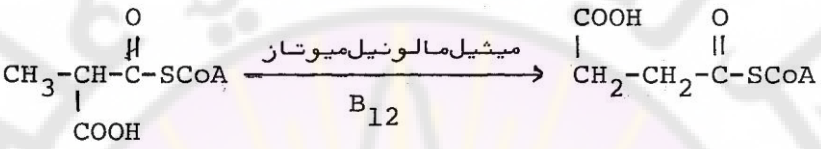
هذه المركبات الناتجة تتأكسد بدورها بطريقة الأكسدة البائية للحصول على مالونيل كو أ.

4-4-5-أكسدة الأحماض الدهنية ذات العدد الفردي من ذرات الكربون:

إن الأحماض الدهنية ذات العدد الفردي من ذرات الكربون والمتواجدة في بعض الدهون، هي أقل انتشاراً بكثير من تلك الحاوية على عدد زوجي من ذرات الكربون ولكنها تتأكسد طبقاً لمراحل طريقة الأكسدة بيتا. إلا أن الاختلاف بينهما يتلخص بمصير الناتج النهائي. ففي الحالة الأولى (عدد زوجي من ذرات الكربون) تؤدي المرحلة النهائية، وهي تفكيك المركب رباعي الكربون (أسيتو أسيتيل كو أ)، إلى تشكل جزيئي اسيتيل كو أ. أما في الحالة الثانية (عدد فردي من ذرات الكربون) فإن تفكك المركب خماسي الكربون، وهو بيتا – كيتو فاليريل كو أ، يعطي جزيء أسيتيل كو أ وجزيء بروبيونيل كو أ.

وتجدر الإشارة هنا إلى أن حمض البروبيونيك قد ينتج أيضاً داخل الجسم من التحلل التأكسدي لبعض الأحماض الأمينية كالفالين والأيزولوسين (انظر فصل استقلاب البروتينات والمركبات النيتروجينية الأخرى). وأن بروبيونيل كو أ الناتج يتأكسد بطريقة مختلفة في الحيوانات عنها في النباتات. ففي الحيوانات يضم المركب بروبيونيل كو أ جزي Co_2 بوجود ATP وبوساطة أنزيم خاص (كربوكسيلاز) يحتوي على البيوتين فينتج مركب وسطي يدعى ميثيل مالونيل كو أ الذي يتحول بتأثير أنزيم ميثيل مالونيل ميوتاز وبوجود فيتامين B_{12} إلى مماكبه المسمى سكسنيل كو أ، حيث يتابع تأكسده ضمن دورة كريبس.





أما في النباتات فان المركب بروبيونيل كو أ يخضع إلى سلسلة من التفاعلات المحرضة من قبل عدد من الأنزيمات المتخصصة ليتحول في النهاية إلى مالونيل كو أ. هذا الأخير يتحول بدوره إلى أسيتيل كو أ بعد أن يفقد مجموعته الكربوكسيلية، حيث يتابع تأكسده ضمن دورة كريبس.

4-4-6-أكسدة الأحماض الدهنية غير المشبعة:

لا فرق من حيث المبدأ بين أكسدة الأحماض الدهنية المشبعة وغير المشبعة، فكلاهما يخضع إلى خطوات نظام الأكسدة بيتا بعد إدخال تعديلين طفيفين على نظام أكسدة الأحماض الدهنية غير المشبعة. فالرابطة الزوجية في الأحماض الدهنية الطبيعية غير المشبعة هي من الشكل المقرون CiS كحمض الأوليك بينما الرابطة الزوجية في المركبات الوسطية (ايستيرات كو أنزيم أ) هي من الشكل المفروق Trans هذا بالإضافة إلى تغير مكان الرابطة الزوجية في أغلب الأحماض الدهنية غير المشبعة بنتيجة الأكسدة وفصل الأجزاء ثنائية الكربون.

ومن المعلوم أن أنزيم اينويل هيدراتاز لا يستطيع إماهة اينويل كو أ، إلا أن هناك أنزيماً إضافياً من نوع ايزوميراز يعمل على تنشيط تفاعل انتقال الرابطة الزوجية من الموقع 3-4 إلى الموقع 2-3 مع إحداث تغيير في الوضع الفراغي لها من الشكل Cis إلى الشكل Trans . والمركب الناتج عن هذا التفاعلي مداداً طبيعياً لأنزيمات أكسدة الأحماض الدهنية، وبالتحديد اينويل هيدراتاز، حيث يتابع تأكسده بشكل عادي.

أما التعديل الثاني فيتعلق بالطبيعة الفراغية للمركب الناتج عن إماهة اينويل كو أ. ففي حالة الأحماض الدهنية غير المشبعة ينتج المركب بيتا –D– هيدروكسي أسيل كو أ وليس بيتا –

L – هيدروكسي أسيل كو أ. لذلك يتدخل أنزيم آخر من نوع ابيمراز، حيث يعمل على تحويله إلى المماكب L ليتابع خطوات الأكسدة.

وهكذا فان وجود أنزيمي الأيزومراز وابيمراز المتخصصين بالأحماض الدهنية، يؤمن إمكانية الأكسدة التامة لجميع الأحماض الدهنية غير المشبعة الموجودة في المواد الدسمة.

4-5-مصير أسيتيل كو أ الناتج عن أكسدة الأحماض الدهنية:

المركب أسيتيل كو أ الناتج عن أكسدة الأحماض الدهنية يمكن أن يأخذ أربع طرق استقلابية:

1- يحرق بدخوله دوره كريبس متحولا إلى CO_2 وماء.

2- تستفيد منه العضوية الحية لاصطناع الأحماض الدسمة.

3-قد يتحول في بعض الحالات إلى أجسام كيتونية (داء السكري، الصيام الطويل، الصيام عن المواد السكرية).

4- يسهم في تكوين حمض الميفالون. Mevalonic Acid الذي يشكل بحد ذاته طليعة تشكل الكولسترول.

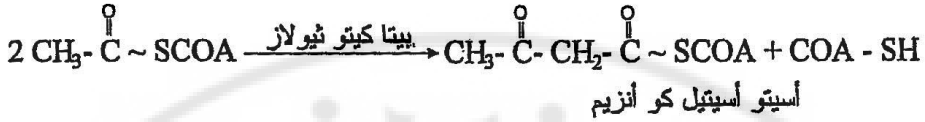
4-6-تكون الأجسام الكيتونية:

تختلف سرعة أكسدة الحموض الدهنية باختلاف النسج؛ ففي الكبد بشكل خاص تتأكسد الحموض الدهنية في بعض الأحيان إلى أسيتيل كو أنزيم A بسرعة أكبر من استعمال أسيتيل كو أنزيم A في دورة كريبس. تحت هذه الظروف يتحول أسيتيل كو أنزيم A الناتج عن أكسدة الدهون إلى أجسام كيتونية.

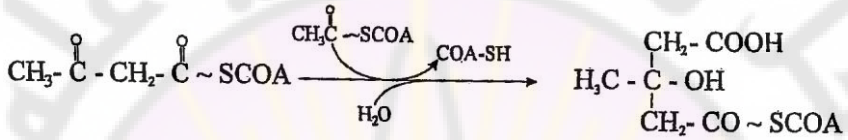
يقصد بالأجسام الكيتونية حمض أسيتو أسيتيك (حمض الخل الخلي)، وحمض بيتا هيدروكسي بيوتيريك (بيتا – هيدروكسي حمض الزبدة)، والأسيتون (الخلون). ففي الحالات التي يقل فيها مخزون الجلايكوجين في الكبد نتيجة جهد عضلي مرهق أو الإصابة بداء السكري أو الصيام الطويل فإن تحلل السكر يتوقف بسبب نفاذ حمض الأوكزالو أسيتيك، عند ذلك يعتمد الجسم على أكسدة الدهون لإنتاج الطاقة مما يؤدي إلى حدوث تراكم في اسيتيل كو أنزيم A. وهذا يؤدي إلى تحمض الدم Keto- Acidosis إلى درجة خطيرة تؤدي إلى الموت.

آلية تشكل الأجسام الكيتونية:

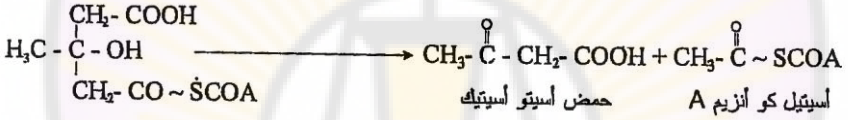
(1) تكوين حمض أسيتو أسيتيك: يتكثف جزيئان من اسيتيل كو انزيم A بوساطة أنزيم بيتا كيتوثيولاز، لتكوين أسيتو أسيتيل كو انزيم A، وتحرير جزيء من مرافق الأنزيم A.



المركب الناتج أسيتو أسيتيل كو أنزيم A يتحول إلى بيتا هيدروكسي – بيتا ميثيل جلوتاريل كو أنزيم A بوساطة الأنزيم بيتا – هيدروكسي – بيتا ميثيل كو أنزيم A سنثياز، وبوجود جزيء من أسيتيل كو أنزيم A وجزيء من الماء.

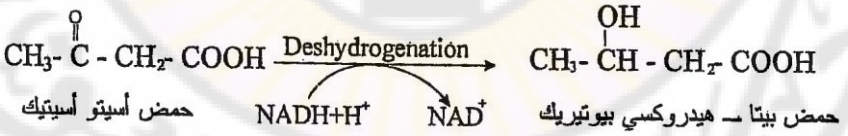


يتحول المركب الناتج بيتا – هيدروكسي – بيتا – ميثيل جلوتاريل كو أنزيم A، تحت تأثير الأنزيم بيتا – هيدروكسي – بيتا – ميثيل جلوتاريل كو أنزيم A لياز إلى حمض أسيتو أسيتيك.



2- تكوين حمض بيتا – هيدروكسي بيوتريك:

يختزل حمض أسيتو أسيتيك أنزيمياً بوجود $NADH_2$ ليعطي حمض بيتا هيدروكسي بيوتوريك.



3- تكوين الأسيتون:

يتحول حمض أسيتو أسيتيك إلى أسيتون بفقد مجموعته الكربوكسيلية تلقائياً ودون تدخل آلية وساطة أنزيمية.

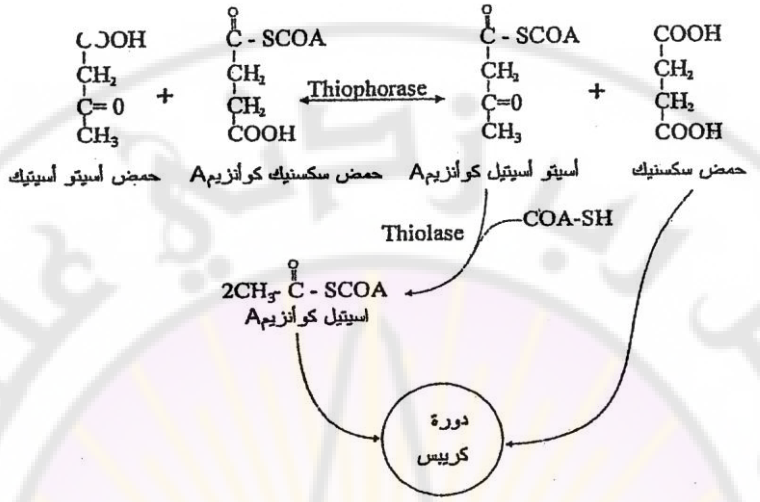


الأسيتون الناتج لا يستقلب بدرجة كبيرة في الجسم حيث يطرح معظمه مع البول، أما المركبان الآخران فهما يشكلان مصدراً للطاقة لكل من عضلة القلب والكلية وبخاصة الدماغ ففي هذه الأنسجة يتحول حمض الأسيتو أسيتيك مثلاً إلى أسيتيل كو أنزيم A خلال مرحلتين:

أ-في المرحلة الأولى يتحول حمض أسيتو أسيتيك إلى أسيتو أسيتيل كو أنزيم A بوساطة أنزيم ثيوفوراز Thiophorase (يسمى أيضاً كو أنزيم A ترانسفيراز) ووجود سكسينيل كو أنزيم A (شكل 4-3).

ب-في المرحلة الثانية يتحلل أسيتو أسيتيل كو أنزيم A الناتج إلى جزيئين من أسيتيل كو أنزيم A بوساطة أنزيم ثيولاز Thiolase (شكل 4-3).

وأخيراً تتم أكسدة النواتج وهي أسيتيل كو أنزيم A وحمض السكسنيك في دورة كريبس. ولكن يجب الانتباه والتأكيد على الخواص الحمضية القوية نسبياً لكل من أسيتو أسيتيك وبيتا - هيدروكسي بيوتريك، حيث إن طرحهما عن طريق البول عبر سوائل الجسم والدم يؤدي إلى استنزاف احتياطي الجسم من القلويات، وهذا يؤدي كما أشرنا سابقاً إلى ظهور أعراض احمضاض كيتوني. وهكذا فإن ارتفاع تركيز الحموض الدهنية الحرة في الكبد مرتبط بسبب وحيد هو سوء استقلاب السكريات. فإذا علمنا أن الكبد هو مصدر إنتاج الأجسام الكيتونية بسبب تراكم حمض الأسيتو أسيتيك فيه وقدرته المنخفضة على تنشيطه وأكسدته لغياب أنزيم ثيوفوراز Thiophorase المشار إليه آنفاً، وهو العضو الذي يستهلك الكمية الكبرى من الحموض الدهنية، فإن أية إصابة كبدية تستهدف توقيف عمليات الأكسدة بيتا ستؤدي إلى تشحم الكبد.



الشكل (4-3): مراحل تحول حمض أسيتو أستيك إلى أسيتيل كو أنزيم

4-7-الاصطناع الحيوي للبيدات:

تابعنا في الصفحات السابقة من هذا الفصل مصير لبيدات الغذاء من لمعة الأمعاء الدقيقة حتى وصولها إلى أماكن الاحتياج. وتبين لنا أن لبيدات الغذاء تلبي جزءاً كبيراً من حاجة الجسم لهذه اللبيدات، وإن الكربوهيدرات الزائدة عن حاجة الجسم تتحول إلى حموض دهنية تخزن على شكل جليسريدات ثلاثية في الأنسجة الدهنية الخازنة.

وسوف نتعرض فيما يأتي إلى خطوات الاصطناع الحيوي للأحماض الدهنية، وكيفية تكوينها للجليسريدات الثلاثية، ثم لآلية اصطناع إحدى أهم مركبات اللبيدات، وهي الفوسفولبيدات.

4-7-1-اصطناع الحموض الدهنية المشبعة:

إن الاصطناع الحيوي للحموض الدهنية لا يتم بخطوات معاكسة لخطوات الأكسدة بيتا لهذه الحموض، على الرغم من أن تفاعلات الأكسدة بيتا هي تفاعلات عكوسة باستثناء التفاعل المحرض من قبل أنزيم أسيل كو أنزيم A ديهايدروجيناز. فاصطناع الحموض الدهنية يتم بشكل رئيسي في السايتوبلازم وليس في المصورات الحيوية (الميتوكوندريا)، حيث تتم الأكسدة وحيث توجد أنزيماتها.

يشكل المركب أسيتيل كو أنزيم A (الناتج عن تحلل كل من الكربوهيدرات والدهون) المادة الأولية اللازمة لاصطناع الحموض الدهنية. وعملية الاصطناع تتطلب من الخلايا القدرة على اختزال المجموعات الكيتونية. ويتم ذلك بمساعدة المركب $NADPH, H^+$ كما يحتاج الاصطناع أيضاً إلى وجود CO_2 كوسيط، وعلى عكس الأكسدة بيتا التي تتم بتفاعلات

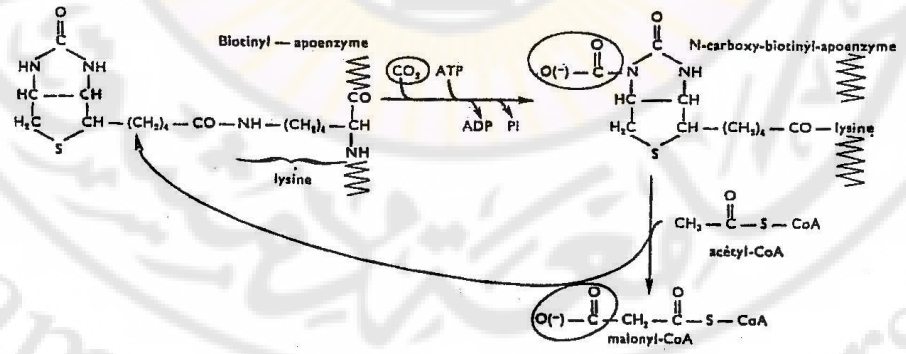
المركبات الوسطى كلها على شكل مشتقات للمرافق الأنزيمي كو A[$R-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-SCOA$] فقد أوضح لينين Lynen ومساعدوه أن الاصطناع يتم والمركبات الوسطية من البداية للنهاية مرتبطة بمعقد يسمى البروتين حامل الأسيل Acylcarrier Protein، ويرمز له بالرمز ACP.

إن المجموعة الإضافية لهذا البروتين هي فوسفو بانتيثين Phospho Pantetheine المرتبطة به برابطة أيستر بين مجموعتها الفوسفاتية ومجموعة هيدروكسيل حمض السرين الداخل في تركيب هذا البروتين. إن مجموعة بانتيثين تشبه إلى حد بعيد كو أنزيم A، لاسيما من حيث احتواءها على مجموعة سلفو هيدريل (الجزء الفعال في تثبيت ونقل مجموعات الأسيل). وبذلك تكون المشتقات على شكل$R-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-S-ACP$.

من جهة أخرى فقد أشار كل من لينين Lynen وواكيل Wakil إلى وجود جسيم معقد مع البروتين حامل الأسيل (ACP) يتألف من سبعة أنزيمات تعمل على التسلسل، أي أن ناتج أحدهما يكون مادة التفاعل للأنزيم الثاني وهكذا. ونورد فيما يأتي تفاصيل خطوات الاصطناع الحيوي للحموض الدهنية المشبعة.

1-تشكل موالونيل كو أنزيم A:

يتم هذا التفاعل بإضافة CO_2 إلى أسيتيل كو أنزيم A بمساعدة أنزيم أسيتيل كو أنزيم A كربوكسلاز المحتوي على البيوتين، وبوجود ATP وشوارد المنغنيز (شكل 4-4). وعملية الإضافة تتم على مرحلتين: ففي المرحلة الأولى يستقبل البيوتين CO_2 في تفاعل ماص للطاقة وفي المرحلة الثانية يتفاعل الناتج (كربوكسي البيوتين) مع أسيتيل كو أنزيم A.

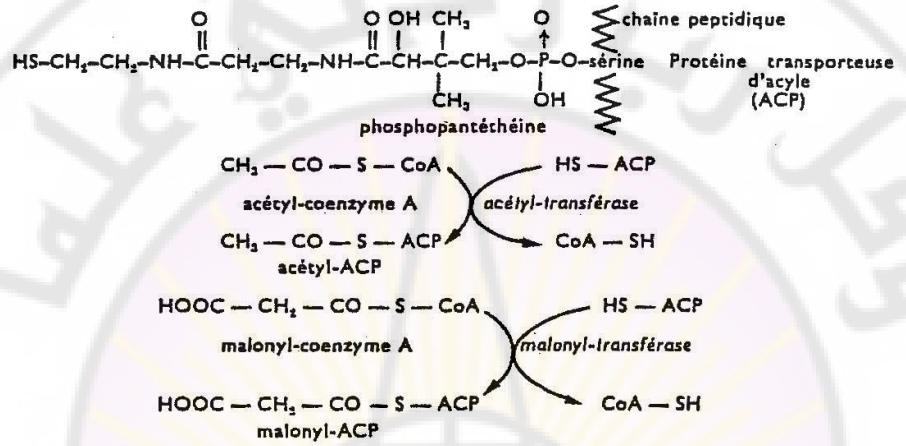


الشكل 4-4: تفاعلات اصطناع مالونيل كو أنزيم A.

2-انتقال مجموعة المالونيل إلى البروتين حامل الأسيل:

تنتقل مجموعة المالونيل من حاملها كو أنزيم A إلى ACP بوساطة أنزيم مالونيل تراسفيراز Malonyl- Transferase وينتج البروتين حامل المالونيل (شكل 4-5). وبشكل مماثل

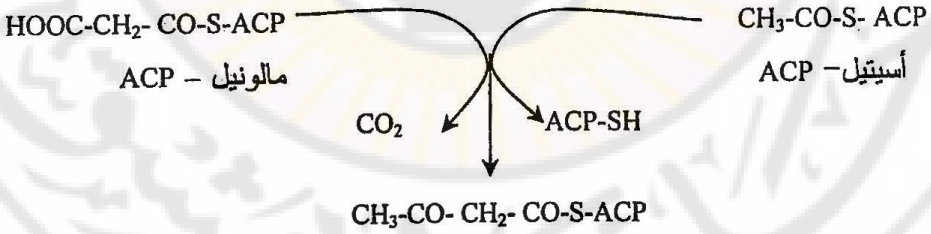
للتفاعل السابق فإن جزيئاً آخر من أسيتيل كو أنزيم A يتفاعل مع البروتين حامل الأسيل (ACP-SH) بوجود أنزيم أسيتيل تراسفيراز Acetyl-Trasferase وينتج البروتين حامل الأسيتيل (شكل 4-5).



الشكل 4-5: التركيب الكيميائي للفوسفو بانتيثين (المجموعة الإضافية لـ ACP) وتفاعلات انتقال مجموعات الأسيل على هذا البروتين.

3-التكاثف إلى أربع ذرات كربون:

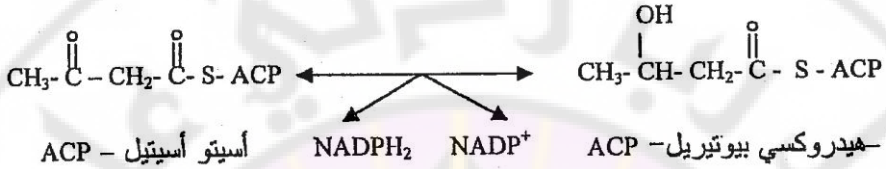
يقوم أنزيم التكاثف، الموجود في معقد الأنزيمات للحموض الدهنية، بربط مجموعتي المالونيل والأسيتيل فيتحرر CO_2 وينتج أسيتو أسيتيل – ACP.



ثاني أوكسيد الكربون المتحرر عن هذا التفاعل هو نفسه الذي أضيف في الخطوة الأولى عند تشكيل مالونيل كو أنزيم A. أي أنه أدى دور وسيط لا أكثر. لذلك يمكن اعتبار حصيلة التفاعلات الجارية حتى الآن عبارة عن تكاثف جزيئي أسيتيل كو أنزيم A لإنتاج مجموعة أسيتو أسيتيل محمولة على البروتين واستهلاك رابطة غنية بالطاقة (ATP).

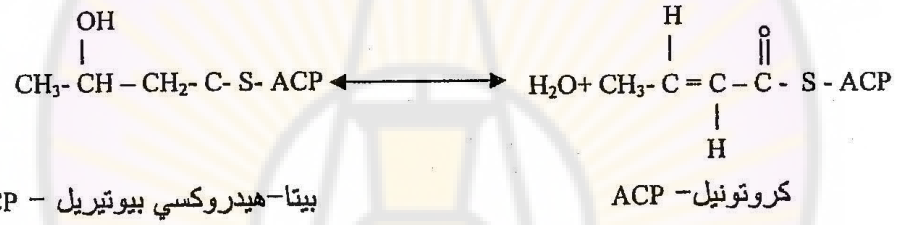
4-اختزال مجموعة أسيتو أسيتيل – ACP:

يعمل أنزيم بيتا – كيتو أسيل – ACP رودكتاز على إضافة ذرتي هيدروجين إلى مجموعة الأسيتو أسيتيل – ACP.



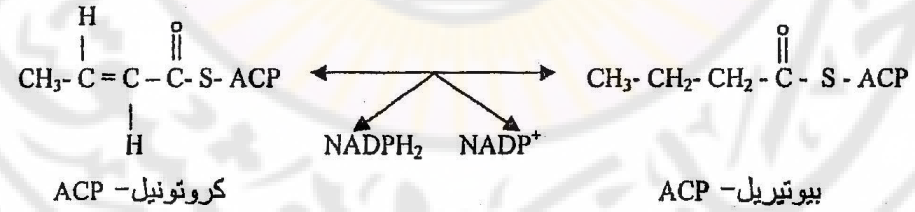
5-نزع الماء وتشكل الرابطة المضاعفة:

يخضع المركب بيتا هيدروكسي بيتوتيريل – ACP إلى عملية نزع الماء بفعل أنزيم أينول– ACP ديهايدراز (Enol ACP dehydrase) فيتشكل المركب كروتونيل– ACP.



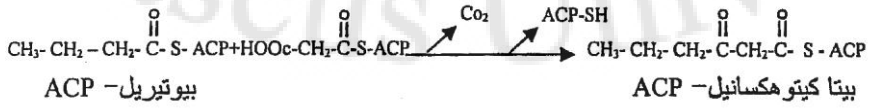
6-اختزال الرابطة المضاعفة وتشكل بيوتيريل – ACP:

تتم عملية الاختزال بإضافة ذرتي هيدروجين من المرافق الأنزيمي $NADPH_2$؛ فيتشكل المركب بيوتيريل – ACP.

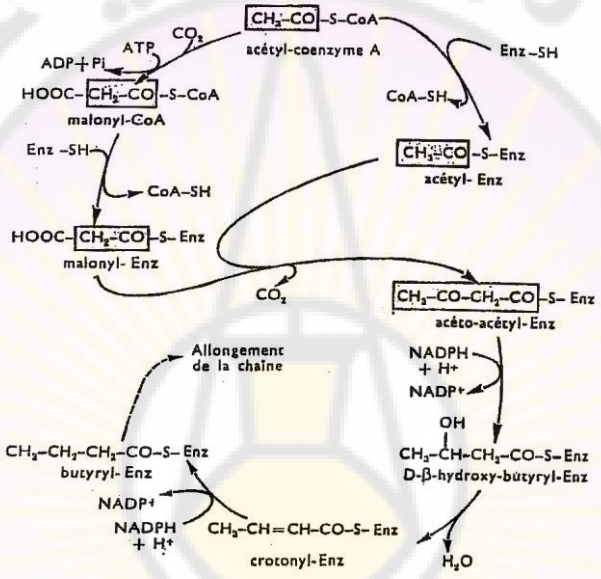


7-تكرار تتابع الاصطناع:

إن بيوتيريل – ACP المتشكل في الخطوة السابقة يدخل في مرحلة ثانية من التفاعلات، حيث يحل محل أسيتيل–ACP في الخطوة رقم 3 من مراحل الاصطناع فتطول السلسلة الكربونية بذرتي كربون جديدتين من مالونيل–ACP وينطلق CO_2 كما يأتي:



يخضع المركب الناتج إلى خطوات مماثلة للخطوات 4–7 فينتج المركب هكسانويل– ACP الذي لا يلبث أن يتفاعل مرة ثانية مع مالونيل – ACP لإضافة ذرتي كربون جديدتين. وهكذا تتكرر الخطوات حتى يصل طول السلسلة إلى 16 أو 18 ذرة كربون حسب احتياجات الخلية. ونورد فيما يأتي مراحل التصنيع الحيوي للحموض الدهنية خلال دورة واحدة، والمؤدية إلى تشكل سلسلة تحتوي على أربع ذرات من الكربون (الشكل 4–6).



الشكل (4–6): مراحل التصنيع الحيوي للحموض الدهنية خلال الدورة الأولى المؤدية إلى تشكل سلسلة تحتوي على 4 ذرات من الكربون.

الحموض الدهنية المصنعة بهذه الطريقة تتحرر من حواملها البروتينية بإحدى طريقتين:

إما أن تتحلمأ إلى حموض دهنية حرة، وإما أن تتفاعل مع كو أنزيم A لإنتاج أسيل الحمض الدهني، مع تحرير البروتين حامل الأسيل في وسط التفاعل:

$$CH_3\text{-}(CH_2)_n\text{-}\overset{O}{\overset{\|}{C}}\text{-}S\text{-}ACP + COA\text{-}SH \rightleftharpoons CH_3\text{-}(CH_2)_n\text{-}\overset{O}{\overset{\|}{C}}\text{-}S\text{-}COA + ACP\text{-}SH$$

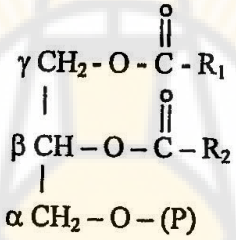
من جهة أخرى فقد أثبت العالم لينين Lynin أن المصورات الحيوية (الميتو كو ندريا) قادرة على عكس خطوات الأكسدة بيتا للحموض الدهنية، ومن ثم تصنيعها دون الحاجة إلى تثبيت CO_2. ولكن لكي تتمكن الخلية من عكس تفاعل الخطوة الثانية من الأكسدة بيتا تحتاج حتماً إلى المرافق الأنزيمي $NADPH_2$ بدلاً من الفلافو بروتين، وإلى الأنزيم المختزل للاينويل

Enoyl – COA – Reductase بدلاً من أنزيم أسيل كو أنزيم A ديهايدروجيناز، المستخدم في الأكسدة. ومع ذلك فإن آلية اصطناع الحموض الدهنية داخل المصورات الحيوية (الميتو كو ندريا) بهذه الطريقة لا تتم ابتداءً من أسيتيل كو أنزيم A؛ بل تحصل بتطويل السلسلة الكربونية، بإضافة وحدات من أسيتيل كو أنزيم A إليها. ولذلك ينتج عن هذه الطريقة في التصنيع حموض دهنية طويلة السلسلة (18–26).

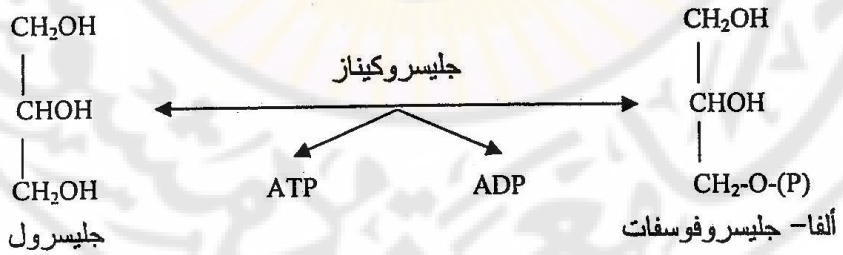
من جهة أخرى فقد بينت الأبحاث الحديثة في هذا المجال أن الاصطناع الحيوي للحموض الدهنية قصيرة السلسلة، لدى بعض الكائنات الحية، يمكن أن يتم بخطوات معاكسة لمراحل أكسدتها.

4–7–2– الاصطناع الحيوي للجليسريدات الثلاثية:

يشترك مسار اصطناع الجليسريدات الثلاثية مع مسار اصطناع الفوسفو لبيدات بوجود حمض فوسفاتيديك ألفا كمركب وسطي، وله الصيغة المجملة الآتية:

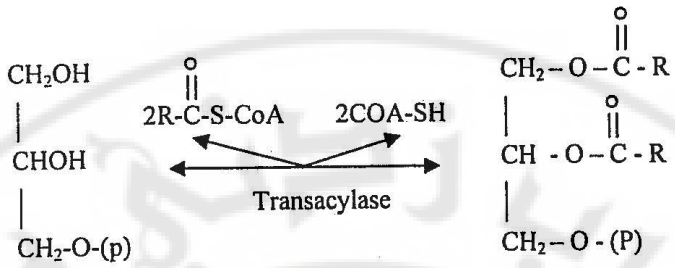


إن مراحل تكون هذا الحمض تبدأ بفسفرة الجليسرول بوساطة ATP، ووجود أنزيم جليسروكيناز، فيتكون المركب ألفا – جليسرو فوسفات.



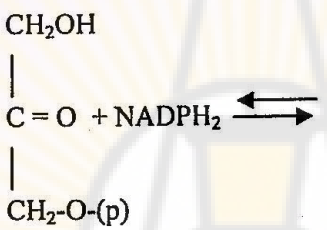
المركب الناتج، ألفا – جليسرو فوسفات، يرتبط مع حمضين دهنيين (على شكل أسيل كو أنزيم A).

فيتكون بذلك حمض فوسفا تيديك – α. يرعى هذا التفاعل أنزيم ترانس أسيلاز (أو أسيل ترانسفيراز).



ألفا– جليسروفوسفات　　حمض فوسفاتيديك– α

يمكن للخلية أن تزود التفاعل السابق بالمركب ألفا – جليسرو فوسفات برعاية تفاعل آخر يستهدف اختزال المركب ثنائي هيدروكسي فوسفات الأسيتون (الناتج عن تحلل الكربوهيدرات) بوساطة $NADPH_2$.

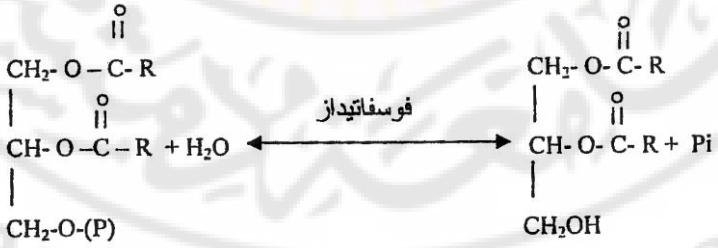


ألفا– جليسروفوسفات　　ثنائي هيدروكسي فوسفات الأسيتون

تتكون الجليسريدات الثلاثية من حمض فوسفاتيديك – α بتتابع تفاعلين:

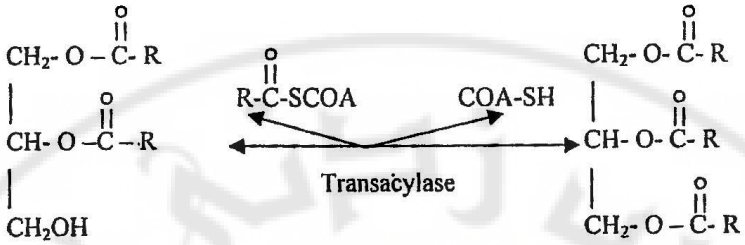
التفاعل الأول:

يتم فيه حلمأة حمض فوسفاتيديك –α بفضل مجموعة الفوسفات بوساطة أنزيم من نوع فوسفاتيداز (Phosphatidase) فينتج جليسريد ثنائي (ثنائي أسيل جليسرول)



حمض فوسفاتيديك – α　　جليسريد ثنائي

الجليسيريد الثنائي يرتبط بدوره مع أسيل كو أنزيم A بمساعدة أنزيم ترانس أسيلاز؛ فيتكون جليسريد ثلاثي.



جليسريد ثنائي　　جليسريد ثلاثي

وتجدر الإشارة إلى أن مجموعات الأسيل في التفاعل السابق بدت متماثلة، لكن ما يحدث عملياً أن الجليسريد الثلاثي الناتج يحتوي في الغالب على ثلاثة حموض دهنية مختلفة، كما يوجد ميل لوجود حمض دهني غير مشبع في الموقع بيتا.

4-7-3-الاصطناع الحيوي للفوسفو لبيدات:

تشترك الفوسفو لبيدات في استقلابها مع استقلاب الجليسريدات الثلاثية عن طريق حمض فوسفاتيديك-α الذي سبق وبينا طريقة تشكيله عند اصطناع الجليسريدات الثلاثية.

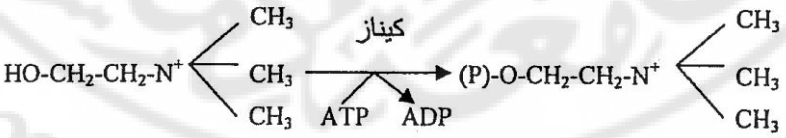
يوجد مسارات لاصطناع الفوسفو لبيدات، حيث يعمل الأول بشكل رئيسي في الحيوانات العليا، بينما يعمل المسار الثاني في النباتات والأحياء الدقيقة. ويتم التنشيط في كلا المسارين بوساطة المركب سايتيدين ثلاثي الفوسفات (STP).

أ-تفاعلات المسار الأول:

يمكن توضيح خطوات الاصطناع الحيوي للفوسفو لبيدات من خلال طريقة اصطناع الليسيثين (فوسفا تيديل كولين).

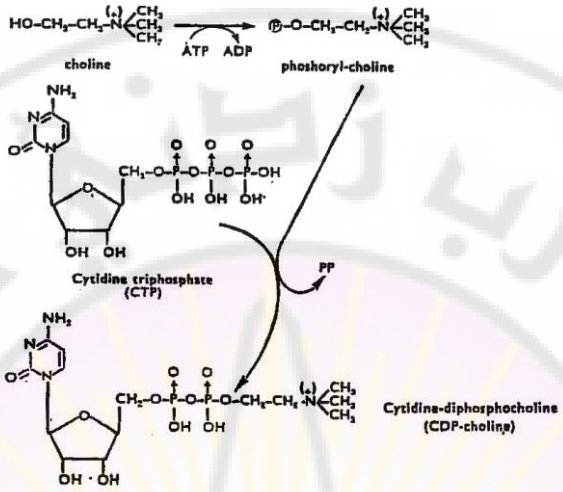
(1)فسفرة القاعدة كولين:

يعمل أنزيم متخصص من نوع كيناز على فسفرة الكولين بوجود ATP، فينتج المركب فوسفوريل كولين



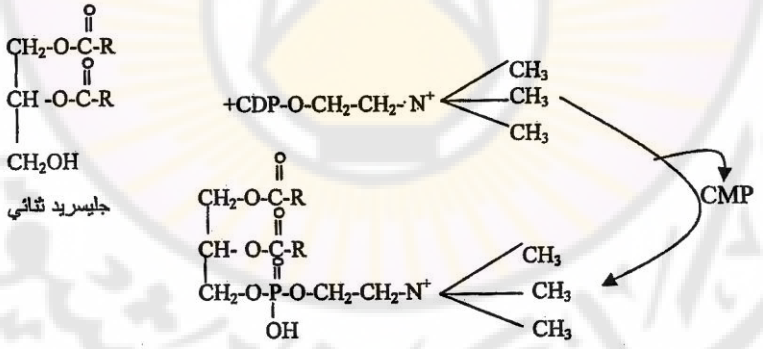
كولين　　فوسفوريل كولين

(2) يتحد فوسفوريل كولين الناتج مع نيو كليوتيد ثلاثي هو سايتيدين ثلاثي الفوسفات (STP)؛ فينتج كولين – سايتيدين ثنائي الفوسفات (SDP-choline) (شكل 4-7).



الشكل (4–7): التفاعلات المؤدية إلى تشكل المركب كولين – سايتيدين ثنائي الفوسفات.

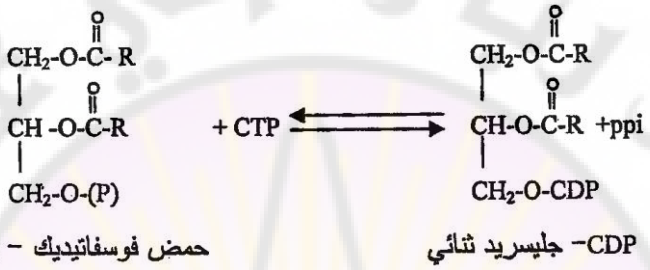
(3) الجليسريد الثنائي الناتج عن تحلل حمض فوسفاتيديك–α يرتبط بالفوسفوريل كولين، الذي ينتقل إليه من كولين – سايتدين ثنائي الفوسفات، فينتج فوسفاتيديل كولين (الليسيثين) وسايتيدين أحادي الفوسفات (CMP).



وبطريقة مماثلة يمكننا أن نحصل على مركب السيفالين (فوسفاتيديل أيثانول أمين)، أما فيما يتعلق بالمركب فوسفاتيديل سيرين فإن آلية اصطناعه تتم بدءاً من المركب فوسفا تيديل ايتانول أمين، وذلك من خلال تبادل القاعدتين النتروجينيتين (ايثانول أمين وسيرين).

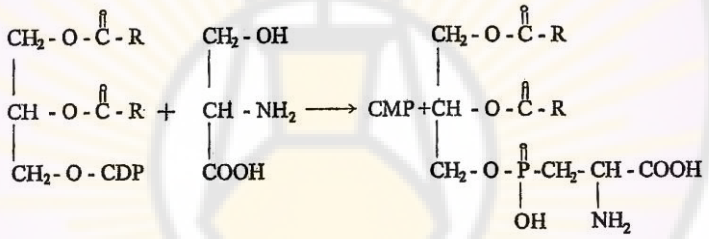
ب–تفاعلات المسار الثاني:

في هذا المسار يتم اصطناع الفوسفو لبيدات بدءاً من المركب حمض فوسفا تيديك–α ، الذي يتم تنشيطه بوساطة النيوكليوتيد الثلاثي سايتدين ثلاثي الفوسفات (STP)، فينتج المركب CDP– جليسريد ثنائي.



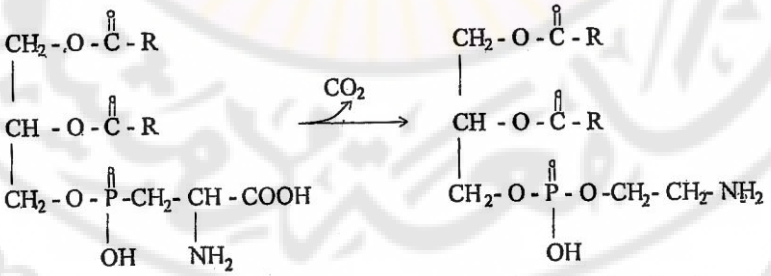
حمض فوسفاتيديك – α　　CDP– جليسريد ثنائي

المركب الناتج، CDP– جليسريد ثنائي، يتفاعل بدوره مع الحمض الأميني السيرين؛ فينتج فوسفا تيديل السيرين:



CDP - جليسريد ثنائي　　سيرين　　فوسفا تيديل سيرين

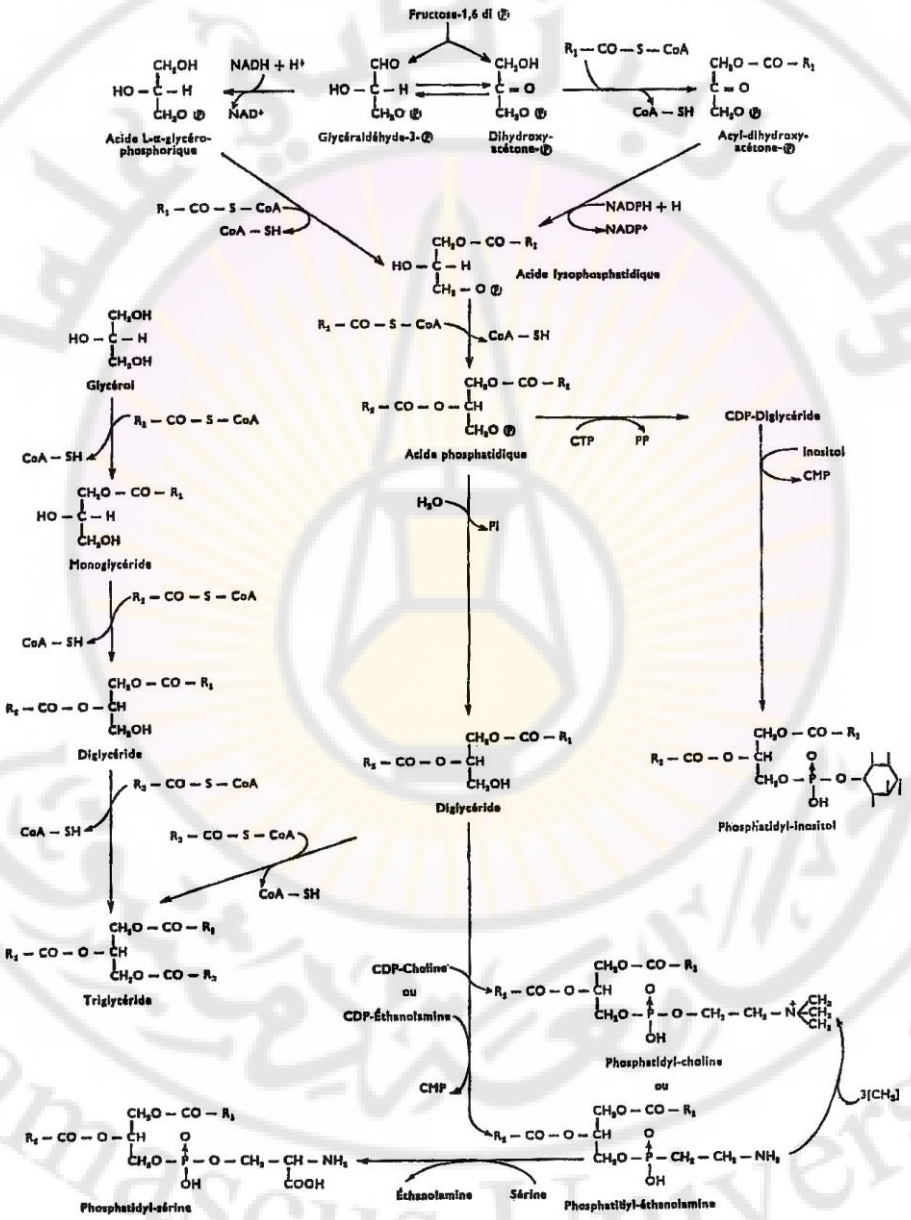
يمكن للمركب الناتج، فوسفا تيديل سيرين، أن يتحول إلى فوسفو لبيد آخر هو فوسفا تيديل أيثانول أمين، ينزع مجموعة الكربوكسيل على شكل CO_2:



فوسفا تيديل سيرين　　فوسفا تيديل ايثانول أمين

ونشير أخيراً إلى وجود طريقة تسمح بتحول المركب فوسفا تيديل ايثانول أمين إلى فوسفا تيديل كولين، عن طريق تثبيت ثلاث مجموعات ميثيل على الوظيفة الأمينية للمركب فوسفا

تيديل ايثانول أمين. انظر المخطط العام (الشكل 4–8) لمراحل الاصطناع الحيوي لكل من الجليسريدات الثلاثية والفوسفو لبيدات.



الشكل 4–8: مراحل الاصطناع الحيوي للجليسريدات الثلاثية والفوسفو لبيدات.

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

الفصل الخامس

استقلاب البروتينات والمركبات النيتروجينية الأخرى

Metabolism of Ni Trogenous Biomolecules

5-1- مقدمة:

تحتوي جميع الكائنات الحية (سواء أكان ذلك يتعلق بالبكتريا أم بالنباتات أم بالحيوانات أم حتى بالعضويات التي لا تعيش حياة مستقلة خاصة بها كالفيروسات، أو التي لا تمثل إلا قوة الحياة كالأبواغ) على العديد من المركبات النيتروجينية التي تشمل على سبيل المثال البروتينات والأحماض الأمينية والأحماض النووية والنيوكليوتيدات البيريميدينية والبيورينية وغيرها من المركبات.

تشكل البروتينات المتناولة عن طريق الغذاء المصدر الرئيسي للنيتروجين بالنسبة للحيوانات، بينما تستطيع النباتات والعديد من العضويات المجهرية الاستفادة من النترات وأحياناً من النشادر لصنع الأحماض الأمينية والبروتينات.

تخضع البروتينات والببتيدات في الجهاز الهضمي لتفاعلات الحلمهة الأنزيمية الكاملة (أنزيمات البروتياز Proteases) كمرحلة أولى في تفاعلات التفكك، فتتحول إلى أحماض أمينية تستطيع النفوذ عبر الأغشية الخلوية بحرية تامة وتصل إلى الدم حيث تنتقل بواسطته إلى الأنسجة المختلفة وعلى وجه الخصوص الكبد. يحتفظ الكبد ببعض الأحماض الأمينية لأغراض الاصطناع الخاصة به ويسمح للباقي بالمرور إلى الأنسجة الأخرى ليصنع منها البروتينات الضرورية وبعض الهرمونات. والكبد هو المكان المعد لصنع عدد من بروتينات الدم مثل الألبومين، الغلوبولينات والغايبرينوجين. كما يقوم الكبد أيضاً باستقلاب الأحماض الأمينية الزائدة عن اصطناع البروتينات فيه محولاً النيتروجين إلى يوريا لطرحها خارج الجسم. والأحماض الأمينية التي تفقد جذرها الأميني يتحول بعضها إلى أحد المركبات الوسطية الموجودة في دورة كريبس، حيث تتحول في النهاية إلى جلوكوز، وتدعى هذه الأحماض الأمينية بمكونات الجلوكوز، وبعضها الآخر يتحول إلى مركبات انتقالية في استقلاب اللبيدات، وتدعى هذه الأحماض الأمينية بمكونات الدهون.

لا تخزن الأحماض الأمينية داجل الأنسجة إلا بدرجة ضئيلة جداً، بل يتم استخدامها كما أشرنا أعلاه لاصطناع البروتينات الضرورية للخلية، أو تحللها بنزع المجموعات الأمينية (وتحويل

النيتروجين إلى يوريا)، ثم أكسدة الهيكل الكربوني لإنتاج طاقة فينتج أيضاً ثاني أوكسيد الكربون والماء، كما قد يتم اصطناع الجلوكوز والدهون من الهيكل الكربوني.

فالمركبات النيتروجينية داخل الجسم ليست في حالة سكون، فالبروتينات تتحلل ويصنع بديل عنها باستمرار وهذا ما يشير إلى الطبيعة الحركية (الديناميكية) لاستقلاب النيتروجين.

وقد أظهرت التجارب المنفذة على الحيوانات والمبنية على استخدام النيتروجين المشع (N^{15}) في الأحماض الأمينية أن النيتروجين المشع ينتقل بسرعة كبيرة إلى البروتينات النسيجية للأعضاء كلها بما في ذلك الجلد ذو الاستقلاب المنخفض نسبياً. وعندما عزلت الأحماض الأمينية إفرادياً من هذه البروتينات النسيجية وجد النيتروجين المشع في جميع الأحماض الأمينية عدا اللايسين.

وفي تجربة أخرى تم إعطاء حيوان التجربة الحمض الأميني لوسين (الموسوم بالنيتروجين المشع)، ولدى تحليل النتائج تبين أن النيتروجين المشع لا يوجد فقط في لوسين البروتينات النسيجية فحسب وإنما في الجلايسين أيضاً وفي التايروزين والأرجنين، كما وجد بكميات كبيرة في أحماض أمينية أخرى وعلى وجه الخصوص في الأحماض الأمينية ثنائية الكربوكسيل (حمض جلوتاميك وحمض أسبارتيك) أما اللايسين فإنه لم يوسم على الإطلاق.

وهكذا يمكن القول أن نيتروجين حمض أميني ما يمكن أن ينتقل بسرعة إلى أحماض أمينية أخرى عدا بعضها.

كما بينت التجارب أن بروتينات بلازما الدم تتبادل بسرعة مع البروتينات النسيجية الموجودة خارج الأوعية الدموية. ولقد قيس نصف عمر البروتينات النسيجية الرئيسية (أي الزمن اللازم لتجدد نصف البروتين النسيجي) وذلك باستعمال الجلايسين الموسوم بالنتروجين المشع، فوجد أن نصف عمر البروتين الإجمالي للجسم في الإنسان يبلغ 80 يوماً بحيث أن نصف عمر بروتينات الكبد يبلغ حوالي 20 يوماً وبروتينات النسج الأخرى وخاصة العضلات 160 يوماً.

5-2- الأحماض الأمينية الضرورية والتوازن النيتروجيني:

كان أوسبورن Osborne ومندل Mendel عام 1914 أول من أشار إلى أن الجرذان الفتية تحتاج من أجل نموها إلى وجود التريبتوفان واللايسين في غذائها. وبعد ذلك بين العالم الأمريكي روز Rose أن الجرذان تتطلب ثمانية أحماض أمينية أخرى من أجل النمو والتشكل.

وقد تركزت الأبحاث خلال الحرب العالمية الثانية على تعيين الأحماض الأمينية التي يتطلبها الإنسان، فوجد أنه لا بد من وجود عشرة أحماض أمينية في غذاء الإنسان هي: اللايسين،

التربيتوفان الفنيل الأنين، الثريونين، الفالين، المثيونين، اللوسين الايزولوسين، الأرجنين والهستيدين، من أجل المحافظة عليه في توزان نيتروجيني، إلا أن الحمضين الأخيرين ليسا ضروريين بالنسبة للفرد البالغ.

ويقال بأن الفرد في حالة توازن نيتروجيني إذا كانت كمية النيتروجين المستهلكة يومياً في الغذاء مساوية لكمية النيتروجين المطروحة في البول والبراز. وهذا ما يحصل عند البالغين في حالة التغذية الجيدة.

أما التوازن النيتروجيني الإيجابي فيتميز بزيادة كمية النيتروجين المستهلكة عن الكمية المطروحة. وهذا ما يحصل عند الأطفال، حيث تتزايد كمية البروتينات في أجسامهم باستمرار بسبب النمو.

وفي حالة التوازن النيتروجيني السلبي، فإن الجسم يطرح كميات من النيتروجين تفوق تلك التي يأخذها عن طريق الغذاء، وينتج ذلك عند الجوع الطويل وفي حالات سوء التغذية وعند الإصابة ببعض الأمراض وكمثال على حالات سوء التغذية نذكر أن نقصان كمية واحد أو أكثر من الأحماض الضرورية في الغذاء تؤدي إلى انخفاض القيمة الحيوية لبروتينات الغذاء وبالتالي تدفع الجسم إلى تحلل بروتين أنسجته لتغطية احتياجاته من ذلك الحمض الضروري الناقص مما يؤدي إلى توازن نيتروجيني سلبي.

5-3- الأنزيمات المحللة للبروتينات Proteolytic Enzyme:

تهضم البروتينات الغذائية بوساطة أنزيمات البروتياز Proteases (تسمى أيضاً ببتيداز Peptidases) المفرزة من المعدة والأمعاء. هذه الأنزيمات تبدأ بحلمهة البروتينات بتكسير الرابطة C-N. وعلى هذا الأساس يمكن تقسيمها إلى مجموعتين مستقلتين:

أ- أنزيمات أندوببتيداز Endopeptidases:

وهي تهاجم البروتينات في أماكن معينة داخل السلسلة الببتيدية ولا تهاجم أطرافها، وتؤدي بالتالي إلى تزويد وسط التفاعل ببتيدات مركبة وعديدة.

هذه المجموعة من الأنزيمات تدعى بالأنزيمات الهاضمة وهي تشمل الببسين في المعدة والتربسين والكيموتربسين في الأمعاء الدقيقة والرنين في المعدة الرابعة للعجول الرضيعة، كما تشمل أنزيمات نباتية مثل البابايين، ومثل أنزيم الفيسين الموجود في عصارة شجرة التين. تبدأ حلمهة البروتينات عند اللبونات تحت تأثير العصارة المعدية التي لها درجة حموضة عالية (PH=1-1.5). تشكل فعالية أنزيم الببسين المرحلة الأولى في هذه الشروط، حيث

تفرزه خلايا الغشاء المخاطي للمعدة على شكل غير فعال (شأنه بذلك شأن معظم الأنزيمات الهاضمة) يدعى ببسينوجين. يتحول إلى الشكل الفعال بعد أن يفقد سلسلة ببتيدية تحت تأثير الببسين الحر وبوجود حمض كلور الماء. وهذا ما يفسر كون الببسينوجين ثابتاً في حدود الـــ PH القريبة من التعادل بينما يكون الببسين ثابتاً في الأوساط شديدة الحموضة فقط.

يقوم الببسين بحلمهة الروابط الببتيدية للبروتينات الطبيعية، والتي تساهم في تشكيلها المجموعات الأمينية للأحماض الأمينية العطرية والحمضية.

وتتصف بعض أنزيمات أندوببيداز بتخصص دقيق في عملها فعلى سبيل المثال يحلل أنزيم التريبسين، ويشكل انتقائي الرابطة الببتيدية التي تساهم في تشكيلها المجموعة الكربوكسيلية للايسين أو للارجنين في أي مكان من السلسلة البروتينية.

ب- أنزيمات أكسوببتيداز Exopeptidases:

تعمل هذه الأنزيمات على حلمهة السلاسل الببتيدية بدءاً من أحد طرفيها، وحسب طبيعة عمل كل أنزيم من أنزيمات الاكسوببتيداز يمكن أن نصنفها في ثلاثة أقسام رئيسية:

1- يضم القسم الأول أنزيمات كربوكسي ببتيداز، وهو متخصص في حلمهة الحمض الأميني الحاوي على مجموعة الكربوكسيل الطرفية الحرة في السلسلة الببتيدية.

2- بينما يضم القسم الثاني أنزيمات أمينوببتيداز المتخصصة في فصل الحمض الأميني الحاوي على المجموعة الأمينية الحرة في السلسلة الببتيدية.

3- يشمل القسم الثالث أنزيمات داي ببتيداز التي تحلل الببتيدات الثنائية فقط.

ومهما يكن من أمر فإن هذه المجموعة من الأنزيمات المتواجدة في الأمعاء الدقيقة تكمل عمل المجموعة السابقة وتعمل بالتالي على تحلل الببتيدات المركبة إلى أحماض أمينية.

وتجدر الإشارة إلى أن الإنسان يفرز يومياً كميات كبيرة من الأنزيمات الهاضمة، وخاصة تلك التي توجد في العصارة البنكرياسية: وهي أنزيمات معرضة للضياع بعد أن تنجز عملها لأن حركة محتويات الأمعاء سوف تسوقها معها إلى الخارج لتطرح مع البراز، ولو حصل ذلك لأدى إلى ضياع كميات كبيرة من البروتينات يومياً من الجسم ولكن ما يحصل فعلاً هو سعي الجسم على استرجاعها على صورة الأحماض الأمينية المؤلفة لها، وذلك من خلال هضم هذه الأنزيمات على اختلاف أنواعها في الأمعاء وقد أثبتت التجربة أن الأنزيمات الهاضمة للبروتينات تعمل بعد انتهائها من عملها، على مهاجمة بعضها للبعض الآخر وكذلك

مهاجمة أنزيمات أخرى بحيث تنهضم جميعاً، وبذلك تكون أعمارها النصفية قصيرة جداً في الأمعاء بحيث تكفي لقيامها بعملها ولكنها لا تسمح بضياعها مع البراز.

5-4- امتصاص الأحماض الأمينية:

بعد أن يتم تحول جميع الببتيدات والبروتينات إلى أحماض أمينية يبقى أن تدخل هذه الأحماض الأمينية إلى الدوران بآلية نقل فعالة هذه الآلية يقوم بأعبائها بروتينات ناقلة موجودة في خلايا مخاطية الأمعاء. هذه البروتينات الناقلة تمتاز بفعالية انتقائية كبيرة إذ تمتص الأحماض الأمينية من الشكل (L) أسرع بكثير من أمثالها التي تأخذ الشكل (D). كما يمتص بعض أفراد الأحماض الأمينية (L) أسرع من بعضها الآخر. ويبدو أن عدة أحماض أمينية تتقاسم بروتيناً ناقلاً واحداً.

تمر الأحماض الأمينية الممتصة إلى الشعيرات الدموية في مخاطية الأمعاء بالدرجة الأولى، وتنقل بوساطة الدم إلى الكبد وسائر أعضاء الجسم وأنسجته.

5-5- تأثير الهرمونات على استعمال العضوية للأحواض الأمينية:

يعد هرمون النمو Somatotropin من الهرمونات البناءة للبروتينات. فقد أوضحت تجارب ريجس – والكر Rigs – Walker عام 1960 أن هرمون النمو يعمل على تخفيض تركيز الأحماض الأمينية في الدم حيث يساعد على دخولها إلى داخل الخلايا وذلك للمساهمة في الاصطناع البروتيني على مستوى العضلات بشكل خاص.

يلعب الأنسولين Insuline دوراً غير مباشر في استقلاب الأحماض الأمينية وذلك من خلال تحريضه للتحلل الجلايكوليتي مما يولد الطاقة اللازمة والضرورية لتشكل الروابط الببتيدية.

وسنستعرض فيما يلي التفاعلات التي تنطبق بشكل عام على الأحماض الأمينية كافة.

5-6- التفاعلات العامة لاستقلاب الأحماض الأمينية:

تتعرض الأحماض الأمينية، التي لا تستخدم في إعادة اصطناع البروتينات المباشر، إلى مجموعة من التفاعلات اللاحقة التي نذكر أهمها فيما يلي:

أ) نزع مجموعة الأمين Desamination:

وهي التفاعلات التي تجعل نتروجين حمض أميني متوفراً لاصطناع أحماض أمينية أخرى. وأن آلية نزع مجموعة الأمين تكون غالباً مصحوبة بعملية أكسدة – نزع هيدروجين- فتنتج أحماض ألفا كيتونية وأمونيا. ويمكن تصنيف تفاعلات نزع الأمين التي تصيب معظم الأحماض الأمينية في تفاعلات تأكسدية وأخرى لا تأكسدية.

ب) نزع مجموعة الكربوكسيل Decarboxylation:

وهي التفاعلات المتوافقة بإنتاج أمينات أولية و Co_2.

ج) انتقال مجموعة الأمين Transamination:

وهي التفاعلات التي تعمل على نقل مجموعات الأمين من أحماض أمينية إلى أحماض ألفا كيتونية فتنتج أحماضاً أمينية جديدة وأحماض ألفا كيتونية جديدة.

وسنشرح تلك التفاعلات تباعاً.

أ- نزع مجموعة الأمين:

أ-1- تفاعلات نزع الأمين التأكسدية:

وهي التفاعلات الأكثر انتشاراً في الأنسجة. فقد دلت أبحاث (Embden , Neubauer, Knoop, Krebs) أن نزع الأمين في العضويات الحيوانية يتم في معظم الأحيان بتفاعل أكسدة مع تشكل حمض α-كيتوني وأمونيا. ويمكن تقسيم تفاعلات الأمين التأكسدية إلى مجموعتين:

<u>المجموعة الأولى:</u> وتشمل التفاعلات التي تتوسط فيها أنزيمات تتطلب لنشاطها نيوكليوتيد البيريدين كمرافق أنزيمي.

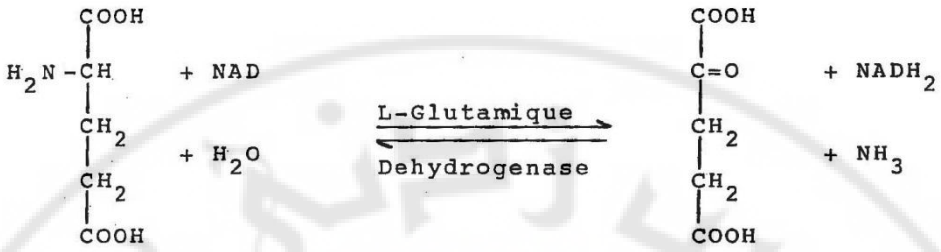
<u>المجموعة الثانية:</u> وتشمل التفاعلات التي تتوسط فيها أنزيمات تتطلب لنشاطها الفلافو بروتينات كمرافق أنزيمي.

إن أهم مثال عن المجموعة الأولى هو أنزيم L-جلوتاميك ديهايدروجيناز. وهو أنزيم واسع الانتشار في الطبيعة. وقد أمكن استخلاصه من كبد البقر وتبين أنه يحوي على عنصر التوتياء، كما أمكن الحصول عليه نقياً من النباتات العليا.

بقوم أنزيم L-جلوتاميك ديهايدروجيناز بنزع مجموعة الأمين تأكسدياً من حمض الجلوتاميك بوجود المرافق الأنزيمي NAD أو NADP فينتج حمض الفاكيتوجلوتاريك وأمونيا والمرافق المختزل.

لا يعد أنزيم جلوتاميك ديهايدروجيناز من الأنزيمات المتخصصة بدقة بحمض L-جلوتاميك بل يمكنه أكسدة أحماض L أمينية أخرى مثل L-لوسين و L-فالين.

والتفاعل قابل للعكس بسهولة بوساطة الأنزيم نفسه، إذ يتشكل الحمض الأميني L-جلوتاميك إذا وجد $NADH_2$ و NH_3 و α-كيتوجلوتاريك والأنزيم.

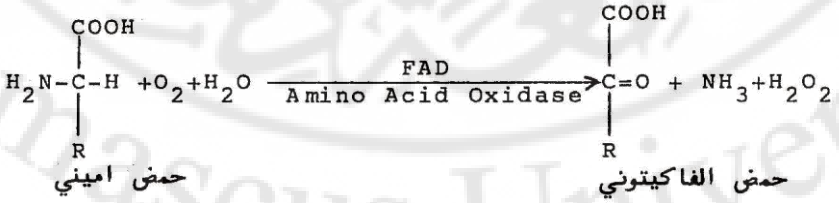


حمض L ـ جلوتاميك　　حمض ب ـ كيتو جلوتاريك

وهكذا فإن هذا التفاعل العكوسي يشكل جسراً بين أحد المركبات الوسطية في دورة كريبس، وهو حمض الفاكيتوجلوتاريك وحمض L–جلوتاميك. ثم إن اشتراك حمض L–جلوتاميك في تفاعلات نقل الأمين، كما سنرى فيما بعد، يؤكد دور هذا الأنزيم في الاستقلاب النيتروجيني للكائنات الحية. هذا وقد اكتشف حديثاً في البكتريا أنزيم L–الانين ديهايدرو جيناز الذي يتوسط تفاعل نزع الأمين التأكسدي للحمض الأميني L–الانين بصورة مشابهة للتفاعل السابق.

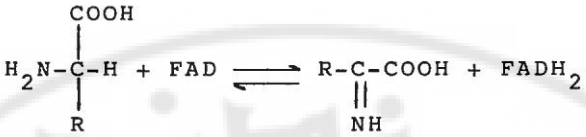
وهكذا يمكن القول أن التفاعل المشار إليه يشكل صلة وصل مهمة جداً بين استقلاب الأحماض الأمينية وبين استقلاب الكربوهيدرات والدهون. أما فيما يتعلق بأنزيمات المجموعة الثانية والتي تعرف باسم أوكسيداز الأحماض الأمينية، فقد بين كريبس KREBS عام 1935 أن الأنزيمات المستخلصة من الكبد والكلى تتوسط في تشكل NH_3 من أحماض أمينية مختلفة ويتم في هذا النوع من التفاعلات استهلاك الأوكسجين.

ونظراً لوجود هذه الأنزيمات بتراكيز منخفضة في الكلى والكبد، مما يقلل من أهميتها في الاستقلاب الحيوي ولكنها أكثر أهمية في النباتات. تتميز هذه الأنزيمات باحتوائها على المرافق الأنزيمي FAD الذي يعمل على نقل الهيدروجين إلى الأوكسجين الجوي فيتشكل فوق أوكسيد الهيدروجين، ويكون التفاعل الإجمالي كما يلي:



حمض اميني　　حمض الفاكيتوني

والتفاعل ليس قابلاً للعكس بسهولة. وقد بينت التجارب أنه يمكن تقسيم التفاعل الإجمالي السابق إلى خطوات منفصلة كما يلي:



ويتحلمأ الحمض الأميني تلقائياً بوجود الماء.



ثم يتأكسد الفلافين المختزل بدوره بالأوكسجين الجزيئي لتشكيل H_2O_2.

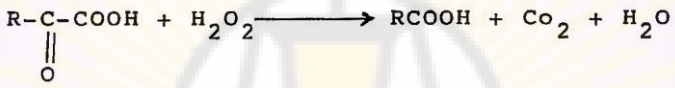
$$FADH_2 + O_2 \rightarrow FAD + H_2O$$

وهذا التفاعل الأخير غير عكوس، ولهذا السبب يكون التفاعل الإجمالي غير قابل للعكس.

تقوم بعد ذلك أنزيمات الكاتالاز بتحلل H_2O_2 إلى أوكسجين وماء

$$H_2O_2 \xrightarrow{Catalase} H_2O + 1/2\ O_2$$

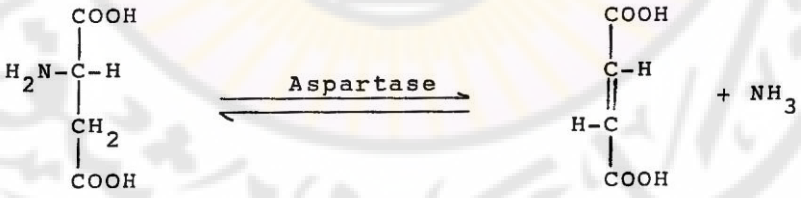
كما وقد يتفاعل فوق أوكسيد الهيدروجين لا أنزيمياً مع الحمض الكيتوني المتشكل:



أ-2- تفاعلات نزع الأمين اللا تأكسدية:

يقوم بهذه التفاعلات أنزيمات من نوع α-دي أميناز حيث ينتج عنها الأمونيا والأحماض غير المشبعة الموافقة.

فأنزيم الاسبارتاز الذي ينتسب لهذه المجموعة من الأنزيمات يتوسط التفاعل التالي:

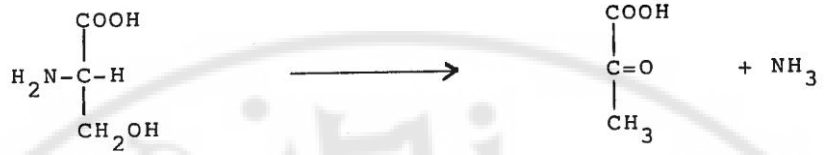


حمض L ـ اسبارتيك — حمض فيوماريك

والتفاعل قابل للعكس بسهولة، أي يمكن بواسطته تصنيع الحمض الأميني اسبارتيك من حمض الفيوماريك (أحد النواتج الوسطية في دورة كريبس) عند زيادة تركيزه أو تركيز الأمونيا.

يوجد نوع آخر من تفاعلات نزع الأمين مختلف نوعاً ما عما سبق شرحه حيث يتوسط فيه أنزيم كبدي يسمى ديهيدراز Dehydrase خاص بالحمض الأميني L-سيرين.

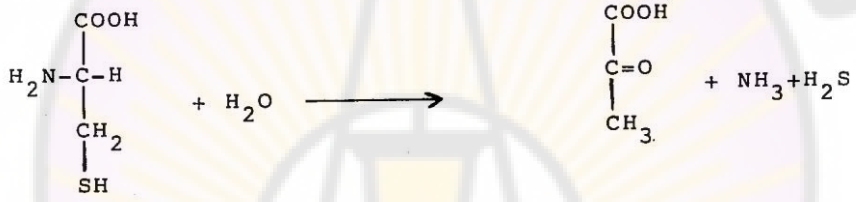
والتفاعل يتضمن حذف الأمونيا وإعادة ترتيب الذرات الباقية لتشكيل حمض البيروفيك.



حمض L ـ سيرين — حمض بيروفيك

ويتطلب هذا الأنزيم فوسفات البيريدوكسال كمرافق أنزيمي.

وهناك نزع أمين مشابه يتوسط فيه أنزيم آخر يؤثر على الحمض الأميني L–ثريونين، بينما يتوسط أنزيم آخر واسع الانتشار (يوجد في الحيوانات والنباتات والكائنات الدقيقة)، ينزع الأمين من الحمض الأميني سيستايين. وهو يتطلب أيضاً فوسفات البيريدوكسال كمرافق أنزيمي:

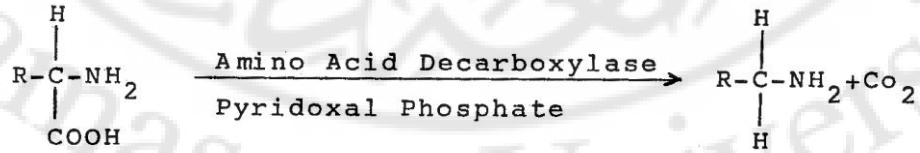


حمض سيستايين — حمض بيروفيك

<u>سؤال:</u> هل يمكن أن يكون حمض الألانين أو حمض الجلوتاميك أو حمض الاسبارتيك من الأحماض الأمينية الضرورية أم لا، ولماذا؟.

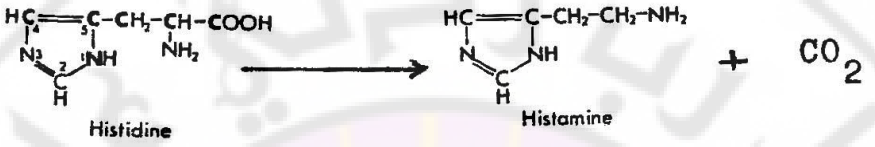
ب– نزع مجموعة الكربوكسيل:

يعد نزع مجموعة الكربوكسيل من الأحماض الأمينية ظاهرة عامة في النسج الحيوانية تؤدي إلى تشكل الأمينات الأولية الموافقة. والأنزيمات التي تتوسط هذا النوع من التفاعلات هي من نوع ديكربوكسيلاز Amino Acid Decarboxylases واسعة الانتشار في الطبيعة. وتتطلب للقيام بعملها إلى وجود فيتامين B_6 (فوسفات البيريدوكسال) كمرافق أنزيمي. وتوضح المعادلة التالية آلية عملها:



الحمض الاميني — الامين المناظر

ويكون لبعض الأمينات الناتجة عن نزع مجموعة الكربوكسيل تأثيرات فيزيولوجية مهمة. فالهيستامين الناتج عن فعل ديكربوكسيلاز الهيستيدين ينبه الإفراز المعدي ويرفع ضغط الدم بالإضافة إلى تأثيرات فيزيولوجية أخرى.



L ـ هيستيدين هيستامين

ونورد فيما يلي جدولاً لبعض الأحماض الأمينية والأمينات الأولية الموافقة الناتجة عنها وأهميتها الفيزيولوجية:

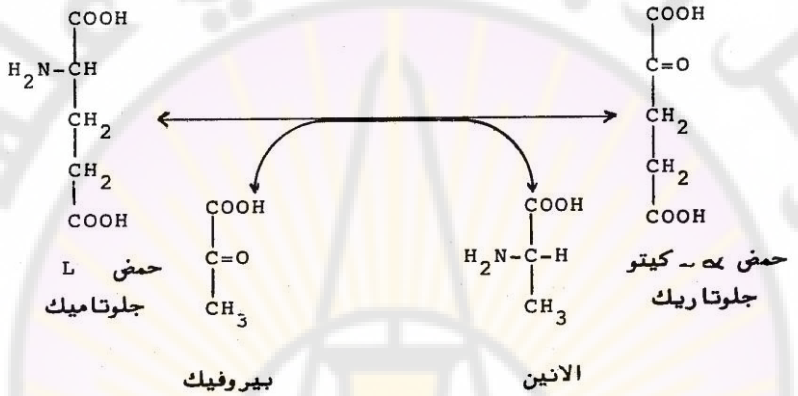
الحمض الأميني	الأمين الناتج	الأهمية الفيزيولوجية
حمض اسبارتيك	α- الانين	-يدخل في تركيب البروتينات
	β- الانين	-يدخل في تركيب كو أنزيم أ
حمض سيستايين	β- مركبتو ايثانول أمين	-يدخل في تركيب كو أنزيم أ
حمض جلوتاميك	حمض γ- أمينو بيوتيريك	-يدخل كوسيط في الجهاز المركزي العصبي
حمض هيستيدين	هيستامين	-رافع لضغط الدم ومنشط للإفرازات المعدية
حمض 3-4 ثنائي هيدروكسي فنيل الأنين (DOPA)	دوبامين	-مركب وسطي في تصنيع هرمون الأدرينالين
حمض سيرين	ايثانول أمين	-يدخل في تركيب الفوسفو لبيدات.
حمض لايسين	كادافيرين	-ذو رائحة كريهة وينتج عن تعفن البروتين بالبكتريا
حمض5-هيدروكسي تريبتوفان	سيروتونين	-هرمون نسيجي

ونشير أخيراً إلى أن أنزيمات الديكربوكسيلاز المستخلصة من البكتريا والمعزولة بشكل نقي بطرق التحليل الكروماتوغرافي المختلفة، تمتلك نشاطاً نوعياً مميزاً يؤهلها للقيام بالمعايرة الكمية للأحماض الأمينية المتواجدة في مزيج معقد عن طريق قياس حجم CO_2 المنطلق.

6- انتقال مجموعة الأمين:

هذه التفاعلات تحتل أهمية مماثلة لتفاعل نزع مجموعة الأمين التأكسدي القابل للعكس لحمض الجلوتاميك. وتشترك في هذه التفاعلات الأحماض الأمينية كلها تقريباً. وهي تتضمن نقل

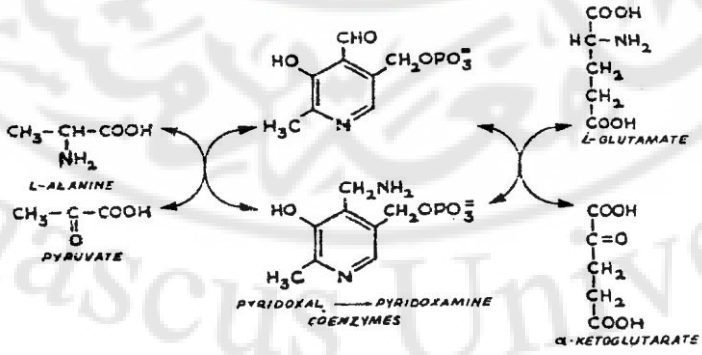
المجموعة الأمينية من حمض أميني إلى الهيكل الكربوني لحمض أميني آخر (حمض كيتوني). وقد أوضح برونستاين Braunstein وكرتزمان Kritzmann بأنه في شرائح رقيقة من العضلات المعزولة في محلول بيكربونات البوتاسيوم في حرارة 37مْ، يقوم حمض L(+) جلوتاميك بإعطاء مجموعته الأمينية إلى حمض البيروفيك مما يؤدي إلى حالة توازن كالآتي:



الانين + α− كيتوجلوتاريك ⇄ حمض بيروفيك + حمض جلوتاميك

تتم العملية بوساطة تفاعل أنزيمي سريع على درجة الحرارة العادية والأنزيمات المسؤولة عن ذلك نطلق عليها اسم ترانس أميناز Transaminases. وتستعمل هذه الأنزيمات عادة فوسفات البيريدوكسال (فيتامين B_6) كمرافق أنزيمي.

إن آلية عمل هذا المرافق الأنزيمي تتطلب تحول البيريدوكسال إلى بيريدوكسامين. ويوضح المخطط التالي (شكل 5−1) التفاعل السابق ودور المرافق الأنزيمي فوسفات البيريدوكسال فيه.

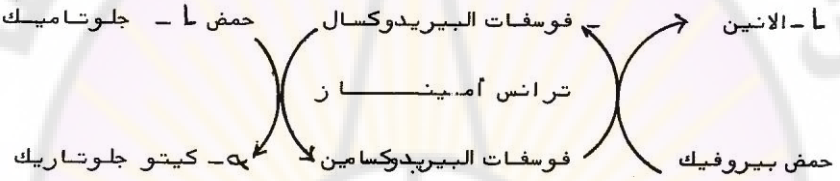


الشكل 5−1 آلية انتقال مجموعة الأمين من حمض أميني إلى حمض كيتوني

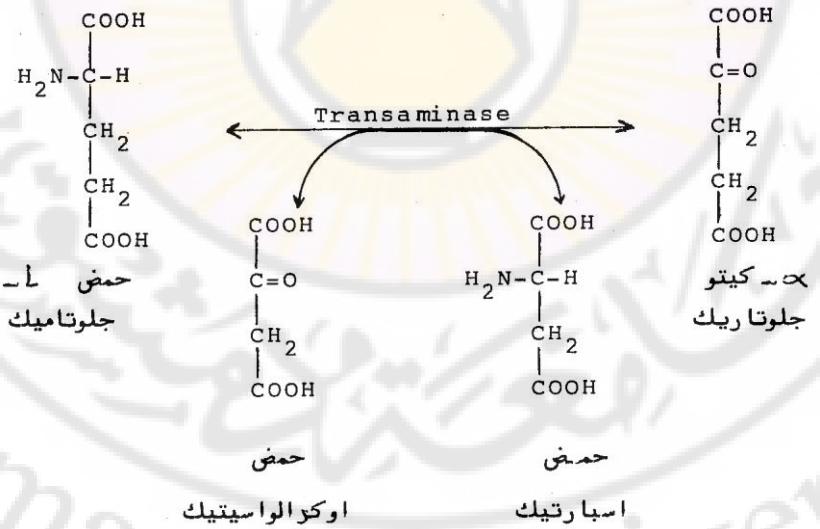
يرتبط الأنزيم بالحمض الأميني (حمض جلوتاميك أو أي حمض أميني آخر) فيحوله إلى الحمض الكيتوني الموافق (α-كيتوجلوتاريك) وذلك بوساطة فوسفات البيريدوكسال التي تتحول بدورها إلى فوسفات البيريدوكسامين.

يقوم الأنزيم بعد ذلك بالارتباط بالحمض الكيتوني (حمض البيروفيك أو أي حمض كيتوني آخر) بوساطة فوسفات البيريدوكسامين فيحوله إلى الحمض الأميني الموافق (L-الانين) ويعود هو إلى الحالة الأولى أي المحتوى على فوسفات البيريدوكسال وهكذا.

يمكن تمثيل ذلك بالتفاعلات التالية وهي تفاعلات عكوسة بسهولة بحيث يمكن للخلية توجيهها في أي من الاتجاهين على الرغم من أن الأسهم تبينها في اتجاه واحد فقط.



وقد بينت الأبحاث الحديثة أن الأنزيم الذي يعمل على نقل مجموعة الأمين بين حمض الجلوتاميك والأحماض الكيتونية هو أكثر أنزيمات هذه المجموعة انتشاراً في الطبيعة. فمع الأوكزالوأسيتيك ينتج الفاكيتوجلوتاريك واسبارتيك.



وهي جميعاً تفاعلات عكوسة تفيد الخلية في تصنيع الأحماض الأمينية التي يتوافر هيكلها الكربوني من مصادر غير بروتينية كما أن حمض جلوتاميك واسبارتيك، الفعالين في نقل مجموعة الأمين، يحتلان موقعاً مركزياً في استقلاب الأحماض الأمينية. فهما يلعبان دوراً

خاصاً في تفاعلات نزع مجموعة الأمين ونقلها. وهما حمضان ثنائيا الكربوكسيل يمكن أن يتحدا بسهولة مع الأمونيا عند مجموعة الكربوكسيل الطرفية الثانية فيتشكل منهما أميدان هما: الجلوتامين والاسبارجين والتفاعلان قابلان للعكس بسهولة بحيث أن الغلوتامين والاسبارجين يشكلان مستودعين متنقلين من الأمونيا يمكن أن يستعملا في اصطناع أحماض أمينية إذا كان الأمداد النيتروجيني غير كاف.

الأهمية الفيزيولوجية لتفاعلات نقل مجموعة الأمين:

لقد دلت التجارب بأن التفاعلين المهمين في الأنسجة الحيوانية لنقل مجموعة الأمين هما:

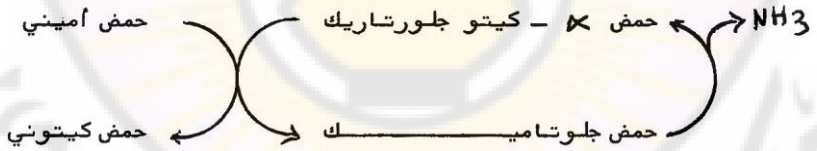
حمض جلوتاميك + حمض بيروفيك ⇄ حمض α كيتوجلوتاريك + الانين

حمض جلوتاميك + حمض أوكزالواستيك ⇄ حمض α كيتوجلوتاريك + أسبارتيك

أما التفاعل المهم في الأنسجة النباتية هو:

حمض اسبارتيك + حمض بيروفيك ⇄ حمض أوكزالواستيك + الانين

وإن ترافق هذه التفاعلات مع تفاعلات نزع مجموعة الأمين يفيد الكائنات الحية في التخلص من مجموعة الأمين عند زيادة تركيزها على شكل أمونيا. وإن النظام: حمض جلوتاميك – حمض α كيتوجلوتاريك يلعب الدور الرئيسي لهذه العملية. ويمكن توضيح هذه الآلية بالمخطط التالي:



يتحول حمض α كيتوجلوتاريك إلى حمض جلوتاميك مع استقباله لمجموعة الأمين المنقولة إليه أنزيمياً من الأحماض الأمينية خلال مراحل استقلابها. يقوم بعد ذلك أنزيم جلوتاميك ديهادروجيناز بنزع مجموعة الأمين تأكسدياً من حمض الجلوتاميك، حيث يمكن التخلص منها على شكل يوريا أو يستفاد منها. حين الحاجة، في تصنيع الأحماض الأمينية من خلال تصنيع حمض الجلوتاميك أولاً (من حمض الفاكيتوجلوتاريك وأمونيا) على اعتبار أن كافة التفاعلات السابقة هي تفاعلات عكوسة يمكن للخلية توجيهها في أي من الاتجاهين حسب متطلباتها.

5-7-مصير الهيكل الكربوني للأحماض الأمينية (الأحماض الكيتونية):

إن مصير الأحماض الكيتونية الناتجة عن تفاعلات نزع أو انتقال مجموعة الأمين يمكن أن يكون واحداً من ثلاثة احتمالات:

1- التحول ثانية إلى أحماض أمينية، إذ يمكن أن تتحول الأحماض الكيتونية مجدداً إلى أحماض أمينية وذلك بنقل مجموعة أمين إليها.

2- الأكسدة المباشرة، إذ يمكن أن يستقلب الحمض الكيتوني الناتج إلى ثاني أوكسيد الكربون وماء وإنتاج طاقة.

3- التحول إلى كربوهيدرات أو لبيدات:

لقد بينت الأبحاث العديدة التي أجريت على الثدييات باستعمال الأحماض الأمينية الموسومة (المشعة) إفرادياً أن الأحماض الأمينية غير الأساسية (الضرورية) تتحلل إلى حمض بيروفيك أو إلى أحد المركبات الوسطية في دورة كريبس (الفاكيتوجلوتاريك، سكسنيك فيورماريك) وبالتالي يمكن تحويلها إلى جلوكوز فجلايكوجين. ولذلك تسمى أحماضاً أمينية مولدة الجلوكوز Glucogenic بينما معظم الأحماض الأمينية الأساسية (فينيل الانين، تايروزين لوسين، أيزولوسين) تتحلل إلى حمض أسيتواستيك الذي يشكل أحد الأجسام الكيتونية ولذلك تسمى هذه الأحماض الأمينية بمولدة الكيتون Ketogenic وقد تسمى أيضاً مولدة الدهون نتيجة لإمكان تحللها إلى أسيتيل كو أ ثم تحويلها إلى دهون في أجسام الحيوانات.

مما تقدم نستنتج أن المجموعة الأولى من الأحماض الأمينية تؤدي، إذا كانت كمياتها كبيرة، إلى إنتاج الكربوهيدرات واختزانها بينما يزداد استقلاب الدهون في حالة المجموعة الثانية المولدة للكيتون.

ثمة أحماض أمينية أخرى تستطيع أن تكون مولدة للجلوكوز في ظروف معينة ومولدة للكيتون في ظروف أخرى. وكمثال عن هذه المجموعة نذكر حمض التايروزين حيث يمكن أن يتحلل هيكله الكربوني إما إلى حمض أسيتو أسيتيك (مولد الكيتون) وإما إلى حمض فيوماريك (مولد الجلوكوز).

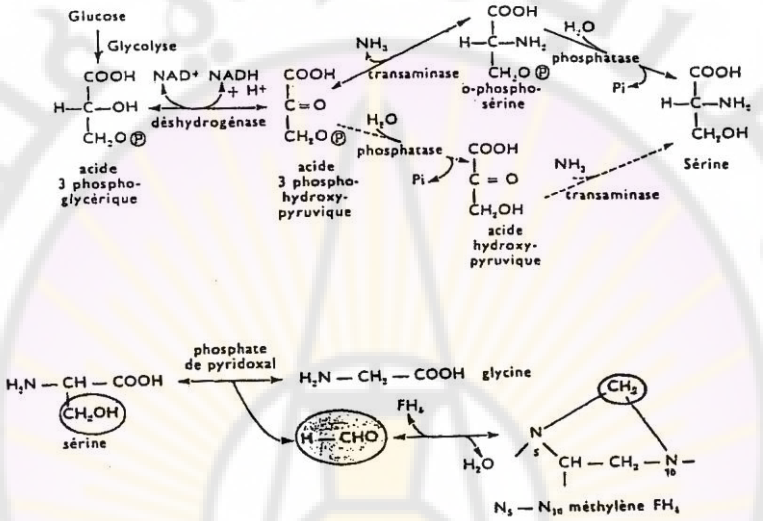
5-8- فكرة مبسطة عن استقلاب بعض الأحماض الأمينية:

تكاد تكون دراسة الاستقلاب لكل حمض أميني على حدة بالغة الأهمية من الوجهة الكيميائية والطبية. فهي تنير الطريق لتوضح السبل المختلفة المؤدية إلى اصطناع وهدم كل حمض أميني على حدة كما توضح الاضطرابات المرضية التي تعترض هذه السبل.

لن يسمح المجال هنا بدراسة كيفية استقلاب كل حمض أميني ولكن سوف نتعرض باختصار إلى استقلاب عدد من الأحماض الأمينية التي يهمنا دراستها.

5-8-1- استقلاب الجلايسين والسيرين:

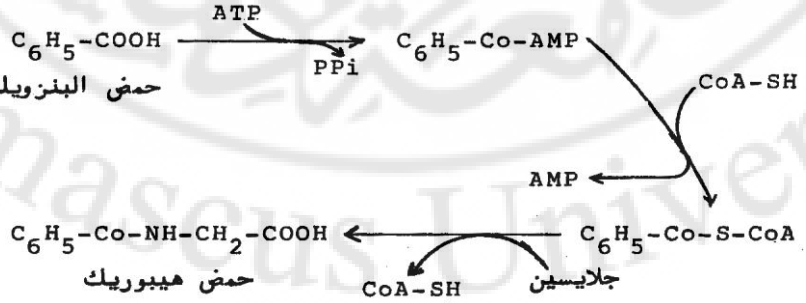
الجلايسين والسيرين ليسا من الأحماض الأمينية الضرورية الواجب توفرها في الغذاء، وإنما يمكن اصطناعها اعتباراً من حمض 3-فوسفو جليسريك الذي يؤدي أولاً إلى تشكل السيرين ومن ثم يتحول هذا الأخير إلى جلايسين بتفاعلات خاصة نوردها فيما يلي (شكل 5-2).



الشكل (5-2): آلية تشكل حمضي السيرين والجلايسين من حمض 3-فوسفو جليسريك

كما يمكن للجلايسين أن يتشكل اعتباراً من المركب أيثانول أمين مروراً بالمركب كولين وذلك في أعقاب سلسلة من التفاعلات المعقدة التي يمكن تبسيطها بالمخطط التالي (الشكل 5-3).

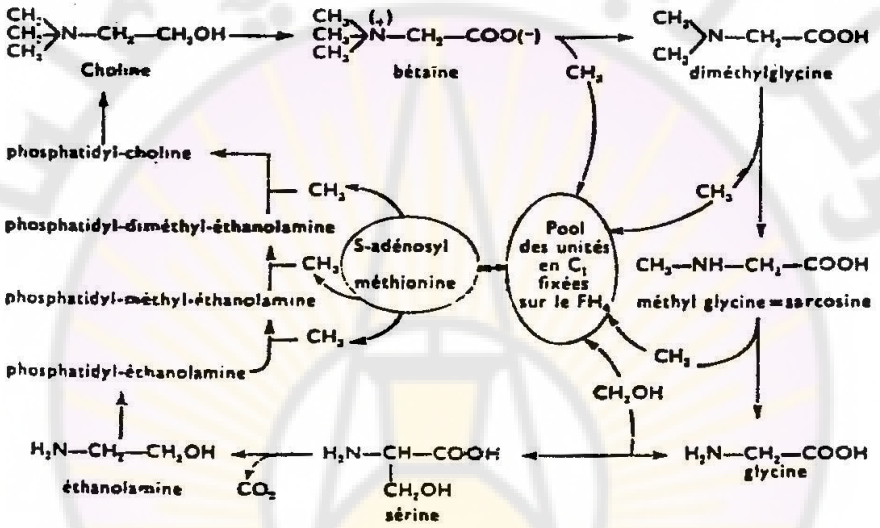
يلعب الجلايسين دوراً مهماً ومميزاً في إزالة السمية من الجسم. فهو يشكل باتحاده مع المركبات الضارة، مواد يستطيع التخلص منها عن طريق البول، من أمثلة هذه المركبات الضارة نذكر حمض البنزويك. هذا الحمض ينشط أولاً ثم يثبت على مجموعة الأمين لحمض الجلايسين مشكلاً حمض الهيبوريك.



وكذلك يتحد الجلايسين بطريقة مشابهة بحمضي كوليك ودي أوكسي كوليك لتشكيل حمض جليكوكوليك وجليكو دي أوكسي كوليك.

كما يسهم الجلايسين في الاصطناع الحيوي لكل من الجلوتاثيون Glutathion والكرياتين.

أما حمض السيرين فيخضع بدوره إلى سلسلة من التحولات المهمة التي يمكن إيجازها بما يلي:



الشكل (5-3): آلية تشكل حمض الجلايسين اعتباراً مكن المركب ايثانول أمين مروراً بالمركب كولين.

- التحول إلى حمض بيروفيك (نزع مجموعة الأمين).
- التحول إلى ايثانول أمين (نزع مجموعة الكربوكسيل) الذي يتحول بدوره إلى كولين بفضل إضافة مجموعات الميثيل. هذا الأخير يتحول إلى جلايسين.
- اصطناع السفنجوزين.
- التحول إلى فوسفو سيرين.
- المشاركة في الاصطناع الحيوي للقواعد البيورية والبورفيرينات بتوسط الجلايسين.

أخيراً تجدر الإشارة إلى أن حمضي السيرين والجلايسين يصنفان من الأحماض الأمينية المؤدية إلى تزويد الخلية بمشتقات ذات ذرة كربون واحدة.

5-8-2- استقلاب الأحماض الأمينية الكبريتية:

يوجد في الطبيعة ثلاثة أحماض أمينية كبريتية هي: حمض الميثايونين وحمض السيستايين وحمض السيستين. يتحول السيستايين إلى سيستين بسهولة فائقة داخل العضوية بفضل تفاعلات الأكسدة والاختزال ولذلك يمكن اعتبارها حمضاً أمينياً واحداً.

تستطيع معظم الكائنات الحية الدقيقة والنباتات الراقية اختزال الكبريتات إلى H_2S ثم استخدام الأخير لتصنيع حمضي السيستايين والميثايوثين. ولكن الحيوانات لا تستطيع ذلك فتلجأ إلى تصنيع السيستايين من الميثايونين، وبناءً على ذلك يعد حمض الميثايونين من الأحماض الأمينية الضرورية الواجب توفرها. أما حمض السيستايين فيمكن أكسدته بسهولة لإنتاج السيستين. كما يمكن نزع مجموعته الأمينية ليتحول إلى حمض ثيول بيروفيك ($HS-CH_2-CO-COOH$) الذي لا يلبث أن يفقد المجموعة الكبريتية ليتحول إلى حمض بيروفيك.

وفي حال نزع مجموعة الكربوكسيل من حمض السيستايين ينتج لدينا المركب بيتا – مركابتوايثانول أمين الذي يدخل في تركيب المرافق الأنزيمي أ.

أما فيما يتعلق بحمض الميثايونين المصنف في عداد الأحماض الأمينية الواجب توفرها، فهو علاوة عن دوره كأحد الأحماض الأمينية الداخلة في تركيب البروتينات والمحرضة على تصنيعها يعد المصدر الأساسي لتصنيع السيستايين من جهة ومصدر لمجموعات الميثيل النشطة من جهة أخرى.

ولكي يستطيع القيام بدوره الناقل لمجموعات الميثيل خلال التفاعلات الجارية في الخلية، يخضع في البداية إلى عملية تنشيط بوساطة ATP لإعطاء المركب S–أدينوزيل ميثايونين الذي يعد بحق العنصر الأساسي المسؤول عن نقل مجموعات الميثيل داخل الخلية.

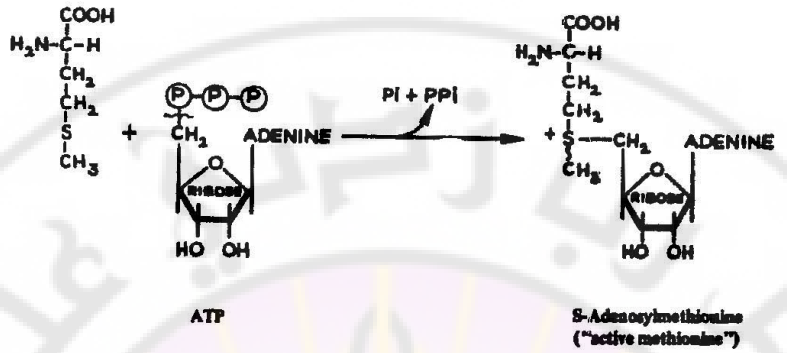
الميثايونين المنشط يتخلى بسهولة عن مجموعته الميثيلية لعدد متنوع من المركبات ويتحول بذلك إلى الشكل S–أدينوزيل هوموسيستايين.

يتدخل هذا التفاعل على سبيل المثال في الاصطناع الحيوي لكل من: الكولين، الكرياتين، الأدرينالين وكذلك في مثيلة بعض قواعد tRNA (غير الطبيعية أو النادرة).

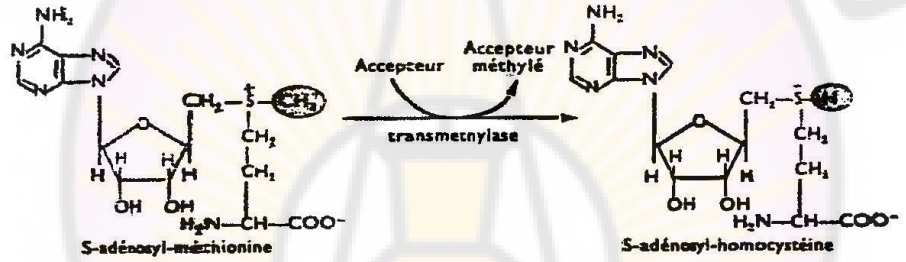
أما حمض السيستايين فيمكن أن يتحول بسهولة إلى حمض السيستين بتفاعل الأكسدة العكوسي. كما يمكن نزع مجموعته الكربوكسيلية فينتج المركب بيتا – مركابتوايثانول أمين (سيستامين) الذي يدخل في تركيب المرافق الأنزيمي كوا أ كما أشرنا سابقاً.

بالإضافة إلى ذك يمكن تحويل حمض السيستايين إلى حمض بيروفيك بإحدى طريقتين:

أ–عن طريق نزع مجموعته الأمينية فيتحول بذلك إلى حمض ثيول بيروفيك ($HS-CH_2-CO-COOH$) هذا الأخير يخضع بدوره إلى عملية تحلل بوساطة أنزيم خاص هو سيستايين ديسلفوهيدراز Cysteine- desulfhydrase الذي يعمل على نزع مجموعته الكبريتية وتحويله بذلك إلى حمض بيروفيك.



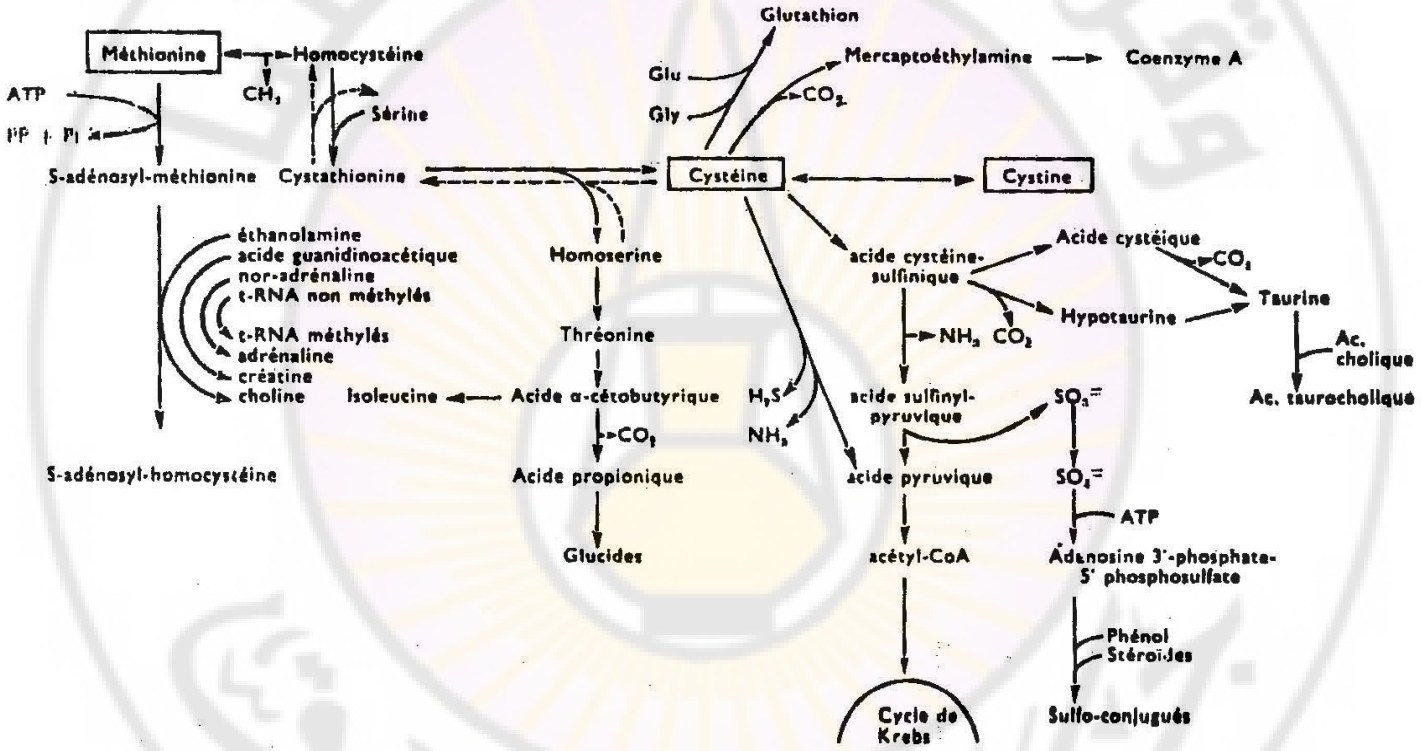
S – أدينوزيل ميثايونين (ميثايونين منشط)



S – أدينوزيل هوموسيستايين .

ب–عن طريق أكسدته إلى حمض سيستايين سلفونيك الذي يفقد بدوره مجموعته الأمينية، بتفاعلات نقل مجموعة الأمين متحولاً بذلك إلى حمض سيلفونيل بيروفيك. هذا الأخير يتحول إلى حمض البيروفيك بعد تحرير مجموعته الكبريتية على شكل كبريتيد ومن ثم كبريتات.

يبين الشكل التالي (5–4) مخططاً توضيحياً لتفاعلات استقلاب الأحماض الأمينية الكبريتية. ولا يسمح المجال هنا بالمزيد عن التفاصيل.



الشكل 5-4: مخطط عام لاستقلاب الأحماض الأمينية الكبريتية.

5-8-3-استقلاب الأحماض الأمينية ثنائية الكربوكسيل وأميداتها:

يحتل كل من حمض الجلوتاميك وحمض الاسبارتيك وأميداتها موقعاً مهماً في مسارات استقلاب المركبات الآزوتية. ولقد رأينا سابقاً أن حمض الجلوتاميك يشكل البوابة الرئيسية لإدخال الأمونيا إلى المركبات البيولوجية. كما أن آلية الاستقلاب ترتبط باستقلاب الأحماض الأمينية الأخرى. أما أميدالغلوتامين فينحصر دوره في تخزين وتحرير الأمونيا حسب متطلبات الخلية. كما يسهم في الاصطناع الحيوي للنيوكليوتيدات البيورية.

إن نقل مجموعة الأمين ما بين حمض الجلوتاميك والاسبارتيك يمكن أن يشكل تحويلاً لدورة كريبس التي تسمح بأكسدة الجلوتامات أو الاسبارتات حسب التفاعل التالي:

$$\text{أسبارتات} + \text{أ كو سيتيل} \rightarrow \text{جلوتامات} + CO_2 + H_2O + 1/2O_2$$

يمكن لحمض الاسبارتيك أن يتحول إلى سكريات بعد المرور بمرحلة وسطية يشترك فيها حمض الأوكزالواسيتيك كما رأينا سابقاً. كما أن نزع جزيء CO_2 من حمض الأسبارتيك يؤدي إلى تشكل المركب بيتا الأنين الذي يدخل في تركيب مرافق الأنزيم أ. هذا وسوف نرى فيما بعد دور حمض الاسبارتيك وأميده في الاصطناع الحيوي للنيوكليوتيدات البيورية والبيريميدية. وفي نهاية هذا الفصل سنرى أيضاً أهمية حمض الاسبارتيك في دورة اصطناع اليوريا.

علاوة على ما تقدم فإن لحمضي جلوتاميك واسبارتيك أهمية خاصة من وجهة نظر الاستقلاب بشكل عام.

إن الأحماض ألفا – كيتونية الموافقة تشكل مركبات وسطية في دورة كريبس، ولذلك تعد القاسم المشترك بين استقلاب الكربوهيدرات والبروتينات.

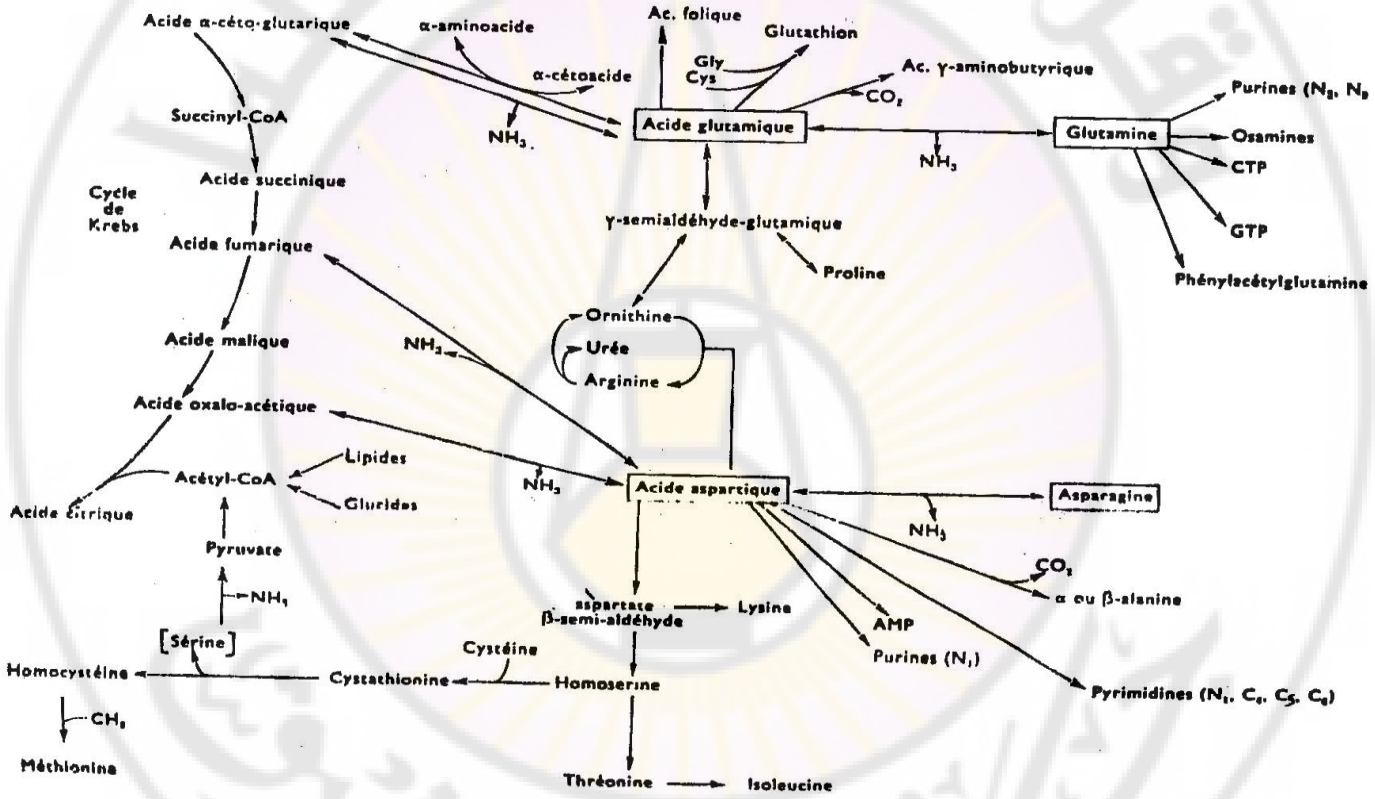
يبين الشكل التالي (الشكل 5-5) مخططاً توضيحياً للطرائق الاستقلابية لحمضي الجلوتاميك والاسبارتيك وأميداتها.

5-8-4- استقلاب الأحماض الأمينية العطرية:

إن ما يهمنا من الأحماض الأمينية العطرية حمض التايروزين وحمض فنيل الانين. يعد حمض فنيل الانين من الأحماض الضرورية، ولا يعد التايروزين ضرورياً إلا في حالة غياب الفنيل الانين، إذ أنه يقوم مقام التايروزين تماماً. أما العكس فغير صحيح لأن تحول الفنيل الانين إلى تايروزين غير عكوسي في ظروف الخلية.

ويعود الاختلاف الوحيد بين هذين الحمضين إلى وجود مجموعة هيدروكسيل فينولية في جزيء التايروزين ولذلك فليس من المستغرب أن يكون المسار الاستقلابي لكليهما واحداً.

ينشأ الفنيل الانين اعتباراً من المركب فوسفو اينول بيروفات (أحد نواتج استقلاب الكسريات) الذي يتكاثف مع المركب 4-فوسفات الاريثروز (أحد نواتج أكسدة الجلوكوز أكسدة مباشرة) ليتشكل في نهاية سلسلة من التحولات حمض الفنيل الانين مروراً بحمض الشيكيميك (Shikimic Acide)



الشكل (5–5): مخطط عام لاستقلاب حمضي جلوتاميك واسبارتيك وأميداتها

الذي يعد أيضاً مولدا لحمض التريبتوفان، ويتحول الفنيل الانين إلى تايروزين بتفاعل غير عكوس يتطلب وجود الأوكسجين الجزيئي وأنزيم فنيل الانين هايدرولاز.

فالتايروزين والفنيل الانين هما المادتان الأوليان في الاصطناع الحيوي لهرمونات الغدة الدرقية والأدرينالين والنور ادرينالين. وهما يعطيان، بنزع مجموعة الأمين أو نقلها، الأحماض الكيتونية الموافقة: حمض بارا- هيدروكسي فنيل بيروفيك وحمض فنيل بيروفيك. ويمكن أن يتأكسد الأول إلى حمض هوموجنتيسيك (Homogentisic) الذي يعطي بعد انفتاح الحلقة حمض الفوماريك وحمض أسيتو أسيتيك. يتأكسد حمض الفيوماريك في دورة كريبس إلى CO_2 وماء أو يتم تحويله إلى جلوكوز فجلايكوجين. مما يضفي على هذين الحمضين الأمينيين صفة "مولدة السكر". أما حمض اسيتو أسيتيك، الذي هو أحد الأجسام الكيتونية، فيتفاعل مع أسيتيل كو أ ويدخل دورة كريبس (ولذلك يكتسب حمضي الفنيل الانين والتايروزين صفة "مولدة الكيتون").

يمكن لحمض التايروزين أن يتأكسد أنزيمياً (تايروزين هايدروكسيلاز) إلى 3 و 4 ثنائي هيدروكسي فنيل الانين المعروف باسم DOPA. يتأكسد هذا الأخير ويتحلق مؤدياً إلى تشكل مشتقات أندولية لاتلبث أن تتبلمر إلى ميلانين Melanine، وهي صبغة سوداء توجد طبيعياً في الشعر ومشيمة العين والجلد بكميات متفاوتة. إلا أن وجودها ينعدم لدى بعض الأشخاص المصابين بمرض وراثي يدعى Albincs والمصاب بهذا المرض يمتلك أشعاراً ناصعة ويكون مصابا في اضطراب الرؤية لفقدان الصباغ العيني.

تنشأ هذه الحالة عند غياب أو انعدام نشاط أنزيم التايروزيناز المسؤول عن تحول التايروزين الى DOPA، أو حدوث خلل في آلية البلمرة النهائية المؤدية إلى تشكل الميلانين.

وتجدر الإشارة أخيراً إلى أنه من أجل استقلاب الفنيل الانين لابد من تحويله أولا إلى تايروزين بوساطة أنزيم فنيل الانين هايدرولاز. فاذا لم يتوافر هذا الأنزيم نتيجة لمرض وراثي تحول حمض الفنيل الانين إلى الأحماض التالية: حمض فنيل بيروفيك، حمض فنيل لاكتيك وحمض فنيل أسيتيك. هذا الأخير يطرح مع البول مرتبطاً بالجلوتامين. تدعى هذه الحالة المرضية المسببة بإحداث قصور عقلي لدى المصابين بـــ "فينيل كيتون يوريا phenyl .- ceto narie

5-9- تمثيل الأمونيا ودورة إصطناع اليوريا:

تشكل الأمونيا العنصر الأساسي في استقلاب الأحماض الأمينية والبروتينات. وهي تنتج بشكل رئيسي من تفاعلات نزع مجموعة الأمين من الأحماض الأمينية، مما يؤكد مرة أخرى الدور المهم الذي يلعبه حمض الجلوتاميك وأنزيم جلوتاميك ديهايدروجيناز في استقلاب الأحماض الأمينية.

يمكن للأمونيا أن تتشكل اعتباراً من الأسس (أو القواعد) البورينية والاميدات والجلوتامين. ونظراً لكون الأمونيا مادة شديدة السمية لمعظم النسج الحية وخاصة النسيج العصبي، يتوجب على الجسم التخلص منها بأقصى سرعة ممكنة. ولهذا السبب نجد أن معظم الكائنات الحية المائية تعمد إلى التخلص منها كما هي إلى الوسط الخارجي. أما بالنسبة للحيوانات الأرضية فتعمل على تحويل الأمونيا إلى أشكال أخرى أقل سمية كحمض البوريك بالنسبة للطيور واليوريا بالنسبة للثدييات.

5-9-1- مصير الأمونيا عند الثدييات:

أن الأمونيا المتشكلة عن تفاعلات نزع مجموعة الأمين من الأحماض الأمينية (والتي تتشكل أيضا من الغلوتامات والقواعد البورينية والأميدات والجلوتامين) تسلك إحدى السبل الاستقلابية التالية:

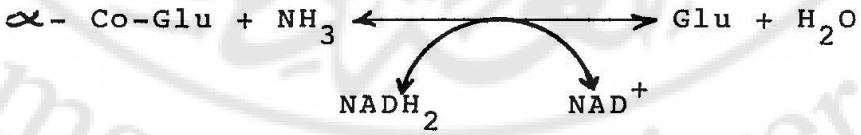
أ- الإنطراح في البول : تطرح الأمونيا في البول على شكل شاردة أمونيوم :

$$NH_3 + H^+ \rightarrow NH_4^+$$

وهذا شكل مفيد جداً يسمح بتخليص الجسم من الفائض من شوارد H^+ الناتجة عن مختلف العمليات الاستقلابية.

ب- إنشاء الأحماض الأمينية:

يمكن استخدام جزء من الأمونيا في تسيير التفاعل العكوس لنزع مجموعة الأمين وذلك بوساطة أنزيم جلوتاميك ديهايدروجيناز.

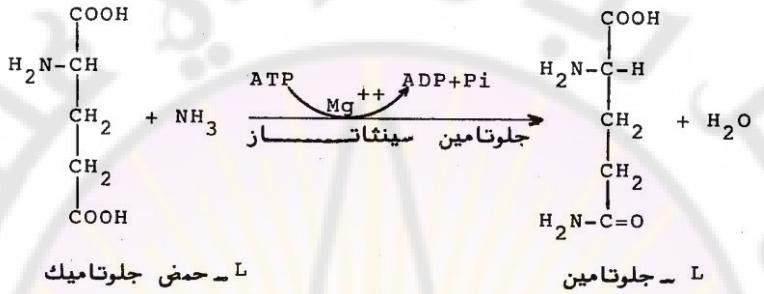


ج- تكون الجلوتامين:

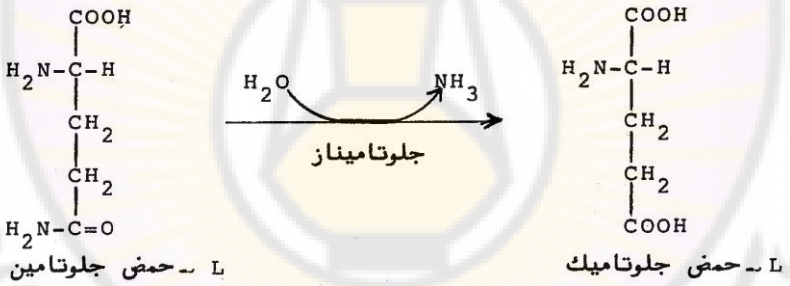
الأمونيا الناتجة عن عمليات نزع مجموعة الأمين تطرح في البول على شكل شوارد الأمونيوم NH_4^+ ، لكنها لا توجد بهذا الشكل الحر في الدم إلا بآثار قليلة لا تتجاوز 35

ميكروغرام/ 100مل. فكيف يتسنى للأمونيا أن تصل إلى البول دون أن تمر في الدم؟ هذا التناقض الظاهري فسره فان سلايك على أن الأمونيا تنقل في الدم بشكل جلوتامين.

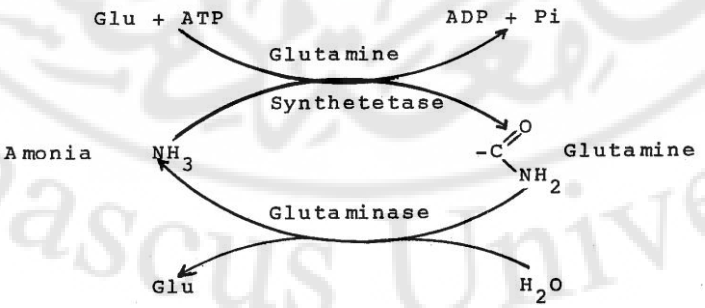
يتم تكون الجلوتامين اعتباراً من حمض الجلوتاميك والأمونيا بوساطة أنزيم جلوتامين سينثاتاز ووجود ATP وشوارد المغنيزيوم.



كما ويوجد في الأنسجة وبشكل خاص في الكلية أنزيم يدعى جلوتاميناز يعمل عند الحاجة، على تحرير الأمونيا مائياً من حمض الجلوتامين.



وبناء على ما تقدم يمكن جمع التفاعلين السابقين في تفاعل واحد كما هو وارد في الشكل 5-6. والأمونيا الناتجة كما هو ملاحظ يمكن لها أن تسلك إحدى الطرق الاستقلابية التي نحن بصدد التحدث عنها.



الشكل 5-6. التفاعلات الاستقلابية التي تربط بين حمضي الجلوتاميك والجلوتامين.

د- تكون اليوريا:

يتم التخلص من القسم الأعظم من الأمونيا بنقلها إلى الكبد الذي يحولها إلى يوريا استعداداً لطرحها خارج الجسم.

تتضمن دورة اصطناع اليوريا أو ما يعرف باسم دورة كريبس- هنزلايث Krebs & Henseleit المراحل التالية:

1-اصطناع فوسفات الكربامیل:

يعد فوسفات الكربامیل من المركبات المهمة جداً لكونه يشكل طليعة اليوريا والنوويدات التي أساسها البريميدين. ويتم اصطناع هذا المركب اعتبارا من NH_3 و CO_2 في تفاعل ماص للطاقة (يستهلك جزيئين من ATP). ويحتاج هذا التفاعل إلى أنزيم فوسفات كربامیل سينثاتاز ووجود البيوتين والمركب N – أسيتيل جلوتاميك كعامل مرافق.

2-تحول حمض الأورنيثين إلى حمض السيترولين:

تتفاعل فوسفات الكربامیل الناتجة مع مجموعة الأمين جاما لحمض الأورنيثين فتتحرر مجموعة الفوسفات وينتج حمض السيترولين. يتم هذا التفاعل بمساعدة آنزيم اورنيثين – كربامیل- ترانسفيراز. والجدير بالذكر أنه خلال هذه المرحلة الأولية تحمل فوسفات الكربامیل ذرة الكربون وإحدى ذرات الآزوت لجزيء اليوريا التي سوف تتشكل في نهاية هذه الدورة.

3-تحول حمض السيترولين إلى حمض أرجنين:

هذا التحول يتم على مرحلتين: ففي المرحلة الأولى يحدث عملية تكاثف لحمض السيترولين مع حمض الأسبارتيك بوساطة أنزيم من نوع سينثاتاز وبوجود ATP وشوارد المغنيزيوم فينتج حمض أرجنينو سكسنيك وماء وبيروفوسفات و AMP. وفي المرحلة الثانية من التفاعل يتحلل حمض أرجنينو سكسنيك الناتج عن المرحلة الأولى إلى حمضي أرجنين وفوماريك بوساطة أنزيم أرجنينو سكسيناز. وبذلك يتضح من هذه المرحلة وسابقتها أن مصدر مجموعة الأمين في حمض الارجنين الناتج وبالتالي ذرة الآزوت الثانية في جزيء اليوريا المرتقبة هو الحمض الأميني أسبارتيك الذي قدم مجموعته الأمينية وتحول الى فوماريك.

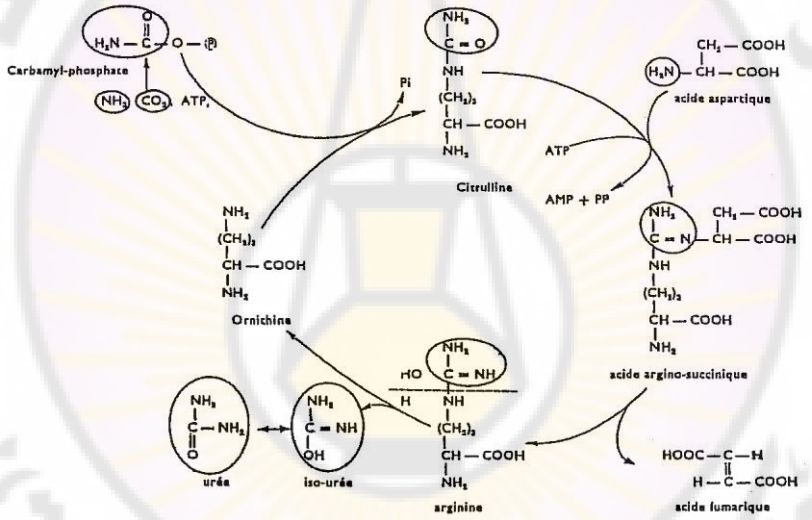
4- تحول حمض الأرجنين إلى حمض أورنيثين ويوريا:

حمض الأورنيثين الناتج يتحلل مائياً إلى حمض أورنيثين ويوريا بوساطة أنزيم أرجيناز وبوجود شوارد المنغنيز Mn^{++}. وحمض الأورنيثين المعاد تشكيله يدخل الدورة ثانية بتفاعله مع فوسفات الكربامويل وهكذا دواليك.

ويوضح المخطط التالي (شكل 5-7) تفاعلات دورة اصطناع اليوريا.

5-9-2- العلاقة التي تربط بين دورة اصطناع اليوريا ودورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل (دورة كريبس):

إن نزع مجموعة الأمين من الأحماض الأمينية على شكل يوريا يتم من خلال مسارين استقلابيين يلتقيان في دورة الأورنيثين:



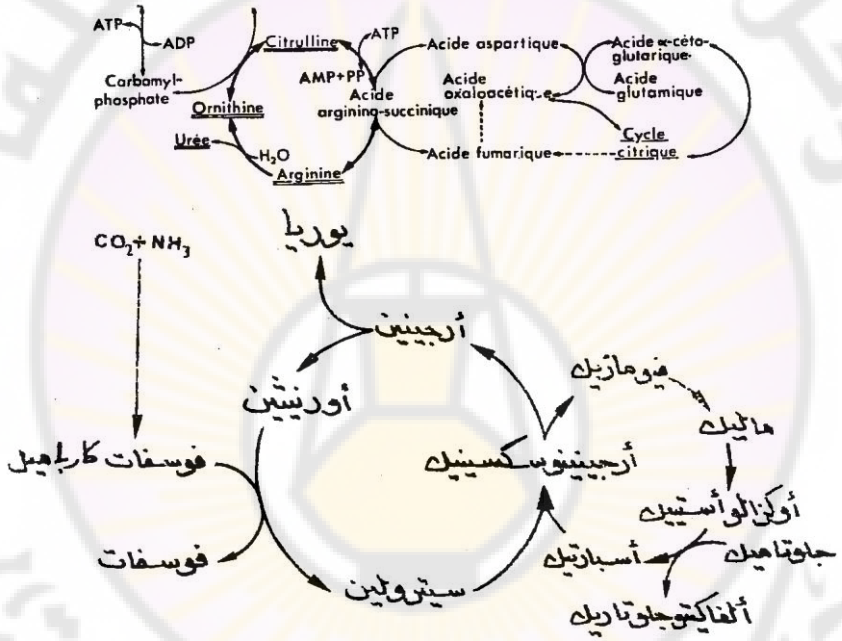
الشكل 5-7: تفاعلات دورة اصطناع اليوريا

المسار الأول يؤدي إلى تشكل مركب فوسفات الكاربامويل، والمسار الثاني ينحصر بنزع مجموعة الأمين من حمض الأسبارتيك.

وفي الحالة الثانية نلاحظ وجود علاقة وثيقة بين دورة اصطناع اليوريا ودورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل بفضل حمضي الاسبارتيك وفوماريك صلة الوصل بين الدورتين. وحمض الفوماريك المتكون يتحول خلال دورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل إلى ماليك ثم أوكز الو أسيتيك. ومن المعلوم أنه يمكن تحويل الأوكزالو أسيتيك بسهولة إلى اسبارتيك (بعملية نقل مجموعة أمين إليه من الأحماض الأمينية كحمض الجلوتاميك مثلاً)، ثم يدخل حمض الأسبارتيك الناتج الدورة من جديد. كما يلاحظ من جهة أخرى وجود علاقة طاقية بين

الدورتين. فالخلية تصرف كمية كبيرة من الطاقة (4 روابط غنية بالطاقة تأتي من 3 جزيئات ATP) لكل جزيء يوريا مصنع. وهذه الطاقة الضرورية لتلافي سمية الأمونيا تستمد من تفاعلات الفسفرة التأكسدية المرافقة لتفاعلات أكسدة المركبات الوسطية في دورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل.

ونورد فيما يلي ملخصاً توضيحياً (شكل 5–8) لمسار المركبات الداخلة في دورة اليوريا وعلاقتها بدورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل.



الشكل 5–8: ترابط مسار اصطناع اليوريا مع مسار الأحماض ثلاثية الكربوكسيل.

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

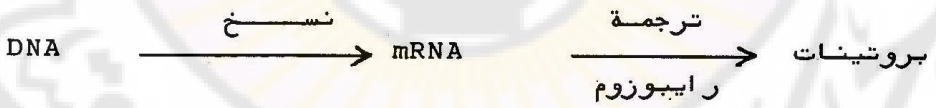
الفصل السادس

استقلاب البروتينات والمركبات النيتروجينية الأخرى

6-1- الاصطناع الحيوي للبروتينات:

يعد الاصطناع الحيوي للبروتينات أهم أعمال الخلية الحية وأكثرها تعقيداً، والسؤال الذي سنحاول الإجابة عليه في هذا الفصل هو كيف تستطيع الخلية الحية جمع مئات الأحماض الأمينية وفق نظام معين وترتيب محدد لاصطناع جزيئات مئات الأنواع من البروتينات المختلفة التي يصنع كل منها عند الحاجة بكميات معينة ولتأدية وظيفة حيوية محددة. ومن المعلوم أن كل بروتين يتميز ببنية خاصة مؤلفة أولا من ارتباط مئات الأحماض الأمينية بعضها ببعض بترتيب معين (التركيب الأولي) بحيث اذا اختل أو تبدل جزء من هذا الترتيب تغيرت صفات البروتين وخواصه الحيوية. ومن هنا نتساءل عن آلية برمجة الاصطناع وتحديد التركيب الأولي لكل بروتين على حدة. هذا التركيب الأولي يجب أن يكون دائما في شكله الصحيح إذا ما أريد اصطناع نفس الجزيء البروتيني.

تخزن المعلومات الوراثية الخاصة بتصنيع البروتينات في DNA (في ترتيب النيوكليوتيدات أو القواعد النيتروجينية الأربعة: A , G , C , T) الموجودة في النواة ومن ثم تنسخ على شكل جزيء mRNA بوساطة أنزيم RNA - Polymerase متعلق بـــ DNA لتنقل إلى أماكن اصطناع البروتينات في السايتوبلازم وهي الرايبوزومات:



وعملية الاستنساخ تعني استخدام المعلومات الوراثية الموجودة في DNA لصنع حمض نووي رسول mRNA بحيث يكون ترتيب قواعده النيتروجينية متمما لترتيب القواعد النيتروجينية في DNA لأن هذا الترتيب هو الذي سيحدد أنواع الأحماض الأمينية وترتيبها في جزيء البروتين الذي سيتم تصنيعه.

ويجب التذكير أن الحمض النووي DNA يوجد مرتبطاً مع بروتينات قاعدية (الهيستونات) ويشكل معها الكروموزومات Chromosomes

تشكل الأجزاء المختلفة للكروموزوم أو لجزيء الـــ DNA وحدات وراثية تسمى الجينات، يؤلف ترتيب القواعد النيتروجينية لكل منها المعلومات الوراثية الخاصة بتصنيع بروتين معين واحد.

تتميز كروموزومات كل نوع من أنواع الكائنات الحية بصفات محددة من حيث العدد والطول والشكل وطبيعة الجينات الموجودة في كل كروموزوم وتسلسلها وعلى سبيل المثال تحتوي نواة الخلية الإنسانية على 23 زوجاً من الكروموزومات فيها ما يقرب من مائة ألف جين.

إن دراسة آلية الاصطناع الحيوي للبروتينات ليست بالأمر السهل على اعتبار أن جميع التفاعلات الكيميائية الحيوية في الخلية تتم بوساطة الأنزيمات، أي البروتينات. أضف إلى ذلك ما يحدث في الخلية الواحدة من اصطناع لعدد كبير من البروتينات المختلفة، ولو بسرعات متباينة.

ولدراسة هذا النوع من التفاعلات المعقدة تم اللجوء مؤخراً إلى استخدام الأحماض الأمينية الموسومة بالنظائر المشعة وتتبع آثارها في مختلف مركبات الخلية. وقد أمكن بذلك تحديد المكان الذي يتمركز فيه اصطناع البروتينات ضمن الخلية وهو عبارة عن جسيمات خاصة هي الرايبوزومات، متواجدة في السايتوبلازم ومؤلفة من بروتينات وأحماض نووية رايبوزومية rRNA. وهذا ما ينطبق على جميع الخلايا الحيوانية. أما في النباتات فقد لوحظ أن تمركز الأحماض الأمينية الموسومة بالنظائر المشعة يقترن بالصانعات الخضراء وفي البكتريا بسطح الغشاء الخلوي. وكلا هذين القسمين من الخلايا يحتوي على معقدات نيوكليوبروتينية.

بالإضافة إلى هذه المواقع يوجد أيضاً اصطناع محدود للبروتينات في كل من النوى الخلوية والمايتوكوندريا.

وقد تطورت دراسة الاصطناع الحيوي للبروتينات باستخدام النظم اللاخلوية التي يحدث فيها الاصطناع، حيث أمكن بوساطة هذه الأنظمة تفسير ماهية المكونات الخلوية اللازمة لهذا الاصطناع ودور كل منها.

يدخل في بنية النظام اللاخلوي مجموعة كاملة من الأحماض الأمينية وATP وشوارد Mg^{++} ومستحضر خلوي للجسيمات الريبية (الرايبوزومات) وسائل خلوي حاوي على الأنزيمات الضرورية والعوامل المساعدة المختلفة، وكذلك مجموعة الأحماض النووية الريبية المنحلة.

ومن أجل أن يتم الاصطناع الحيوي بالسرعة الكافية في هذا النظام يجب إضافة GTP وجزيئات RNA التي تقوم بدور mRNA مع العلم بأن RNA هذه ستحدد نوع البروتين الذي سيتم تصنيعه.

وقد أعطت النتائج المتجمعة عن مثل هذه الدراسة فكرة موسعة عن التفاعلات التي يتم بواسطتها اصطناع البروتينات في الخلية.

يمكن تبسيط الخطوات الرئيسية لاصطناع البروتينات وإيجازها بما يلي:

تنقل المعلومات الوراثية عن الجينات في جزيء DNA الموجود في النواة إلى الرايبوزومات في السايتوبلازم بوساطة الحمض النووي الرسول mRNA. يتم تنشيط الأحماض الأمينية ونقلها من أرجاء السايتوبلازم إلى الرايبوزومات بوساطة الأحماض النووية الناقلة tRNA وهناك جزيء tRNA واحد على الأقل يختص بنقل كل حمض أميني.

تقوم الرايبوزومات بالارتباط بالحمض النووي الرسول mRNA وترجمة الشيفرة الوراثية التي يحملها في تركيبه (أي ترتيب قواعده النيتروجينية) واعتماداً عليها يتم توجيه ارتباط الأحماض الأمينية المحمولة على جزيئات tRNA بعضها مع بعض بتسلسل معين تحدده الشيفرة الوراثية التي يحملها الرسول. وهكذا باختصار يتم اصطناع جزيء البروتين.

وسنقوم للتسهيل بتقسيم هذا الفصل إلى قسمين رئيسيين: الأول يشمل المكونات الداخلة (والمعروفة) في اصطناع البروتين والثاني يشمل عملية الاصطناع بحد ذاتها.

6-1-1-المكونات الداخلة في اصطناع البروتين:

تشمل المكونات الداخلة في اصطناع البروتين داخل الخلية الحية ما يلي:

أ-الأحماض النووية الناقلة (t RNA):

تحتوي الخلية الحية على ما يزيد عن 60 نوعاً من t RNA أمكن فصلها وتنقيتها ودراسة تتابع النيوكليوتيدات في عدد منها. كما عرفت أشكالها الفراغية ووظائف مراكزها الفعالة. وهي بشكل عام صغيرة الوزن الجزيئي (حوالي 30000). وأن طول سلسلتها يتراوح بين 70-80 نيوكليوتيد وتحتوي على قواعد أخرى إضافة إلى القواعد الأربعة المعروفة مرتبة في بنية ذات روابط هيدروجينية، وتفيد في بضعة أمور أهمها منع تشكل حلزون مزدوج في الشريط الأحادي المنطوي من tRNA عند المواقع أو المراكز الفعالة فيه.

يحتوي جزيء الحمض النووي tRNA على أربعة مواقع فعالة على الأقل هي:

1. موقع لتمييز الأنزيم الصانع الذي سيقوم بوصله بالحمض الأميني.
2. موقع ارتباط الحمض الأميني به، وهو في جميع t RNA النهاية 3 المحتوية على أدينوزين.
3. موقع لتمييز الرايبوزوم والارتباط به.

4. رمز خاص مكون من تتالي ثلاث نيوكليوتيدات ويدعى مضاد الكودون Anticodon، وهو يلعب دوراً مهماً في نقل الحمض الأميني أو بتعبير آخر وأدق في إدخال الحمض الأميني إلى المكان المحدد من جزيء البروتين، حيث إن ترتيب النيوكليوتيدات الثلاثة لمضاد الكودون يسمح له بالارتباط مع الرسول mRNA في مكان معين دون غيره يحدده وجود الكودون المناسب على الرسول. فإذا كان ترتيب القواعد في مضاد الكودون GGU فإن tRNA لا يمكنه الارتباط مع الرسول إلا في الموقع الذي يحتوي الكودون المناسب وهو CCA.

يرمز للأحماض النووية الناقلة برموز معينة مثل $tRNA_{yeast}^{ala}$ وهذا يدل على الحمض النووي المستخلص من الخميرة (yeast) والخاص بنقل الحمض الأميني الانين.

وتجدر الإشارة أخيرا إلى أنه يوجد بشكل عام عدة t RNA متخصصة في نقل الحمض الأميني الواحد (4–5 tRNA لكل حمض أميني) يطلق عليها اسم tRNA isoaccepteurs تختلف فيما بينها بأمور عدة نذكر منها طول السلسلة النيوكليوتيدية، الوزن الجزيئي وغيرها.

ب– الحمض النووي الرسول m RNA:

يشكل الحمض النووي الرسول mRNA نسبة ضعيفة (حوالي 2–4 %) من مجموع RNA الكلي في الخلية (r RNA تمثل حوالي 80%. و t RNA حوالي 15% من RNA الكلي) وهو يحمل الشيفرة الوراثية اللازمة لاصطناع جزيء البروتين. يصنع RNA – الرسول (mRNA) في النواة بالاستنساخ من إحدى سلسلتي الحلزون المزدوج للـــ DNA (أو أجزاء من السلسلة). وبهذه الطريقة تنسخ المعلومات الوراثية، الكامنة في تتابع نيوكليوتيدات DNA الثابتة في مواقعها ضمن النوى الخلوية، على جزيئات mRNA التي تحمل هذه المعلومات إلى الرايبوزومات الموجودة في السايتوبلازم حيث يرتبط بها وتترجم رسالته من قبلها. ولذلك أطلق عليها اسم mRNA ولما كان لكل بروتين تركيب خاص فلابد من وجود رسول خاص لاصطناع ذلك البروتين. وبناءً عليه توجد مئات الأنواع من mRNA تختلف في تركيبها وفي ترتيب نيوكليوتيداتها وفي طول سلاسلها وبالتالي بالوزن الجزيئي.

يحمل mRNA الرسالة الوراثية في تركيبه حيث تعني كل ثلاث نيوكليوتيدات ذات ترتيب معين حمضا أمينياً معيناً. وهكذا يمكن القول أن الرسول يحمل رسالة مكونة من عديد من الكلمات ثلاثية الأحرف (كودونات)، بحيث تدل كل كلمة أو كودون على حمض أميني معين من الأحماض العشرين، وبحيث يدل ترتيب الكلمات في الرسالة على ترتيب الأحماض

الأمينية التي ستدخل في تركيب البروتين. فاذا كان البروتين المطلوب تصنيعه مكوناً من 100 حمض أميني فان الرسول يجب أن يحتوي على: 100×3 = 300 وحدة نيوكليوتيدية مرتبة بحسب ما أملاه الكروموزوم DNA لأنها صنعت متممة له وبالاستنساخ عنه.

الحمض النووي الرسول لا يبقى طويلاً في الخلية بل يجري تحلله بعد استخدامه في تصنيع البروتين بالكمية المطلوبة. فعمره في الكائنات الدنيا لا يتجاوز عدة دقائق (فزمن نصف العمر له حوالي 1–2 دقيقة) ولكنه يبقى فترة أطول في الكائنات الراقية. وقد فسر ذلك على أساس أن الكائنات الدنيا تملك قدرة أعلى على التكيف مع تغيرات البيئة المحيطة، وهي بذلك قادرة على صنع أنزيمات مختلفة للتغلب على تغيرات الوسط المحيط بها ولذلك تحتاج إلى mRNA دورة نصف حياته قصيرة. بينما في الكائنات الراقية لا يوجد ضرورة ملحة للتكيف السريع مع الوسط المحيط (الوسط المحيط أكثر ثباتاً) ولذلك تبقى الأنواع المختلفة من mRNA فترة أطول من سابقتها.

ج– الرايبوزومات Ribosomes:

وهي عبارة عن دقائق رايبونيوكليوبروتينية معقدة تصادف في جميع نماذج الخلايا الحية حيث تلعب دوراً مهماً وأساسياً في الاصطناع الحيوي للبروتينات. تتألف الرايبوزومات في طليعات النوى من 60–65 من r RNA و35–40 من البروتينات أما عند حقيقيات النوى فإن نسبة كل من البروتينات و r RNA تساوي 50% تقريباً.

توجد الجسيمات الريبية لـــ E. coli حرة في السايتوبلازم وقد تصل نسبتها هناك إلى 25% من الكتلة الكلية للخلية حيث يكون عددها حوالي 15 ألف جسيم. وكتلة كل منها 2.8 مليون دالتون وقطرها 180 آنغستروم.

والرايبوزوم الواحد يتألف من تحت وحدتين: الصغرى 30 S والكبري 50 S وكل منها تحتوي على rRNA وعلى العديد من البروتينات.

أما في حقيقيات النوى فإن الجسيمات الريبية أكبر قليلاً ويغلب وجودها في السايتوبلازم حيث ترتبط مع الشبكة الأندوبلازمية كما عثر على هذه الجسيمات داخل النواة والمايتوكوندريا والصانعات الخضراء.

تكون أغلب الرايبوزومات متجمعة مع بعض ضمن كتل أكبر تسمى متعدد الجسيمات الريبية Poly ribosomes (أو Poly somes). وهذا التكتل يتم فوق جزيئة واحدة من mRNA أثناء الاصطناع البروتيني.

يستطيع الرايبوزوم الواحد تصنيع سلسلة ببتيدية خلال مدة تتراوح بين بضع ثوان وبضع دقائق تبعاً لطول السلسلة. وبعد انتهاء التصنيع تتحرر السلسلة الببتيدية من الرايبوزوم فيصبح جاهزاً لتصنيع سلسلة جديدة من البروتين نفسه أو من بروتين آخر وهكذا.

الجدير بالذكر أن الرايبوزوم لا يعمل على تصنيع أكثر من سلسلة ببتيدية واحدة في الوقت نفسه. وأن وظائف الرايبوزوم يمكن إجمالها بما يلي:

1. تمييز الحمض النووي الرسول mRNA و الارتباط به.
2. تمييز الكودونات على الرسول والارتباط بالحمض النووي الناقل للحمض الأميني والمحتوي على مضاد الكودون.
3. تشكيل الروابط الببتيدية.
4. التحرك على طول الحمض النووي الرسول بالاعتماد على آلية خاصة تستخدم فيها الطاقة الناتجة عن تحلل جوانوزين ثلاثي الفوسفات. (GTP)

ولاتزال الأبحاث مستمرة في هذا المجال للحصول على المزيد من المعرفة تمكننا من فهم آلية قيام الرايبوزوم بهذه الوظائف وأهمية محتويات وحدتيه من البروتينات.

د- الرموز الوراثية للأحماض الأمينية (الشيفرة الوراثية):

ينتمي التفاعل الذي يحدث في الرايبوزومات أثناء الاصطناع الحيوي للبروتينات، إلى تفاعلات الاصطناع القالبية -ويتطلب هذا النوع من الاصطناع الحيوي تحديداً فراغياً دقيقاً للمركبات المتقابلة والمتفاعلة بما يتوافق مع المعلومات الوراثية التي يحملها القالب المتفاعل. وفي الحقيقة يوجد داخل الخلية الحية تفاعلا اصطناع حيويان من النمط القالبي: اصطناع الأحماض النووية واصطناع البروتينات وبالطبع هناك نقاط تشابه ونقاط اختلاف بين هذين التفاعلين، حيث يقوم بدور القالب أثناء اصطناع الأحماض النووية جزيئات الأحماض النووية نفسها (نظام متجانس)، بينما يقوم بهذا الدور أثناء اصطناع البروتينات جزيئات الأحماض النووية (نظام غير متجانس). ففي حالة اصطناع الأحماض النووية يتم نقل المعلومات الوراثية عن تتابع النيوكليوتيدات في سلسلة الـ DNA (السلسلة القالب) إلى الحمض النووي المصنع حديثاً بحيث يتم اختيار النيوكليوتيدات المقابلة للسلسلة القالب مباشرة، بينما يجب على القالب النيوكليوتيدي (mRNA) أثناء اصطناع البروتينات أن يترجم إلى تحديد لتتابع الأحماض الأمينية الداخلة في تركيب البروتين المصنع وترتيب اتصالها بعضها مع بعض. تعرف هذه النقطة باسم الشيفرة الوراثية Genetic code أو الكود code التي تتطلب تحديد

تتابع مؤلف من عشرين حمضاً أمينياً مختلفاً بوساطة أربعة أنواع فقط من النيوكليوتيدات موجودة في DNA وهي نيوكليوتيدات الادنين والجوانين والسايتوزين والثايمين (A, G, C, T).

إن تسلسل الأحماض الأمينية في سلسلة متعددة الببتيدات لكل بروتين على حدة له رمز ثابت ومحدد في تركيب DNA وبالطبع لا يمكن لقاعدة نتروجينية واحدة أن تعبر عن حمض أميني واحد لأن القواعد أربع بينما الأحماض الأمينية عشرون فإذا كان كل رمز مؤلف من قاعدتين فإن هناك 24 احتمالاً مختلفاً وبالتالي يكون لدينا 16 رمزاً فقط وهي أقل من الأحماض الأمينية العشرين التي يجب أن يكون لكل منها رمز خاص بها. لذلك لابد من التسليم بأن رمز كل حمض أميني يجب أن يتكون من أكثر من قاعدتين نيتروجينيتين، وإذا افترضنا أن الرمز مكون من ثلاث قواعد فإن مجموع الرموز التي يمكن الحصول عليها يساوي $4^3 = 64$ رمزاً، وهو عدد أكثر من كاف للتعبير عن الأحماض الأمينية العشرين.

لقد ثبتت صحة هذا الافتراض وعرفت أسرار الشيفرة الوراثية للكائنات الحية، وكان ذلك أحد الملامح المثيرة للاهتمام في الكيمياء الحيوية وأحد أعظم إنجازاتها.

إذن لكل حمض أميني رمز خاص به مؤلف من ثلاث قواعد نيتروجينية متتابعة في الـ DNA يطلق عليها اسم ثلاثية الرمز Triplet de codage، لكن المورثات تبقى في الكروموزوم وهي لا تستخدم بشكل مباشر كقالب خلال عملية اصطناع البروتينات وإنما بوساطة الأحماض النووية من نوع mRNA المستخدمة كقوالب وسيطة في تقديم المعلومات الوراثية وتوجيه تسلسل الأحماض الأمينية خلال عملية الاصطناع، كما هو موضح في الشكل (6-1). وقد جاء الدليل على صحة هذه المعلومات من نتائج الأبحاث المهمة التي قام بها العالم نيرنبرج Nireniberg في عام 1961 عندما استخدم في إحدى تجاربه المستخلص الرائق الناتج عن تثفيل مستخلصات من البكتريا E. coli المحتوي على أنزيمات ورايبوزومات وأحماض نووية ناقلة tRNA. وأضاف إلى هذه الجملة نيوكليوتيداً اصطناعياً يحتوي فقط على اليوريدين n(UUU)

ليلعب دور الحمض النووي الرسول، ومزيجاً من الأحماض الأمينية الموسومة بذرات مشعة. وبنتيجة العزل والتحليل تبين للباحث أن من بين كل الأحماض الأمينية الموجودة في وسط التجربة فقط الفنيل الانين، هو الحمض الأميني الوحيد الذي كون البروتين الجديد المصنع حديثاً، أي أن السلسلة الببتيدية التي تم تصنيعها بهذا النظام تتكون من ارتباط جزيئات من

الحمض الأميني فنيل الانين بروابط ببتيدية ولم يدخل في تركيبها أي حمض أميني آخر مما دفع بالعالم نيرنبرج إلى الاستنتاج أن الرمز UUU خاص بالفنيل آلانين.

وفي تجربة مماثلة استخدم فيها نيوكليوتيد عديد السايتيدين (CCC)n نتجت سلسلة ببتيدية مكونة من جزيئات الحمض الأميني برولين فقط مما أدى إلى الاستنتاج أن الرمز

DNA	mRNA	Chine Poly peptidigu
Extremite 3'	Extremite 5'	Extremite N-termina 1
G	C	
C	G	
A	U	Arginine
C	G	
C	G	Glycocolle
T	A	
A	U	
T	A	Tyrosine
G	C	
T	A	
G	C	Threoniue
A	U	
Q	U	
Q	U	Phenylalanine
Q	U	
Extremite '5	Extremite '3	Extremite C-terminal

شكل 6-1: آلية نقل المعلومات الوراثية الخاصة باصطناع البروتينات.

ccc خاص بالبرولين.

بعدها حضر العالم المذكور مزيجا من متعددات النيوكليوتيدات التي تختلف في القواعد النيتروجينية المكونة لها، وأعيدت التجربة السابقة ووجد أن حموضاً أمينية مختلفة يتحد بعضها مع البعض وتكون البروتين الجديد.

ثم تتالت الأبحاث بعد ذلك في عدة مختبرات ومن قبل عدة باحثين بالإضافة إلى نيرنبرج أشهرهم العالمان كورانا Khorana وأوشوا Ochoa فأوضحت النتائج جميع الرموز الوراثية التي تستخدمها الخلية في تصنيع البروتينات. كما أثبتت ببراهين قاطعة أن تلك الرموز ثلاثية يتكون كل منها من تتابع ثلاث نيوكليوتيدات وأن 61 رمزاً أو كودونا من أصل 64 تستخدم للتعبير عن الأحماض الأمينية العشرين التي تدخل في تركيب البروتينات أي أن لكل حمض أميني أكثر من رمز أو كودون للتعبير عنه، وهناك ثلاث كودونات تستخدم للتعبير عن وجوب إنهاء تصنيع السلسلة الببتيدية فسميت رموز الانتهاء. ويستخدم كودون واحد للتعبير

عن وجوب الابتداء في تصنيع السلسلة، وهو الكودون نفسه الذي يرمز للحمض الأميني ميثايونين. ونورد فيما يلي (شكل 6-2) جدولاً بالرموز الوراثية وهي الكودونات التي يستخدمها الحمض النووي الرسول mRNA.

وقد حدد العالم كريك صفات الكودون أو الشيفرة الوراثية بعدد من المميزات التي نوردها فيما يلي:

الحرف الأول	الحرف الثاني				الحرف الثالث
	U	C	A	G	
U	UUU, UUC] phe UUA, UUG] Leu	UCU, UCC, UCA, UCG] Ser	UAU, UAC] Tyr UAA, UAG]	UGU, UGC] cys UGA] Try UGG	U C A G
C	CUU, CUC, CUA, CUG] Leu	CCU, CCC, CCA, CCG] Pro	CAU, CAC] His CAA, CAG] Gln	CGU, CGC, CGA, CGG] Arg	U C A G
A	AUU, AUC, AUA] Ile AUG Met	ACU, ACC, ACA, ACG] thr	AAU, AAC] Asn AAA, AAG] Lys	AGU, AGC] Ser AGA, AGG] Arg	U C A G
G	GUU, GUC, GUA, GUG] Vlat	GCU, GCC, GCA, GCG] Ala	GAU, GAC] Asp GAA, GAG] Glu	GGU, GGC, GGA, GGG] Gly	U C A G

شكل 6-2: الكودونات المختلفة والأحماض الأمينية المقابلة لها.

1. الوضوح، إذ يعبر الكودرن الواحد عن حمض أميني واحد.
2. العالمية، فالخلايا حقيقيات النوى أو طليعاتها تستخدم الكودون نفسه للتعبير عن الحمض الأميني.
3. تجاور الكودونات على سلسلة mRNA بدون وجود تداخلات. أو فواصل بينها.
4. تعدد الكودونات التي ترمز إلى حمض أميني، ولا يتعارض ذلك مع ميزة الوضوح السابقة الذكر.
5. إن الرموز الثلاثية، UAA , UAG، UGA والتي لم يكن لها في البداية أي مفهوم قد عرفت الآن على أنها الكودونات أو الرموز التي تحدد انتهاء سلسلة الببتيد وبالتالي توقف اصطناع البروتين.

6. إن الرمز الثلاثي AUG ذو أهمية خاصة لكونه الرمز الوراثي الوحيد للحمض الأميني ميثايونين ولذلك فهو الرمز المستخدم لبدء صنع سلسلة متعددة الببتيد ولإدخال الميثايونين في مكانه المخصص داخل السلسلة الببتيدية.
7. قراءة الكودونات تتم بالاتجاه '5 ← '3 حسب ترتيبها على الرسول.

6-1-2- خطوات اصطناع البروتينات:

يبدأ الاصطناع الحيوي للبروتينات بانضمام mRNA الذي يحتوي على الشيفرة الوراثية، إلى الرايبوزومات ويشكل معها معقداً يثبت بوجود الأحماض النووية الناقلة للأحماض الأمينية المنشطة بمختلف أنواعها. إن وجود هذه الجزيئات المعقدة معاً إضافة إلى بعض الأنزيمات والبروتينات المساعدة يشكل بمجموعه ما يسمى بالجسيم الريبي الفعال القادر على توجيه آلية بدء عملية الاصطناع.

لقد درست خطوات الاصطناع بشكل دقيق ومعمق على مستخلصات خلوية من E. coli وهي تشبه إلى حد كبير ما يحصل في الكائنات الراقية مع وجود اختلافات بسيطة في بعض التفاصيل.

يقسم اصطناع البروتينات إلى أربعة خطوات رئيسية:

1- تنشيط الأحماض الأمينية.
2- ابتداء تكوين السلسلة الببتيدية.
3- تطويل السلسلة الببتيدية.
4- إنهاء الاصطناع.

وسوف نتعرض فيما يلي بإيجاز إلى هذه الخطوات المؤدية إلى اصطناع البروتينات.

1-تنشيط الأحماض الأمينية ونقلها بوساطة tRNA على شكل Aminoacyl - t RNA

لقد أصبح معروفاً أن تفاعل الاصطناع الحيوي للبروتينات يبدأ بتنشيط الأحماض الأمينية أولاً قبل وصلها بالأحماض النووية tRNA الخاصة بنقلها. إن تفاعلي التنشيط والوصل يتمان بمساعدة نفس الأنزيم الذي يدعى أنزيم التنشيط أو أنزيم آمينو أسيل – tRNA سينثاتاز (Aminoacyl -tRNA synthetase) وهذا الأنزيم يتبع في تصنيفه مجموعة الأنزيمات الرابطة أو الصانعة المتميزة بتخصصها النوعي الدقيق، حيث تميز كلاً من الحمض الأميني الذي تختص بتنشيطه والحمض النووي الناقل له، أي أن هذه الأنزيمات تحتوي على مركزي تمييز فعالين على الأقل.

في المرحلة الأولى من التفاعل يقوم الأنزيم بتنشيط الحمض الأميني بوساطة ATP فينتج بايروفوسفات ومركباً وسطياً هو أدينيلات أو أدينوزين فوسفات الحمض الأميني (Aminoacy1 AMP) يبقى مرتبطاً بسطح الأنزيم الصانع. ورغم أن المركب الوسطي غير ثابت فإن ارتباطه بالأنزيم يجعله مستقراً إلى أن تتم الخطوة التالية. كما تحلل مجموعة البايروفوسفات الناتجة عن التفاعل إلى جزيئي فوسفات يجعل التفاعل مائلاً بشدة باتجاه اليمين. وفي المرحلة الثانية من التفاعل يعمل الأنزيم على نقل الحمض الأميني المنشط من الأدينيلات إلى t RNA الخاص به ويتحرر الأنزيم وحمض الأدينيليك (أي AMP) وينتج الحمض الأميني المرتبط بـــ tRNA كما في التفاعل الإجمالي التالي:

$$\text{mino acide + tRNA + ATP} \xrightarrow[Mg^{++}]{\text{الأنزيم الرابط}} \text{Aminoacyl- tRNA +AMP + PPi}$$

2- ابتداء تكوين السلسلة الببتيدية:

تبدأ السلسلة الببتيدية في الكائنات الراقية بحمض الميثايونين المنشط والمتصل بالناقل الخاص به (t RNA −Met)، أما في الكائنات الدنيا كالبكتريا فإن البداية تتطلب وجود مشتق الفورميل له، ويرمز لهذا المشتق بالرمز (FMet –t RNA).

لم يكن معروفاً في البداية أن t RNA الخاص ببدء تكوين السلسلة هو FMet - t RNA إلا أنه لوحظ أن النهاية الأمينية للبروتينات في E. coli هي الميثايونين بعدها لوحظ أن إضافة الميثايونين وخاصة مشتقه الفورميل يحث على اصطناع البروتين بشكل كبير. وأخيراً عرف أن أول حمض أميني يبدأ به صنع السلسلة هو N – فورميل الميثايونين المرتبط بـــ tRNA خاص به هو met- tRNA. يتم تكوين هذا المركب الأخير بوساطة أنزيم فورميلاز الذي ينقل مجموعة فورميل $-\overset{H}{\underset{|}{C}}=O$ من فورميل حمض الفوليك الى Met- tRNA وفق التفاعل التالي:

$$\text{N - فورميل - Met- t RNA} \xleftarrow{\text{فورميلاز}} \text{H}_2\text{N – Met-tRNA} + \text{فورميل تتراهيدروفولات}$$

والجدير بالذكر أن مجموعة الفورميل ترتبط بمجموعة أمين الميثايونين.

في الكائنات الدنيا يتطلب البدء باصطناع البروتين ارتباط تحت الوحدة الصغرى للرايبوزوم 30 S مع كل من الرسول mRNA ومشتق الفورميل للميثايونين المنشط FMet - t RNA لتشكيل معقد الابتداء أو الجسيم الريبي الفعال ويتطلب ذلك وجود ثلاثة بروتينات خاصة

تسمى عوامل المبادرة Initiation Factors (F_3, F_2, F_1) التي يستحصل عليها من غسل المستخلص الكلي لرايبوزومات E . coli بمحلول NH_4CL (M1)) والمركب الغني بالطاقة جوانوزين ثلاثي الفوسفات (GTP). يرتبط هذا المعقد بعد ذلك بتحت الوحدة الكبرى للرايبوزوم (50 S) لتشكيل الوحدة العاملة الكاملة وهي 70 S وتستمد الطاقة اللازمة لذلك من تحلل GTP إلى GDP وفوسفات ثم تنفصل عوامل المبادرة التي ساعدت على تشكيل المعقد بعد بدء الاصطناع الحيوي، وتستخدم مجدداً عدة مرات للمبادرة في اصطناع سلاسل جديدة. وبذلك تكون قد انتهت المرحلة الثانية وهي ربط الرسول عند كودون الابتداء AUG بالمركب FMet - t RNA الذي يحمل مضاد كودون الابتداء UAC بوساطة وحدتي الرايبوزوم الذي أصبح الآن جاهزاً لعملية الترجمة وتطويل السلسلة.

ويجب التأكيد على أن الوضع في الكائنات الراقية يختلف عن الدنيا في أن الابتداء يكون Met- tRNA بدلا من مشتق الفورميل له، وأن تحت وحدتي الرايبوزوم هما 40 S و60 S وأن الوحدة الكاملة هي 80S.

3- تطويل السلسلة الببتيدية:

يقصد بتطويل السلسلة الببتيدية نمو السلسلة الببتيدية على الرايبوزومات التي تقوم بدور الموجه للأحماض النووية الناقلة للأحماض الأمينية والحمض النووي الرسول، بشكل يتم معه قراءة الكودونات على الرسول بصورة صحيحة.

وتشمل هذه المرحلة ثلاث خطوات متتابعة:

أ) مرحلة التوضع:

وهي المرحلة التي يبدأ فيها الرايبوزوم بقراءة الكودون الثاني على mRNA ويرتبط به tRNA (المحتوي على مضاد الكودون الموافق والمتصل بالحمض الأميني الثاني) يتم هذا الارتباط باستهلاك طاقة تأتي من تحلل GTP وبمساهمة بروتين سايتوبلازمي خاص هو عامل الاستطالة- T الذي أمكن الحصول عليه متبلوراً وفي نهاية هذه المرحلة يصبح الحمضان الأمينيان الأول والثاني متجاورين.

ب) تكوين الرابطة الببتيدية:

ترتبط المجموعة الأمينية الحرة للحمض الأميني الثاني (الذي دخل حديثاً) مع المجموعة الكربوكسيلية للحمض الأميني الأول (أي مجموعة كربوكسيل فورميل الميثايونين) وذلك بمساهمة أنزيم ببتيديل ترانسفيراز فتتشكل رابطة ببتيدية وتطول السلسلة بمقدار حمض أميني

واحد ويتحرر أثناء ذلك جزيء tRNA. فإذا كان الكودون الثاني على الرسول UAC وهو الرمز الخاص بحمض التايروزين فان الوضع يصبح كما في الرسم التالي:



ج) انتقال tRNA الذي كان حاملاً للحمض الأميني الأول (الميثايونين):

ينتقل tRNA المتصل بالتايروزين (والحامل الآن للسلسلة الببتيدية) من الموقع –A إلى الموقع –P (في جسم الرايبوزوم) طارداً منه $tRNA_1$ الفارغ وفي نفس الوقت يقرأ الرايبوزوم الكودون الثالث على الرسول استعداداً لربطه بـــ $tRNA_3$ الحامل للحمض الأميني الثالث.

تحتاج حركة الرايبوزوم إلى وجود بروتين خاص هو العامل G مرتبط بـــ GTP الذي يتحلل ليعطي الطاقة اللازمة لحركة الرايبوزوم. ففي كل مرحلة انتقال للببتيديل t RNA يحدث ارتباط جزيء جديد من المعقد GTP-G مع الرايبوزوم. يترافق الانتقال السابق بانتقال mRNA على طول الرايبوزوم بمسافة كودون واحد وهكذا يستمر تطويل السلسلة بالإضافات إلى مجموعة الكربوكسيل وبالمراحل السابقة نفسها.

4–إنهاء الاصطناع:

يتم توقف اصطناع السلسلة الببتيدية وانفصالها عن الرايبوزوم بطرق خاصة لم تعرف مراحلها التفصيلية بعد.

يحدد انتهاء الاصطناع ثلاثة كودونات خاصة موجودة في m RNA وهي، UAG، UGA UAA. فبعد انضمام الحمض الأميني الطرفي (النهاية– C) للسلسلة الببتيدية على الرايبوزوم تبقى هذه الأخيرة مرتبطة، بوساطة مجموعة الكربوكسيل الطرفية فيها، مع tRNA والمرتبط بدوره في الموقع A للرايبوزوم.

إن تحرر بيتيديل t RNA عن الرايبوزوم يتحقق بوجود ثلاثة بروتينات خاصة تسمي عوامل التحرر، وهذه العوامل هي R_1، R_2 و R_3 والتي ترتبط بالرايبوزوم وتسهل انزياح الببتيديل – tRNA من الموقع – A إلى الموقع – P، حيث يقوم أنزيم بيتيديل ترانسفيراز، الذي تحدد

فعاليته عوامل التحرر، بتفكيك الرابطة الايستيرية بين سلسلة متعدد الببتيد و t RNA، وبالتالي على انفصال السلسلة الببتيدية وتحرر مجموعتها الكربوكسيلية الطرفية.

في الوقت نفسه ينفصل كل من tRNA و mRNA ويتفكك الرايبوزوم الحر 70 S إلى تحت وحدتين 30 S و 50 S بوجود عامل خاص (TR) استعداداً لتصنيع سلسلة ببتيدية جديدة والجدير بالذكر أنه يمكن تواجد عدة رايبوزومات بشكل متتال على مسافات معينة من الرسول mRNA وكل منها يعمل بمفرده على تصنيع سلسلة ببتيدية في الوقت ذاته مما يوضح كفاءة الخلية في استخدام الرسول.

بعد اصطناع السلسلة الببتيدية وتحررها فهي لاتزال تحتوي في طرفها الأول (الأميني) على فورميل ميثايونين الذي تتم إزالته أنزيمياً على مرحلتين:

ففي المرحلة الأولى يقوم أنزيم من نوع دي فورميلاز خاص بفصل مجموعة الفورميل (على صورة حمض فورميك) كما في التفاعل التالي:

$$\text{ميثايونين ببتيد} + \text{حمض فورميك} \xrightarrow{\text{دي فورميلاز}} \text{فورميل ميثايونيل} - \text{ببتيد}$$

وفي المرحلة الثانية بتدخل أنزيم خاص من نوع آمينو ببتيداز يعمل على فصل حمض الميثايونين كما يلي:

$$\text{ببتيد} + \text{ميثايونين} \xrightarrow{\text{أمينوببتيداز}} \text{ميثايونين} - \text{ببتيد}$$

أما في الكائنات الراقية فتحصل المرحلة الثانية فقط نتيجة لعدم وجود مجموعة الفورميل.

تقوم السلسلة الببتيدية بعد ذلك بالطي والالتفاف حتى تتخذ التركيب النهائي لها (تركيب ثانوي وثالثي) وقد تحصل خلال ذلك بعض التفاعلات المساعدة نذكر منها (الأكسدة الأنزيمية لبعض مجموعات السلفهيدريل لتشكيل روابط ثنائية السلفيد وإضافة بعض المجموعات كالميثيل والهيدروكسيل وحمض الفوسفوريك إلى مواقع معينة في جزيء البروتين.

6-2- حسابات الطاقة في الاصطناع الحيوي للبروتينات:

يعد الاصطناع الحيوي للبروتينات من العمليات المكلفة للخلية من حيث الطاقة. فمن أجل تشكيل جزيئة أمينو أسيل – t RNA تصرف الخلية رابطتان غنيتان بالطاقة. وعند انضمام جزيء الأمينو أسيل – tRNA إلى الموقع – A في الرايبوزوم تصرف الخلية طاقة تأتي من تحلل جزيء GTP وتحولها إلى GDP. وأثناء انتقال الرايبوزوم على طول سلسلة mRNA تصرف الخلية طاقة تأتي من تحلل جزيئة ثانية من GTP. وهكذا فان مجموع الروابط

الفوسفاتية الغنية بالطاقة اللازمة لتشكيل رابطة ببتيدية واحدة يساوي أربع روابط غنية بالطاقة أو ما يعادل: 7.3 × 4 = 29.2 كيلو كالوري.

وبما أن الطاقة الناتجة عن حلمأة الرابطة الببتيدية لا تتعدى 5 كيلو كالوري فإن المحصلة النهائية لـــ ΔG اللازمة لاصطناع الرابطة الببتيدية الواحدة تساوي −24.2 كيلو كالوري. ومن هنا نستنتج أن اصطناع البروتينات يتطلب من الخلية صرف كمية كبيرة من الطاقة. وهذا على ما يبدو الضريبة التي يتوجب على الخلية دفعها لتحقيق الدقة المتناهية في عملية نسخ وترجمة المعلومات الوراثية في تتابع محدد للأحماض الأمينية ضمن البروتين المصنع.

6-3- الاصطناع الحيوي للنيوكليوتيدات والأحماض النووية:

تشكل النيوكليوتيدات حجر الأساس في الاصطناع الحيوي للعديد من المركبات المهمة والضرورية لتسيير جميع العمليات الحية التي تجري داخل الخلية الحية. فهي الطلائع الفعالة في بناء الأحماض النووية DNA و RNA. كما أن مشتقاتها تدخل كمركبات وسطية مهمة في كثير من مسارات الاصطناع الحيوي، وكمثال على ذلك: UDP جلوكوز طليعة اصطناع متعددات السكريات، CDP – ثنائي أسيل جليسرول طليعة اصطناع الفوسفوليبيدات. ويضاف إلى ذلك الأهمية الخاصة لنيوكليوتيدات الأدنين كمرافقات أنزيمية (NAD^+, COA, FAD) ومركبات ناقلة للطاقة متمثلة بـــ ATP، لا تحتاج الكائنات الحية عموماً (عدا بعض أنواع الأحياء الدقيقة) إلى توفر القواعد النيتروجينية في غذائها لأنها قادرة على اصطناعها من مركبات أبسط. فالأحماض النووية المتواجدة في النسج الحية تكون على الغالب داخلية المنشأ وليست مأخوذة عن طريق الغذاء.

6-3-1- اصطناع نيوكليوتيدات البيريميدين والبيورين:

تستطيع الخلايا الحية النباتية منها والحيوانية اصطناع نيوكليوتيدات البيريميدين والبيورين ابتداء من مركبات بسيطة مثل CO_2, NH_3، جلايسين، فورمات...الخ، وقد عرفت آلية هذا الاصطناع بفضل استعمال النظائر المشعة.

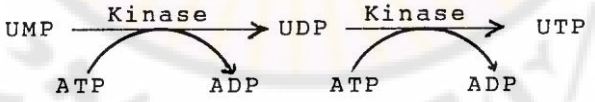
أ-اصطناع البيريميدين:

يعد حمض أوروتيك (6- كربوكسي يوراسيل) حجر الأساس في تصنيع نيوكليوتيدات البيريميدين. وقد بينت الأبحاث باستعمال النظائر المشعة منشأ الذرات المكونة لنواة البيريميدين والأمر نفسه ينطبق على حمض الأوروتيك أيضاً.

يبدأ الاصطناع بتفاعل المركب الغني بالطاقة كاربامويل فوسفات (الذي سبق وذكرنا طريقة تكونه) مع حمض الأسبارتيك بمساعدة أنزيم أسبارتات ترانس كاربامويلاز فينتج حمض N – كاربامويل اسبارتيك (أوUreido - Succinque) يتم إغلاق الحلقة بمساعدة أنزيم ثان من نوع داي هايدرواوروتاز مؤدياً إلى تكوين حمض داي هايدرو أوروتيك الذي يخضع بدوره لتفاعل أكسدة أنزيمية، حيث يقوم أنزيم داي هايدرو اوروتات ديهايدروجيناز المرتبط بالمرافق الأنزيمي FAD بنزع ذرتي هيدروجين من كربونين متجاورين وإنتاج حمض أوروتيك المحتوي على رابطة مضاعفة.

تضم الخطوة التالية تنشيط السكر الخماسي رايبوز 5– فوسفات بنقل مجموعة بايروفوسفات إليه من ATP بوجود أنزيم خاص (من نوع كيناز) فيتكون AMP وألفا –5 – فوسفورايبوزيل 1– بايروفوسفات الذي يرمز له بالرمز PRPP. وفي المرحلة التي تليها يرتبط حمض الأوروتيك بالمشتق السكري السابق بحيث يحل محل مجموعة البايروفوسفات مشكلاً رابطة N – جلايكوسيدية (بيتا) فيتكون نيوكليوتيد هو أوروتيدين 5'– فوسفات وأخيراً يتكون يوريدين 5'– فوسفات (UMP) من نزع مجموعة الكربوكسيل للمركب أوروتيدين – 5' – فوسفات بوجود أنزيم خاص من نوع ديكاربوكسيلاز.

ويعد UMP أو حمض يوريديليك نقطة الانطلاق لتصنيع نيوكليوتيدات السايتيدين والثايميدين. يتحول UMP إلى يوريدين ثلاثي الفوسفات UTP على مرحلتين: ففي المرحلة الأولى تضاف مجموعة فوسفات أنزيمياً من ATP إلى UMP فينتج يوريدين ثنائي الفوسفات (UDP) وفي المرحلة الثانية تكرر العملية السابقة فينتج UTP.



أما تصنيع السايتيدين ثلاثي الفوسفات (CTP) فيتم أنزيمياً من اليوريدين ثلاثي الفوسفات وذلك باستبدال مجموعة أمينو محل ذرة أوكسجين الكربونيل الموجودة على الكربون الرابع في الحلقة. ففي الأحياء الدقيقة تستعمل الأمونيا مباشرة في التفاعل بينما في الثدييات يقوم الجلوتامين بتقديم مجموعته الأمينية. والتفاعل الأنزيمي يستهلك رابطة فوسفاتية يقدمها ATP بوجود شوارد المغنيزيوم.

الجدير بالذكر أن زيادة تركيز CTP تثبط أنزيم اسبارتات ترانس كاربامويلاز وهو الأنزيم المساعد لإتمام المرحلة الأولى في اصطناع نيوكليوتيدات البيريميدين.

ب- اصطناع البيورين:

إن استعمال النظائر المشعة قد سمح للباحثين معرفة أصل مختلف ذرات الفحم والآزوت في نواة البيورين على الرغم من أن الصيغة الكيميائية للبيورين تظهر وكأنها تضم حلقة بيريميدين متكثفة مع حلقة ايميدازول. فالمكونات الأولية للبيريميدين تختلف عن المكونات الأولية للبيورين. وقد توصل الباحثون إلى تحديد المركبات البسيطة التالية التي تدخل في تركيب نواة البيورين: حمض الأسبارتيك، الجلايسين، الجلوتاميك، حمض الفورميك و CO_2.

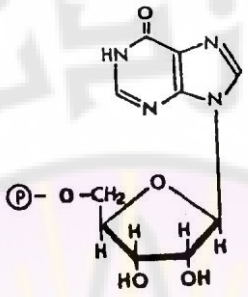
يبدأ التركيب الحيوي للبيورين بتحضير السكر المفسفر أولا ثم تضاف المكونات الأخرى إليه لتكوين الحلقة، بينما تم تكوين الحلقة من حمض أوروتيك أولاً بالنسب لنيوكليوتيدات البيري ميدين.

تبدأ الخطوة الثانية باستبدال مجموعة البايروفوسفات في المركب الفا –5' فوسفو رايبوزيل 1– بايروفوسفات (PRPP) بمجموعة جاما – أمينو يقدمها الحمض الأميني جلوتامين بتحوله إلى حمض جلوتاميك في تفاعل أنزيمي يجعل مجموعة الأمين في الوضع بيتا بالنسبة للرايبوز. والأمين الناتج يرتبط بدوره مع الحمض الأميني جلايسين برابطة أميدية بوجود ATP فينتج المركب رايبونيوكليوتيد الجلايسيناميد. ثم يستمر تسلسل التفاعل بإدخال مجموعة فورميل $-\overset{H}{\underset{}{C}}=O$ محمولة على المرافق الأنزيمي حمض الفوليك لتشكيل المركب رايبونيوكليوتيد فورميل جلايسيناميد (GAR)، ثم تضاف مجموعة أمين من الحمض الأميني جلوتامين بوجود ATP فيتشكل رايبونيوكليوتيد فورميل جلايسيناميد. إن ذرة النيتروجين المضافة في هذه المرحلة تتصل بكربون الكربونيل وهي التي ستصبح الذرة رقم 3 في حلقة البيورين. بعد ذلك يتم إغلاق حلقة الايميدازول المتكونة مع استهلاك جزيء آخر من ATP وإنتاج جزيء ماء. يسمى المركب الناتج في نهاية هذه الخطوة أمينو ايميدازول رايبوزي 5' –فوسفات الذي يرمز له بالرمز AIR.

يلي ذلك إضافة CO_2 إلى حلقة الايميدازول على شكل مجموعة كربوكسيل وهي التي ستشكل ذرة الكربون رقم 6 في الحلقة ثم تضاف ذرة نتروجين من مجموعة أمين حمض الأسبارتيك التي ترتبط برابطة أميدية مع مجموعة الكربوكسيل المضافة مشكلة مركباً وسطياً ينفصل منه حمض الفوماريك. هذا التفاعل الأخير يحتاج إلى طاقة يستمدها من تحلل جزيء ATP.

المركب الناتج يستقبل مجموعة فورميل ثم تغلق الحلقة فينتج جزيء ماء وحمض اينوسينيك IMP والمسمى أيضاً اينوسين 5'– فوسفات.

والجدير بالذكر أن هذا المركب ليس مكونا رئيسياً من مكونات الأحماض النووية شأنه بذلك شأن الأوروتيدين 5' – فوسفات ولكنه المركب الأم الذي تصنع منه نيوكليوتيدات البيورين.



حمض إينوسينيك (IMP)

ج–فسفرة النيوكليوتيدات أحادية الفوسفات إلى نيوكليوتيدات ثلاثية الفوسفات:

إن فسفرة النيوكليوتيدات أحادية الفوسفات المتكونة (مثل AMP و GMP) تتم بوساطة أنزيمات متخصصة من نوع كيناز تعمل على إضافة مجموعة فوسفات من ATP إليها فتحولها إلى نيوكليوتيدات ثنائية الفوسفات. وبتكرار العملية تنتج النيوكليوتيدات ثلاثية الفوسفات (ATP, GTP) التي تشكل مع كل من CTP و UTP طليعة الاصطناع الحيوي للحمض النووي RNA.

6–3–2–اصطناع دي أوكسي رايبو نيوكليوتيدات:

إن اصطناع دي أوكسي رايبونيوكليوتيدات في الخلايا الحية يتم بكل بساطة بعملية اختزال للرايبونيوكليوتيدات الموافقة. أن عملية الاختزال هذه، الموجهة إلى ذرة الكربون رقم /2/ من سكر الرايبوز، تتم في بكتريا E. coli وفي النسج الحيوانية على الرايبونيوكليوتيدات ثنائية الفوسفات بوساطة أنزيمين خاصين يدعيان B_1 و B_2 وبوجود بروتين قليل الوزن الجزيئي هو ثيوريدوكسين (Thioredoxine) الذي يحتوي على مجموعتي سلفوهيدريل.

يلعب الثيوريدوكسين دور المعطي للهيدروجين حيث تتأكسد المجموعتان إلى سلفيد ثنائي –s-s– وينتح الماء من اختزال الرايبوز في النيوكليوتيدات ثنائية الفوسفات.

الشكل المؤكسد للثيوريدوكسين يتحول بسهولة إلى الشكل المختزل على حساب المرافق الأنزيمي NADPH. ولتوضيح هذه التحولات نرمز للنيوكليوتيدات ثنائية الفوسفات بالرمز (XDP) فتتحول إلى دي أوكسي رايبونيوكليوتيدات (dxDP)

النيوكليوتيدات ثنائية الفوسفات الناتجة مثل dADP و dGDP تخضع بدورها إلى تفاعل فسفرة بوساطة أنزيم نيوكليوسيد ثنائي فوسفات الكيناز فيحولها إلى نيوكليوتيدات ثلاثية الفوسفات (dATP و dGTP) التي تشكل طليعة الاصطناع الحيوي للحمض النووي DNA.
من جهة أخرى فقد اكتشف عدد من الباحثين إمكانية اختزال الرايبونيوكليوتيدات ثلاثية الفوسفات XTP إلى dxTP بوساطة نظام أنزيمي خاص متواجد في بكتريا Lactobacillus يشترك فيه فيتامين B_{12} وبعض المرافقات الأنزيمية الأخرى (حمض لايبويك).

6-3-3- اصطناع الثايميدين 5' - فوسفات (d TMP):

إن اصطناع الثايميدين 5'- فوسفات الذي يوجد في DNA يتم في الخلايا الحية بإضافة مجموعة ميثيل، محمولة على المرافق الأنزيمي حمض الفوليك، إلى دي أوكسي يوريدين 5'- فوسفات (d UMP).

6-3-4- الاصطناع الحيوي للأحماض النووية:

إن الطلائع المباشرة في اصطناع الأحماض النووية (RNA و DNA) هي النيوكليوتيدات ثلاثية الفوسفات الموجودة في حالة حرة في الوسط الخلوي وهي بالنسبة لـــ RNA الرايبونيوكليوتيدات ثلاثية الفوسفات للأدينوزين (ATP)، جوانوزين (GTP)، سايتيدين (CTP) يوريدين (UTP). وبالنسبة لـــ DNA الدي أوكسي رايونيوكليوتيدات ثلاثية الفوسفات للأدينوزين (dATP)، جوانوزين (dGTP) سايتيدين (dCTP)، ثايميدين (dTTP).

إن اصطناع الأحماض النووية (DNA و RNA) من النيوكليوتيدات ثلاثية الفوسفات يتطلب بالضرورة المحافظة على المعلومات الوراثية بشكل تام وبدقة فائقة. ولذلك فمن المهم أن نشير إلى أن مسارات اصطناع النيوكليوتيدات يجب أن تكون في غاية التنظيم والدقة داخل الخلية الحية لأن النواتج تدخل بنسب معينة في تركيب الأحماض النووية. وتختلف هذه النسب حسب نوع الحمض النووي ونوع الكائن الحي. والخلية الحية مجهزة كما أسلفنا سابقاً، بعدة وسائل تمكنها من التحكم بمسارات الاستقلاب حسب مقتضيات التصنيع، ونذكر منها تثبيط الناتج النهائي أي تثبيط أحد أنزيمات الاصطناع بزيادة تركيز الناتج النهائي إضافة إلى تحكم الخلية بآلية إنتاج الأنزيمات اللازمة للاصطناع ومرافقاتها. وأمثلة ذلك الأنزيمات التي تقوم بتحويل الزيادة من dCMP إلى dTMP عن طريق نزع مجموعة الأمين أولا فينتج dUMP ثم إضافة مجموعة ميثيل فينتج dTMP.

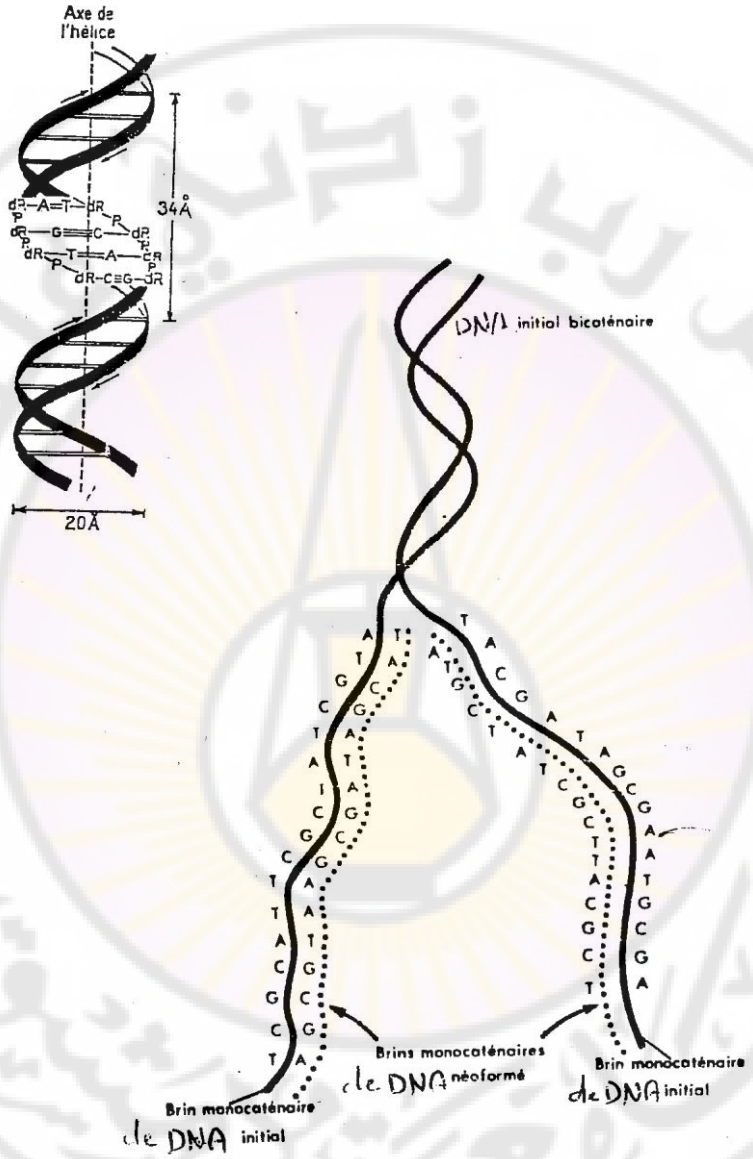
ونشير أخيراً إلى أن اصطناع أحد النيوكليوتيدات قد يحتاج إلى وجود المشتق ثلاثي الفوسفات للنيوكليوتيد الثاني مما يفيد في الموازنة بين تركيزهما.

بعد أن تطرقنا بشيء من التفصيل إلى آلية الاصطناع الحيوي لطلائع الأحماض النووية (رايبو ودي أوكسي رايبو نيوكليوتيدات ثلاثية الفوسفات) نصل إلى المرحلة الأهم في سلسلة الاصطناع الحيوي وهي اصطناع الأحماض النووية DNA و RNA مع الأخذ بعين الاعتبار الدقة المتناهية في التصنيع ليتسنى لهذه الأحماض النووية نقل المعلومات الوراثية إلى الأجيال اللاحقة بكل أمانة وصدق. يتم اصطناع الأحماض النووية من نوع DNA داخل الخلية الحية بآلية تسمى التضاعف (Replication أو duplication)، بينما يتم اصطناع الأحماض من نوع RNA بآلية تسمى الاستنساخ (Transcriptio).

أ- اصطناع الـ DNA:

أدت التجارب العديدة التي أجراها Meselson et stahl إلى توضيح آلية تضاعف الـ DNA. هذه الآلية تبدأ بانفصال السلسلتين المكونتين للحلزون المزدوج لجزيء الـ DNA فتصبح كل سلسلة بمثابة قالب يصنع عليها سلسلة جديدة مكملة لها هذه الأخيرة لا تلبث أن تتحد مع السلسلة القديمة لتعطي جزيئين من DNA يملك كل منهما سلسلة قديمة وأخرى جديدة. تسمى هذه الطريقة بالتضاعف شبه المحافظ (semi - conservative) وقد ثبت أنها هي الطريقة التي يتضاعف بها DNA داخل الخلايا الحية الدنيا والراقية نباتية وحيوانية.

إن الأنزيم الأول القادر على بلمرة دي أوكسي رايبو نيوكليوتيدات ثلاثية الفوسفات تم اكتشافه عام 1958 من قبل Kornberg وهو من نوع بوليمراز DNA- Polymerase I يقوم هذا الأنزيم بعملية ربط الدي أوكسي رايبونيوكليوتيدات بعضها مع بعض لتصنيع السلسلة الجديدة المتممة للسلسلة الأصلية (القديمة) بحيث أن تسلسل القواعد النيتروجينية في السلسلة الأصلية يحدد تلقائياً تسلسل القواعد النيتروجينية في السلسلة المصنعة حديثاً، فأينما وجد أدنين يقابله ثايمين وأينما وجد جوانين يقابل سايتوزين كما يتضح من المخطط الموضح في الشكل (6-3).



الشكل 6-3: آلية تضاعف الـ DNA

ويمكن إيجاز عمل هذا الأنزيم بالمعادلة التالية:

$$n_1\ dATP + n_2\ dGTR + n_1\ dTTP + n_2\ dCTP \xrightarrow[Enzyme]{DNA\ ,Mg^{++}} [(dAMP)_{n1}\ ,\ (dGMP)_{n2}\ ,\ (dTMP)_{n1},\ (dCMP)_{n2}] + 2\ (n_1 + n_2) + PPi$$

أي أن وجود الدي أوكسي رايبو نيوكليوتيدات ثلاثي الفوسفات شرط أساسي لعملية الاصطناع. وبمجرد ارتباطها بعضها مع بعض ينفرد من كل منها جزيء بايروفوسفات. وعملية الارتباط تحتاج كما يتضح من المعادلة إلى وجود شوارد المغنيزيوم. وأن نقصان أحد الدي أوكسي رايبونيوكليونيدات ثلاثية الفوسفات الأربعة الضرورية لعملية التصنيع يؤدي إلى توقف عمل الأنزيم وبالتالي توقف تضاعف الـــ DNA. وقد أثبت ذلك عملياً من خلال نتائج الأبحاث التجريبية التي أجريت خارج الخلية الحية للعديد من العلماء نذكر من أشهرهم:

Okazaki , Khorona , Kornberg , Meselson Et Stahl

كما أن عملية التضاعف تتطلب بالضرورة انفصال السلسلتين المكونتين للحلزون المزدوج لجزيء الـــ DNA، وتجريبياً يمكن إتمام عملية الانفصال هذه بتعريض DNA للحرارة أما داخل الخلايا الحية فيعتقد أن الانفصال يحتاج إلى وجود بروتينات خاصة تساعد على ذلك.

من جهة أخرى فقد تبين للباحثين وجود أكثر من نوع من أنزيمات DNA Polymerase يعمل بعضها في تصنيع سلسلة جديدة متممة لإحدى سلسلتي DNA الأصل وبعضها الآخر في إصلاح جزيء الـــ DNA عند حدوث خلل في إحدى سلسلتيها نتيجة لتغير بعض القواعد النيتروجينية في DNA بسبب التعرض للإشعاع أو لبعض الكيماويات. وفي كافة الأحوال يتم تصنيع السلسلة الجديدة أو أجزاء منها بالاتجاه 5' ← 3'.

وفي حال وجود عدة سلاسل قصيرة (كل منها مكون من عدة مئات من النيوكليوتيدات) مرتبطة بالسلسلة الأصلية، يتم وصل أطرافها بوساطة أنزيم رابط من نوع لإيجاز DNA Ligase

ونشير أخيراً إلى وجود أنزيم DNA Polymerase متعلق كلياً بالحمض النووي RNA وهذا ما تم اكتشافه في العديد من الفيروسات المحتوية على RNA فقط. ولكي يستطيع هذا الأنزيم القيام بعمله يتطلب وجود شوارد ثنائية (Mn^{++} أو Mg++) والأنواع الأربعة من الدي أوكسي رايبونيوكليوتيدات ثلاثية الفوسفات. وفي هذه الحالة يعمل الـــ RNA عمل القالب لاصطناع حلزون مزدوج من DNA. ويمكن إيجاز آلية التصنيع بالمعادلة التالية:

RNA viral → RNA . DNA → DNA . DNA

الـــ DNA المصنع بهذه الطريقة يتطفل على مكونات خلايا العائل المضيف ويعمل هو كقالب يصنع عليه RNA الفيروس بوساطة أنزيم من نوع RNA polymerase متعلق بـــ DNA وهذا ما يحدث عند الإصابة ببعض الفيروسات المسببة لمرض السرطان.

ب-اصطناع الـــ RNA:

يتم اصطناع جميع أنواع RNA في الكائنات الحية الراقية Eukaryotes داخل النواة ثم تنقل إلى السايتوبلازم. وهناك بعض الحالات التي يتم فيها الاصطناع في السايتوبلازم كما في الكائنات الدنيا طليعيات النوى Prokaryotes. أو يتم الاصطناع في بعض الجسيمات الخلوية كالمايتوكوندريا والكلوروبلاستيدات.

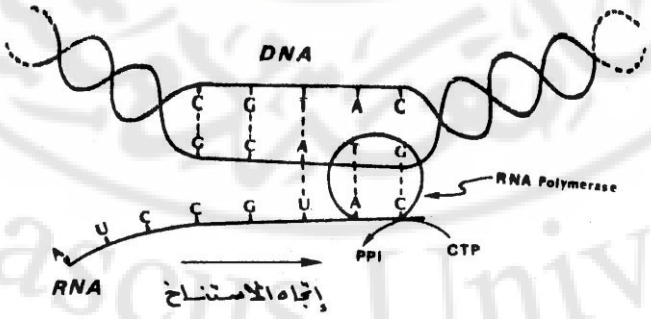
إن بلمرة الرايبونيوكليوتيدات ثلاثية الفوسفات لإنتاج الأنواع المختلفة من RNA يتم بآلية تسمى الاستنساخ، وفي كل الأحوال هناك أوجه تشابه بين تضاعف DNA وبين اصطناع RNA على اعتبار أن المعلومات الوراثية المحمولة على DNA تنقل بأمانة إلى RNA. ويمكن أن نلخص آلية الاستنساخ بما يلي:

يقوم أنزيم RNA Polymerase (متعلق بـــ DNA)، الذي تم اكتشافه لأول مرة عام 1960 من قبل Hurwitz (في E. coli) و Weiss (في كبد الفأر)، بتحريض التفاعل التالي:

$$n_1\ ATP + n_2\ GTP + n_3\ CTP + n_4\ UTP \xrightarrow[Enzyme]{DNA\ ,Mg^{++}} [(AMP)_{n1}\ ,(GMP)_{n2}\ ,(CMP)_{n3}\ ,(UMP)_{n4}] + (n_1 + n_2 + n_3 + n_4)\ PPi$$

إن عملية استنساخ RNA من DNA تتطلب وجود الرايبونيوكليوتيدات ثلاثية الفوسفات الأربعة المذكورة أعلاه وأن تسلسل القواعد النيتروجينية في تركيب DNA المستخدم كقالب يحدد تركيب النواتج. وإن بناء السلسلة المصنعة سواء أكانت من نوع DNA أم RNA بأنواعه المختلفة يتم بالاتجاه 5' ← 3'

إن آلية الاستنساخ تبدأ بتباعد سلسلتي الحلزون المزدوج لـــ DNA كنتيجة لارتباط أنزيم RNA Polymerase بمنطقة ابتداء الاستنساخ. (شكل 6-4).



الشكل 6-4: آلية استنساخ الحمض النووي RNA

بعد ذلك يستمر الاستنساخ فيتكون هجين مزدوج مؤلف من ارتباط سلسلة واحدة من DNA مع سلسلة RNA المصنعة. ولكن هذا الهجين غير ثابت مع أن القواعد النيتروجينية متممة بعضها لبعض (الأدنين في DNA يقابله اليوراسيل في RNA). تستمر عملية الاصطناع حتى تصل إلى مكان معين من DNA يعتقد أنه غني بالقاعدة النيتروجينية تايمين، ويعد هذا المكان إشارة لوجوب وقف عملية الاصطناع كما يعتقد أن البروتينات المساعدة للأنزيم RNA-Polymerase تساهم في وقف عملية الاصطناع وفي انفصال RNA عن DNA.

إن اصطناع RNA داخل الخلايا الحية يتم على ما يبدو بالاستنساخ لسلسلة وحيدة من سلسلتي DNA الموجودتين بشكل حلزوني. وقد أظهرت الأبحاث العديدة في هذا المجال أن أنزيم RNA polymerase يحتاج إلى توجيه من DNA للقيام بعمله بوجود بعض البروتينات المساعدة. والأنزيم المذكور يتمتع بتركيب رباعي (اربع تحت وحدات) معقد للغاية حيث يصل وزنه الجزيئي إلى نصف مليون أو أكثر (480000 في E. coli) ويعتقد أن إحدى تحت الوحدات الأربع المكونة لجزيء الأنزيم تلعب دور العامل الرئيسي المحرض لبدء عملية الاستنساخ.

تخضع أحماض RNA المصنعة إلى عمليات تحوير قبل أن تصل إلى أشكالها النهائية من رايبوزومية (rRNA : تدخل في تركيب الرايبوزومات) ورسل (mRNA: تنقل الشيفرة الوراثية اللازمة لتصنيع البروتينات) ونواقل (tRNA: نقل الأحماض الأمينية أثناء تصنيع البروتينات).

6-3-5-تحلل الأحماض النووية والقواعد النيتروجينية:

تخضع الأحماض النووية المتناولة عن طريق الغذاء إلى عملية تحلل سريعة مؤدية إلى تشكل نيوكليوتيدات مركبة ويقوم بعملية التحلل هذه أنزيمات من نوع رايبونيوكلياز متخصصة بالأحماض النووية الريبية وأنزيمات من نوع دي أوكسي رايبونيوكلياز متخصصة بالأحماض النووية الريبية منقوصة الأوكسجين الموجودة معاً في مفرزات غدة البنكرياس. كما يوجد نوع ثالث من أنزيمات النيوكلياز قادرة على حلمأة RNA و DNA معاً. وربما تلعب هذه الأنزيمات دوراً مهماً في تخريب الأحماض النووية للفيروسات في الخلايا المضيفة.

يكتمل تحلل النيوكليوتيدات المركبة في الأمعاء إلى نيوكليوتيدات أحادية ثم إلى نيوكليوسيدات وبيروفوسفات بوساطة أنزيمات من نوع فوسفو ثنائي ايستراز وفوسفو أحادي ايستراز. النيوكليوسيدات الناتجة تمتص كما هي من الأمعاء وتنقل إلى الأنسجة حيث يكتمل تحللها

بوساطة أنزيمات نيوكليوسيداز أو نيوكليوسيد فوسفوريلاز وتتحول بذلك إلى قواعد نيتروجينية حرة والى فوسفات 1- رايبوز أوفوسفات 1- دي أوكسي رايبوز.

فيما يتعلق بتحلل القواعد النيتروجينية فإن الحيوانات تستعمل بعضها لتكوين النيوكليوتيدات بتفاعلات الاصطناع الحيوي. وعند تحللها، فان مشتقات البيريميدين كاليوراسيل والثايمين تخضع في نسج الثدييات لعملية اختزال أنزيمية وبوجود $NADPH_2$ مؤدية إلى تشكل مشتقات ثنائية الهيدروجين الموافقة يلي ذلك تحلل مائي بوساطة أنزيمات خاصة فيحدث انفتاح للحلقة لتشكيل حمض يوريدو Ureido Acid، ثم نزع الأمونيا وثاني أوكسيد الكربون لتشكيل β- الانين أو مشتقه الميثيلي حمض β- امينو ايزوبوتيريك. تتحول تلك الأحماض الأمينية خلال سلسلة من التفاعلات إلى مشتقات كو أ (بروبيونيل كو أ وسكسينيل كو أ) التي تتم أكسدتها خلال دورة كريبس. ويجدر بالذكر أن تحلل السايتوزين يخضع للمصير ذاته بعد أن يتم تحويله إلى يوراسيل (بنزع المجموعة الأمينية والتحلل المائي).

أما القواعد النيتروجينية من مشتقات البيورين الناتجة عن تحلل الأحماض النووية تنقل إلى الكبد وتحول عبر سلسلة من التبدلات إلى ناتج نهائي هو حمض اليوريك (حمض البول).

يتم نزع مجموعة الأمين من الأدنين بوساطة أنزيم دي أميناز Deaminase لتشكيل هيبوكزانتين، كما يتم نزع مجموعة الأمين من الجوانين بوساطة أنزيم دي أميناز الجوانين لتشكيل كزانتين، ثم يتأكسد الهيبوكزانتين إلى الكزانتين بوساطة أنزيم كزانتين أوكسيداز الذي يؤكسد بدوره الكزانتين ويحوله إلى حمض يوريك.

تحول معظم الثدييات باستثناء الإنسان والثدييات العليا حمض اليوريك إلى الانتوين قبل طرحه. أما الإنسان فيطرح حمض اليوريك كما هو مع البول إلا في بعض الحالات المرضية كداء النقرس حيث يترسب في المفاصل.

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

الفصل السابع

الأكسدة الحيوية

L'oxydation Biologique

7-1- مقدمة:

تحتاج كل عملية حيوية إلى طاقة تتولد نتيجة لتفاعلات كيميائية تجري داخل الخلية الحية، وما التنفس الخلوي الذي يستهلك الأكسجين ويحرر غاز ثاني أكسيد الكربون إلا المرحلة النهائية من عملية الأكسدة الحيوية، التي يسبقها عادة العديد من العمليات الثانوية المتمثلة بعمليات نقل الطاقة "Energie".

لابد في كل جملة أكسدة وإرجاع من انتقال الإلكترونات ما بين جسم معط لها وآخر مستقبل لها، بحيث نسمي:

أكسدة Oxydation: كل عملية خسارة للإلكترونات وارتفاع التكافؤ الكيميائي.

إرجاع Reduction: كل عملية ربح للإلكترونات وانخفاض التكافؤ الكيميائي.

إذن لابد في أية جملة أكسدة وإرجاع من تزامن حادثتي أكسدة وإرجاع.

يمكن للكائنات الراقية، في بعض الشروط البيولوجية أن تلجأ للاستقلاب اللاهوائي "التقلص العضلي".

لقد كان العالم باستور "Pastreur" أول من لاحظ لدى دراسته تخمر الجلوكوز بالخمائر Levures. إن النهاية الاستقلابية للتحلل الجلوكوزي في الحياة اللاهوائية هو الكحول – في حين أنها قد تكون حمض اللبن (حمض اللاكتيك) لدى بعض الكائنات الحية الأخرى، كالإنسان مثلاً بعد تقلص عضلي شديد.

إن وجود الأكسجين يثبط بشكل واضح الحياة اللاهوائية الأمر الذي يؤدي إلى وقف ظاهرة التخمر الكحولي.

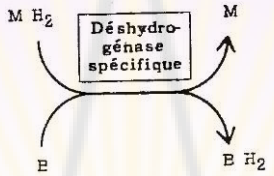
نطلق اسم تأثير باستور "L'effet "Pasteur على تثبيط التحلل اللجوكوزي لا هوائياً بوجود الأكسجين وتفسر هذه الظاهرة كالتالي:

يؤدي وجود الأكسجين إلى تحلل الجلوكور هوائيا الأمر الذي يؤدي إلى تشكل الماء وغاز ثاني أكسيد الكربون، وإلى انتشار كمية كبيرة من الطاقة في حين أن غياب الأكسجين يؤدي إلى منع التحلل الجلوكوزي بشكله الكامل الأمر إلي يؤدي إلى تحول النواتج الاستقلابية إما

إلى حمض اللبن في العضلات وإما إلى كحول ايتيلي في الخميرة بدلاً من حرق هذه النواتج بالكامل إلى ماء وغاز ثاني أكسيد الكربون.

7-2- الأكسدة بنزع الهديروجين Oxydation par d'ztomes d'hydrogéne:

لقد تبين للعديد من العلماء وجود نظم أنزيمية قادرة بغياب الأوكسجين على أكسدة ركائزها بنزع الهيدروجين منها وتحويلها من صورة مرجعة إلى صورة مؤكسدة. وبهدف توضيح هذه الآلية في الأكسدة نفترض أن المركب MH_2 يمثل ركيزة مرجعة "Reduit" قابلة للأكسدة. وB تمثل المؤكسد Oxyde في جملة أكسدة وإرجاع فإن الأكسدة تتم بالشكل التالي:



أي أن الركيزة MH_2 هي معطية للهيدروجين في حين أن المركب B هو مستقبل له.

وكما سبق وأشرنا أن هذه الحالة تتم بوجود بعض الوسائط النوعية والتي نطلق عليها اسم الأنزيمات النازعة للهيدروجين "ديهايدروجيناز"

أ-الأنزيمات النازعة للهيدروجين Les déshydrogenases

لقد أوضح العالم Thunberg وجود هذه الأنزيمات باستعمال أزرق الميثلين كمستقبل للهيدروجين.

إن أزرق الميثلين يتحول إلى مركب عديم اللون بعد تثبيته للهيدروجين وبالتالي فإنه من السهولة بمكان التحري عن وجود الأنزيمات النازعة للهيدروجين في مسحوق خلوي، عضلي، كلوي... إلخ" إذ يكفي مراقبة زوال اللون الأزرق للمسحوق الخلوي للحكم على وجود هذه الأنزيمات.

يؤدي تسخين المسحوق الخلوي أو غسله إلى عدم زوال اللون الأزرق وذلك لتخرب البنية البروتينية للأنزيمات، في حين أن غسل المسحوق الخلوي يؤدي إلى زوال الركائز المعطية للهيدروجين من الأنسجة كاللاكتات والسوكسينات.

إن أزرق الميتيلين ما هو إلا وسيلة مخبرية لمراقبة فعل الأنزيمات النازعة للهيدروجين. لأن مستقبلات الهيدروجين في العضوية الحية ماهي إلا المرافقات الأنزيمية Coensymes البيريدينية والغلافينية التي سنتكلم عنها.

ب- أنواع الأنزيمات النازعة للهيدروجين:

الأنزيمات النازعة للهيدروجين الهوائية: وهي الأنزيمات القادرة على نقل الهيدروجين مباشرة من مادة استقلابية إلى الأكسجين الهوائي.

الأنزيمات النازعة للهيدروجين اللاهوائية: وهي التي تنقل الهيدروجين من مركب إلى آخر دون تدخل للأكسجين الهوائي.

تشكل الأنزيمات اللاهوائية الغالبية العظمى من الأنزيميات النازعة للهيدروجين.

7-3- الأكسدة بتثبيت الأوكسجين

Oxydationpar Fixationd, Oxygene

أ-الأوكسيداز Les oxydases

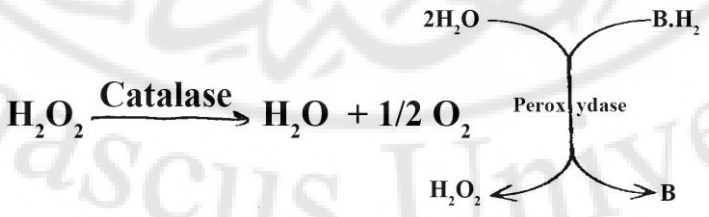
تقوم بهذه العملية أنزيمات خاصة نطلق عليها اسم الأوكسيداز OXYDASES والتي تصنف في معظم الأحيان ضمن الأنزيمات النازعة للهيدروجين الهوائية.

لا تستعمل الأوكسيداز إلا الأكسجين كمستقبل للهيدروجين لتشكل الماء في حين أن الأنزيمات النازعة للهيدروجين الهوائية تستطيع إضافة إلى الأكسجين أن تعطي الهيدروجين إلى مركبات صنعية كأزرق الميتيلين وغيره وذلك ليتشكل في النهاية فوق أكسيد الهيدروجين "الماء الأكسجيني".

إن أنزيمات الأوكسيداز ماهي إلا بروتينات غير متجانسة تحوي في تركيبها معدناً متعدد التكافؤ كالنحاس أو الحديد.

إن نقل الهيدروجين إلى الأكسجين بنازعات الهيدروجين الهوائية يؤدي إلى تشكل الماء الأكسجيني الذي يعد مادة سامة للخلية الحيوانية ولابد والحالة هذه من التخلص منه.

يقوم أنزيم الكاتالاز Catalase بتفكيك الماء الأكسجيني إلى ماء وأكسجين بينما يقوم أنزيم البيروكسيداز Peroxydase بتفكيك الماء الأكسجيني بأن تتحد معه لتحرر ذرة من الأكسجين الذي يتحد مباشرة مع الهيدروجين المتأتي من جزيئة أخرى لتشكل جزيئة من الماء كالتالي:



يوجد أنزيم الكاتالاز في الأنسجة الحيوانية والنباتية، وأن الحديد الموجود في الكاتالاز ثلاثي التكافؤ ولا يتحول إلى ثنائي إلا عندما يقوم هذا الأنزيم بتفكيك الماء الأكسجيني.

يتمتع هذا الأنزيم بنشاط عالي جداً، ففي الدرجة صفر مئوية، يستطيع 1 ملغ من الأنزيم أن ينتج 2740 ليتراً من الأكسجين بالساعة، مما يجعله من أنشط الأنزيمات المكتشفة وأسرعها حتى الآن.

ب- الأوكسيجيناز : Les oxygenases

إن استعمال النظائر المشعة ولاسيما الأكسجين (o^{18})، أوضح أن باستطاعة الأكسجين إما التقاط الإلكترونات الممنوحة له في نهاية سلسلة التنفس الخلوي، (التقاط الهيدروجين) وتشكيل الماء، وأما أن ينتقل هو ذاته إلى ركائز مختلفة، وذلك بفضل أنزيم خاص يطلق عليها اسم الأوكسيجيناز.

تعمل الأوكسيجيناز إما بتثبيت ذرتي الأكسجين على الركيزة وإما بتثبيت إحدى ذرتي الأكسجين

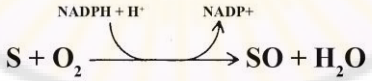
فقط على الركيزة بينما تستعمل الذرة الأخرى لتشكيل جزيئة ماء هذه الحالة تتطلب بالضرورة وجود نظام أنزيمي مساعد.

ويمكن توضيح ذلك من خلال الأمثلة الآتية:

مثال رقم 1: الحالة الأولى

$$S + O_2 \rightarrow SO_2$$

مثال رقم 2: الحالة الثانية:



S = ركيزة قابلة للأكسدة.

سبق وذكرنا أن المرحلة الأولى من مراحل التفاعلات الاستقلابية هي الهدم Catabolism وفيها تحرر الطاقة من المواد الغذائية لتستعمل وقوداً لنشاطات الخلية المختلفة، وليستعان بها على القيام بتفاعلات البناء Anabolim. وبذلك تحتل الأكسدة الحيوية الوظيفة الأكثر أهمية من وظائف الخلية.

يبدو أن هذه الطاقة التي نتحدث عنها، لو أنها انطلقت من جراء الأكسدة كما تنطلق في التفاعلات المخبرية لأحدثت تلفاً بالغاً ولذلك كان للأكسدة في داخل الخلايا شأن آخر. فليست

غايتها إطلاق الطاقة لتحرق الخلايا، ولكن غايتها تمكين الخلايا من اقتناص الطاقة التي يمكن أن تنطلق رويدا رويدا لتستفيد منها.

إن ما يحصل للمواد الغذائية من أكسدة حيوية شبيه بعملية الاحتراق (المقترحة منذ ما يزيد عن قرنين من الزمن من قبل لافوازي Lavoisies) في أمور أهمها إنتاج نفس الكمية من الطاقة، وتشكل ثاني أوكسيد الكربون والماء. إلا أن عملية الأكسدة الحيوية تحصل بشكل منظم على درجة حرارة منخفضة (حوالي 37 ْم)، وينتج القسم الأعظم من الطاقة في مرحلة تشكل الماء وليس في مرحلة تشكل CO_2، كما أن معظم الطاقة الناتجة لا ينطلق على شكل حرارة بل يتم تحويله إلى طاقة كيميائية تخزن في المركبات الغنية بالطاقة من أجل استخدامها عند الحاجة. إذا استعرضنا المسارات الاستقلابية المختلفة للمواد الغذائية والتي ينتج من خلالها الماء وثاني أوكسيد الكربون يمكن لنا أن نقسم الأكسدة الحيوية إلى ثلاث مراحل هي:

1. مرحلة تشكل أسيتيل كو أ من تحلل الكربوهيدرات –عبر البيروفات – ومن أكسدة الأحماض الدهنية وتحلل بعض الأحماض الأمينية.
2. مرحلة تحلل أسيتيل كو أ خلال دورة كريبس إلى CO_2 وذرات هيدروجين تستقبلها المرافقات الأنزيمية البيريدينية مثل NAD^+ والفلافينية مثل FAD و FMN.
3. مرحلة أكسدة المرافقات الأنزيمية بالأوكسجين الجوي خلال عدة مراحل ينتج في نهايتها الماء كما تنتج طاقة يستخدم معظمها في فسفرة ADP لإنتاج ATP.

لقد درسنا في الفصول الماضية المرحلتين الأوليتين وسوف نتعرض بالتفصيل للمرحلة الثالثة.

7-4- النظام الناقل للإلكترونات أو السلسلة التنفسية:

لقد سبق وعرفنا الأكسدة بمفهومها العام عبارة عن عملية يحدث خلالها فقد للإلكترونات وارتفاع في التكافؤ الكيميائي. وعندما يكون المستقبل النهائي لهذه الإلكترونات في الخلايا الحية هو الأوكسجين الجزيئي فإن العملية تسمى التنفس. لكن انتقال هذه الإلكترونات من المادة التي تتأكسد إلى الأوكسجين الجزيئي يتم على مراحل متعاقبة – وفق سلسلة من النواقل – وليس في مرحلة واحدة

إن هذا النظام يمكن أن يتغير بشكل خفيف من عضوية إلى أخرى وهو يتم داخل المصورات الحيوية (الميتوكوندريا)، وهي نفس الجسيمات التي تحصل فيها كل من دورة كريبس والأكسدة بيتا للأحماض الدهنية. تحتوي المايتوكوندريا على الأنزيمات الخاصة بنقل الإلكترونات والمعروفة باسم أنزيمات السلسلة التنفسية. وهي عبارة عن أنزيمات نوعية

متخصصة تمثل حوالي 1/4 البروتينات الكلية للمصورات الحيوية. وهي تكون مجمعة في تجمعات أنزيمية متعددة مشكلة بذلك بنيات معقدة تدعى دقائق ناقلة للإلكترونات.

إن عملية التنفس هذه أو الأكسدة الأنزيمية للمواد الغذائية بوساطة الأوكسجين الجزيئي، هي المصدر الرئيسي لطاقة الخلايا الهوائية وفيما يلي لمحة عامة عن أهم تلك الأنزيمات علماً أن بعضها قد ذكر في الفصول الماضية.

7-5- أنزيمات السلسلة التنفسية:

أ- أنزيمات الديهايدروجيناز المرتبطة بالبيريدين:

تتوسط هذه الأنزيمات تفاعلات الأكسدة والاختزال لعدد كبير من المواد مثل جليسرالدهايد 3 فوسفات، حمض أيزوستريك، حمض ماليك، جلوكوز -6- فوسفات وهيدروكسي أسيل كو أ أثناء الأكسدة بيتا للأحماض الدسمة. ونعد من هذه الأنزيمات ما يزيد عن مائتي نوع تختلف فيما بينها بوظيفة ركيزتها وفرق كمونها. ويحتوي عدد من هذه الأنزيمات على شاردة معدنية ثنائية التكافؤ (الزنك مثلاً) تشترك في ربط الأنزيمات بمرافقاتها . كما تحوي كذلك على مجموعات ثيولية لا غنى عنها لفعاليتها.

يستعمل بعض هذه الأنزيمات NAD^+ كمرافق أنزيمي، وبعضها الآخر يستعمل $NADP^+$ فحسب في حين أن منها ما يستعمل كلا المرافقين دون تمييز. وتكون الرابطة بين الأنزيم والمرافق ضعيفة. فالأنزيمات المرتبطة بـــ NAD^+ تعمل على نقل الإلكترونات إلى السلسلة التنفسية بينما تعمل الأنزيمات المرتبطة بـــ $NADP^+$ على نقل الإلكترونات إلى المواد الوسطية الضرورية خلال عمليات الاصطناع الحيوي.

ب- أنزيمات الديهايدروجيناز المرتبطة بالفلافين:

وتسمى أيضاً فلافوبروتينات (Flavoproteines) وهي أنزيمات مرتبطة بقوة بأحد المرافقين الأنزيميين FMN أو FAD. وهذه المرافقات تشتق من الرايبوفلافين أو فيتامين B_2 المحتوي على الجزء الفعال، وهو حلقة الأيزو اللوكسازين. هذه الحلقة تستقبل ذرتي هيدروجين أي بروتونين وإلكترونين فيتحول المرافق الأنزيمي من الصورة المؤكسدة إلى الصورة المختزلة، $FMNH_2$ أو $FADH_2$.

لقد أوضحت التجارب أن أنزيمات الديهايدروجيناز المرتبطة بالبيريدين (NAD^+ و $NADP^+$) تحتاج إلى وجود نظام آخر يمكنها من القيام بعملها الحيوي بشكل تام، أي نقل الهيدروجين إلى الأوكسجين الجزيئي. هذا النظام تؤمنه أنزيمات الغلافوبروتينات التي تعمل

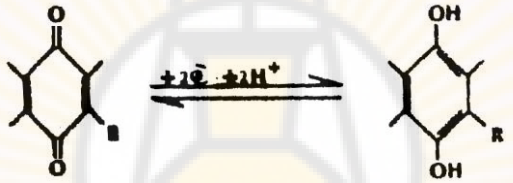
كجسر ارتباط في السلسلة التنفسية باستقبالها للهيدروجين إما من المرافقات البيريدينية مثل $NADH_2$ وإما من مركبات أخرى مثل حمض السكسنيك (أحد النواتج الوسطية في دورة كريبس) وأسيل كو أ (أحد نواتج الأكسدة بيتا للدهون).

ج–يوبيكوينون أو المرافق الأنزيمي Q:

يوجد في المصورات الحيوية –الميتوكوندريا– كمية كبيرة من البروتينات الدهنية المتوضعة ما بين بعض أجزاء السلسلة التنفسية. وقد أثبت وجود عدة أنواع من مرافق أنزيمي يدعى مرافق الأنزيم Q وتشترك في نقل الإلكترونات عبر السلسلة التنفسية.

إن مرافق الأنزيم Q ما هو إلا 2–3–ثنائي ميتوكسي 5– ميثيل بنزوكوينون ذو سلسلة جانبية على ذرة الكربون رقم 6 من طبيعة بولي ايزوبرين.

إن الأنواع المختلفة لهذا المرافق الأنزيمي تستطيع استقبال ذرتي هيدروجين (بروتونين وإلكترونين) من الفلافو بروتينات ويتحول تركيبها من كوينون إلى كوينول كما يلي:



لقد عزل حتى الآن خمسة أنواع من مرافق الأنزيم Q لا يختلف بعضها عن البعض الآخر إلا بطبيعة المجموعات المتصلة بالحلقة وبعدد وحدات الايزوبرين الموجودة داخل السلسلة الجانبية (R).

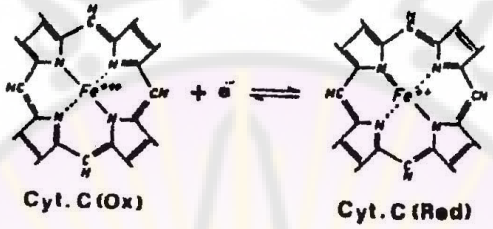
د– السايتوكرومات Cytochromes:

كما يشير اسمها فهي عبارة عن بروتينات ملونة Chromo proteines حيث المجموعة الإضافية فيها عبارة عن حديد – بورفيرين شبيهة بمجموعة الهيم (Heme) الموجودة في الهيموغلوبين. ولكن الأخير ينقل الأوكسجين بينما تنقل هي الإلكترونات.

توجد السايتوكرومات في الخلايا الهوائية وتشترك بشكل متتال في نقل الإلكترونات من المرافق الأنزيمي Q إلى الأوكسجين الجزيئي وذلك بمعدل إلكترون واحد في الوقت ذاته.

تتحول ذرة الحديد الموجودة في جزيء السايتوكروم من حديديك إلى حديدوز عندما تستقبل إلكتروناً واحداً، وبالعكس عند إعطائها له كما يتبين من الشكل التالي الموضح للمجموعة الفعالة للسايتوكرومات (شكل 7–1).

وبذلك تلعب هذه المركبات دوراً مهماً في تفاعلات الأكسدة والاختزال الخلوية. وكان أول من اكتشف وجودها العالم مكمن Mac Munn عام 1886 وسماها آنذاك الدمويات النسيجية Hestonematins، ثم درست فيما بعد من قبل كيلن Keilin في جامعة كمبردج ما بين عامي 1925 و 1930.



الشكل 7-1: آلية الأكسدة والاختزال في السايتوكرومات.

وأطلق عليها اسم الصبائغ، وأوضح أن لها ثلاثة أنواع وفقاً لخصائصها الامتصاصية الضوئية وأطلق عليها الأسماء a , c , b.

وفي السنوات التي تلت لاحظ العالم نفسه أن بعض المستحضرات النسيجية القلبية تمتلك حزمة امتصاص ضوئية شبيهة بحزمة سايتوكروم a ولكنها، أي المستحضرات، تختلف بدرجة حساسيتها للتثبيط بأول أوكسيد الكربون ولذلك أطلق عليها اسم a_3 .

وفي عام 1941 اكتشف العالم أوكونوكي نوعاً آخر شبيها بسايتوكروم c فأسماه الصبغة c_1.

ويجب الانتباه إلى أن هذه الصبغات المكتشفة تختلف فيما بينها بكهرسلبيتها أو قابليتها لاستقبال الإلكترونات.

إن السايتوكروم الأول الذي يتدخل في السلسلة التنفسية هو سايتوكروم b الذي يسمح بإعادة أكسدة مرافق الأنزيم Q.

ويجب الإشارة إلى أن ذرتي الهيدروجين لا تكونان منقولتين وإنما تكونان محررتين في الوسط.

وبما أن اختزال جزيء سايتوكروم b لا يتضمن انتقال سوى إلكترون واحد، فإنه يجب اشتراك جزيئي سايتوكروم b من أجل استقبال إلكترونين والسماح بإعادة أكسدة مرافق الأنزيم Q.

وتنتقل الإلكترونات من سايتوكروم b إلى سايتوكروم c ثم إلى سايتوكروم a إلى أن تصل الإلكترونات أخيراً إلى سايتوكروم a_3 المميز عن بقية السايتوكرومات بكونه الوحيد الذي يمكن أكسدته مباشرة بالأوكسجين الجزيئي (أي يعطي إلكتروناته للأوكسجين الجزيئي)،

ويعتقد أن سايتوكروم a يوجد مرتبطاً مع سايتوكروم a_3 ومشكلاً معه معقداً واحداً يعرف بمؤكسد السايتوكروم Cytochrome-Oxidase الذي يشكل المرحلة الأخيرة في سلسلة الانتقال الإلكتروني. ومن هنا تتضح إمكانية تثبيط هذه السلسلة التنفسية بغاز أول أوكسيد الكربون الذي ينافس الأوكسجين على الاتحاد بمؤكسد السايتوكروم. وكذلك يفعل غاز كبريت الهيدروجين وشاردة السيانيد (CN^-). إن التراكيز الضعيفة من هذا المركب الأخير كفيلة بتثبيط الأنزيم وتؤدي بالتالي إلي توقف انتقال الإلكترونات منه إلى الأوكسجين.

7-6- ترتيب نواقل الإلكترونات في السلسلة التنفسية:

لقد تم تحديد جهود الاختزال القياسية لعدد كبير من الجمل البيولوجية للأكسدة والاختزال لاسيما جهود الاختزال القياسية لنواقل الإلكترونات في السلسلة التنفسية. وبذلك تنتقل الإلكترونات من مادة لأخرى حتى تصل إلى المستقبل النهائي للإلكترونات وهو الأوكسجين الجزيئي فهو المؤكسد الأقوى نتيجة لجهد اختزاله القياسي العالي (+ 0.82 فولت). وعلى الرغم من اختلاف جهود الاختزال للنواقل الإلكترونية في السلسلة التنفسية تبعاً لعوامل عدة منها التركيز ودرجة الـــ pH فإنه يمكن ترتيبها في تسلسل معين حسب جهودها القياسية في الشروط النظامية كما هو موضح في الجدول التالي بعضها بالنسبة للبعض الآخر:

Ox / Red	E_0 (volt)
$1/2\ O_2/H_20$	+0.82
Cytochro me a_3 (Fe^{+++}/Fe^{++})	+0.38
Cytochrome C (Fe^{+++}/Fe^{++})	+0.24
$FAD/FADH_2$	-0.03
$NAD^+ / NADH^+$	-0.32
$2\ H^+ / H_2$	-0.42

يتبين من الجدول أعلاه أن انتقال الإلكترونات يحدث باتجاه جملة ذات جهد اختزال أكبر. ولقد أثبتت أبحاث عدة علماء نذكر منهم Chance، Williams، Lehninger، Keilin أن هذا الترتيب النظري هو نفس الترتيب الذي تتعاقب ضمنه نواقل إلكترونات السلسلة التنفسية والذي يمكن اختصاره بما يلي:

$$NAD^+ \rightarrow FP \rightarrow Co.\ Q \rightarrow Cyt.\ b \rightarrow Cyt.\ C \rightarrow Cyt.\ a \rightarrow Cyt.\ a_3 \rightarrow O_2$$

فالناقل الأول NAD^+ يستقبل إلكترونين من بعض المواد مثل الماليك والايزوستريك أثناء نزع الهيدروجين منها ثم ينقلها إلى الفلافوبروتينات (Fp) المحتوية على المرافقات FMN أو FAD بعد ذلك يستقبل المرافق الأنزيمي Q الإلكترونات من الفلافوبروتينات وينقلها بدوره

إلى سايتوكروم b ومن ثم تنتقل إلى سايتوكروم c ثم سايتوكروم a ثم سايتوكروم a_3 وأخيراً إلى الأوكسجين الجزيئي.

وتجدر الإشارة إلى أن السايتوكرومات لا تنقل إلا الإلكترونات وبمعدل إلكترون واحد لكل جزيء سايتوكروم، ويمكن توضيح ذلك بالتفاعلات التالية التي تبين انتقال الإلكترونات من حمض الماليك مثلاً:

1) $NAD^+ + Malique \leftrightarrows Oxaloacetique + NADH + H^+$
2) $FAD + NADH + H^+ \leftrightarrows FADH_2 + NAD^+$
3) $COQ + FADH_2 \leftrightarrows Co\ QH_2 + FAD$
4) $2cyt.\ b(Fe^{+++}) + CoQH_2 \leftrightarrows 2\ cyt.\ b(Fe^{++}) + co\ Q + (2H^+)$
5) $2cyt.\ c(Fe^{+++}) + 2cyt.b\ (Fe^{++}) \leftrightarrows 2\ cyt.\ c(Fe^{++}) + 2\ cyt.\ b(Fe^{+++})$
6) $2cyt.\ a.a_3(Fe^{+++}) + 2cyt.c(Fe^{++}) \leftrightarrows 2cyt.\ a.\ a_3\ (Fe^{++}) + 2cyt.\ c(Fe^{+++})$
7) $1/2\ O_2 + 2H^+ + 2cyt/a.a_3\ (Fe^{++}) \leftrightarrows H_2O + 2cyt.a.a_3\ (Fe^{+++})$

إن شوارد الهيدروجين التي يفقدها المرافق الأنزيمي Q عند أكسدته تذهب إلى الأوكسجين الجزيئي لتشكيل الماء عندما تنتقل الإلكترونات من مؤكسد السايتوكروم إلى الأوكسجين في المرحلة الأخيرة.

ونشير أخيراً إلى أن بعض تفاعلات نزع الهيدروجين أثناء الاستقلاب لا تتم إلا بوساطة الغلافوبروتينات مباشرة أي أنها لا تمر عبر المرافقات البيريدينية ومثال ذلك نزع الهيدروجين من حمض السكسنيك في دورة كريبس ومن أسيل كو أ في أكسدة الدهون. وبالطبع تعطي الفلافوبروتينات ذرتي الهيدروجين إلى المرافق الأنزيمي Q ومنه تنقل الإلكترونات إلى السايتوكرومات.

7-7- الفسفرة التأكسدية Oxidative phosphorylation:

إن تغير الطاقة الحرة بين جملتي Redox ($\Delta G^{\circ}{}`$) يكون مرتبطاً بجهود الاختزال القياسية للمواد المتفاعلة. ويمكن حساب ذلك من المعادلة التالية :

$$\Delta G`_0 = - n\ F\ \Delta\ E`_0$$

حيث:

$\Delta G`_0$: التغير في الطاقة عند pH 7.

n: عدد الإلكترونات المنتقلة في التفاعل.

F: ثابت فاراداي ويساوي 23.06 كيلو كالوري/فولت.

$\Delta E`_0$: فرق الجهد القياسي بين العامل المؤكسد والمختزل عند pH 7.

فإذا ما اعتبر أن فرق الجهد القياسي للأكسدة والاختزال بين البداية NAD^+ والنهاية (الأوكسجين) للسلسلة التنفسية هو(1.14 volt)، فإنه من الممكن باستعمال المعادلة المذكورة أعلاه حساب أكسدة هيدروجين الـــ $NADH + H^+$ وبالتالي كمية الطاقة الناتجة عن تشكل جزيء ماء.

$$\Delta G`_0 = -2 \times 23.06 \times 1.14 = -52.6 \text{ K. calorie}$$

أي أن الطاقة الناتجة، وهي 52.6 كيلو كالوري لكل مول من المرافق الأنزيمي تتم أكسدته، طاقة كبيرة فعلاً خاصة عند مقارنتها بالطاقة اللازمة لتشكل ATP وهي 7.3 كيلو كالوري لكل مول من ATP ينتج عن ارتباط ADP مع الفوسفات. ولكن هذه الطاقة لا تكون محررة دفعة واحدة، كما سبق وأشرنا إلى ذلك، وإنما على مراحل متعاقبة أوضحناها في سلسلة الانتقال الإلكتروني.

وتكمن المشكلة في معرفة المراحل التي تسمح بتشكل الـــ ATP ويمكن القول أن مراحل السلسلة التنفسية التي تبدي مستوى من الطاقة المحررة أكبر من 7.3 كيلو كالوري يجب عليها أن تسمح باصطناع الـــ ATP فإذا ما كتبنا :

$$-7.3 = -n F\Delta E_0$$

فمن الممكن الاستنتاج أن:

$$\Delta E_0` = -7.3 / -2 \times 23{,}06$$

$$\Delta E_0` = 0.158 \text{ volt}$$

وبعبارة أخرى أن فرق جهد. اختزال عادي أعلى من 0.158 volt يطابق تغيراً طاقياً كافياً من أجل السماح بتشكيل جزيء ATP وأنه من الممكن ملاحظة وجود ثلاث مراحل فقط تسمح باصطناع الـــ ATP وهي:

1. انتقال الإلكترونات من المرافقات البيريدينية إلى المرافقات الفلافينية.
2. انتقال الإلكترونات من سايتوكروم b إلى سايتوكروم c.
3. انتقال الإلكترونات من سايتوكروم $a.a_3$ إلى الأوكسجين الجزيئي.

وقد أظهرت الأبحاث العديدة في هذا المجال أن الخلية تستفيد من الطاقة الناتجة عند هذه المراحل الثلاث لإنتاج ATP من ADP والفوسفات، وهذا ما يعرف بالفسفرة التأكسدية، أي أن فسفرة ADP تحصل بالازدواج مع تفاعلات الأكسدة أو الانتقال الإلكتروني وبالاستفادة من الطاقة الناتجة منها. ومن هنا أعطي اسم الفسفرة التأكسدية Oxidative phosphorylation إلى هذه التفاعلات المقترنة في مستوى السلسلة التنفسية.

7-8- آلية الفسفرة التأكسدية:

من الواضح حالياً بشكل شبه مؤكد أن الفسفرة التأكسدية هي من الوظائف المهمة للمصورات الحيوية (الميتوكوندريا) وإن كانت الآليات الدقيقة لها لاتزال محاطة ببعض الغموض حتى الآن.

إن انتقال الإلكترونات عبر السلسلة التنفسية يترافق بالضرورة مع فسفرة جزيئة ADP لتتحول إلى ATP وذلك في ثلاثة مواقع مختلفة من السلسلة التنفسية، ولذا فان تفاعلي الأكسدة والفسفرة مرتبطان بشكل وثيق. وعلى هذا فإن درجة الأكسدة وشدتها يتوقفان إلى حد كبير على مقدار ADP ومقدار الفوسفور اللاعضوي الأمر الذي يؤدي إلى تسريع عمليات الأكسدة والفسفرة وذلك للتعويض عن الجزيئات المستهلكة، أي أن هنالك نوعاً من الضبط ما بين عدد جزيئات ATP المتوفرة وعمليتي التنفس والاستقلاب الحيويتين.

عند دراسة ظاهرة التنفس في المصورات الحيوية (الميتوكوندريا) بعد عزلها بشكل نقي من الخلايا وتزويدها بالعناصر التالية:

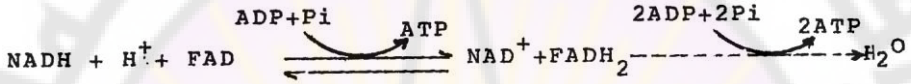
أوكسجين Pi, ADP، ومصدر كربوني قابل للأكسدة، فإنه من الممكن قياس استهلاك الأوكسجين وتشكل الـــ ATP على حساب اختفاء المصدر الكربوني ADP و Pi.

وهكذا فمن الممكن تحديد، من أجل أكسدة كل مادة تفاعل على حدة، نسبة الفسفرة (Quotient de Phosphorylation P/O) أي عدد جزيئات الـــ ATP المتشكلة (أو عدد جزيئات الـــ Pi المستهلكه) لكل ذرة أوكسجين مستعملة (أو لكل جزيء هيدروجين منزوع من مادة التفاعل).

تكون هذه النسبة P/O مساوية 3 إذاً كان المصدر الكربوني من النوع الذي يمكن اختزاله بالمرافقات البيريدينية (NAD^+) كحمض أيزوستريك، الفاكيتوجلوتاريك أو حمض ماليك. لكن هذه النسبة P/O تكون مساوية 2 فقط في حال كون المصدر الكربوني من النوع الذي يتم اختزاله بالمرافقات الفلافينية FAD كحمض السكسنيك بحيث أن مرحلة أكسدة –اختزال مقترنة بفسفرة تكون متجاوزة ولا يبقى سوى مرحلتي فسفرة. هذا وإن النسبة P/O يمكن أن تكون في بعض الحالات مساوية 1 فقط إذا كان المصدر الكربوني من النوع الذي يمكن اختزاله مباشرة بوساطة سايتوكروم C، كما في حالة أكسدة حمض الاسكوربيك مثلاً. وهنا فإن مرحلتي أكسدة اختزال مقترنة بفسفرة تكونان متجاوزتين. وبالعكس يمكن لهذه النسبة P/O أن تزيد في بعض الحالات عن 3. ونذكر على سبيل المثال أن نسبة P/O تكون

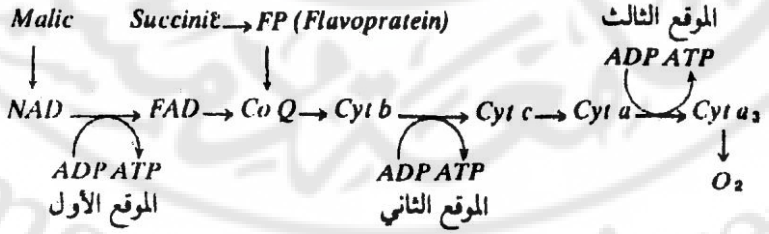
مساوية 4 من أجل أكسدة حمض الفاكيتو – جلوتاريك الى حمض السكسنيك لأن الـ GTP المتشكل يسمح بتشكيل جزيء ATP إضافي.

وهكذا فالنتائج التجريبية أكدت التوقعات النظرية التي سمحت بالتفكير بأن ثلاث مراحل من السلسلة التنفسية تكون مقترنة مع تشكل الـ ATP فالطاقة اللازمة لإنتاج الجزيء الأول من ATP تأتي من تفاعل أكسدة المرافقات البيريدينية $NADH_2$ بانتقال الإلكترونات منها إلى المرافقات الفلافينية FAD. وأن الجزيئين الباقيين من ATP ينتجان أثناء المراحل التالية لأكسدة المرافقات الغلافينية كما يلي:



يوجد عدد كبير من المثبطات لسلسلة الانتقال الإلكتروني تعمل على تثبيط مرحلة أو أكثر من مراحل السلسلة التنفسية. ونذكر منها المركب أميتال Amytall الذي يعمل على تثبيط آلية انتقال الإلكترونات بين المرافقات الفلافينية ومرافق الأنزيم Q والمركب أنتي مايسين A (Antimycin A) الذي يثبط مرحلة انتقال الإلكترونات بين سايتوكروم b وسايتوكروم c.

من جهة أخرى إذا أضيفت شاردة السيانيد إلى المايتوكوندري التي تقوم بعملية التنفس لا ينتج عن أكسدة، $NADH_2$ إلا جزيئان من ATP، كما لا ينتج عن أكسدة $FADH_2$ إلا جزيء واحد فقط من ATP. وتفسير ذلك أن شاردة السيانيد تعمل على تثبيط المرحلة الأخيرة من السلسلة (سيتوكروم $a.a_3$) فتقف الأكسدة عند سايتوكروم c. وهذا يبرهن أن تشكل الجزيء الثالث من ATP يستمد الطاقة اللازمة له من أكسدة سايتوكروم $a.\ a_3$ بالأوكسجين الجوي، وبذلك تمت معرفة المراحل التي ترتبط فيها الفسفرة بانتقال الإلكترونات من حامل لآخر كما هو موضح بالمخطط المبسط التالي (شكل 7–2).



الشكل 7–2: مواقع تشكل الروابط الغنية بالطاقة في سلسلة الانتقال الإلكتروني.

لم تعرف إلى الآن آلية تنشيط الفوسفات اللاعضوية. ولكن يفترض أن هناك نواقل خاصة للفوسفات (Z, Y , X) ترتبط أولاً مع المرافق الأنزيمي حامل الهيدروجين أو الإلكترونات

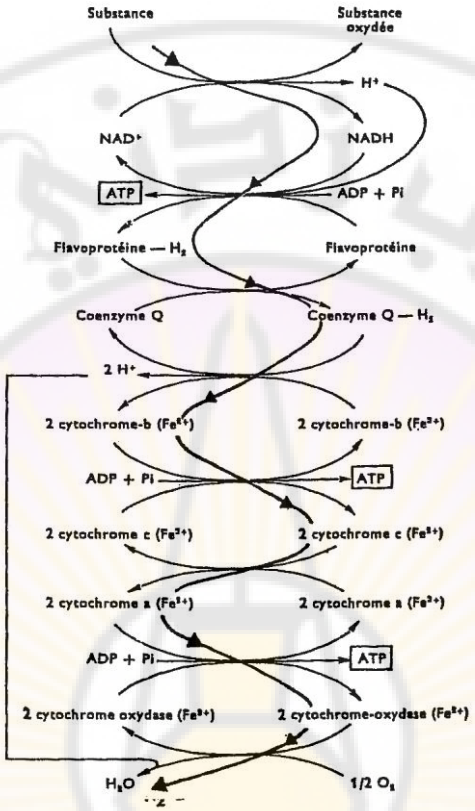
(الشكل المختزل)، وفي لحظة تأكسد هذا المرافق تتحول الرابطة بينه وبين الناقل إلى رابطة عالية الطاقة (X~ . y~ . Z~) ثم يتحرر الناقل من المرافق الأنزيمي ليرتبط مع الفوسفات مع احتفاظه بالرابطة عالية الطاقة. وفي المرحلة التالية يقوم الناقل بمنح الفوسفات إلى جزيء ADP لإنتاج جزيء ATP.

يطلق على آلية الفسفرة هذه اسم فرضية الترافق الكيميائي وهي تفسر القسم الأكبر من المعطيات التجريبية التي توصل إليها الباحثون. ولكن حتى الآن لم يتوصل أحد من الباحثين إلى عزل أي من النواقل الفوسفاتية.

كما أن ضرورة سلامة جدران المايتوكوندريا لتحقيق الفسفرة التأكسدية أدت إلى ظهور فرضيات أخرى حول آلية الفسفرة التأكسدية كفرضية الازدواج الاسموزي الكيميائي المقترحة من قبل بيتر ميتشل P. Mitchell عام 1960 والمعتمدة على وجود تدرج في درجة الـــ pH عبر الغلاف الداخلي للمايتوكوندريا مرتبط بانتقال الإلكترونات عبر السلسلة التنفسية مما يؤدي إلى دفع حلمأة ATP في اتجاه معاكس، أي إلى ضم ADP و Pi دون الحاجة إلى تكون مركبات وسطية ذات طاقة عالية.

ونوضح فيما يلي (شكل 7–3) آلية تشكل الروابط الغنية بالطاقة P~ في سلسلة الانتقال الإلكتروني بوساطة التفاعلات المزدوجة وبتدخل نواقل تنشيط الفوسفات اللاعضوية.

إن الفسفرة التأكسدية لا يمكن أن تتم بمفردها أو بمعزل عن السلسلة التنفسية أو الانتقال الإلكتروني. ولكن هذه المزاوجة ليست قطعاً إجبارية حيث يمكن لبعض المواد الكيميائية المسماة بمانعات الازدواج مثل هرمون التيروكسين المفرز من قبل الغدة الدرقية والمركب 2–4 ثنائي نيتروفينول أن تثبط الفسفرة التأكسدية وحدها دون أن تؤثر على تفاعلات الانتقال الإلكتروني. وبذلك تصبح الطاقة الناتجة عن انتقال الإلكترونات في السلسلة التنفسية مبددة بشكل طاقة حرارية، مما يسبب في ارتفاع الحرارة عند حيوان التجربة الذي تم تجريعه المادة المثبطة.



الشكل 7–3: آلية الفسفرة التأكسدية

أخيراً يمكن بسهولة حساب كفاءة الخلية في الاستفادة من الطاقة الناتجة من أكسدة المرافقات الأنزيمية المختزلة. فالأكسدة الكاملة لـــ $NADH_2$ بالأوكسجين الجزيئي تنتج 3 ATP أي 3 × 7.3 = 21.9 كيلو كالوري/ مول وعند حساب كامل الطاقة الناتجة من الأكسدة وجدنا أنها تساوي 52.6 كيلو كالوري لكل مول وبذلك تكون كفاءة الخلية:

(21.9 ÷ 52.6) × 100 = 40 % تقريباً

أما بقية الطاقة فتظهر على شكل حرارة.

ولا بد من التنويه إلى أن وظائف المرافقات الأنزيمية المختزلة لا تقتصر على نقل الهيدروجين والإلكترونات خلال السلسلة التنفسية ولكن بعضها مثل NADP وبعض الفلافو بروتينات تنقل الهيدروجين والإلكترونات من مركب لآخر تبعاً لمقتضيات التصنيع الحيوي لكثير من المركبات داخل الخلية.

7-9- تشكل الـــ ATP بوساطة الفسفرة الضوئية:

(Phosphorylation)

يدرج تحت اسم الاصطناع الضوئي (photosynthese) مجموع العمليات التي تسمح للكائنات ذاتية التغذية (Photosynthetics) باستعمال الطاقة الشمسية من أجل اصطناع المواد العضوية التي تحتاجها.

إن عملية الاصطناع الضوئي تعد صفة مميزة للنباتات الخضراء ومختلف الكائنات الصانعة الضوئية الأخرى (بعض الأشنيات وبعض البكرتيا) القادرة على الاستفادة بشكل مباشر من الطاقة الشمسية بدلاً من أن تكون مضطرة للجوء إلى أكسدة المركبات الغنية بالطاقة المصنعة بوساطة عضويات أخرى.

أن هذه العمليات المميزة لذاتيات التغذية تحدث داخل الصانعات الخضراء (chlorophastes) هذه الأخيرة تشبه إلى حد بعيد (من خلال بنيتها، تنظيمها ووظيفتها) الميتوكوندريا التي سبق وتحدثنا عنها كمراكز طاقية لغيريات التغذية (Heterotrophes)

يمكن إيجاز عمليات الاصطناع الضوئي عند النباتات العليا بالتفاعل التالي:

$$6\ CO_2 + 6\ H_2O + \text{طاقة} \rightarrow C_6H_{12}O_6 + 6O_2$$

إن الأوكسجين المتشكل ينتج عن انشطار جزيء الماء وليس عن انشطار جزيء CO_2، الشيء الذي أمكن التحقق منه بوساطة الماء الحاوي على الأوكسجين المشع (O^{18}). وبذلك يتضح لنا وجود اختلاف واضح وأساسي بين الاصطناع الضوئي والتنفس.

أثناء الاصطناع الضوئي يحدث انشطار جزيء الماء، مما يستلزم الطاقة الآتية من مصدر خارجي (الشمس)، بينما بالعكس أثناء التنفس، فإن المركبات المختلفة تتخلى عن ذرات هيدروجين تتحد أخيراً مع الأوكسجين الجزيئي من أجل تشكيل الماء.

7-9-1- الطاقة الضوئية وتهيج الجزيئات:

عندما تصل حزمة ضوئية إلى سطح مادة ما (كالسيلينيوم مثلاً)، فإن الإلكترونات تكون مفصولة عن هذا الأخير بنسبة تزداد مع ازدياد الشدة الضوئية. وهذا هو مبدأ الخلية الكهرضوئية. والضوء بحد ذاته يتكون من وحدات طاقية صغيرة تدعى فوتونات. وطاقة الفوتون تتناسب عكساً مع طول موجة الفوتون: فالفوتونات ذات طول الموجة القصير (في النهاية البنفسجية للطيف) هي التي تمتلك الطاقة الأعلى.

إن القدرة على امتصاص الضوء تتعلق بالإلكترونات التي تحيط بالنواة، لأن الإلكترون هو الذي يستطيع أن يمتص الفوتون وأن يكتسب بذلك طاقة كافية من أجل أن يبتعد أكثر فأكثر عن النواة المشحونة إيجابيا ليتوضع على مدار أبعد يكون فيه مستوى الطاقة أعلى، وعندئذ يكون لدينا ذرة مهيجة. إن الذرات والجزيئات المهيجة (أو المنشطة) تكون غير ثابتة. ففي حالة ذرات سيلينيوم الخلية الكهرضوئية تكون الطاقة الضوئية المكتسبة بوساطة الإلكترونات من الشدة بحيث تدفع بالإلكترونات إلى ترك الذرة وتوليد تيار كهربائي ولكن في أغلب الأحيان فإن الإلكترونات تعود إلى المدار الذي انطلقت منه (العودة إلى الحالة الأصلية) محررة بذلك الطاقة الضوئية الممتصة. وهذه الطاقة يمكن أن تحرر، إما على شكل حرارة وإما على شكل ضوء (فلورة Fluorescence).

وفي حالة جزيئات الكلوروفيل يكون الانتقال إلى الحالة المهيجة (المنشطة)، المعزوة للإضاءة، متبوعاً بعودة إلى الحالة الأصلية المصحوبة خارجياً بانطلاق حرارة وبفلورة، بينما داخلياً بانطلاق الإلكترونات (كما في الخلية الكهرضوئية) التي تكون مأخوذة من قبل نواقل للإلكترونات مشابهة لتلك التي تدخل في السلسلة التنفسية للمايتوكوندريا.

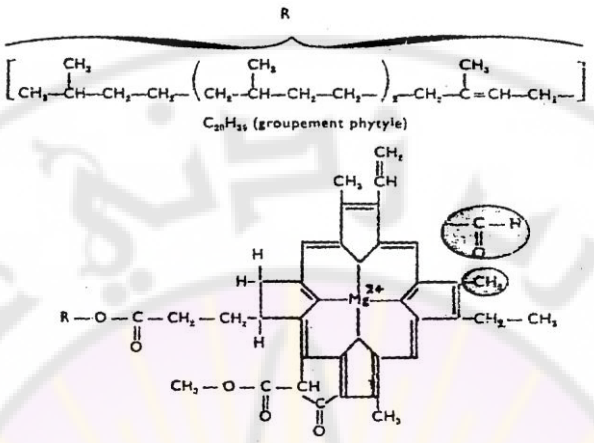
7-9-2- الكلوروفيل Chlorophylles:

وهو عبارة عن صبغات متواجدة في الصانعات الخضراء للنباتات الراقية. وقد عرف حتى الآن نوعان من هذه الصبغات.

الأول عرف باسم كلوروفيل a، والثاني عرف باسم كلوروفيل b. وينحصر الاختلاف الوحيد بينهما بوجود مجموعة فورميل على ذرة الكربون بيتا لإحدى النوى البيرولية في كلوروفيل b بدلاً من وجود مجموعة ميثيل على ذرة الكربون المذكورة أعلاه في كلوروفيل a كما يتضح من الصيغ الكيميائية الممثلة في الشكل (7-4).

7-9-3- انتقال الإلكترونات والفسفرة الضوئية الصانعة:

إن الإلكترونات المحرضة (المنشطة) داخل الخلية النباتية تستطيع أن تترك جزيئات الكلوروفيل المنشطة بوساطة الضوء لتؤخذ من قبل نظام ناقل للإلكترونات. وقد دلت الأبحاث في هذا المجال أن هذه الإلكترونات يمكنها أن تشترك في مسارين متميزين، أحدهما يسمح باصطناع الـ ATP والآخر يسمح بتشكيل $NADPH + H^+$.



الشكل 7-4: الصيغة الكيميائية لـــ كلوروفيل a

(في كلوروفيل b تكون زمرة ميثيلية مستبدلة بزمرة فورميلية)

أ- الفسفرة الضوئية الحلقية وتشكل الـــ ATP:

إن الإلكترونات المنتزعة من جزيئات كلوروفيل a تستطيع أن تتوجه نحو سلسلة من نواقل الإلكترونات شبيهة إلى حد كبير بسلسلة الانتقال الإلكترون للمايتوكوندريا (انظر المسار رقم 1 في الشكل 7-5). وهذه السلسلة تشمل على مايبدو على المرافقات الفلافينية إضافة إلى نوعين على الأقل من السايتوكرومات (أحدهما من المجموعة b، والآخر هو سايتوكروم F الخاص بالخلايا الصانعة الضوئية).

والواقع أن نواقل الإلكترونات هذه والترتيب الذي ضمنه تتعاقب هذه النواقل ضمن السلسلة ليست بعد معروفة بشكل مؤكد، ولكن الذي يهم هو وجود مثل هذا النظام الذي يختلف عن النظام الذي درسناه بصدد التنفس وبشكل أساسي فيما يتعلق بالمصدر والمصير النهائي للإلكترونات.

وكما في المايتوكوندريا، فان مرور الإلكترونات عبر سلسلة النواقل يسمح بتخزين جزء من الطاقة تحت شكل ATP. وقد أكدت الأبحاث أن تشكل الـــ ATP هنا لا يستهلك مادة تفاعل (مصدر كربوني) ولا أوكسجين وإنما يتعلق بشكل مباشر بالضوء الممتص. ومن هنا أعطي اسم الفسفرة الضوئية الصانعة.

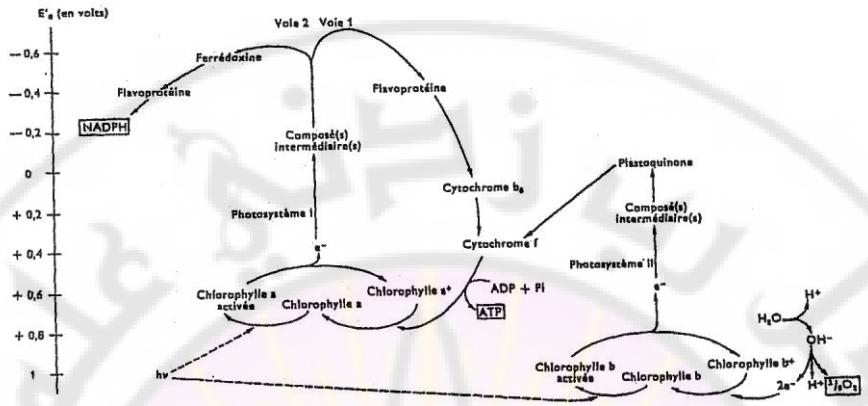
أما من جهة تعبير الفسفرة الضوئية الحلقية، فهو يشير إلى حركة الإلكترونات المتولدة عن كلوروفيل a والعائدة إليه والتي تسمح بحدوث هذه الفسفرة. فمن أجل زوج من الإلكترونات المنتقلة عبر السلسلة يمكن أن يتشكل جزيء واحد أو أكثر من جزيئات ATP.

ب- الفسفرة الضوئية غير الحلقية مع تشكل الـــ ATP والـــ NADPH

إن الإلكترونات المنتزعة من كلوروفيل a يمكنها أن تسمح باختزال $NADP^+$. وهذا بحد ذاته يشكل المسار الرئيسي (مسار رقم 2 في الشكل 7-5) لسلسلة الانتقال الإلكتروني. وبناءً عليه فإن الإلكترونات تنتقل من كلوروفيل a إلى معقد بروتيني يدعى فيرو دوكسين - بروتين (Ferredoxine – Proteine) يحتوي على الحديد. هذا الأخير ينقل بدوره الإلكترونات المكتسبة إلى المرافق الأنزيمي $NADP^+$ إما بشكل مباشر وإما بشكل غير مباشر عن طريق الفلافوبروتينات والمرافق الأنزيمي NADPH المتشكل يستخدم من قبل الخلية خلال فترة الظلام من أجل اختزال CO_2 إلى كربوهيدرات بوساطة سلسلة من التفاعلات التي تحتاج أيضاً للطاقة المتمثلة بـــ ATP.

ومن الواضح في هذه الظروف أن الإلكترونات التي استخدمت في اختزال $NADP^+$ لا تستطيع العودة إلى كلوروفيل a وبالتالي فإن عودة هذا الكلوروفيل إلى الحالة الأصلية تتطلب ورود إلكترونات من مصدر آخر. ويعتقد أن هذه الإلكترونات تكون مزودة من قبل كلوروفيل b. إن جزيئات كلوروفيل b، المنشطة بوساطة الضوء، تفقد إلكتروناتها التي تكون مأخوذة بوساطة النظام الناقل للإلكترونات الذي شاهدناه في الفقرة السابقة والمتعلقة بالفسفرة الضوئية الحلقية. وكما في الحالة الأولى فإن انتقال الإلكترونات هنا يترافق أيضاً بحدوث تفاعلات فسفرة للـــ ADP لإنتاج ATP .

والجدير بالذكر أن الفسفرة الضوئية الحلقية والفسفرة الضوئية غير الحلقية كلتيهما تستعمل جزئياً نواقل الإلكترونات نفسها ولا يختلف بعضها عن بعض إلا بنقاط الانطلاق والوصول ففي الفسفرة الضوئية الحلقية فإن الإلكترونات تصدر عن كلوروفيل a وتعود إليه، في حين أن الإلكترونات في الفسفرة الضوئية غير الحلقية تصدر عن كلوروفيل b وتصل إلى كلوروفيل a وبالطبع لا تعود إلى كلوروفيل b ولكي يعود كلوروفيل b إلى حالته الأصلية يتطلب بالضرورة وجود مصدر آخر للإلكترونات التي تسمح بتجديده وقد تبين أن الإلكترونات الضرورية لتجديد كلوروفيل b تأتي من تفكك الماء بوساطة عملية لم توضح بعد بشكل جيد تؤدي إلى تحرير الأوكسجين الجزيئي.



الشكل 7-5: مخطط توضيحي لتفاعلات الفسفرة الضوئية الحلقية وغير الحلقية وتشكل الـ ATP مع تبيان جهود الاختزال القياسية (E'_0) للمركبات الوسطية المعروفة.

ونشير أخيراً إلى أن الطاقة الضرورية لتشكل ATP تنشأ عن تفاعلات الانتقال الإلكتروني سواء في المايتوكوندريا أم في الصانعات الخضراء. فقط مصادر هذه الطاقة هي التي تختلف، ففي المايتوكوندريا هي الطاقة الكيميائية لمختلف مواد التفاعل، في حين أن في الصانعات الخضراء هي الطاقة الضوئية.

7-10- الأنزيمات المؤكسدة الأخرى:

إضافة إلى أنزيمات نقل الإلكترونات في السلسلة التنفسية للمايتوكوندريا وفي السلسلة الناقلة للإلكترونات في الصانعات الخضراء، تحتوي معظم الكائنات الحية على أنزيمات مؤكسدة أخرى نذكر أهمها فيما يلي:

1- أنزيمات الكاتالاز Catalases والبيروكسيداز Peroxidases

وهي أنزيمات تحلل فوق أوكسيد الهيدروجين H_2O_2 وتحتوي في تركيبها على مجموعة إضافية واحدة هي حديد البورفيرين Perriprotoporphyrrine III إلا أن أنزيم الكاتالاز يحتوي في تركيبه على أربع ذرات حديد في الجزيء في حين لا يحتوي أنزيم البيروكسيداز إلا على ذرة حديد واحدة في الجزيء.

والكاتالاز واسع الانتشار في المملكتين الحيوانية والنباتية حيث يعمل على تحليل فوق أوكسيد الهيدروجين إلى ماء وأوكسجين حر:

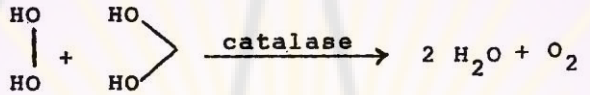
$$2\ H_2O_2 \xrightarrow{catalese} 2H_2O + O_2$$

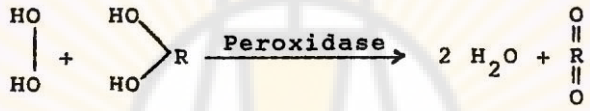
أما أنزيم البيروكسيداز فنادرا ما يوجد في النسج الحيوانية ولكنه يوجد بتراكيز عالية في النباتات الراقية كاللفت والفجل، وهو يحلل أيضاً فوق أوكسيد الهيدروجين ولكن لا ينطلق الأوكسجين حراً بل لابد لنشاط الأنزيم من وجود مواد معطية للهيدروجين كالفينولات مثلاً فينتج الماء حسب المعادلة:

$$A\,H_2 + H_2O_2 \xrightarrow{Peroxidase} A + 2H_2O$$

حيث AH_2: هي المادة المعطية للهيدروجين.

ويزداد الأمر وضوحاً إذا كتبنا التفاعلات التي يتوسطها كل من الكاتالاز والبيروكسيداز على النحو التالي:



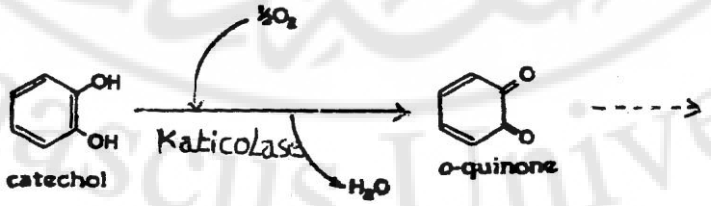


فالتشابه بين التفاعلين ظاهر وما التفاعل الكاتالازي في الحقيقة إلا نوع من التفاعل البيروكسيدازي. وبذلك يمكن للكاتالاز أن تحل محل البيروكسيداز في بعض الحالات.

2-أنزيمات الفينولاز أو الفينول أوكسيداز Phenol oxidases

وهي مجموعة من الأنزيمات واسعة الانتشار في المملكة النباتية (موز، بطاطا، تفاح) والمسؤولة عن ظهور اللون البني المسود لدى تقطيع هذه المنتجات النباتية وتعرضها للأوكسجين الجوي.

تؤكسد هذه المجموعة من الأنزيمات الفينولات بالأوكسجين الجوي فتنتج الكوينونات الموافقة المسؤولة عن اللون البني المسود. ونورد فيما يلي كمثال على هذه التفاعلات تفاعل أكسدة الكايتكول إلى أورثو كوينون بوجود آنزيم كاتيكولاز والأوكسجين الجزيئي.



أما في النسج الحيوانية نذكر كمثال أنزيم التايروزيناز الذي يؤكسد الحمض الأميني تايروزين إلى المركب ثنائي هيدروكسي فنيل الانين (DOPA) أولاً ثم إلى كوينونات تدخل في تركيب الصبغة السمراء (ميلانين) للشعر والجلد كما مر معنا سابقاً (انظر فصل استقلاب البروتينات والمركبات النيتروجينية الأخرى).

3-أنزيم أسكوربيك أوكسيداز Ascorbique Oxidase

وهو أنزيم واسع الانتشار في المملكة النباتية حيث يعمل على أكسدة حمض الأسكوربيك (فيتامين C) بنزع ذرتي هيدروجين منه ونقلها للأوكسجين الجزيئي فينتج جزيء ماء وحمض أسكوربيك منزوع الهيدروجين (انظر فصل الفيتامينات ومرافقات الأنزيمات).

يشبه هذا الأنزيم أنزيمات الفينولاز في احتوائه على النحاس الذي يعتقد أنه يلعب دور الناقل للإلكترونات.

4-أمينو اسيد أوكسيداز Amino Acide oxidases

وهي أنزيمات فلافينية (فلافوبروتينات) تساعد على نزع مجموعة الأمين تأكسديا من الأحماض الأمينية (انظر فصل استقلاب البروتينات).

5-جلوكوز أوكسيداز Glucose oxidase

وهو أنزيم يتبع مجموعة الفلافوبروتينات. يوجد في الفطريات ويؤكسد الجلوكوز بالأوكسجين الجزيئي وبوجود الماء فينتج حمض جلوكونك وفوق أوكسيد الهيدروجين.

يستخدم هذا الأنزيم في التقدير الكمي للجلوكوز وفي بعض الصناعات الغذائية.

6-أنزيمات الأوكسيجناز Oxygenases

وهي تتوسط التفاعلات التي يتم من خلالها اتحاد جزيء من الأوكسجين الجزيئي مع جزيء من مادة التفاعل كما يلي:

$$M + O_2 \rightarrow MO_2$$

حيث M : مادة التفاعل.

7-أنزيمات الهيدروكسيلاز Hydroxylases

وهي مجموعة من الأنزيمات التي تتوسط التفاعل العام التالي:

$$MH + O_2 + 2e^- + 2H^+ \rightarrow MOH + HOH$$

الفصل الثامن

الهرمونات والمضادات الحيوية

8-1- مقدمة:

الهرمونات: هي مركبات عضوية ذات بنيات كيميائية مختلفة، تؤثر في سلسلة التفاعلات الحيوية، الجارية في أنسجة وخلايا الجسم، وهي تنظم مراحل استقلاب المواد.

يشتق الاسم هرمون من الكلمة الإغريقية هورمو، أي منشط أو فعال وذلك للدلالة على المركبات الكيميائية المفرزة من قبل الغدد الصم (غدد الإفراز الداخلي) والتي تؤثر في مسارات استقلاب المواد المختلفة وعلى وظائف الأعضاء والأنسجة.

وتجدر الإشارة إلى أن نشاط وفعالية الغدد ذات الإفراز الداخلي يقعان تحت تأثير الجملة العصبية المركزية.

أضف إلى ذلك أن التفاعلات المؤدية إلى اصطناع الهرمونات وآلية إفرازها من الغدد الصم لا تزال تشكل مجالاً غير محدد المعالم.

ينتسب إلى الغدد ذات الإفراز الداخلي (الغدد الصم): الدرق، جارات الدرق، المعثكلة، الكظر، الغدد الجنسية (الخصية، المبيض)، النخامة تحت سرير المخ، التيموس، الكردوس (الصنوبرية).

يمكن تقسيم الهرمونات حسب البنية الكيميائية إلى زمرتين رئيسيتين: الهرمونات البروتينية والهرمونات الستروئيدية، وتنقسم الهرمونات البروتينية إلى ثلاث فئات فرعية:

أ) الهرمونات البروتينية – الأنسولين (هرمون غدة المعثكلة)، هرمون النمو (هرمون الفص الأمامي للنخامة)، التيروغلوبولين (هرمون الغدة الدرقية)، والسكرتين (هرمون الغشاء المخاطي للأمعاء الاثني عشرية).

ب) الهرمونات الببتيدية – فازوبرسين واكسي توسين (هرمون الفص الخلفي للنخامة)، انترميدين، أو هرمون ميلانوفورم (هرمون الفص الأوسط للنخامة).

ج) الهرمونات المشتقة من الحموض الأمينية (الأدرينالين، نور الأدرينالين التيروكسين، السروتونين، الميلاتونين، الهيستامين ....).

تقسم الهرمونات ذات البنية الستروئيدية إلى:

الاستروجينات (الهرمونات الجنسية الأنثوية)

الاندروجينات (الهرمونات الجنسية الذكرية)

الكورتيكوئيدات (هرمونات قشرة الكظر)

8-2-هرمونات المعثكلة:

تعد المعثكلة إحدى الغدد الصم ذات الإفراز الداخلي وتتألف هذه الغدة بشل عام من نوعين من النسج – نسج الغدة ونسج خاصة تسمى بجزر لانغرهانس.

تقوم هذه الجزر بوظيفة الإفراز الداخلي، ويميز في جزر لانغرهانس نوعان من الخلايا، خلايا من نوع (α) وأخرى من نوع (β) وكل من هذه الخلايا ينتج نوع خاص من الهرمونات وهذه الهرمونات هي الأنسولين Insuline والغلوكاكون Glucagon.

الأنسولين:

يعد الهرمون الأول الذي عرف تركيبه بشكل كامل وعلى الأخص تسلسل الحموض الأمينية فيه.

يحوى الأنسولين 51 حمضاً أمينياً وله وزن جزيئي يبلغ 16000 تحوي ثلاث روابط ثنائية الكبريت ولقد لوحظ بأن تحطم الروابط ثنائية الكبريت وكذلك الأكسدة وحذف الكبريت وإشغال المجموعة الكاربوكسيلية يؤدي إلى فقدان الهرمون لفعاليته الفيزيولوجية، ويعرف في الوقت الحاضر بأن الأنسولين يصطنع في البانكرياس تحت شكل غير فعال يسمي طليعة الأنسولين PRO INSULINE وتتألف جزيئة هذا الأخير من سلسلة وحيدة تحوي 84 حمضاً أمينياً ويتحول الشكل غير الفعال إلى الشكل الفعال من الأنسولين.

وذلك بتحطيم رابطتين ببتيديتين من السلسلة المذكورة في موضعين مختلفين ونتيجة لذلك تتحرر السلسلتان A و B وتبقى سلسل ثالثة هي السلسلة C والتي تتألف من 33 حمض أميني وتكون هذه السلسلة C في جزئية طليعة الأنسولين في موضع متوسط ما بين السلسلتين A و B للأنسولين أي أن بداية هذه السلسلة ترتبط مع نهاية السلسلة B وتقوم نهاية السلسلة C بالارتباط مع بداية السلسلة A.

هذا وان تحطم الرابطتين الببتديتين المذكورتين لطليعة الأنسولين يتم بتأثير أحد أنزيمات الحلمهه الخاصة.

أن التأثير المباشر للأنسولين هو خفض مستوى سكر الدم بالإضافة إلى تأثيره غير المباشر على استقلاب السكريات والمركبات الأخرى. إن نقص الأنسولين يؤدي إلى انخفاض تركيز الغليكوجين في العضلات وفي مراحل متأخرة إلى نقص الغليكوجين في الكبد، كما يؤدي هذا النقص إلى اضطراب استقلاب الدهون وإلى ظهور الأجسام الكيتونية.

أما نقص الأنسولين على استقلاب البروتينات فيتجلى بسرعة تفك البروتينات وإلى زيادة كمية الآزوت المطروحة في البول.

من الصفات المهمة للأنسولين هو تأثيره على فسفرة الجلوكوز إذ أنه يضاعف من فعالية أنزيم الهكسوكيناز وذلك بالتأثير على زيادة اصطناع هذا الأنزيم إذ وجد أن كمية هذا الأنزيم خلال تجويع الحيوانات أو عند نقصان كمية الأنسولين تكون منخفضة.

يؤثر الأنسولين أيضاً على نفوذية الجدر الخلوية تجاه الجلوكوز.

2- الغلوكاكون:

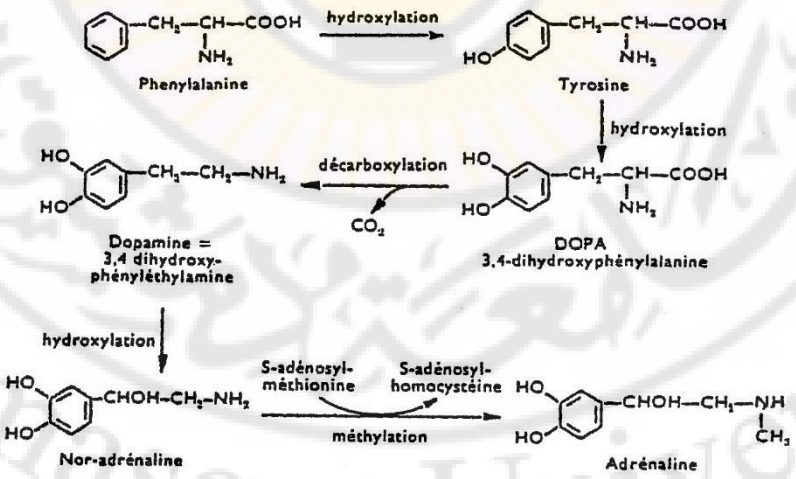
إن حقن الأنسولين يؤدي خلال فترة قصيرة إلى خفض مستوى سكر الدم وبعد هذه المرحلة من الانخفاض يتدخل هرمون آخر يفرز من جزر لانغرهانس (الخلايا ألفا) يسمى بالجلوكاكون المعاكس بعمله لعمل الأنسولين الذي يعمل على رفع سوية السكر.

يعد الجلوكاكون كمركب بروتيني مؤلف من 29 حمضاً أمينياً وله وزن جزيئي يبلغ 4200.

أما تأثير الغلوكاكون على استقلاب السكريات فيشبه تماماً تأثير الأدرينالين فهو يضاعف من عملية تفكك الجليكوجين في الكبد وذلك بتنشيط أنزيم الغليكوجين فوسفوريلاز.

8-3-تأثير الأدرينالين والجلوكاكون في مسار تحلل الجلايكوجين:

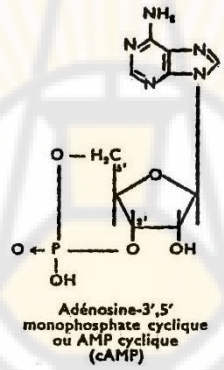
يتمتع هرمون الأدرينالين بتركيب أبسط من هرمون الجلوكاكون، وهو مشتق من الحمض الأميني تايروزين Tyrosine (شكل 8-1)



الشكل 8-1: تفاعلات تشكل هورمون الأدرينالين

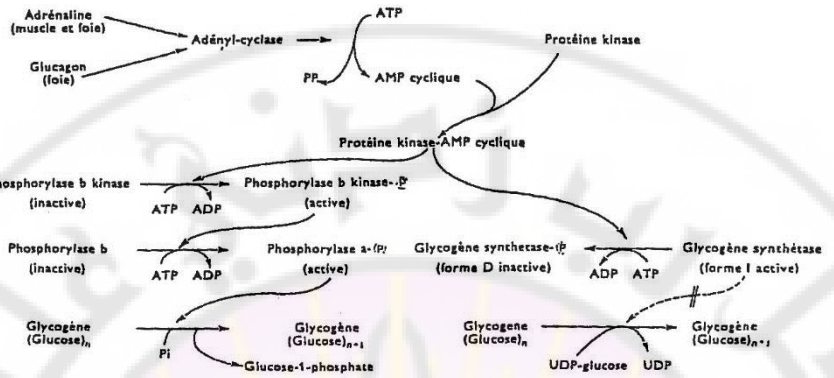
إن كلا الهورمونين يمتلكان تأثيراً فيزيولوجياً واضح المعالم. ويترجم هذا التأثير بزيادة تركيز جلوكوز الدم والجلوكوز الداخل في تفاعلات الأكسدة. هذه الزيادة في تركيز الجلوكوز المتاح تتم على حساب الجلايكوجين. إن آلية عمل هذين الهورمونين يمكن إيجازها كما يأتي:

الأدرينالين في العضلات والكبد أو الغليكوكان في الكبد (الرسالة الأولى كما يسميه البعض) يحمل بوساطة التيار الدموي، ويرتبط بغشاء الخلية الهدف مؤدية بذلك إلى تنشيط أنزيم يدعى أدينيل سيكلاز Adenel - cyclase وهو يعمل بدوره على تنشيط تحلل ATP إلى PPi و AMP حلقي (أو أدينوزين '3 , '5 أحادي فوسفات حلقي، شكل 8–2) يتشكل على السطح الداخلي للغشاء الخلوي، ثم ينتشر إلى داخل الخلية. وهذه العملية تعد بمنزلة الرسالة الثانية التي تعقب الأولى، والتي يتركز عملها على بروتين من أنواع الكيناز Kinase، الذي يحتاج إلى AMP حلقي من أجل نشاطه.



الشكل 8–2: التركيب الكيميائي للمركب AMP الحلقي

يعمل الكيناز البروتيني المشار إليه على تحويل فوسفوريلاز b– كيناز غير مفسفر وخامل إلى فوسفوريلاز b –كيناز مفسفر ونشط. هذا الأخير يعمل بدوره على تحريض تفاعل تحول فوسفويلاز b غير مفسفر وخامل إلى فوسفوريلاز a مفسفر ونشط مسؤول عن تحريض تفاعلات التحلل الفوسفوري للجلايكوجين. إن مختلف التفاعلات المشار إليها أعلاه موضحة في الشكل 8–3.



الشكل 8–3: دور الأدرينالين والجلوكاجون في تنظيم استقلاب الجلايكوجين بمساعدة AMP الحلق

إضافة إلى التأثير المنشط للمركب AMP الحلقي في مسار التحلل الفوسفوري للجلايكوجين يمتلك هذا المركب نشاط مثبط لاصطناع الجلايكوجين. وفي الحقيقة فإن الكيناز البروتيني، المنشط بوساطة AMP الحلقي، له القدرة على تحويل جلايكوجين سينثيتاز (glycogene synthetase) غير المفسفر والنشط (I) إلى جلايكوجين سينثيتاز مفسفر وغير نشط (D). وعندما ينخفض تركيز AMP الحلقي تنشط التفاعلات العكوسة، حيث تتم عملية إزالة الفسفرة من فوسفوريلاز a ليتحول إلى فوسفوريلاز b، وكذلك من جلايكوجين سينثيتاز D ليتحول إلى جلايكوجين سينثيتاز I. هذه التحولات تؤدي إلى توقف تفاعلات تحلل الجلايكوجين وعودة تفاعلات الاصطناع إلى الظهور (شكل 8–3). وتجدر الإشارة إلى وجود عدد آخر خاص من العوامل التي تؤثر بشكل مباشر في مسار استقلاب الجلايكوجين، وبشكل خاص الأكسجين. وبناءً عليه فإن أي انخفاض بتركيز الأكسجين سوف ينعكس سلبياً على تركيز ATP، مع زيادة ملحوظة بتركيز ADP (أو AMP) و Pi، مما ينعكس إيجابياً على آلية التحلل الفوسفوري للجلايكوجين وسلبياً على آلية تفاعلات اصطناعة.

ومن الجدير ذكره أن AMP الحلقي لا يحرض فقط تفاعلات استقلاب الجلايكوجين، ولكن أيضا تفاعلات تحلل الدهون. أضف إلى ذلك أن عدداً كبيراً من الهورمونات (مثل هورمون الأدرينوكورتيكوتروفين ACTH) له القدرة على تنشيط المركب أدينيل سيكلاز (Adenyl-Cyclase) ومن ثم على زيادة تصنيع AMP الحلقي. وبذلك يمكن القول إن AMP الحلقي يمتلك موقعاً متقدماً في تنظيم الاستقلاب بتحريض مباشر من قبل الهورمونات.

ونشير أخيراً إلى أن AMP الحلقي لا يوجد فقط في الكائنات الحية العليا، ولكن أيضاً لدي الكائنات الحية الدقيقة، وبذلك تتضح أهمية AMP الحلقي من جديد في تنظيم آليات استقلاب العديد من المركبات.

8-4- المضادات الحيوية:

8-4-1-مفهوم المضادات الحيوية:

لم يدخل مفهوم المضادات الحيوية في حياة الإنسان إلا بعد اكتشاف البنسلين عام 1940 كدواء مهم ضد الالتهابات. ومفهوم المضاد الحيوي معناه "المواد المضادة للحياة". وهي مركبات كيميائية تشكلها أحياء دقيقة لها خاصة تثبيط أو منع نمو الباكتريا والأحياء الدقيقة المجهرية الأخرى. وبصورة أعم يمكن القول بأن المضادات الحيوية هي نواتج النشاط الحيوي التي تملك فعالية فيزيولوجية كبيرة بالنسبة لفئات عضوية معينة (فيروسات، فطور، باكتيريا...) أو توقف نمو الأورام الخبيثة.

وتختلف المضادات الحيوية عن غيرها من المركبات الحيوية بما يلي:

1. تختلف المضادات الحيوية عن الحموض العضوية والكحولات والمركبات المشابهة بأنها تظهر فعالية بيولوجية كبيرة ولو بتركيز منخفض جداً.
2. يظهر كل مضاد حيوي خواص بيولوجية فعالة تجاه عضويات معينة دون التأثير على غيرها. فمثلا البنسلين G يثبط تطور البكتريا إيجابية الغرام ولا يوثر على البكتريا سلبية الغرام والفطور وغيرها.
3. المضاد الحيوي غير سام على عضوية الإنسان والحيوان وبهذا يمكن أن نفرق بين المضادات الحيوية والسموم البيولوجية العامة (سليماني، فينول، زرنيخ، وغيرها) والتي تثبط النشاط الحيوي.

8-4-2-تصنيف المضادات الحيوية:

يعرف حتى الآن حوالي 2000 مضاد حيوي، وعلى الرغم من انتمائها إلى فئات مختلفة، يعتقد كثير من الباحثين أن أفضل وسيلة لتصنيف المضادات الحيوية، الاعتماد على البنية الكيميائية لها ونورد فيما يلي تصنيف عدد منها:

1. المضادات الحيوية الحلقية: تتضمن هذه الفئة مركبات حلقي البنتان، حلقي الهكسان وحلقي الهبتان...
2. المضادات الحيوية التتراسيكلينية: ينتسب لهذه الفئة المركبات القريبة من بنية تتراسكلين.
3. المضادات الحيوية الحاوية على حلقة البنزن.

4. المضادات الحيوية الكينونية.
5. المضادات الحيوية الحلقية الحاوية على أوكسجين.
6. المضادات الحيوية الحلقية الحاوية على آزوت.
7. المضادات الحيوية متعددة الببتيد.
8. المضادات الحيوية الحاوية على المعادن.
9. المضادات الحيوية الحاوية على كبريت وآزوت.

Damascus University

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

المصطلحات العلمية

Acetal	أسيتال
Acetoacetic acid	حمض الأسيتو أسيتيك
Acetyl coenzyme A	مشتق الأسيتيل لمرافق الأنزيم
Aconitase	أنزيم أكونيتاز
Adenine	أدينين
- 5'- diphosphate (ADP)	أدينين –5'– ثنائي الفوسفات
- 5'- monophosphate (AMP)	أدينين –5'– أحادي الفوسفات
- 5'- triphosphate (ATP)	– ثلاثي الفوسفات
Aerobic metabolism	استقلاب هوائي
Alanine	آلانين
- alanineβ	بيتا – الانين
Aldo1ase	أنزيم الدولاز
Aldonic acid	حمض الدونيك
Aldose	سكر ألدهيدي
Allose	أللوز
Altrosc	ألتروز
Amino acids	أحماض أمينية
Anmhoter	مركب له صفة الحمض والقاعدة معاً
Amylases.	أنزيمات الأميلاز
Amylopectin	أميلوبكتين
Amylose	أميلوز
Anabolism	اصطناع المركبات البيولوجية
Anaerobic	لاهوائي

Anomers	مماكبات مختلفة في التوزع الفراغي على ذرة الكربون رقم 1
Anticodon	مضاد الكودون
Arachidic acid	حمض الأراكيديك
Arginase	أنزيم أرجيناز
Arginine	أرجينين
Ascorbic acid	حمض الأسكوربيك
Biochemistry	
Biotin	الكيمياء الحيوية
Buffers	فيتامين البيوتين
Butane	محاليل منظمة
Capric acid	البيوتان
Caprilic acid	مسعر حراري
Carbamyl. kinase	حمض الكابريك
Carbohydrates	أنزيم فسفرة الكارباميل
Carboxypeptidases	الكربوهيدرات
Carotene	انزيمات تهاجم السلاسل الببتيدية من طرف COOH
Catabolism	الكاروتين
Catalyst	هدم المركبات البيولوجية
Cellobiose	عامل مساعد
Cellulose	سيللوبيوز
Adsorption	سيليلوز
Ion exchange	كروماتوغرافيا
Complex lipids	كروماتوغرافيا الادمصاص

Cola en	كروماتوغرافيا ذو مبدأ تبادل الشحنات
Cyclopentanic acids	سيتروللين
Cysteine	الليبيدات المعقدة
Cytochromes	كولاجن
Cytosine	الأحماض الدهنية الحلقية
Homo	سيستين
Dalton	سايتو كرومات
Dehydrase	سايتوزين
Dehydro ascorbic acid	هوموسيستين
Deoxyribonucleic acid DNA	دالتون (وحدة وزن جزيئي)
Deoxyribofuranose	انزيم نزع الماء
De oxyribose	حمض الاسكوربيك المؤكسد
DGMG	الحمض النووي DNA
Dextroratatory	سكر رايبو فيرانوز منزوع الأوكسجين
Diacids	رايبوز منقوص الأوكسجين
Dialysis	ثنائي الجالاكتوزيل أحادي الجليسريد
Dihydroxyacetone	مركب يحرف الضوء نحو اليمين
Double helix	حمض ثنائي الكربوكسيل
Elaidic acid	الديلزة (فصل البروتينات)
Electrophoresis	اسيتون ثنائي الهيدروكسيل
Electron transport	ببتيد ثنائي
Elastin	سلسلة حلزونية مزدوجة
Enantiomers	حمض الإيديك
Endopeptidases	الترحيل الكهربائي

Enolase	الانتقال الالكتروني
Entropy	إلاستين
Epimerisation	مماكبات فراغية كل واحد صورة مرآة للآخر
Epoxyacids	تفاعل ماص للحرارة
Equatorial	انزيمات تهاجم السلاسل الببتيدية داخلياً
Ergosterol	اينولاز
Esterase	الانتروبي
Ethanol	ظاهرة تكون الايبيمير
Eucaryotes	أحماض الايبوكسي
Exergonic	اتجاه استوائي للمجموعات الوظيفية
Fatty acids	ارجوستيرول
Fibrin	استيراز
Fibrinogen	ايثانول
Fibroine	حقيقيات النوى
Flavine adoinine dinucleo tide (FAD)	ناشر للحرارة
Folic acid	الأحماض الدهنية
Fructofuranose	الفايبرين
Fructopyranose	الفايبرينوجين
Fructosazone	فايبرويين
Fructose	فلافين ادينين – ثنائي النكليوتيد
Fumarate	حمض الفوليك
Fumaric acid	فركتو فيورانوز
Furan	فركتو بيرانوز
Furfural	اوسازون الفركتوز

hydroxymethyl	الفركتوز
Galactolipids	فيومارات
Galactose	حمض الفيوماريك
Galactouronic acid	فيوران
Gluconeogenesis	فورفورال
Gluconic acid	هيدروكسي ميثيل فورفورال
Glucose	الجالاكتوليبيدات
Glutamic acid	جالاكتوز
Glutamine	حمض الجالاكتو يورونيك
Glutathion	إعادة اصطناع الجلوكوز
Glyceraldhyde	حمض الجلوكونيك
-3- phosphate	جلوكوز
Glycerol	حمض االجلوتاميك
Glycine	جلوتامين
Glycogen	جلوتاثيون
Glycolysis	جليسر الدهيد
Guanine	جليسر الدهيد 3- فوسفات
Gulose	جليسرول
Hemiacetal	جلايسين
Hemoglobin	جليكوجين
Heptose	التحلل الجليكوليتي
Hexoldnase	غوانين
Hexagonal H	جيلوز
Hexose	شبه اسيتال

Hippuric acid	هيموغلوبين
Histidine	سكر رباعي ذرات الكربون
Histones	هكسو كيناز
Hydrases	المرحلة الليبيدية السداسية المعكوسة
Hydrazone	سكر سداسي
Hydr °soluble	حمض الهيبوريك
Hydrogenation	هيستيدين
Hydroxyproline	الهستونات
Idose	انزيمات إضافة الماء
Inhibitors	هيدرازون
Insulin	ذوّاب بالماء
Interconversion	هدرجة
Interverted suger	هيدروكسي برولين
Iodoacetamide	ايدوز
Inosinic acid	مثبطات
Iron- porphyrin	الانسولين
Isoalloxazine	تحول داخلي
Isoelectric point	سكر محول
Isoenzymes	الاسيتو اميد اليودي
Isomerism	حمض الاينوزينيك
geometrical-	حديد بورفيرين
Optical-	ايزو اللوكسازين
Structural-	نقطة التوازن الكهربائي
catalase	الانزيمات متماثلة الوظيفة

ICetohexose	تماكب هندسي
ICetose Lactain	تماكب ضوئي
Lactim Lactate	تماكب بنائي
Catalase	كاتالاز
Ketohexose	سكر سداسي كيتوني
Ketose	سكر كيتوني
Lactam	لاكتام
Lactim	لاكتيم
Lactate	لاكتات
Lactose	سكر لاكتوز
Lauric acid	حمض اللوريك
Leucine	ليوسين
Levotartaric acid	حمض طرطريك يحرف الضوء إلى اليسار
Ligases	الانزيمات الصانعة
Lipese	ليباز
Lipids	الليبيدات
Lipoic acid	حمض الليبوييك
Lysine	لايسين
Lyases	الانزيمات المحللة
Maleic acid	حمض الماليك
Malic dehydrogenase	انزيم نزع الهيدروجين من حمض الماليك
Mannitol	مانيتول
Mannose	مانوز
Mechanism	آلية عمل

Concervative -	آلية محافظة
Semiconcervative -	آلية شبه محافظة
Mesocarbon	ذرة كربون متماثلة
Metabolism	استقلاب
Methionine	مثيونين
MGDG	أحادي الجالاكتوزيل ثنائي الجليسريد
Mitochondria	المصورة الحيوية
Ivionosaccharides	سكريات أحادية
Multienzyme complexes	معقدات متعددة الانزيمات
Mutarotation	التدوير المتبادل
Myo- inositol	ميو اينوزيتول
Myristic acid	حمض الميريستيك
Octose	سكر ثماني ذرات الكربون
Oleic acid	حمض الأوليك
Oligomer	مركب مؤلف من عدة تحت وحدات
Oliaosaccharides	سكريات مركبة
Ornitliine	اورينثين
Ovalbumen	اوفالبومين
Oxaloacetic acid	حمض الاوكزالواسيتيك
Oxidative phosphoralation	الفسفرة التأكسدية
Ox_ytoxine	اوكسي توكسين
β- oxidation	الأكسدة بيتا
Palmitic acid	حمض البالميتيك
Pantothenic acid	حمض البانتوتينيك

Pentose	سكر خماسي
Pentose phosphate pathway	دورة البنتوزات الفوسفاتية
Pepsin	ببسين
Pepsinogen	مولد الببسين
Peroxidase	بيروكسيداز
Phenylhydrazine	فينيل هيدرازين
Pliospholipids	فوسفوليبيدات
Phosphorylase	انزيم الفسفرة
Phytic acid	حمض الفيتيك
Phytine	الفيتين
Polarimeter	جهاز قياس حرف الضوء المستقطب
Polymerization	االبلمرة
Polysaccharides	سكريات عديدة
Procaryotes	بدائيات النوى
Praline	البرولين
PRPP	سكر فوسفورايبوزيل بيروفوسفات
Prothrombin	مولد الثرومبين
Psicose	سكر البسيكوز
Purine	بيورين
Pyran	حلقة بيران
Pyridine	بيريدين
Pyridoxal phosphate	فوسفات البيردوكسال
Pyridoxine	بيريدوكسين
Pyrimidine	بيريميدين

Phosphoglycerate	فوسفو جليسيرات
Pyruvic acid	حمض البيروفيك
R.acenaic mixture	مزيج راسيمي
Regulatory sites	المواقع التنظيمية
Replication	التضاعف
Retinol	ريتينول
Rhamnose	سكر الرامنوز
Rhodopsin	صبغة الرودوبسين
Ribitol	رايبتول
Riboflavine	رايبوفلافين
Ribofuranose	سكر رايبو فيورانوز
Ribanuclease	انزيم تحلل RNA
Ribose	سكر رايبوز
Ribosomal RNA	RNA الريبوزومي
Ribulose	سكر رايبولوز
RNA	الحمض الريبي النووي
Saccharic acid	حمض السكاريك
Saponifiable	قابل للتصبن
Non -	غير قابل للتصبن
Schif's fuchine	كاشف االفيوشين لشيف
Serine	سيرين
Sialic acid	حمض السياليك
Sigmasterol	سيغماستيرول
Simple lipids	الليبيدات البسيطة

Sorbitol	السوربيتول
Sorbose	سكر السوربوز
Spectrophotometer	جهاز قياس الطيف الضوئي
Specific activity	النشاط النوعي
Sphingolipids	الليبيدات السفنكولية
Sphingomylin	سفنكومايلين (ليبيد)
Steric specificity	التخصصية الناتجة عن التوزع الفراغي
Substrate	مادة تفاعل
Succinate	سكسينات
Succinic acid	حمض السكسينيك
Succiny1- COA	مشتق المرافق A لحمض السكسينيك
Tagatose	سكر التاغاتوز
Talose	سكر التالوز
Terpen	التربين
Testosteron	تستوستيرون
Tetrahydrafolate	رباعي هيدروفولات
Tetrose	سكر رباعي
Thiamin	فيتامين الثيامين
Threonine	ثريونين
Threose	سكر التيريوز
Thrombin	الثرومبين
Thymine	الثايمين
TPP	الثيايمين بيروفوسفات (مرافق انزيمي)
Triglyceride	جليسريد ثلاثي

Trypsin	تربسين
Trypsin ogee	مولد انزيم التربسين
Tryptophan	تربتوفان
Tyrocidin	تيروسيدين
Tyrosine	تيروزين
Ubiquinone	يوبيكونيون
UDP- Galactose	مركب UDP – المرتبط مع الجالاكتوز
Uracil	يوراسيل
Urease	يورياز
Uridine - 5' - monophosphate	يوريدين َ5 – أحادي الفوسفات
Valine	الحمض الأميني فالين
Xanthophyll	كزانتوفيل
Xerophtalrnia	مرض العيون الجافة
Xylose	زايلوز
Xylulose	زايللوز
Zwitterion	ايون مزدوج الشحنة
Zymase	معقد الزيماز (انزيمات)
Zymogen	مولد الانزيم

المراجع العلمية

1- المراجع العربية:

1- أحمد يونس، هلالي لؤي (2010). الكيمياء الحياتية، الجزء الأول، دار ابن الأثير للطباعة والنشر، الموصل، العراق.

2- الصالح عبود (1991). أساسيات الكيمياء الحيوية، منشورات جامعة حلب، حلب، سورية.

3- حيدر محمد، محمد محمد (1991). مبادئ الكيمياء الحيوية. منشورات جامعة دمشق، كلية الزراعة.

4- سمينة غياث، محمد محمد، كورية أمل (2006). مبادئ الكيمياء الحيوية. منشورات جامعة دمشق، كلية الزراعة.


وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

2- المراجع الأجنبية:

1- Donald, Voet; Judith, G. Voet and Charlotte, W. Pratt (2013). Fundamentals of Biochemistry life at the Molecular Level, 4th edition, Jhon wiley and Sons, Inc.
2- David, L. Nelson and Michael, M. Cox (2008), Lehninges Principales of Biochemistry, 5th edition, W. H. Freeman and Company, New York.
3- David, Hames and Nigel, Hooper (2005). Biochemistry, 3th edition, Tayles and Francis, UK.
4- Danid, E. Metzler (2001). Biochemistry, the Chemical Reactions of living Cells, Volums and 2, 2nd edition, Elsevies Academic Press, UK.
5- Dawn, B. Marks (1994). Biochemistry, 2th edition, Harwall Publishing, USA.
6- Ernst, J. M. Helmreich (2001). The Biochemistry of cell Signalling, Oxford University Press.
7- Garrett, R. and Grisham, C. (2001). Principles of Biochemistry with a Human Focus, Addison Wesley Publishing.
8- Goodwin, T. W. and Mercer, E. I. (1983). Introduction to plant Biochemistry, 2th edition, Pergaman Press.
9- Herbert, J. Fromm and Mark, S. Hargrove (2012). Essentials of Biochemistry, Springes – verlag, Berlin Heidelberg.
10- Hans – walter, Heldt (2005). Plant Biochemistry, 3th edition, Elsevier Academic Press.
11- Many, K. Campbell and Shawn, O. Farrell (2009). Biochemistry, Thomson Higher Education, USA.

Damascus University


وقل رب زدني علما
Damascus University

الكيمياء الحيوية

(الجزء العملي)

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

المقدمة

يضم الجزء العملي من مقرر الكيمياء الحيوية، الذي يدرس بمعدل ساعتين أسبوعياً وعلى مدار الفصل الدراسي الأول، العديد من الجلسات العملية التي تشمل التذكير بمفهوم الـ pH والمحاليل المنظمة بالإضافة إلى اختبارات وصفية وكمية للمكونات الرئيسية للمواد البيولوجية كالكربوهيدرات والليبيدات والأحماض الأمينية والبروتينات وبعض الفيتامينات والأنزيمات. كما يحتوي هذا الكتاب على بعض الجلسات التي توضح بعض التقنيات المستخدمة في فصل وتنقية المركبات البيولوجية المهمة كتقنيات الكروماتوغرافيا والترحيل الكهربائي. وقد تقصدنا تبسيط هذه التقنيات والتوسع في شرح مبادئها لكي يسهل فهمها من قبل طلابنا الأعزاء.

يعد الجزء الخاص بتقنيات فصل وتجزيء المكونات البيولوجية ذا أهمية كبيرة لما له من تطبيقات كثيرة في شعب التخصص في السنوات اللاحقة. كما يحتوي الكتاب في بدايته على احتياطات الأمن والإرشادات العامة الواجب فهمها والأخذ بها لكي يضمن الطالب سلامته وسلامة زملائه أثناء العمل المخبري.

وقد حاولنا جاهدين أن يكون هناك ربط بين ما يتلقاه الطالب في المحاضرات النظرية وما ينفذه أثناء الجلسات العملية وذلك لتحقيق أكبر قدر ممكن من الفائدة، وكلنا أمل أن نكون قد وفقنا في إعداد هذا الكتاب لكي يفي بالغرض المطلوب.

والله من وراء القصد

دمشق في 2 /4 /2018

د. عبود الصالح د. محمد محمد

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

إرشادات عامة

من المهم جداً أن يعرف الطالب احتياطات الأمان الواجب اتخاذها والتقيد بها أثناء العمل في المخبر، لأن الإهمال يمكن أن يودي إلى ضرر كبير للطالب أو لزملائه المجاورين له. عندما لا يتقيد الطالب بالتعليمات واحتياطات الأمان يصبح المخبر مكاناً خطراً وعندئذ تحدث عدة حوادث مؤسفة،

على العكس يصبح المخبر مكانا أميناً إذا تقيد الطالب بالأمور التالية:

1- عند تسخين أية مادة ضمن أداة زجاجية تأكد من أنها مصنوعة من زجاج بوروسيليكات مثل Pyrex أو Kimax.

2- عند تسخين أية مادة في أنبوب زجاجي أبعد فوهته عنك وعن زملائك وسخنه والأنبوب مائل ومصدر اللهب قريب من سطح المادة المسخنة. لا تسخن أبداً قعر الأنبوب لأنه يسبب اندفاع المادة المسخنة.

3- كن حذراً أثناء سد الأواني الزجاجية كالدوارق بسدادات مطاطية ولا تحاول سدها بقوة لأن ذلك قد يودي إلى كسر الأداة الزجاجية وضياع المادة الكيميائية.

4- كن حذراً أثناء ملء الماصة بالمحاليل الكيميائية ويجب استخدام إجاصة لملء الماصة وليس عن طريق الفم كما هو مستخدم في كثير من المخابر.

5- عند استخدام المذيبات العضوية أو المواد الغازية يجب إجراء التجارب في غرفة خاصة مجهزة بجهاز لشفط الأبخرة المتطايرة.

6- يجب إبقاء مكان عملك نظيفاً، لأن بقاء جزء من الأحماض أو القلويات في مكان العمل سوف يضر بك أو بزملائك.

7- يجب الانتباه بشكل جيد عند تداول المواد الكيميائية السائلة.

8- كثير من المواد الكيميائية قابلة للاشتعال لذلك يجب عند استعمالها أن تكون بعيداً عن أي مصدر حراري.

9- لا تعمل في المخبر وحيداً لأنه في حال وقوع حادث ما يجب أن يوجد هناك من يسعفك.

10- يجب إشعال الغاز بشكل صحيح وإغلاقه عند الانتهاء من استعماله.

11- إن الطالب الذي لا يتقيد بتعليمات الأمان يشكل خطراً على نفسه وعلى زملائه أثناء عمله في المخبر ويعرض نفسه للطرد من المخبر من قبل الأستاذ المشرف.

ومع ذلك وفي حال وقوع أي حادث مثل دخول مادة كيميائية في العين أو تناثرها علي الجلد بحب غسل المكان فوراً بالماء ولعدة مرات، وإعلام الأستاذ المشرف فوراً، كما انه في حال حدوث حريق بحب استخدام مطافئ الحريق لإطفاء المادة المحترفة.

بالإضافة إلى ما سبق فعلى الطالب أن يقيد به ما يلي:

1- أن يحضر في الوقت المحدد للجلسة العملية وذلك لكي يضمن فهم الأساس النظري للتجربة العملية حيث إنه ضروري جداً لنجاح التجربة.

2- أن يرتدي ثوب أبيض (صدرية) لحماية نفسه في حال تنتثر مواد كيميائية.

3- أن يكتب تقريراً عن نتائج عمله في نهاية كل جلسة عملية.

الجلسة العملية الأولى

المحاليل المنظمة وطرائق قياس الـ pH

تحدث معظم التفاعلات الحيوية في أوساط مائية حيث يمكن أن يتغير تركيز شوارد الهيدروجين ما يوثر على ألية التفاعلات وسرعتها لذا يجب على المتعامل مع التفاعلات الحيوية أن يسيطر على تركيز شوارد الهيدروجين من أجل سلامة حدوث التفاعل الكيميائي الحيوي، وقد عبر Sorenson عن هذا التركيز بالـ pH وهو كما سبق وأن مر معنا في القسم النظري بأنه اللوغارتم السالب لتركيز شوارد الهيدروجين.

$$pH = -\log (H^+)$$

نظراً لأهمية معرفة الـ pH بالنسبة للمهتم في الكيمياء الحيوية لذلك سوف نتعرف على طرق قياسه القديمة منها والحديثة، كما سنتعرف على كيفية تحضير المحاليل المنظمة نظراً لاستخدامها كأوساط تجري ضمنها التفاعلات الحيوية.

1-1- القياس التقريبي لدرجات الـ pH بالدلائل اللونية Indicators:

يمكن أخذ فكرة عن درجة الـ pH لمحلول ما باستخدام بعض الدلال اللونية والتي هي عبارة عن مركبات عضوية يختلف لون جزيئاتها عند تشردها، أي أن لونها يختلف باختلاف درجة الـ pH. قد تكون هذه الدلائل أحماضاً ضعيفة مثل الفينول فتالين أو قواعد ضعيفة كبرتقالي الميثيل، يتشرد الفينول فنالين في الأوساط المائية إلى فينول فتالي في الأوساط المائية إلى فينول فتالين مشحون سلبياً و H^+.

فينول فتالين = فينول فتالين$^-$ + H^+

وبتطبيق معادلة هندرسن – هاسيلباخ

$$pH = pKIn + \log \frac{(\text{فينول فتالين}^-)}{(\text{فينول فتالين})}$$

وبما أن لون الحمض الضعيف فينول فتالين أصفر و مخالف للون القاعدة الموافق (الشاردة السالبة فينول فتالين) الأحمر فإن لون المحلول يعتمد على قيمة pK In وبالتالي على درجة حموضة الوسط pH.

إن أكبر تغير في لون الدليل يمكن أن يحدث عندما يكون pH المحلول قريب من قيمة اللوغارتم لثابت تشرد الدليل وبناءً عليه يتم اختيار الدليل وذلك حسب درجة الـ pH للمحلول المراد إجراء التجارب عليه. فاذا كان لدينا محلول ذو درجة pH تساوي 6 فإن قرمزي البروموكريزول أفضل دليل لهذا المحلول لأن pKIn يساوي 6.2. إن تغير لون الدليل لا

يحدث مباشرة إنما ضمن مجال محدد من قيم الـــ pH ، لذلك فان الدلائل اللونية تعطي فكرة عن درجة إلى pH وليست الدرجة المضبوطة لذلك فالدلائل اللونية تتأثر بالعوامل المؤكسدة والمرجعة والتركيز الشاردي.

وتستخدم بعض الدلائل اللونية أيضاً للدلالة على نهاية المعايرات (جدول 1-1) فعند معايرة حمض الأسيتيك بهيدروكسيد الصوديوم فإننا نستخدم الفينول فتالين لأنه عند التحول التام لحمض الأسيتيك إلى ملحه يكون الـــ pH عندئذ مساوياً لـــ 9.

الجدول (1-1): بين التغيرات اللونية ومدى الـــ pH لبعض الدلائل اللونية المهمة.

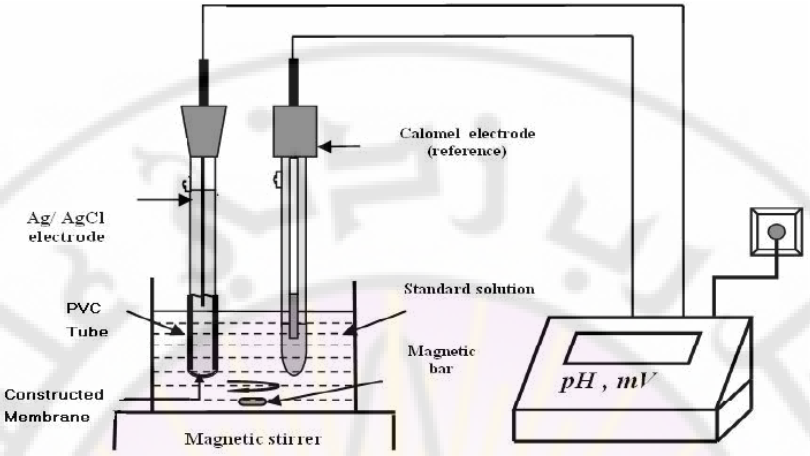
الدليل	لون الدليل في الوسط		pKa	مدى الـــ pH
	الحمضي	القلوي		
Thymol blue	أحمر	أصفر	1.7	2.8-1.2
Bromophenol blue	أصفر	أزرق	4.0	5-3
Methyl red	أحمر	أصفر	5.0	6.1-4.3
Bromocresol purple	أصفر	قرمزي	6.3	7.0-5.5
Phenol red	أصفر	أحمر	7.9	8.2-6.8
Phenol phthalein	عديم اللون	أحمر	9.7	10-8.3

1-2- القياس الدقيق لدرجات الـــ pH باستخدام pH meters:

يتم تحديد قيم pH المحاليل باستخدام أجهزة الـــ pH والتي تقيس القوة الدافعة الكهربائية Electromotive force (e. m. f.) بين قطبي الجهاز الموضوعين في المحلول المختبر، ويمكن تبسيط آلية قياس القوة الدافعة الكهربائية بالشكل (1-1).

يتكون القطب الزجاجي من أنبوب زجاجي حاو على سلك من البلاتين ومحلول ذو تركيز معلوم من شوارد الهيدروجين، فعند وضع القطب الزجاجي في السائل المراد قياس درجة الـــ pH فإن تركيز الشحنات داخل وخارج القطب سيكون مختلف مما بسبب اختلافا في الجهد بينهما ويقاس فرق الجهد لنصف خلية القطب الزجاجي بالمقارنة مع القطب القياسي، لذلك يمكن معرفة تركيز شوارد الهيدروجين داخل المحلول، وبالتالي درجة الـــ pH ويستخدم عادة قطب الكالوميل Calomel electrode كقطب قياسي، وتأتي هذه التسمية من استخدام الكالوميل (كلوريد الزئبقي Hg_2Cl_2) مع الزئبق كقطب بوجود محلول مشبع من KC1، وله فرق جهد ثابت يساوي n. 241 volt على درجة حرارة 25 مْ. فمقياس الـــ pH هو مقياس للقوة الدافعة الكهربائية (E) للخلية الكهربائية المشكلة من اتصال القطبين:

$$E = E\ ref - E\ glass$$



الشكل رقم (1–1): يبين مخطط لأية في قياس الـ pH

يوجد في أجهزة قياس الـ pH الحديثة قطب مركب Combined electrode حاو على القطبين معاً بدلاً من قطبين منفصلين في الأجهزة القديمة مما يسهل عملية قياس درجة الـ pH للمحاليل. لضمان قياس دقيق لدرجة الـ pH للمحاليل المختلفة يجب مراعاة ما يلي:

- قياس درجة حرارة المحلول، وضبط الجهاز على أساسها.
- ضبط الجهاز على درجة الـ pH=7 وذلك باستخدام محلول منظم قياسي.
- القيام بتحريك السائل المراد قياس الـ pH أثناء فترة القياس بصورة معتدلة ويستحسن أن يكون ذلك بوساطة خلاط مغناطيسيMagnetic stirrer.
- أن تكون كمية المحلول كافية وأن يكون القطب مغموراً إلى نصفه على الأقل.
- غسل القطب قبل الاستعمال بالماء المقطر وبعده مع مراعاة عدم لمسه.

1–3– المحاليل المنظمة Buffer solutions:

المحلول المنظم بالتعريف هو المحلول الذي يقاوم تغيرات الـ pH عند إضافة قاعدة أو حمض، وكما نعلم أنه في مجال الكيمياء الحيوية يجب التحكم بدرجة الـ pH وهناك العديد من المحاليل المنظمة التي تستخدم في تجارب الكيمياء الحيوية (جدول 1–2) ويتم اختيار المحلول المنظم بحسب درجة pH وسط التفاعل.

تمارس معظم الخلايا الحية نشاطها ضمن نطاق ضيق من الـ pH لذلك تحتاج لمحاليل منظمة فعالة تقاوم تغيرات الـ pH مثل البروتينات والبيكربونات والفوسفات، فعند الحيوانات تقوم البيكربونات بالفعل التنظيمي وبذلك يكون الـ pH في الخلايا الحيوانية حوالي 6.8 على درجة حرارة 37 مْ.

الجدول (1–2): بين أهم المحاليل المنظمة في مجال الكيمياء الحيوية.

الحمض والقاعدة	PHa_1	PHa_2	PKa_3
حمض الفوسفوريك	2.1	7.2	12.3
حمض الستريك	3.1	4.8	5.4
حمض الكربونيك	6.4	10.1	–
حمض الاسيتيك	4.8	–	–
غلايسيل غلايسين	3.1	8.1	–
تيرس Tris	8.3	–	–
HEPES	7.6	–	–

Tris = N – Tris = (Hydroxymethyl) aminomethane
HEPES = N-2 Hydroxyethyl piperazine -N-2-ethane sulphonate

1–4– منحنيات التعادل Titration Curves :

ينتج منحنى التعادل عند معايرة حمض مع قاعدة حيث أن قيم الـ pH تتغير مع تقدم عملية المعايرة وينتج لدينا منحني بياني هو منحنى التعادل. تختلف منحنيات التعادل من حمض لآخر ومن قاعدة لأخرى وخاصة بين الأحماض الضعيفة مع قاعدة قوية والأحماض القوية مع قاعدة قوية.

تطبيق عملي:

لديك 10 مل من حمض HCl 0.1 مولر أجر لها معايرة بوساطة هيدروكسيد الصوديوم 0.1 مولر بوجود الفينول فتالين، قم بقياس الـ pH بعد كل إضافة مقدارها (1) مل من القاعدة، قم بمعايرة (10) مل حمض الاسيتيك 0.1 مولر بوساطة القاعدة السابقة والمطلوب:

1– رسم كل من منحني التعادل.

2– هل هناك اختلاف بين المنحنيين أم لا، علل ذلك.

الجلسة العملية الثانية

اختبارات الكربوهيدرات

2-1- مقدمة:

يمكن تقسيم أهم السكريات المنتشرة في الطبيعة إلى ثلاثة أقسام هي السكريات الأحادية والثنائية والعديدة. فالسكريات الأحادية لا يمكن تحليلها إلى مركبات أبسط منها أما الثنائية فينتج عنها بالتحلل المائي جزيئين من السكريات الأحادية، بينما تعطي السكريات العديدة حتى عدة آلاف من السكريات البسيطة. وفيما يلي تصنيف لاهم السكريات:

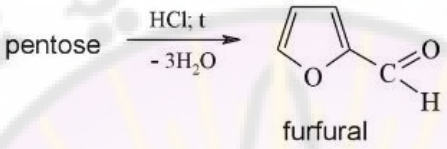
الاسم	ناتج التحلل المائي
سكريات أحادية	
- خماسية	آرابينوز
	رايبوز
	زايلور
- سداسية	غلوكوز
	غالاكتوز
	فركتوز
- سكريات ثنائية	مالتور غلوكوز (2 جريء)
	لاكتوز غلوكوز + غالاكتوز
	سكروز غلوكوز + فركتوز
- سكريات عديدة	نشاء غلوكوز
	سللوز غلوكوز

من الأمور المهمة في تحارب الكيمياء هو اختبارات التعرف على المواد المختلفة، ففي الكيمياء الحيوية تعد مشكلة التعرف على المواد المختبرة معقدة بسبب اعتماد تفاعلات الكشف عن هذه المواد على خواص المجموعات الوظيفية، وباعتبار المواد الحاوية على المجموعات الوظيفية نفسها تعطي نتيجة موجبة مع الاختبار لذلك ندعوها بالاختبارات العامة. ومع ذلك هناك سلسلة من التفاعلات التي يمكن أن تكون خاصة بمادة عضوية ما تساعد في الكشف عنها، ونادراً ما يكون الكشف بهذه الطريقة سليما لذلك نتبع عادة اختبارات الكشف الأولية بعد عدة عمليات وهي فصل المادة الأولية وتنقيتها بوساطة أجهزة الكروماتوغرافيا المختلفة.

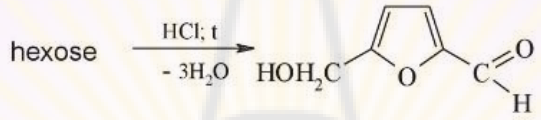
هناك بالنسبة للكربوهيدرات تفاعلات كشف عامة، وهناك اختبارات أخرى خاصة بالسكريات المختلفة وسنقوم باستعراض أهمها:

2-2- الاختبارات العامة للكربوهيدرات:

هي مجموعة الاختبارات المستخدمة للكشف عن المواد الكربوهيدراتية وتعتمد في مجملها على وجود محاليل حمضية مركزة وقوية تقوم بتحلل السكريات العديدة أو التفاعل مع السكريات الأحادية والثنائية لإنتاج الفورفورال أو هيدروكسي ميثيل فورفورال التي يمكن الكشف عنها فيما بعد.



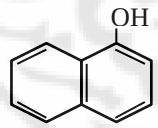
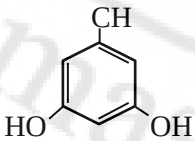
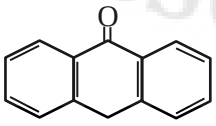
furfural



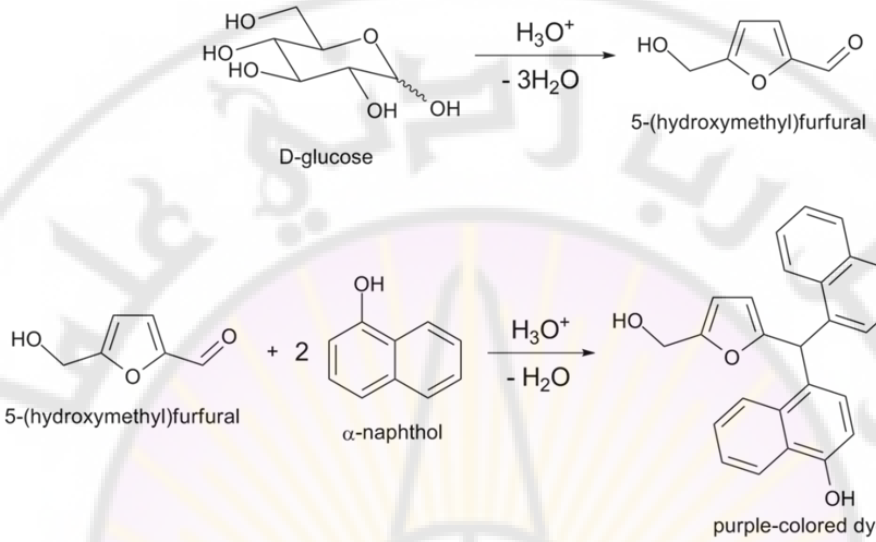
5-hydroxymethylfurfural

يمكن للفورفورال وهيدروكسي ميثيل فورفورال أن يتكاثف مع بعض المركبات الفينولية مثل ألفا- نافتول والاورسينول والانثرون ليعطي مركبات ذات خاصة بكل واحد منها وتدل على وجود الكربوهيدرات (الجدول رقم 2-1) .

الجدول رقم (2-1): يبين اختبارات الكربوهيدرات التي يستخدم فيها المركبات الفينولية

اسم الاختبار	المركب الفينولي المستخدم	الصيغة
اختبار موليش	الفا- نافتول α - Naphthol	
اختبار بيال	اورسينول Orcinol	
اختبار الانثرون	الانثرون Anthrone	

2-2-1- اختبار موليش Molisch's test:



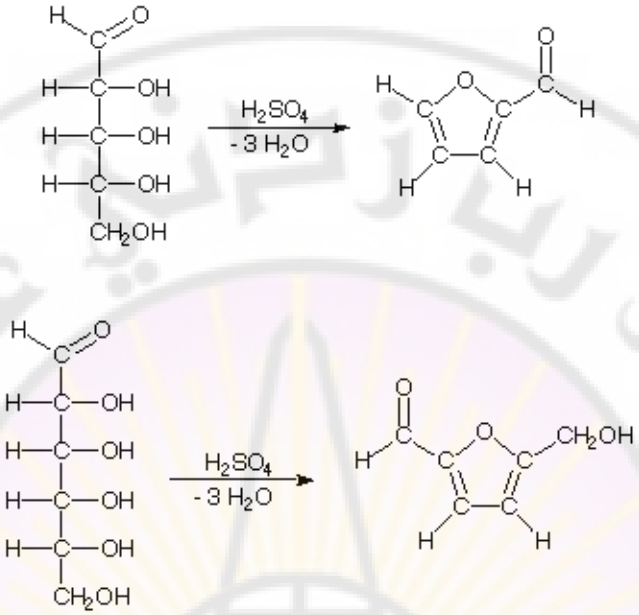
مبدأ التجربة:

بقوم حمض الكبريت المركز بتحويل الكربوهيدرات إلى فورفورال أو مشتقه الذي يتفاعل مع المركب ألفا-نافتول ليعطي مركباً ذا لون بنفسجي يدل على وجود الكربوهيدرات.

فالسكريات الخماسية تعطي الفورفورال، بينما تعطي السكريات السداسية 5-هيكروكسي ميتيل فورفورال.

المواد اللازمة:

- محلول 1% من السكريات المختلفة (غلوكوز، فركتوز، غالاكتوز، رايبوز، زايلوز، نشاء، سكروز، مالتوز، لاكتوز وماء مقطر كشاهد).
- كاشف موليش: يحضر بإذابة (5) غ من ألفا- نافتول في كمية من الكحول الإيتيلي النقي ويكمل الحجم إلى (100) مل بنفس الكحول.
- حمض الكبريت المركز.



طريقة العمل:

أضف إلى 2 مل من المجهول المراد اختباره ، نقطتان من كاشف موليش المحضر حديثاً وامزجهما بشكل جيد بوساطة الرج، ضع الأنبوب بشكل مائل واضف حوالي (3) مل من حمض الكبريت المركز على جدار أنبوب الاختبار ببطء. يكون حمض الكبريت طبقة في أسفل الأنبوب ويجب الاحتراس وعدم مزج الطبقتين حيث يتكون في منطقة التقاء الطبقتين حلقة ملونة بنفسجية إلى بنفسجية محمره، يختلف زمن ظهور الحلقة الملونة من سكر لأخر فقد يكون ظهورها فورياً قد يحتاج لبضع دقائق.

– لاحظ تفاوت زمن ظهور الحلقة البنفسجية بين السكريات المختلفة علام يدل ذلك.

– إذا لم تكن إضافة الحمض صحيحة لا تظهر حلقة ولكن يظهر المحلول كله باللون البنفسجي.

–يتكون حمض الكبريت بالأخضر لأنه يذيب شوائب ألفا–نافتول.

2–2–2– تفاعل الانثرون The Anthrone reaction

مبدأ التجربة:

يعد تفاعل الانثرون من الاختبارات العامة للكربوهيدرات، حيث يتفاعل الفورفورال أو هيدروكسي ميثيل فورفورال الناتج عن تأثير الحمض القوي مع الانثرون ليعطي مركباً ذا لون أزرق مخضر دالاً بذلك على وجود مادة كربوهيدراتية.

المواد اللازمة:

- محلول كربوهيدراتي 1% بالإضافة إلى شاهد (ماء مقطر مثلاً)
- كاشف الانثرون (10-Keto-9, 10-dihydro anthracene) والذي يحضر بإذابة (0.2 غ) مع قليل من حمض الكبريت المركز ويكمل الحجم إلى (100) مل.

طريقة العمل:

أضف (5) نقاط من المحلول المراد اختباره إلى (2) مل من كاشف الانثرون وامزجهما ولاحظ ظهور اللون الأخضر المزرق الذي يدل على وجود الكربوهيدرات. يختلف اللون الناتج وكذلك زمن ظهوره وذلك من سكر لأخر.

ملاحظة: يستخدم أحياناً تفاعل بيال Bial's test في الكشف عن الكربوهيدرات حيث إن الفورفورال أو مشتقه يتفاعل مع الاورسينول بوجود $FeCl_3$، ولكن هذا التفاعل يستخدم بشكل أكبر للتمييز بين السكريات الخماسية والسداسية.

2-3- اختبارات السكريات المرجعة للمعادن:

2-3-1- اختبار فهلنغ Fehling's test :

مبدأ التجربة:

يعتمد هذا التفاعل على إرجاع السكريات الالدهيدية أو الكيتونية لشوارد النحاس في وسط قلوي محولة إياها إلى شوارد نحاسي، فكبريتات النحاس $CaSO_4$ الموجودة في وسط قلوي تتحول إلى هيدروكسيد نحاسي ذي اللون الأزرق $Cu(OH)_2$

$$CuSO_4 + 2NaOH \rightarrow Cu(OH)_2 + Na_2SO_4$$

وعند الغليان يرجع السكر شوارد النحاس إلى شوارد نحاسي وبالتالي يترسب أوكسيد النحاسي الأحمر Cu_2O، أما الغلوكوز فيتحول بالأكسدة إلى حمض الجلوكونيك وفق ما يلي:

$$\underline{CH_2OH - (CHOH)_4 - CHO} \rightarrow 2Cu(OH)_2 \rightarrow CH_2OH - (CHOH)_4 - COOH + Cu_2O + 2H_2O$$

D-glucose

أوكسيد النحاس (راسب أحمر)

Gluconic Acid

تقوم طرطرات الصوديوم والبوتاسيوم المضافة إلى التفاعل بربط الفائض من هيدروكسيد النحاس لكي لا يتشكل راسب أسود من Cuo ما يؤثر على لون الناتج ذي اللون الأحمر.

المواد اللازمة:

- محاليل سكرية 1%.

- محلول فلهنغ A ويحضر من حل 34.64 غ من كبريتات النحاس المائية النقية في الماء المقطر وإكمال الحجم إلى 500 سم^3.
- محلول فهلنغ B ويحضر بإذابة 120 غرام من KOH و 173 غ من طرطرات الصوديوم والبوتاسيوم (ملح روشيل) في الماء المقطر وإكمال الحجم إلى 500 سم^3.
- يحضر كاشف فهلنغ مباشرة قبل الاستعمال بمزج كميات متساوية من محلول كبريتات النحاس مع المحلول القلوي لطرطرات الصوديوم والبوتاسيوم.

طريقة العمل:

امزج 2 مل من كاشف فهلنغ مع 1 مل من المحلول السكري المراد اختباره، ضع الأنابيب في حمام مائي بدرجة الغليان لمدة عشر دقائق، لاحظ التفاعل الحاصل وسجل ملاحظاتك.

2-3-2- اختبار بندكت Benedict's test:

مبدأ التجربة:

بوساطة هذه التجربة نستطيع تقسيم الكربوهيدرات إلى قسمين مختزلة وغير مختزلة، حيث تحتوي السكريات المختزلة على مجموعات وظيفية ألدهيدية أو كيتونية حرة تقوم بإرجاع شوارد النحاس إلى نحاس وتتحول السكريات إلى أحماض سكرية مناظرة، فالغلوكوز مثلاً يتحول إلى حمض غلوكونيك تتم عملية اختزال شاردة النحاس (C^{++}) في وسط قلوي فتكون سريعة وينتج عن ذلك راسب قرميدي هو أوكسيد النحاسي (Cu_2O). كما نلاحظ أن مبدأ اختبار بندكت هو مبدأ اختبار فهلنغ نفسه ولكنه أكثر دقة حيث إن لاختبار بندكت كاشف واحد وليس اثنان كما في اختبار فهلنغ.

$$CH_2OH\text{-}(CHOH)_4\ CH0 + Cu(OH)_2 \rightarrow CH_2OH\text{-}(CHOH)_4\ COOH + Cu_2O + 2H_2O$$

غلوكوز حمض غلوكونيك راسب

المواد اللازمة:

- محلول سكري 1%.
- كاشف بندكت والذي يحضر بإذابة 173 غ من سترات الصوديوم و100غ من كربونات الصوديوم اللامائية في حوالي 800 مل ماء مقطر ساخن، ثم يرشح المحلول ويكمل إلى 850 مل بالماء المقطر. يذاب 17.3 غ من كبريتات النحاس في حوالي 100 مل ماء مقطر ويكمل إلى 150 مل بالماء، أضف المحلول الأول إلى المحلول الثاني مع التحريك.

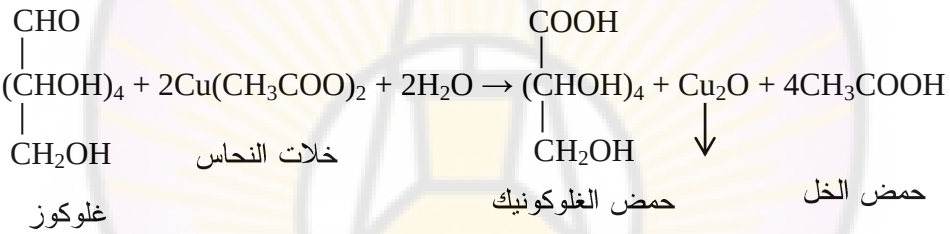
طريقة العمل:

أضف (5) نقاط من المجهول المراد كشفه إلى (2) مل من كاشف بندكت وضع أنبوب الاختبار في حمام مائي في حالة غليان لمدة خمس دقائق تقريباً. برد المحلول ولاحظ تكون راسب أصفر محمر في حال كون السكر مختزل.

2-3-3- اختبار بارفوئد Barfoed's test:

مبدأ التجربة:

إن الحمض المستخدم في كاشف بارفوئد هو حمض الأسيتيك الضعيف. لذلك فإن السكريات الأحادية فقط هي القادرة على القيام بعملية إرجاع سريعة لشوارد النحاس ويستفاد من ذلك للتفريق بين السكريات الأحادية والثنائية. لكن التسخين الطويل للسكريات الثنائية يودي إلى تفككها إلى سكريات أحادية وتعطي نتيجة إيجابية لذلك يجب الانتباه لفترة التسخين.



المواد اللازمة:

- محاليل سكرية تركيز 1% بالإضافة لشاهد أو أكثر.
- كاشف بارفوئد الذي يحضر بإذابة 13.3غ من خلات النحاس في حوالي 200 مل ماء مقطر ويضاف إليه 1.8غ من حمض الخل الثلجي.

طريقة العمل:

أضف (1) مل من المحلول المراد اختباره إلى (2) مل من كاشف بارفوئد. اغل المزيج بعد رجه لمدة دقيقة ولاحظ تكون راسب أصفر محمر. استمر في غلي الأنابيب التي لم يتكون فيها راسب لمدة 20 دقيقة وسجل زمن تكون الراسب في حال تكونه، ماذا تستنتج من ذلك.

2-3-4- اختبار تولز Tollen's Test:

مبدأ التجربة:

يعتمد اختبار تولنز على الخاصية الإرجاعية للسكر، حيث تقوم مجموعة الكربونيل بإرجاع شاردة الفضة النشادرية المعقدة وتحولها إلى فضة معدنية وتترسب على شكل مرآة، أما جزيء السكر (الغلوكوز مثلاً) فيتحول إلى حمض الغلوكونيك

$$CH_2OH\text{-}(CHOH)_4\text{-}CHo + 2AgOH \xrightarrow{NH_4OH} CH_2OH\text{-}(CHOH)_4\text{-}COOH + 2Ag\downarrow + H_2O$$

غلوكوز حمض الغلوكونيك فضة معدنية

المواد اللازمة:

- محاليل سكرية 1% و 2%
- محلول نترات الفضة 5%.
- محلول هيدروكسيد الأمونيوم 10%

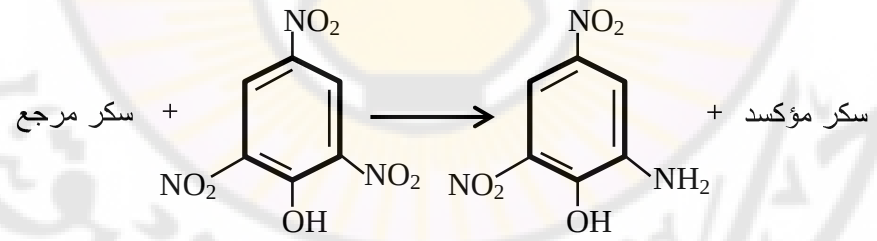
طريقة العمل:

خذ 2 مل من محلول سكري وأضف إليه 1 مل من نترات الفضة ثم أضف إليه عدة قطرات من هيدروكسيد الأمونيوم فيتشكل راسب أبيض في البداية ثم ينحل بزيادة هيدوكسيد الأمونيوم. سخن لمدة 10 دقائق في حمام مائي يغلي، لاحظ تشكل مرآة على جدران الأنبوب لترسب معدن الفضة عليها. لا يعطي السكروز نتيجة إيجابية.

2-3-5- اختبار حمض البكريك Pecric Acid test:

مبدأ التجربة:

يعد هذا الاختبار من اختبارات السكريات المرجعة، ويعتمد على إرجاع حمض البكريك من قبل السكريات وتحوله إلى حمض البكراميك ذو اللون المحمر وفقاً للتفاعل التالي:



المواد اللازمة:

- محاليل سكرية 2%
- محلول مشبع من حمض البكريك.
- محلول كربونات الصوديوم 10%

طريقة العمل:

خذ 3 مل من المحاليل السكرية (غلولوز، فركتوز، ولاكتوز، سكروز) وأضف إليها 1.5 مل حمض بكريك و 0.5 مل من كربونات الصوديوم ضع الأنابيب بعد الرج في حمام مائي يغلي، لاحظ تلون المحاليل باللون المحمر بعد بضع دقائق عدا السكروز، فسر وسجل النتائج.

2-4- الاختبارات المتعلقة بنوع واحد من السكريات:

2-4-1- اختبار بيال Bial's test for pentoses:

مبدأ التجربة:

عند تسخين السكريات الخماسية بوجود HCℓ المركز، فإن الفورفورال المتكون يتحد مع الاورسينول بوجود شوارد الحديديك ليعطي مركباً أخضر مزرق، لكن التسخين الطويل للسكريات السداسية يعطي هيدروكسي ميثيل فورفورال الذي يتفاعل مع الأورسينول ليعطي مركباً ملوناً أيضاً.

المواد اللازمة:

- محاليل سكرية تركيز 1% وشاهد (سكر غير خماسي).
- كاشف بيال الذي يتكون بإذابة 1.5 غ من الأورسينول في (500) مل من HCℓ وإضافة (20) نقطة من محلول كلور الحديدي. $FeCl_3$ تركيز 100 غ/لتر.

يجب حفظ الكاشف بزجاجة عاتمة لمنع تأثير الضوء عليه.

طريقة العمل:

أضف حوالي (1) مل من المحلول المختبر إلى 2.5 مل من كاشف بيال، لاحظ تكون اللون الأخضر المزرق في حال كون السكر خماسي، قارن ذلك مع الشاهد وسجل ملاحظاتك.

2-4-2- اختبار خلات الأنيلين للبنتوزات Aniline Acetate test for Pentoses

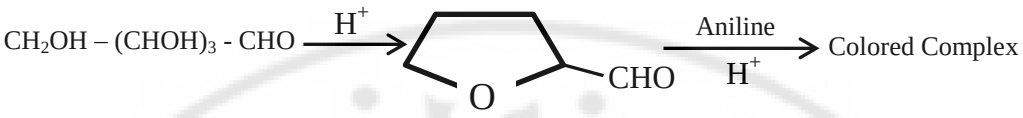
مبدأ التجربة:

تتحول السكريات الخماسية تحت تأثير حمض الهيدروكلوريك المركز HCℓ إلى فورفورال الذي يتفاعل مع خلات الأنيلين وينتج معقداً ذا لون أحمر كرزياً، ولا تتم إضافة الخلات مباشرة إنما توضع على فوهة الأنبوب ورقة مبللة بهذه المادة حيث يتصاعد الفورفورال وتتلون الورقة باللون الأحمر الكرزي.

أما الهديروكسي ميثيل فورفوال الذي تعطيه السكريات السداسية فهو أقل تطايراً من الفورفورال لذلك يعد هذا الاختبار خاصاً بالسكريات الخماسية.

المواد اللازمة:

- محلول سكر خماسي وشاهد أو أكثر (سكر غير خماسي).
- كاشف خلات الأنيلين ويحضر بمزج (70) مل من حمض الخل الثلجي مع (170) مل ماء ويضاف إلى المزيج (100) مل انيلين.
- حمض هيدروكلوريك مركز.



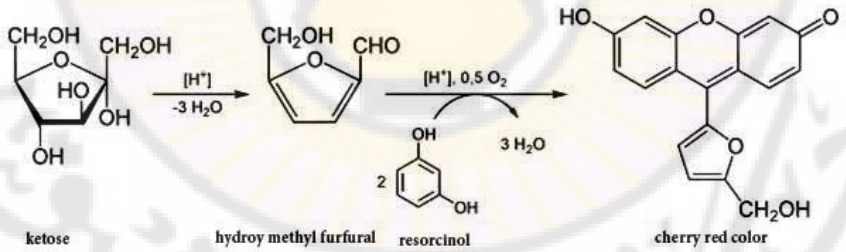
طريقة العمل:

يضاف (1) مل من حمض الهيدروكلوريك المركز إلى (1) مل من المحلول المختبر ويسخن المزيج في حمام مائي ويوضع على فوهة أنبوب الاختبار ورقة مبللة بخلات الأنيلين. استمر في الغليان ولاحظ تغير لون السائل في أنبوب الاختبار الذي سيرافقه تغير في لون الورقة المبللة بالخلات، سجل ملاحظاتك وقارن ذلك مع الشاهد.

2-4-3- اختبار سيليفانوف للكيتوزات Seliwanooff's test for Ketoses

مبدأ التجربة:

يتفاعل حمض الهيدروكلوريك المركز الموجود في كاشف سيليفانوف مع الكيتوزات بسرعة ليعطي هيدروكسي ميثيل فورفورال الذي يتفاعل مع الريزورسينول ليعطي مركباً ذا لون أحمر. تعطي السكريات الألدهيدية بوجود HCℓ هيدروكسي ميثيل فورفورال أيضاً ولكن ببطء لذلك نستفيد من الفرق في سرعة تكون اللون الأحمر التمييز بين السكريات الكيتونية والألدهيدية.



المواد اللازمة:

- محلول سكر كيتوني 1% وشاهد أو أكثر (سكر الدهيدي).
- كاشف سيليفانوف الذي يحضر بإذابة 0.5 غ من الريزورسينول (m- Resorcinol dihydroxybenzene) في لتر من Hcl الممدد (1/3 HC1 + 2/3 ماء).

طريقة العمل:

أضف نقطتين من المحلول السكري إلى (2) مل من كاشف سليفانوف ثم سخن الأنبوب في حمام مائي في حالة غليان لمدة دقيقة، لاحظ ظهور اللون الأحمر في عينه السكر الكيتوني، قارن ذلك مع الشاهد وسجل ملاحظاتك.

2-4-4- اختبار كبريتات الكوبالت للسكروز Cobalt Sulphate test for Sucrose

مبدأ التجربة:

يستخدم هذا التفاعل لتمييز السكروز عن باقي السكريات بما فيها الثنائية حيث إن كبريتات الكوبالت تكون مع السكروز لوناً بنفسجياً في الوسط القلوي.

المواد اللازمة :

- محاليل سكريات ثنائية بتركيز1%.
- محلول كبريتات الكوبالت $COSO_4$ بتركيز 2%.
- محلول هيدروكسيد الصوديوم أو البوتاسيوم بتركيز 5%.

طريقة العمل:

أضف (1) مل من المحلول القلوي إلى (2) مل من محلول السكروز، ثم أضف عدة نقاط من محلول كبريتات الكوبالت، لاحظ ظهور اللون البنفسجي. أما عند استخدام محاليل سكرية أخرى فلا يظهر هذا اللون.

2-4-5- اختبار اليود Iodine test

مبدأ التجربة:

يكون اليود مع السكريات العديدة كالنشاء والدكسترينات معقدات ملونة، فيعطي لوناً أزرق مع النشاء بينما يعطي لوناً بنياً محمراً مع الغليكوجين والنشاء المتحلل جزئياً، لذلك نستطيع تمييز النشاء عن باقي السكريات العديدة حيث يتكون اللون الأزرق بعد أن تتحد شوارد اليود مع سلاسل الاميلوز ويزول اللون عند تسخين محلول النشاء ليعود عند تبريده.

المواد اللازمة:

- محلول يود يحضر بإذابة (1) غ يود في (200) مل من محلول يوديد البوتاسيوم 1%.
- محلول نشاء 1% ومحاليل غليكوجين واينولين.

طريقة العمل:

أضف (2) مل من المحلول المختبر نقطتين من محلول اليود، رج المزيج جيداً. يمكن ملاحظة ظهور اللون الأزرق في حالة النشاء والذي يزول بالتسخين ويعود للظهور بالتبريد. يعطي محلول اليود لوناً بنياً مع الغليكوجين والدكسترينات.

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

الجلسة العملية الثالثة

اختبارات التخمر والأوسازونات للكربوهيدرات

3-1-اختبار التخمر Fermentation test:

مبدأ التجربة :

تقوم الخمائر والكائنات الحية الأخرى (بكتيريا، فطريات) بتفكيك السكريات والاستفادة من الطاقة المنطلقة عنها، إن أكثر أنواع التخمرات شيوعاً هو التخمر الكحولي حيث ينتج عنه الكحول الإيتيلي وغاز ثاني أوكسيد الكربون.

$$C_6H_{12}O_6 \xrightarrow{\text{خميرة}} 2C_2H_5OH + 2CO_2$$

يستفاد من اختبار التخمر في التمييز بين السكريات سريعة التخمر بوساطة الخميرة كالغلوكوز والسكروز والمالتوز وبطيئة التخمر كالغالاكتوز واللاكتوز والمانوز، يستدل على حدوث عملية التخمر من خلال انطلاق فقاعات غاز CO_2.

المواد اللازمة:

- محلول سكري (غلوكوز) وشاهد (غالاكتوز مثلاً).
- خميرة الخبز Saccharomyces cerviciae.
- أنبوب تخمر (إن وجد).

طريقة العمل:

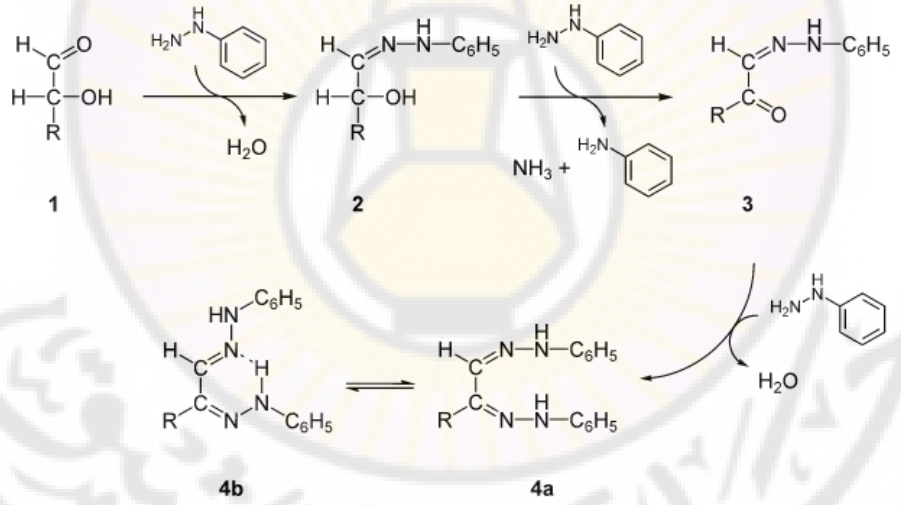
أذب (2غ) من السكر المراد اختباره في (40 مل) ماء وأضف إليه (2 مل) من محلول خميرة محضر حديثاً (أو قطعة صغيرة من الخميرة) ثم امزجه جيداً واملأ أنبوب التخمر وضعه في حاضنة على درجة حرارة (37 مْ) لاحظ انطلاق غاز CO_2 وسجل حجمه كل ربع ساعة لمدة ثلاث ساعات، في حال عدم توفر أنابيب تخمر، املأ أنبوب اختبار بشكل كامل وأغلقه بأصبعك وضعه في بيشر حاو على بقية المحلول وذلك بشكل مقلوب وبحيث لا تنقص كمية السائل في الأنبوب، راقب ظهور الفقاعات الغازية. لاحظ أن استخدام اللاكتوز لا يتخمر والسبب في ذلك أن خلايا الخميرة لا تحتوي أنزيم اللاكتاز الذي يقطع الرابطة بين مكوني اللاكتوز (غلوكوز، غالاكتوز)

3-2- اختبار الأوسازون Osazone test:



مبدأ التجربة:

تتفاعل المركبات الحاوية على مجموعة -C(=O)-CHOHC- مع الفينيل هيدرازين لتعطي أوسازونات بللورية المظهر. تختلف بللورات الأوسازونات فيما بينها من حيث الشكل ونقطة الذوبان، لذلك يمكن استخدام هذه الخواص في الكشف عن السك ريات المختزلة والتمييز بينها، كما تسهم معرفة الزمن اللازم لتكون بللورات الأوسازون في تحديد نوع السكر. يتم تكوين الأوسازون عند اتحاد جزيء الفينيل من الفينيل هيدرازين مع مجموعة الكربونيل للسكر فينتج الفينيل هيدرازون الذي يتفاعل بدوره مع جزيء أخر من الفينيل هيدرازين ليعطي الأوسازون ويمكن تلخيص ذلك بالمعادلات التالية:



يعطي كل من الغلوكوز والفركتوز والمانوز نفس الاوسازون ويسمى الاوسازون بحسب اسم السكر الجلوكوسازون والمالتوسازون والفركتوسازون.

المواد والأدوات اللازمة:

- محاليل سكرية 1%.
- فينيل هيدرازين هيدروكلوريد (C_6H_5-NH – NH_2 – HCl)
- خلات الصوديوم
- مجهر ضوئي

طريقة العمل:

يتم تحضير كاشف الأوسازون بخلط وزنين من الفينيل هيدرازين هيدروكلوريد مع ثلاثة أوزان من خلات الصوديوم اللامائية ويمزج الخليط بشكل جيد. أما الفينيل هيدرازين هيدروكلوريد فيحضر بخلط وزن واحد من الفينيل هيدرازين مع وزن أخر من HCℓ.

خذ (2 مل) من المحلول السكري المختبر واضف إليه ما يعادل نصف حجمه من كاشف الأوسازون المحضر حديثاً ثم امزجهما بشكل جيد وسخن المزيج في حمام مائي لمدة تزيد عن (20) دقيقة. إن تحديد زمن تشكل الأوسازون أساسي في عملية التمييز بين السكريات فالفركتوز والمانور والغلوكوز تشكل اوسازونات خلال الدقائق الخمس الأولى بينما يحتاج الزايلوز والارابينوز إلى حوالي (8) دقائق والغالاكتوز الى (20) دقيقة، أما بللورات الأوسازون للمالتوز واللاكتوز فلا تظهر إلا بعد التبريد. سجل ملاحظاتك حول تكون الأوسازونات وخذ جزء من بلورات الأوسازون وافحصها تحت المجهر، ارسم أشكال هذه البللورات.



3-3- نتائج اختبارات الكربوهيدرات:

من المفضل تسجيل نتائج اختبارات الكربوهيدرات في جدول عام، فعندما تكون نتيجة الاختبار موجبة يرمز لها بإشارة موجب (+) وعندما تكون نتيجة الاختبار سالبة يرمز لها بإشارة (-) والجدول رقم (2-2) مخصص لتسجيل نتائج اختبارات الكربوهيدرات، كما أن هناك فراغ مخصص لرسم أشكال بللورات الأوسازونات.

- - - - - - - - - -	- - - - - - - - - -	- - - - - - - - - -
- - - - - - - - - -	- - - - - - - - - -	- - - - - - - - - -

أشكال الأوسازونات

الجدول رقم (2-2): نتائج اختبارات الكربوهيدرات

الاختبار / المادة	موليش أو الأنترون	بندكت	بارفوئد	بيال أو خلات الأنيلين	كبريتات الكوبالت	سيليفانوف	اليود	التخمر	الأوسازون
نشاء									
سكروز									
غلوكوز									
غالاكتوز									
مانوز									
زايلوز									
لاكتوز									
مالتوز									
فركتوز									
مجهول									

3-4- مخطط الكشف عن مجهول كربوهيدراتي:

مادة كربوهيدراتية مجهولة

(اختبار موليش أو الأنثرون +)

اختبار اليود

(-)	(-)	(+)
لون بني غليكوجين، دكسترين	عديم اللون سكر أحادي أو ثنائي	لون أزرق نشاء

اختبار بندكت

(+)	(-)
سكر مختزل	سكر غير مختزل (سكروز) موجب باختبار كبريتات الكوبالت

اختبار بارفوئد

(+)	(-)
سكر أحادي	سكر ثنائي (لاكتوز، مالتوز) يجري اختبار الأوسازون والتخمر للتمييز بينهما

اختبار خلات الأنيلين

أو بيال

(+)	(-)
سكر خماسي يحدد بوساطة الأوسازون	سكر سداسي

اختبار سيليفانوف

(+)	(-)
كيتوهكسوز (فركتوز) للتأكد يجري اختبار الأوسازون	الدوهكسوز (غلوكوز، غالاكتوز) للتمييز يجري اختبار الاوسازون والتخمر حيث الغلوكوز (+) فقط

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

الجلسة العملية الرابعة

اختبارات الليبيدات

تتضمن اختبارات الليبيدات اختبارات وصفية كالذوبان ودرجة الإشباع والكشف عن الكولسترول والغليسيرول بالإضافة إلى اختبارات كمية تشمل تقدير الرقم اليودي ورقم التصبن والرقم الحمضي ونسبة الكولسترول، وسنقوم أيضاً بإجراء فصل الليبيدات من احدى المواد البيولوجية (بذور القطن، بذور الفول السوداني...الخ) لكي يتعرف الطالب على مراحل فصل وتنقية الليبيدات.

4-1- اختبارات الذوبان Solubility of lipids

مبدأ التجربة:

تذوب معظم الليبيدات في المذيبات العضوية الكحول والايثير والكلوروفورم ولكن غالبيتها لا تذوب بالماء، كما أن بعضها لا يذوب في الاسيتون كالفوسفوليبيدات. وعلى الرغم من عدم دقة اختبار الذوبان إلا أنه يستخدم بشكل ثانوي لتمييز الليبيدات عن المركبات البيولوجية الأخرى.

المواد اللازمة:

- زيت نباتي، سمن حيواني، جليسرول، حمض أوليك، حمض سيتاريك، فوسفوليبيد (من صفار البيض)، حمض بيونيريك.
- كلورفورم، كحول ايتيلي، اسيتون.
- يمكن تحضير الليسيثين من صفار البيض المخفوق والمرشح بوساطة قطعة قماشية، حيث يضاف له الايثانول الساخن بضعفي حجمه ويرشح ثانية لنحصل عليه في الرشاحة.

طريقة العمل:

خذ حوالي (2 مل) من المذيب في أنبوب اختبار وأضف إليه نقطتين من الليبيد السائل، أما إذا كانت المادة الليبيدية صلبة خذ عندئذ كمية قليلة منها (حوالي 0.2 غ). رج محتويات الأنبوب بشكل جيد وسجل النتيجة في الجدول التالي (ذواب، ضعيف الذوبان، غير ذواب).

الليبيد	المذيب			
	ماء	كلوروفورم	كحول ايتيلي	اسيتون
زيت نباتي				
سمن حيواني				
فوسفوليبيد				
حمض سيتاريك				
حمض اولييك				
حمض بيوتيريك				

4-2- اختبار الاستحلاب: Emulsifications test:

مبدأ التجربة:

يمكن تعريف الاستحلاب بأنه انتشار أحد السائلين في السائل الآخر. ونقول عن المستحلب بأنه جملة غير متجانسة مكونة من طورين، إن أبعاد الطور المنتشر أكبر من جسيمات الأجسام الغروية، عند خلط الزيت بالماء يتشكل مستحلب مبيض ولكنه لا يلبث أن ينفصل الزيت عن الماء، إن إضافة مادة مستحلبة إلى مخلوط الزيت والماء يكون مستحلب يدوم طويلاً دون أن ينفصل. تعد الصموغ والصابون والبروتينات وكربونات الصوديوم وأملاح الصفراء مواد مستحلبة.

المواد اللازمة:

- زيت زيتون.
- كربونات صوديوم (محلول)
- ليستين (معلق)

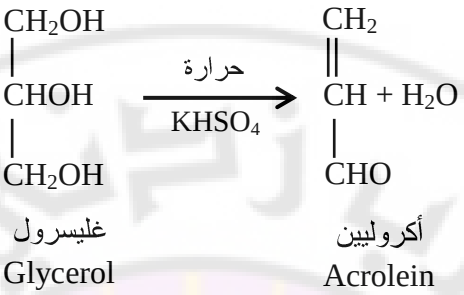
طريقة العمل:

خذ ثلاثة أنابيب وأضف إلى كل منها 10 مل ماء وثلاث نقاط من زيت الزيتون، ثم أضف إلى الأنبوب الأول 3 نقاط من محلول كربونات صوديوم وإلى الأنبوب الثاني 3 نقاط معلق الليسين أما الثالث فيترك شاهد (بدون إضافة) خض الأنابيب ثم قارن بينها وسجل نتائجك.

4-3- اختبار الغليسيرول Test for Glycerol:

مبدأ التجربة:

عند تسخين الغليسيرول أو الليبيدات الحاوية عليه بوجود كبريتات البوتاسيوم الحامضية $KHSO_4$ التي تنزع الماء منه ينتج ألدهيد ذا رائحة خاصة يدعى الاكرولين ويمكن توضيح ذلك بالمعادلة التالية:



المواد اللازمة:

- زيت زيتون، حمض سيتاريك، غليسرول، زيت معدني.
- كبريتات البوتاسيوم الحامضية.

طريقة العمل:

ضع في أنبوب اختبار بللورات من كبريتات البوتاسيوم الحامضية بحيث تكون سماكتها بمقدار 0.5 سم وأضف إلى ذلك خمس نقاط من المادة المختبرة وسخن المحتويات بعناية، في حال وجود الغليسيرول ضمن المادة المختبرة يمكن شم رائحة الاكرولين المنطلق. أعد التجربة باستخدام المواد الأخرى التي سبق ذكرها وسجل نتائجك وملاحظاتك في الجدول الخاص بذلك والموجود في نهاية الفصل.

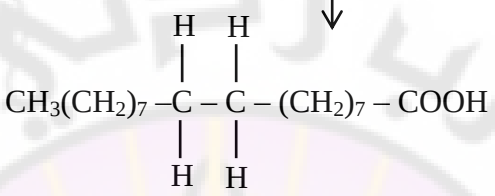
4-4- اختبار الروابط غير المشبعة Test for unsaturation

مبدأ التجربة:

إن معظم الأحماض الدهنية الموجودة في الدهون الحيوانية هي من النوع المشبع أما تلك التي توجد في الليبيدات النباتية فهي على الأغلب غير مشبعة. يمكن بوساطة هدرجة الزيوت النباتية أن تتحول من الحالة السائلة إلى الصلبة، كما تستطيع الهالوجينات إشباع الروابط غير المشبعة. نستطيع الاستدلال على وجود الأحماض الدهنية غير المشبعة في الزيوت والدهون عندما تزيل هذه المواد لون محلول البروم أو اليود، وتوضح المعادلة التالية عملية إشباع الروابط بالبروم:

$$CH_3(CH_2)_7\,CH = CH(CH_2)_7\,COOH + Br_2$$

أولييك Oleic acid



حمض ثنائي بروموسيتاريك 9-10 dibromo stearic acid

المواد اللازمة:

- زيت زيتون، حمض اولييك، حمض سيتاريك.
- بروم في رابع كلوريد الكربون.

طريقة العمل:

خذ ثلاثة أنابيب اختبار وضع في الأول قليلاً من زيت الزيتون وفي الثاني حمض أولييك وفي الثالث حمض سيتاريك، أضف بعد ذلك نقطة من البروم في رابع كلوريد الكربون إلى كل أنبوب ورج الأنابيب، حتى يختفي لون البروم؟ كرر الإضافة إلى الأنابيب التي اختفى فيها اللون. قارن بين قدرة المواد على إزالة لون البروم وعلل ذلك وسجل نتائجك.

4-5-اختبار ليبرمان – بورشارد للكولسترول

Libermann – Burchard's test for cholesterol

مبدأ التجربة:

يتفاعل بلا ماء حمض الأسيتيك مع الكولسترول المذاب في الكلوروفورم ليعطي لوناً ازرق مخضراً ومصدر هذا اللون غير معروف حتى الآن ويعتقد أنه ناتج من أسترة مجموعة الهيدروكسيل على الذرة رقم (3) بالإضافة إلى إعادة ترتيب الروابط ضمن جزيء الكولسترول.

المواد اللازمة:

- محلول الكولسترول في الكلوروفورم ويحضر بإذابة قليل من بللورات الكولسترول في (3) مل كلوروفورم.

- حمض سيتاريك (شاهد)
- بلا ماء حمض الخل.
- حمض الكبريت المركز (18M)

طريقة العمل:

خذ (2 مل) من محلول الكولسترول في أنبوب اختبار، اضف حوالي (10) نقاط من بلا ماء حمض الخل، ثم اضف بدقة نقطتين من حمض الكبريت ولاحظ تكون لون أحمر يتحول بعد ذلك إلى ازرق مخضر دليل وجود الكولسترول، إن وجود الماء في المحاليل المستخدمة أو في أنبوب الاختبار يسبب فشل هذا الاختبار لذلك يجب الانتباه بشكل جيد. أعد التجربة باستخدام حمض السيتاريك وسجل ملاحظاتك.

4-6- تقدير الرقم الحمضي Determination of the acid value:

يتحرر جزء من الأحماض الدهنية الموجودة في الزيوت والدهون أثناء تخزينها وذلك بفضل عمليات التحلل المائي ونشاط الكائنات الحية الدقيقة. تساعد عملية تقدير الرقم الحمضي في تحديد نوعية الدهون والزيوت، ويعرف الرقم الحمضي بانه عدد ميليغرامات هيدروكسيد البوتاسيوم اللازمة لمعادلة الأحماض الدهنية الحرة في (1) غ من الزيت أو الدهن.

مبدأ التجربة:

يتلخص مبدأ عملية تقدير حموضة العينة بمعايرة الأحماض الدهنية الحرة بوساطة محلول قلوي قياسي بوجود دليل الفينول فتالين، ويعبر عنها صناعياً كنسبة مئوية مقدرة كحمض أوليك حيث يعد أن الوزن الجزيئي للأحماض الحرة يقارب الوزن الجزيئي لحمض الأوليك.

المواد اللازمة:

- زيت زيتون (حديث) وأخر مخزن لفترة طويلة.
- سمن حيواني (منتج حديثاً) وأخر مخزن لفترة طويلة.
- كحول متعادل ويحضر بإضافة (2 مل) دليل فينول فتالين 1% إلى لتر كحول ايتيلي 95% ثم يعاير المزيج بهيدروكسيد البوتاسيوم حتى الحصول على لون زهري خفيف.
- هيدروكسيد البوتاسيوم 0.1 مول/ليتر.

طريقة العمل والحساب:

خذ (5 مل) من الزيت أو (5 غ) من المادة المراد تقدير حموضتها، أضف إليها (25 مل) من الكحول المتعادل بالإضافة إلى (5 نقاط) من دليل الفينول فتالين. قم بمعايرة محتويات الدورق

بهيدروكسيد البوتاسيوم حتى التعادل الذي يعرف بظهور اللون الوردي الخفيف الذي يثبت لمدة دقيقة كحد أدنى.

كما نعلم أن الرقم الحمضي يساوي عدد ميليمكافئات هيدروكسيد البوتاسيوم التي استهلكت في معادلة الأحماض الدهنية والتي تساوي حجم من هيدروكسيد البوتاسيوم × العيارية. وبما أن (1) ميلي مكافئ هيدروكسيد البوتاسيوم = 56 ملغ، وباعتبار أن الميلي مكافئ الواحد من KOH يساوي ميلي مكافئ من حمض الأوليك الذي يساوي بدوره 0.282 غ لذلك فان:

$$\text{الرقم الحمضي} = \frac{\text{حجم } KOH \times \text{العيارية} \times 56}{\text{وزن العينة(بالغرام)}}$$

$$\text{النسبة المئوية لحمض الأوليك} = \frac{\text{حجم } KOH \times \text{العيارية} \times 0.282 \times 100}{\text{وزن العينة(بالغرام)}}$$

باستخدام المعادلتين السابقتين احسب الرقم الحمضي والنسبة المئوية لحمض الأوليك في المذكورة أعلاه، سجل النتائج وفسر اختلاف الأرقام من عينة لأخرى.

4-7- تقدير رقم التصبن Saponification number:

مبدأ التجربة:

يعتمد تقدير رقم التصبن على قدرة هيدروكسيد البوتاسيوم على تحلل الروابط الاسترية الموجودة بين الأحماض الدهنية والغليسيرول (مكونات الغليسريدات)، بالإضافة إلى تكوين الصابون وتحرير الغليسيرول وتدعى هذه العملية بالتصبن والتي تفيد في التعرف على نوعية الأحماض الدهنية الداخلة في تركيب الغليسيريدات (الدهون والزيوت) تجري عملية التصبن في وسط قادر على إذابة الليبيد كالكحول لذلك يستخدم هيدروكسيد البوتاسيوم الكحولي، حيث يجري أخذ كمية من الليبيد ويضاف لها كمية محددة من هيدروكسيد البوتاسيوم الكحولي وتضاف الكمية نفسها من الهيدروكسيد إلى الشاهد الذي لا يحتوي على أية مادة ليبيدية، تجري عملية تصبن كاملة للعينة وذلك بالتسخين والتحريك ويجب أن تكون كمية القلوي كافية لتصبين كل الأحماض الدهنية ولضمان ذلك يضاف زيادة من القلوي. يعاير هيدروكسيد البوتاسيوم المتبقي في دورق التجربة وكذلك في الشاهد الذي لم تنقص كميته وذلك بوساطة حمض الهيدروكلوريك بوجود دليل الفينول فتالين. ويقدر رقم التصبن من خلال الفرق بين المعايرتين وتحسب كمية KOH التي تلزم لتصبين (1 غ) زيت أو دهن، لذلك يعرف رقم التصبن بأنه كمية هيدروكسيد البوتاسيوم بالميليغرام اللازمة لتصبين غرام واحد من الزيت أو الدهون بصورة كاملة. لرقم التصبن علاقة مباشرة مع الوزن الجزيئي للأحماض الدهنية

الداخلة في تركيب الغليسيريد، فعندما تكون قيمة هذا الرقم كبيرة فيدل ذلك على أن الوزن الجزيئي للأحماض الدهنية منخفض وذلك لأننا نجري عملية تصبن لوزن ثابت من الزيت أو الدهن مقداره (1 غ)، بينما يكون متوسط الوزن الجزيئي لتلك الأحماض مرتفعاً عندما يكون رقم التصبن منخفض.

المواد اللازمة:

- زيت زيتون، زيت بذرة قطن، زبدة.
- هيدروكسيد بوتاسيوم كحولي: يحضر بإذابة (40 غرام) من هيدروكسيد البوتاسيوم الخالي من الكربونات في وزن مماثل من الماء ويضاف إلى المحلول الناتج لتر واحد من الكحول الإيتيلي (95%). يجب حماية المحلول المحضر من غاز Co_2 الجوي لمنع تكون كربونات البوتاسيوم التي تترسب ولا يعود المحلول صالحاً للاستخدام.
- حمض هيدروكلوريك 0.5 مول/ليتر.
- دليل فينول فتالين (10 غ/لتر إيثانول).
- كحول متعادل (لتحضيره راجع الفقرة /3- 5/) .

طريقة العمل والحساب:

يؤخذ (1 مل) من الزيت أو (1 غرام) منه ويوضع في بيشر مناسب ويضاف له (10 مل) من هيدروكسيد البوتاسيوم الكحولي، ويؤخذ شاهد للتجربة حيث يوضع في بيشر الشاهد (10 مل) هيدروكسيد بوتاسيوم الكحولي فقط. يسخن مزيج التجربة على لهب معتدل مع التحريك كما يسخن الشاهد أيضاً. تنقص كمية الكحول في التجربة والشاهد نتيجة التسخين ويعوض عن ذلك كلما اقتضى الأمر بإضافة كحول متعادل والذي يسبب تلون المحاليل باللون الأحمر لاحتوائه على الفينول فتالين حيث إن الوسط قلوي. يجب الاستمرار بالتسخين لمدة ثلاثين دقيقة وذلك لإكمال عملية التصبن بشكل كامل، ثم يضاف إلى بيشر التجربة والشاهد نقطتين من دليل الفينول فتالين والمحاليل ساخنة ثم تعاير بحمض الهيدروكلوريك 0.5 نظامي.

$ح_1$ = حجم حمض الهيدروكلوريك المكافئ لهيدروكسيد البوتاسيوم والمستهلك لمعايرة التجربة.

$ح_2$ = حجم حمض الهيدروكلوريك المكافئ لهيدروكسيد البوتاسيوم المستهلك لمعايرة الشاهد.

$ح_3 = ح_2 - ح_1$ وهو حجم HCl المكافئ لـــ KOH المستهلك في عملية تصبن الزيت.

عدد ميليمكافئات KOH المستهلكة في التصبن = عدد ميليمكافئات HCl والتي تساوي $ح_3 \times ع$.

كمية هيدروكسيد البوتاسيوم بالميليغرام التي لزمت لعملية تصبن واحد ميليلتر زيت تساوي ح$_3$ × ع × 56، وباعتبار أن كثافة الزيت 0.9. فيكون رقم التصبن = ح$_3$ × ع × 56 × $\frac{1}{0.9}$ المطلوب: حساب رقم التصبن لعينتي الزيت المقدمتين لك قارن بين النتائج التي حصلت عليها وماذا تستنتج؟

4-8- تقدير الرقم اليودي The Iodine number of a Fat

مبدأ التجربة:

يمكن للهالوجينات كاليود والبروم الدخول في تفاعلات ضم مع الأحماض الدهنية غير المشبعة وذلك على مواقع الروابط غير المشبعة، فتتحول الأحماض الدهنية إلى مشتقاتها الهالوجينية، وتقدر كمية الهالوجين المرتبط بصورة يود. يعرف الرقم اليودي بأنه كمية اليود بالغرام التي تتفاعل مع 100 غرام من المادة الليبيدية.

هناك طرق لتقدير الرقم اليودي تعتمد جميعها على إجراء تفاعل بين كمية زائدة من الهالوجين (بروم أو يود) ووزن ثابت من الليبيد، ولتسهيل عملية ضم الهالوجين إلى الروابط غير المشبعة يستخدم مذيب عضوي كالكلوروفورم أو رابع كلوريد الكربون، بعد انتهاء عملية الضم تجرى عملية تقدير كمية الهالوجين الذي لم يتم ضمه وذلك بتحريره على شكل يود نتيجة إضافة يوديد البوتاسيوم، تحدد كمية اليود المتحرر بمعايرته بوساطة محلول ثيوكبريتات الصوديوم 0.5 نظامي. لابد من شاهد لهذه التجربة والذي لم تنقص فيه كمية الهالوجين لعدم وجود مادة ليبيدية، ويفيد الشاهد في تحديد كمية الهالوجين الذي تم ضمه في التجربة وذلك بطرح نتيجة معايرة التجربة من الشاهد. يمكن توضيح عملية إضافة الهالوجين وتحرير اليود وتقدير كميته بالمعادلات التالية:

$$Br_2 + \text{-CH=CH-} \longrightarrow \text{-CH(Br)-CH(Br)-}$$

(بروم متفاعل)

$$Br_2 + 2KI \longrightarrow 2KBr + I_2$$

(بروم متبقي)

$$I_2 + 2Na_2S_2O_3 \longrightarrow 2NaI + Na_2S_4O_6$$

ثيوكبريتات الصوديوم — تتراثيونات الصوديوم

المواد اللازمة:

- زيت زيتون، زيت نباتي، زبدة.
- يوديد البوتاسيوم 1 مولر.
- ثيوكبريتات الصوديوم 0.5 عياري.
- محلول البروم في رابع كلوريد الكربون، ويحضر بإضافة 25 مل من البروم إلى لتر من رابع كلوريد الكربون.

طريقة العمل والحساب:

خذ بماصة جافة نصف ميليلتر من المادة المراد تقدير الرقم اليودي لها وفرغه بشكل كامل في دورق صغير، ثم أضف إليه 10 ميليلتر من البروم في رابع كلوريد الكربون. خذ دورق آخر وضع فيه 10 ميليلتر من الهالوجين نفسه واستخدمه كشاهد، أحكم سد الدورقين (التجربة + الشاهد) بوساطة سدادة مطاطية لمنع تبخر البروم. اترك الدورقين لمدة 20 دقيقة في حجرة تفريغ الغازات ورج دورق التجربة من وقت لأخر وذلك لضمان حدوث عملية ضم الهالوجين إلى الروابط غير المشبعة.

أضف بعد ذلك إلى الدورقين 10 مل من بوديد البوتاسيوم وقم بعملية رج جيدة للدورقين وذلك لضمان تفاعل يوديد البوتاسيوم مع كافة جزيئات البروم الزائدة بعد انتهاء عمليات الضم، عاير الدورقين بوساطة ثيوكبريتات الصوديوم مع الرج، تنتهي عملية المعايرة باختفاء لون اليود البني المصفر، يحسب الرقم اليودي للمادة المختبرة وفق ما يلي:

ح1 = حجم ثيوكبريتات الصوديوم المستهلكة في معايرة التجربة.

ح2 = حجم ثيوكبريتات الصوديوم المستهلكة في معايرة الشاهد

ج3 = ج2 – ح1 وهو الفرق بين معايرة الشاهد والتجربة

ح3 × ع = عدد ميليمكافئات ثيوكبريتات الصوديوم والمساوية العدد ميليمكافئات البروم المستهلكة في إشباع الروابط وحيث (ع) هي عيارية الثيوكبريتات.

وبناءً على ما سبق فالرقم اليودي = ح3 × ع × 0.127 × $\frac{100}{\text{وزن الزيت}}$

حيث إن الرقم 0.127 قد أتى من قسمة الوزن المكافئ لليود (127) على (1000) للحصول على كمية اليود المستخدم بالغرام بدلا من الميليغرام لكي يتناسب مع تعريف الرقم اليودي.

المطلوب:

حساب الرقم اليودي للعينة المقدمة لك وتسجيل نتائجك.

4-9- تقدير الكولسترول في الدم The estimation of blood cholesterol

مبدأ التجربة:

يتفاعل بلاماء حمض الخل مع الكولسترول الموجود ضمن الكلوروفورم ويعطي هذا التفاعل لون ازرق مخضر كما سبق شرحه في اختبار ليبرمان – بورشارد. يجرى تقدير نسبة الكولسترول في الدم بقياس الشدة اللونية للمعقد باستخدام جهاز التحليل الطيفي الضوئي Spectrophotometer.

يوجد الكولسترول في الدم بصورتين، حرة أو أسترية وللكشف عن الاثنين وتقديرهما نستخدم في تجربتنا بلازما الدم، حيث أن الخلايا لا تحتوي إلا على الصورة الحرة من الكولسترول. فيجري استخلاص الكولسترول بوساطة الكلوروفورم وينقى من الماء والبروتينات بوساطة كبريتات المغنيزيوم اللامائية.

المواد اللازمة:

- سيروم.
- كلوروفورم.
- محلول كولسترول بتركيز 0.1 ملغ لكل واحد ميليلتر كلوروفورم.
- بلا ماء حمض الخل.
- حمض كبريت مركز والذي يمزج مع بلا ماء حمض الخل بنسبة 1: 4 وتتم عملية المزج في دورق موضوع في مسحوق الثلج أو ضمن ماء مبرد بالثلج.

طريقة العمل:

أضف (0.2) ميللتر سيروم إلى 10 ميللتر كلوروفورم وذلك ضمن أنبوب زجاجي خاص بالطرد المركزي، ويجب أن يكون الأنبوب وكافة الأدوات المستخدمة جافة تماماً. استخدم جهاز رج الأنابيب إن وجد وذلك لمدة خمس دقائق، أضف بعد ذلك 1.5 غ من كبريتات المغنيزيوم اللامائية ثم رج محتويات الأنبوب بشدة لمنع تجمع الكبريتات وذلك لبضع دقائق. استخدم جهاز الطرد المركزي لتجزيء محتويات الأنبوب وذلك لمدة ربع ساعة، ثم خذ (5) ميللتر من الرائق (أي الجزء العلوي) وضعها في أنبوب اختبار خال من الرطوبة. خذ في أنبوب أخر (2) ميللتر من محلول الكولسترول القياسي واكملها إلى (5) مل بوساطة الكلوروفورم، ثم خذ (5) ميللتر من الكلوروفورم النقي كشاهد، واضف إلى كل من الأنابيب الثلاثة (2 مل) من مزيج حمض الكبريت وبلا ماء حمض الخل واتركهما في حمام مائي ذي

درجة حرارة (25 مْ) لمدة (15) دقيقة، استخدم جهاز التحليل الطيفي الضوئي في تحديد تركيز الكولسترول في الأنابيب الثلاثة (التجربة، المحلول القياسي، الشاهد والخالي من الكولسترول) عن طريق قياس شدة امتصاص اللون الأزرق المخضر على موجة ضوئية بطول 680 نانومتر لحساب كمية الكولسترول في التجربة يجب التذكر بأن المحلول القياسي يحتوي على (0.2 ملغ) كولسترول، وتقدر بالميليغرام في 100 مل سيروم.

تتراوح نسبة الكولسترول في السيروم (مصل الدم) بين 100 و 250 ملغ لكل 100 ميليلتر، وتكون هذه النسبة بمقدار 200 ملغ لدى الشباب بعمر 25 سنة وترتفع مع تقدمهم بالسن وتصل إلى القمة عند الخمسين من العمر حيث تبدأ بعد ذلك بالتراجع. تقل نسبة الكولسترول عند النساء بالمقارنة مع الرجال الذين لهم السن نفسه، أما بعد سن اليأس تصبح هذه النسبة أعلى لدى النساء من الرجال.

الجدول رقم (3-1) يبين نتائج اختبارات الليبيدات

الاختبار / المادة	اختبار الغليسيرول	اختبار غير المشبعة	اختبار الكوليسترول	تقدير الرقم الحمضي	تقدير رقم التصبن	تقدير الكولسترول
حمض أوليك						
حمض سيتاريك						
حمص بيوتيريك						
زيت نباتي						
زيت زيتون						
فوسفوليبيد						
محلول كولسترول						
سمن حيواني						
زيت معدني						
سيروم						
مجهول						

الجلسة العملية الخامسة

فصل الليبيدات

يجري فصل الليبيدات عن بقية المكونات البيولوجية بالاعتماد على خاصية ذوبانها بالمذيبات العضوية كايثير البترول، الكلوروفورم، ايثير الايثيل أو البنزن. يستخدم عادة مزيج من الكحول الميثيلي والكلوروفورم والماء بنسبة 2: 1: 0.8 على التوالي في استخلاص ليبيدات الحبوب ومنتجاتها، حيث يؤخذ 10غ من دقيق الحبوب المراد فصل وتقدير كمية الليبيدات فيها ويضاف إليها 50 مل كحول ميثلي و25 مل كلورفورم و20 مل ماء. يجري مزج المكونات الثلاثة مع العينة بشكل جيد لمدة دقيقة واحدة، ثم يعرض المزيج لعملية طرد مركزي لمدة 30 دقيقة وذلك على سرعة عالية. يجري بعد ذلك فصل الكلوروفورم الحاوي على الليبيد ويوضع في حوجلة حيث يجري تقطيره بوساطة التقطير تحت التفريغ، ثم تحدد كمية الليبيدات بوزنها ثم تحسب نسبتها المئوية.

يستخدم جهاز Soxhlet لتقدير كمية الليبيدات في الأغذية والبذور، وهو عبارة عن جهاز زجاجي يجري ضمنه استخلاص الليبيدات باستخدام مزيج من ايثير البترول وايثير الايثيل 1: 1 تستمر عملية استخلاص الليبيدات بهذه الطريقة عدة ساعات حيث تتصاعد أبخرة المذيبات نتيجة التسخين وتتكاثف بفعل التبريد لتنزل فوق العينة وتذيب الليبيدات الموجودة ضمن العينة. يؤخذ المذيب المتكاثف جانبياً ويجري تقطيره حيث يمكن استخدامه مرة ثانية في استخراج الليبيدات، وتقدر نسبة الليبيدات المئوية في العينة المختبرة.

يمكن تطبيق عملية فصل الليبيدات باستخدام السوكسوليت أو الطريقة العادية من اجل تقدير النسبة المئوية لليبيدات القمح والشعير، والذرة الصفراء، أو الحمص والفول وفول الصويا.

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

الجلسة العملية السادسة

اختبارات الأحماض الأمينية والبروتينات

6-1-مقدمة:

تحتوي الأحماض الأمينية، كما تدل تسميتها، على مجموعة كربوكسيل وأمين لذلك تمتلك هذه الأحماض خواص حمضية وقاعدية بأن واحد، وترتبط المجموعات الوظيفية في معظم الأحماض الأمينية مع ذرة الكربون ألفا. تذوب الأحماض الأمينية في الماء ولكنها لا تذوب في معظم المذيبات العضوية، أما درجات انصهارها فهي مرتفعة وتصل حتى 200 مْ وهذا يعود لطبيعتها ثنائية القطبية Zwitterions



غير مشحون زويتريون (ايون ثنائي القطبية)

تهاجر الأحماض الأمينية عند تعرضها لحقل كهربائي ويعتمد ذلك على الشكل الشاردي السائد والتي تعتمد على درجة إلى PH للمحلول المنظم المستخدم، فعندما يكون صافي الشحنة مساوياً الصفر لا تهاجر الأحماض الأمينية وتدعى هذه المرحلة بنقطة التعادل الكهربائي Isoelectric point.

ترتبط الأحماض الأمينية فيما بينها لتعطي السلاسل الببتيدبية وبدعي ذلك بالتركيب الأولي للبروتين، وتستطيع هذه السلاسل الالتفاف بشكل حلزوني أو تشكيل صفائح مطوية وهو ناتج عن تكوين الروابط الهيدروجينية بين السلاسل مشكلة التركيب الثانوي . أما التركيب الثالثي فينتج عندما يأخذ البروتين شكلاً محدداً في الفراغ فإما أن يكون بروتين ليفي أو كروي ويساعد في تكوينه الروابط الهيدروجينية والشاردية وثنائية السلفيد، ويعد التركيب الرابعي هو الأكثر تعقيداً حيث ينتج من ارتباط تحت وحدات بروتينية عدة.

تتأثر البروتينات بعدة عوامل فيزيائية كالحرارة والضغط والتجميد والأشعة فوق البنفسجية فتتغير خواصها كما توثر أيضاً بعض العوامل الكيميائية كتغيرات الـ PH والمذيبات العضوية واليوريا، وسنقوم بدراسة تأثير بعض هذه العوامل على بعض أنواع البروتينات.

6-2- تفاعل الأحماض الأمينية مع كربونات النحاس:

مبدأ التجربة:

يتفاعل ملح كربونات النحاس مع الأحماض الأمينية الحرة ليشكل معقداً ذا لون ازرق غامق، حيث يتم ارتباط الجذور الحرة للأحماض الأمينية (الكربوكسيلية والأمينية) مع شوارد النحاس. لا تعطي الببتيدات والبروتينات نتيجة إيجابية مع كربونات النحاس لأن مجموعاتها الوظيفية غير حرة وذلك لأنها تكون الروابط الببتيدية.

المواد اللازمة:

- محاليل أحماض أمينية.
- محاليل بروتينات.
- كربونات نحاس $CuCo_3$ صلبة.

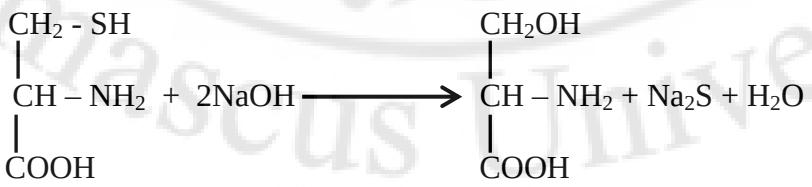
طريقة العمل:

خذ في أنبوب اختبار (2) ميللتر من محلول حمض أميني وفي أنبوب اختبار أخر (3) ميللتر من محلول بروتيني كشاهد. أضف إلى كل من أنبوبي الشاهد والتجربة قليلاً من كربونات النحاس، ثم سخنهما حتى العليان، لاحظ تكون اللون الأزرق الغامق في أنبوب التجربة بينما يبقى اللون فاتحا في أنبوب الشاهد. اعد التجربة مرة ثانية باستخدام حمض أميني أخر وبروتين مختلف أيضاً.

6-3- اختبار الكبريت في الأحماض الأمينية:

مبدأ التجربة:

يؤدي تسخين الأحماض الأمينية الكبريتية (سيستيين، مثيونين) في وسط قلوي، إلى تحول الكبريت إلى كبريتيد صوديوم أو بوتاسيوم حسب القلوي المستخدم في الحلمهة القلوية. ينتج كبريتيد الرصاص المميز للأحماض الأمينية الكبريتية من تفاعل كبريتيد الصوديوم مع المركب، رصاصيت الصوديوم Na_2PbO_2 والناتج من تفاعل خلات الرصاص مع هيدروكسيد صوديوم وذلك وفق ما يلي:



$$(CH_3COO)_2Pb + 2NaOH \longrightarrow Pb(OH)_2 + 2CH_3COONa$$

$$Pb(OH)_2 + 2NaOH \longrightarrow Na_2PbO_2 + 2H_2O$$

$$Na_2S + Na_2PbO_2 + 2\,H_2O \longrightarrow PbS + 4\,NaOH$$

تعطي الأحماض الكبريتية مع هذا الاختبار نتيجة إيجابية سواء كانت هذه الأحماض حرة أم مرتبطة مع الأحماض الأخرى ضمن البروتينات.

المواد اللازمة:

- محلول سيستيين.
- محلول بروتيني.
- محلول خلات الرصاص 5%
- محلول هيدروكسيد الصوديوم20%.

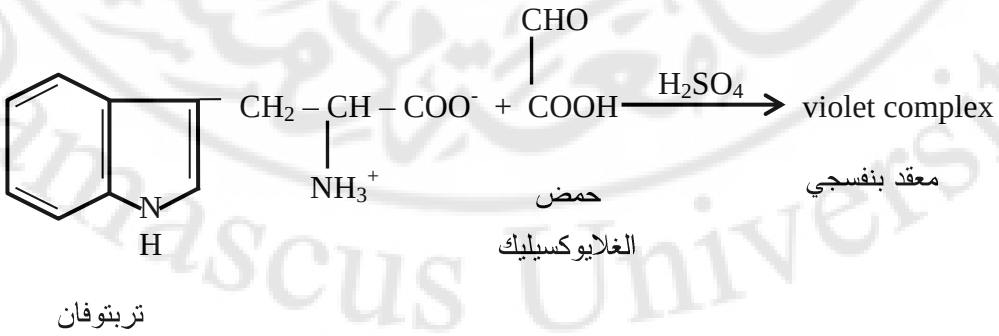
طريقة العمل:

خذ (2 مل) من المحلول المراد اختباره وأضف إليه (2 مل) من هيدروكسيد الصوديوم، ثم سخن المزيج على النار مباشرة حتى الغليان. أضف بعد ذلك عدة نقاط من خلات الرصاص إلى المزيج الساخن، ثم لاحظ تكون راسب بني مسود تختلف شدته حسب المقادير المضافة.

6-4- اختبار هوبكنز – كول Hopkins - Cole's test:

مبدأ التجربة:

تتفاعل مجموعة الأندول للحمض الأميني تربتوفان مع حمض الغلايوكسيليك بوجود حمض الكبريت المركز ما يؤدي إلى تكاثف جزيئات التربتوفان ويتلون المحلول بلون بنفسجي. يعطي التربتوفان البروتينات الحاوية على نتيجة إيجابية بهذا الاختبار.



المواد اللازمة:

- محلول التربتوفان والغلايسين والارجنين.
- كاشف هوبكنز– كول : يحل 100 غرام من بودرة المغنيزيوم بقليل من الماء ويضاف إليها 250 ميللتر من محلول مشبع لحمص الاوكزاليك والذي سبق تبريده، كما أن عملية الإضافة تجري تحت التبريد بالماء. يرشح المحلول الناتج ويضاف إليه 50 ميللتر من حمض الخل الثلجي، ثم يكمل حجم المحل إلى لتر.
- حمض كبريت مركز.

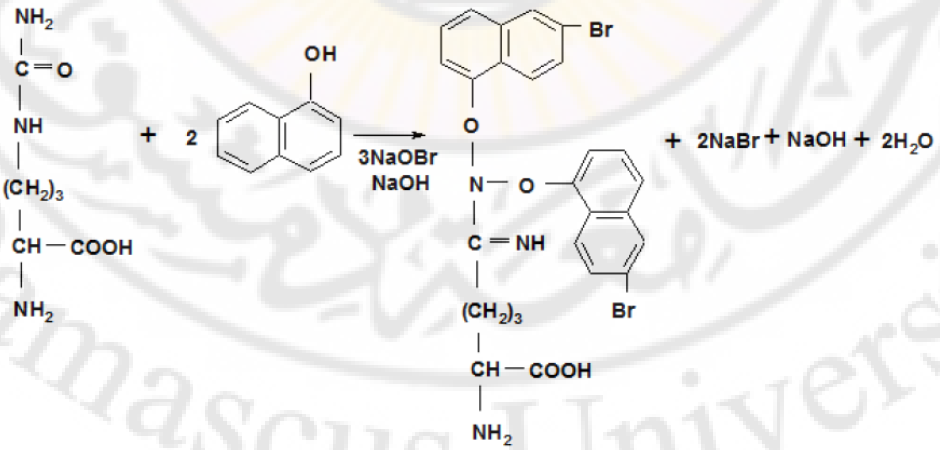
طريقة العمل:

خذ في أنبوب اختبار (1) ميللتر من الحمض الأميني تربتوفان أو أي حمض أميني أخر وأضف إليه (2) مل من كاشف هوبكنز– كول ثم رج المزيج بشكل جيد. أضف إلى المزيج حوالي 4 ميللتر من حمض الكبريت المركز شريطة أن يكون أنبوب الاختبار مائلاً كما يجب أن تتم الإضافة ببطء واحتراس. تتكون في الطبقة الفاصلة بين الحمض وباقي المحلول حلقة بنفسجية يحتاج ظهورها لقليل من الوقت أو التحريك البسيط جداً.

6–5– اختبار ساكاغوشي Sakaguchi's test

مبدأ التجربة:

يعد الحمض الأميني أرجنين الوحيد الحاوي على مجموعة غوانيدين والتي تتفاعل مع المركب α– نافتول بوجود المادة المؤكسدة هيبوبروميت الصوديوم التي تودي إلى فقدان الأرجنين لمجموعة أمين. إن المركب الناتج عن ارتباط الأرجنين والفانافتول ذو لون أحمر يميز وجود الأرجنين، كما تعطي البروتينات الحاوية على الأرجنين نتيجة إيجابية أيضاً.



Arginine Red coloured compound

المواد اللازمة:

- محلول أرجنين وغلايسين.
- محلول ألفا نافتول 1% (10غ ألفا نافتول في لتر ايتانول).
- محلول هيبوبروميت الصوديوم ويحضر بإذابة 150غ هيدروكسيد صوديوم في الماء ويكمل الحجم إلى 500 مل، ويضاف إليه (8)غ من محلول البروم النقي وتجرى العملية الأخيرة ضمن حجرة تفريغ لأن أبخرة البروم ضارة جداً، يحفظ هيبوبروميت الصوديوم في زجاجات عاتمة لمنح تأثير الضوء وإطالة فترة صلاحية الكاشف.

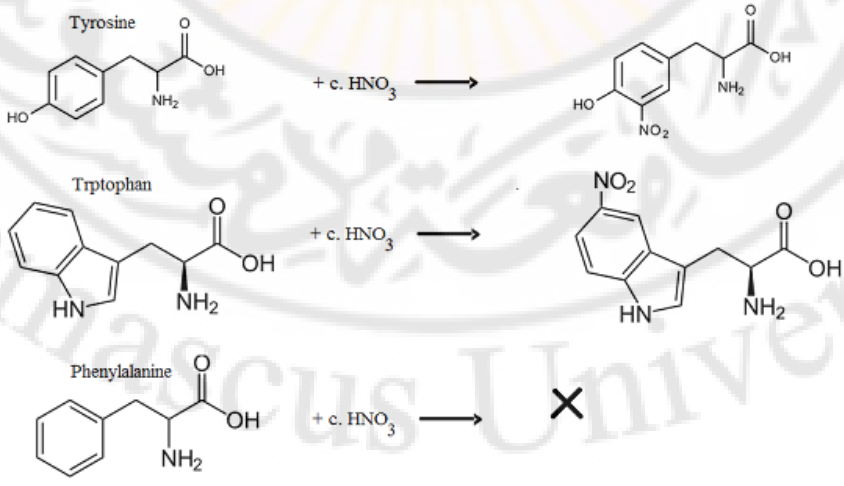
طريقة العمل:

خذ (1) ميللتر من المادة المراد فحصها وأضف إليه نقطتين من ألفا – نافتول ثم أضف (1) ميللتر من هيبوبروميت الصوديوم. رج المزيج بشكل جيد، لاحظ تلون المحلول باللون الأحمر إذا كان المجهول أرجنين أو بروتين حاو على هذا الحمض. أعد التجربة باستخدام أحماض أمينية أخرى كالغلايسين والتربتوفان، سجل ملاحظاتك.

6-6- اختبار الكزانتوبروتين Xanthoprotein test

مبدا التجربة:

يؤثر حمض الآزوت المركز على الأحماض الأمينية الحاوية على حلقة عطرية (التيروزين، التربتوفان، الفينيل الأنين) ويؤدي إلى نترجتها ويساعد في ذلك عملية التسخين. تتفاعل مشتقات النترو كثنائي نترو التيروزين مع هيدروكسيد الصوديوم لتعطي مركبات ذات لون أصفر تدل على وجود التيروزين أو التربتوفان أو البروتينات الحاوية على هذه الأحماض. لا يعطي الفينيل الانين لون أصفر واضح كما يعطي الحمضان الأخران لذا يجب الانتباه لذلك، تعطي بعض المركبات كالفينول نتيجة إيجابية أيضاً بهذا الاختبار.



المواد اللازمة:

- محاليل تيروزين وتربتوفان وفينيل الانين وغلايسين.
- حمض آزوت مركز.
- محلول هيدروكسيد صوديوم 20%.

طريقة العمل:

يؤخذ (1) ميللتر من المحلول المراد اختباره ويضاف إليه 0.2 ميللتر من حمض الآزوت المركز ويسخن المزيج حتى الغليان فيتلون المحلول باللون الأصفر إذا كان المحلول المختبر حاو على حمض أميني حلقي، يبرد المحلول بعد ذلك ويضاف إليه باحتراس نصف ميللتر من هيدروكسيد الصوديوم فيصبح اللون برتقالي دليلاً على إيجابية التفاعل.

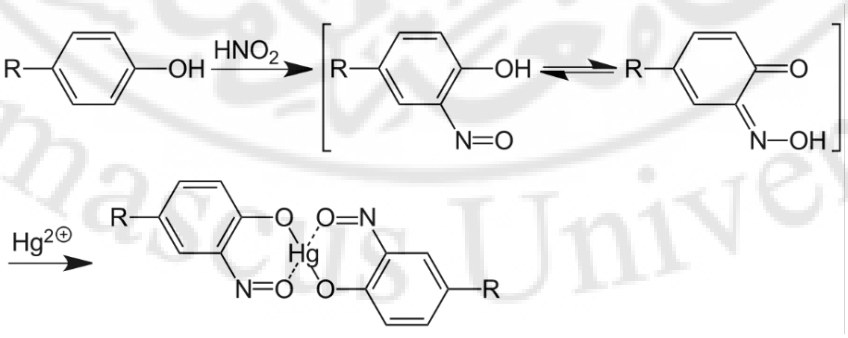
6-7- اختبار ميلون Millon's test:

مبدأ التجربة:

تتفاعل المركبات الحاوية على جذر هيدروكسي بنزن مع الزئبق الموجود في كاشف ميلون فينتج معقداً ذا لون أحمر قرميدي، ومن هذه المركبات الحمض الأميني تيروزين وهو الوحيد من الأحماض الأمينية الحاوي على حلقة هيدروكسي بنزن لذلك يعطي نتيجة إيجابية مع كاشف ميلون.

المواد اللازمة:

- محاليل أحماض أمينية (نيروزين، فنيل آلانين، غلايسين)
- كاشف ميلون ويحضر بإذابة 50غ زئبق في 75 ميللتر حمض آزوت مركز مع التسخين، يجب أن تجري عملية الإذابة في غرفة تخلية الغازات، ويمدد المحلول الناتج بضعف حجمه من الماء المقطر وذلك بعد تمام عملية الذوبان.
- محلول فينول 0.1%.



طريقة العمل:

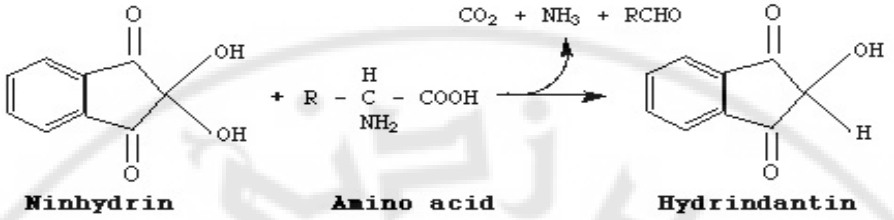
أضف خمس نقاط من كاشف ميلون إلى (1) ميللتر من المحلول المراد اختباره، ثم سخن المزيج على نار هادئة حتى الغليان. يتحول لون المحلول إلى أحمر قرميدي إذا كان المجهول هو التيروزين، أما إذا كانت المادة المراد الكشف عنها إحدى البروتينات الحاوية على التيروزين فإن البروتين سيترسب أولاً وذلك بتأثير حمض الآزوت وشوارد الزئبق ولا يلبث أن يتحول لونه إلى أحمر قرميدي. أعد التجربة باستخدام قليل من الفينول، هل يتحول لونه إلى أحمر قرميدي، فسر ذلك.

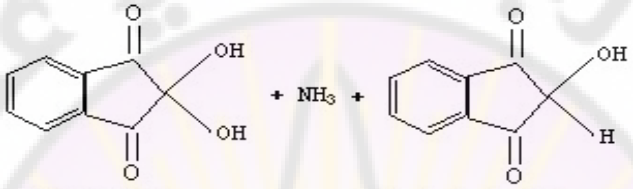
قم باستخدام محلول الفينيل الآنين، لاحظ أنه لا يعطي اللون الأحمر لعدم احتوائه على الهيدروكسي بنزن.

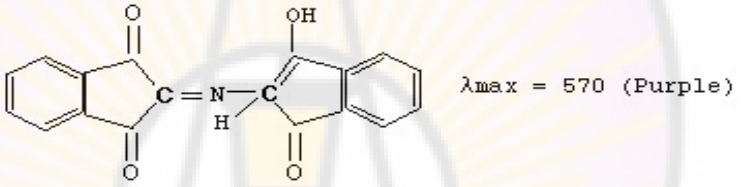
6-8- تفاعل النينهايدرين The ninhydrin reaction

مبدأ التجربة:

يعد النينهايدرين أو تراي كيتو هايدريندين هيدرات Tri keto hydrindene hydrate مؤكسداً قوياً يستطيع التفاعل مع الأحماض الأمينية من النوع ألفا ويعطي مركباً أزرق بنفسجي وذلك في وسط تتراوح درجة الـ PH فيه بين 4 و8 درجات ينتج عن هذا التفاعل تحرير غاز Co_2، و NH_3 وألدهيد أقل بذرة كربون واحدة من الحمض الأميني المستخدم في التفاعل، كما تعطي مركبات الأمينات الأولية والأمونيا نتيجة إيجابية أيضاً ولكن بدون تحرير Co_2، ويتفاعل البرولين والهيدروكسي برولين اللذين يحويان مجموعات أيمينو، مع النينهايدرين ويعطيان معقداً ذا لون أصفر بدلا من اللون الأزرق البنفسجي يمكن تقدير الأحماض الأمينية كمياً بوساطة هذا الاختبار عن طريق تقدير كمية Co_2 المنطلقة من التفاعل، أو عن طريق تقدير الشدة اللونية للمعقد اللوني يمكن توضيح مراحل التفاعل بالمعادلات التالية:







المواد اللازمة:

- محاليل أحماض أمينية (غلايسين، تربتوفان، برولين).
- محلول كحولي للننهايدرين 0.1%.

طريقة العمل:

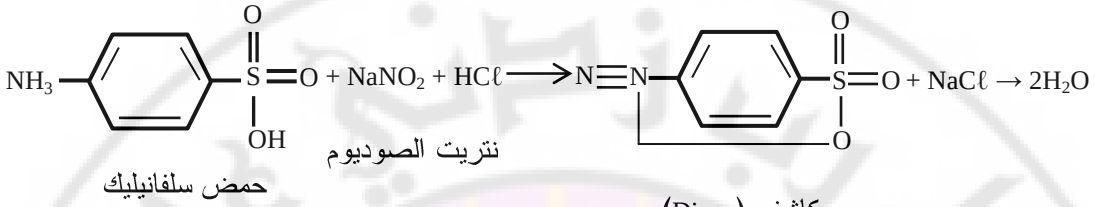
خذ (2) ميللتر من المحلول المراد اختباره وأضف إليه خمس نقاط من محلول الننهايدرين، ثم رج المحلول بشكل جيد وسخنه لمدة دقيقة فيظهر اللون الأزرق البنفسجي إذا كان المحلول المختبر حمض أميني من النوع ألفا. تعطي الببتيدات والبروتينات نتيجة إيجابية أيضاً مع هذا الاختبار ولكنها تحتاج لفترة أطول لظهور اللون.

6-9-اختبار بولي Pauly test:

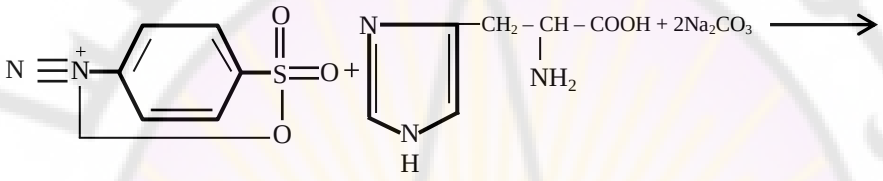
مبدأ التجربة:

يعطي الهستيدين (الحاوي على مجموعة ايميدازول) وكذلك التيروزين وكذلك البروتينات الحاوية عليهما معقداً لونياً (أحمر برتقالي) عند تفاعله مع كاشف داي آزو (Diazo) المحضر من تفاعل حمض السلفانيليك sulfanilic acid مع نتريت الصوديوم بوجود HCl.

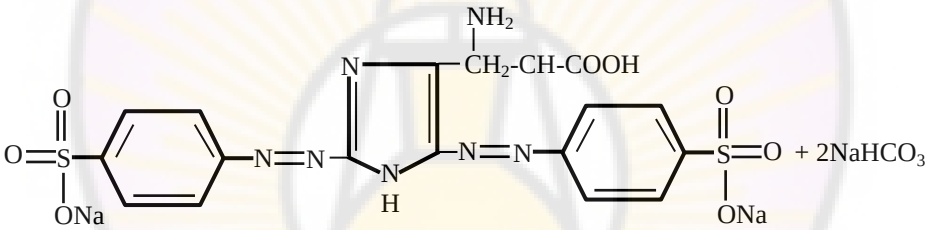
يتفاعل كاشف داي آزو مع الهستيدين أو التيروزين بوجود كربونات ليعطي معقداً ذا لو أحمر وذلك وفق المعادلات التالية:



حمض سلفانيليك نتريت الصوديوم كاشف (Diazo)



Diazo



المواد اللازمة:

- محاليل حمض أمينية (هستيدين، تيروزين، غلايسين) 0.1%.
- محلول بروتيني.
- محلول كربونات الصوديوم 10%.
- كاشف داي أزو ويحضر بمزج 60 مل من محلول حمض السلفانيليك 1% في 2% حمض Hcl و 2 مل محلول نتريت الصوديوم 0.5%.

طريقة العمل:

خذ ثلاثة أنابيب وأضف إلى الأول 2 مل من محلول الغلايسين وإلى الثاني 2 مل محلول هستيدين وإلى الثالث 2 مل تيروزين ثم أضف إلى كل أنبوب 2 مل من كاشف داي آزو. بعد مرور 2 دقيقة أضف إلى كل أنبوب 4 مل من كربونات الصوديوم اترك الأنابيب بضع دقائق، لاحظ ظهور اللون الأحمر الغامق في الأنبوبين الثاني والثالث على كشف فقط، فسر ذلك، أعد التجربة بإضافة محلول بروتيني، سجل نتائجك.

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

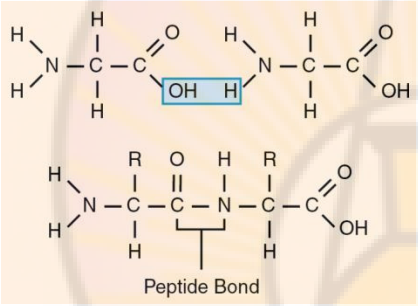
الجلسة العملية السابعة

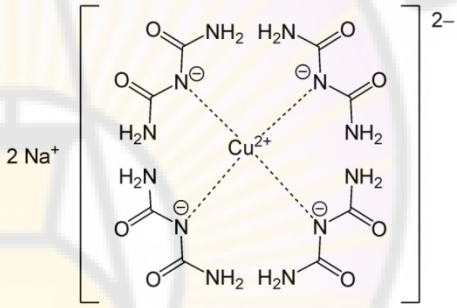
اختبار البروتينات

7-1- اختبار البيوريت Biuret test:

مبدأ التجربة:

تتفاعل كبريتات النحاس في الأوساط القلوية مع المركبات الحاوية على رابطتين ببتيديتين أو أكثر لتعطي معقداً ملحياً ناتجاً عن تفاعل شاردة النحاس مع السلسلة الببتيدية ذا لون بنفسجي، ويمكن قياس شدته اللونية لأخذ فكرة عن عدد الروابط الببتيدية الموجودة. لقد أنت تسمية هذا الاختبار "اختبار البيوريت" من مركب البيوريت الذي يعطي نتيجة إيجابية نموذجية. وتنتج البيوريت من تكاثف جزيئين من اليوريا بالتسخين.





لا تعطي الأحماض الأمينية الحرة نتيجة إيجابية بهذا الاختبار إنما فقط الببتيدات والبرتينات، كما أن كافة المركبات الحاوية علي مجموعتي كربوكسيل مرتبطتين مع ذرتي أزوت أو كربون تعطي نتيجة إيجابية أيضاً.

المواد اللازمة:

- محاليل بروتينية (البومين، كازيين، جيلاتين، ببتون) ومحلول حمضي أميني كشاهد. يحضر الألبومين من البيض حيث يفصل بياض بيضة واحدة ويضاف إليه 150 ميللتر ماء مقطر ويمزج بشكل جيد، يرشح المحلول الناتج عبر قطعة كتان مبللة بالماء أو باستخدام 4 طبقات من الشاش دفعة واحدة وتحتوي الرشاحة على الألبومين الذي يمكن حفظه في البراد لحين استخدامه.

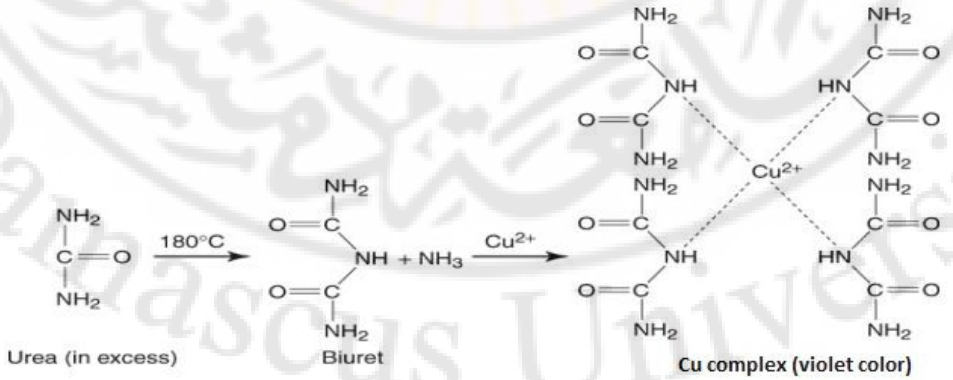
كما يمكن تحضير الألبومين من الحليب حيث يضاف إلى 250 ميللتر من الحليب الطازج ما يعادله من كبريتات الأمونيوم المشبعة فيتكاثف الكازيين والغلوبولين أما الألبومين فيبقى

بصورة ذائبة. يجري ترشيح المحلول ويبقى على ورقة الترشيح الدهن والكازيين والغلوبولين.

يمكن عزل الألبومين من دقيق القمح وذلك بمزج (50) غ دقيق مع (200) غرام من الماء المقطر، يمزج الدقيق والماء بشكل جيد وذلك بوساطة قضيب تحريك أو محرك مغناطيسي، ويترك لمدة ساعة يرشح بعدها باستخدام ورقة ترشيح عادية، تحتوي الرشاحة بشكل رئيسي على البومين القمح.

يمكن استخدام الجلاتين الصلب حيث يذاب 10 غرام منه في ليتر من الماء الساخن أما الببتون فيوجد بصورة محلول كما أن الكازيين يوجد بصورة جاهزة ولتحضير محلول منه يذاب (5) غرام منه في محلول هيدروكسيد الصوديوم الممدد يعاير لمعادلته بوساطة حمض الهيدروكلوريك الممدد أو سواه باستخدام دليل ورقي، أما إذا لم يتوفر الكازيين الجاهز فيمكن تحضيره اعتباراً من الحليب المنزوع الدسم حيث يضاف إلى الحليب مقدار حجمه ماء ويمزج بشكل جيد ويضاف إليه من السحاحة حمض هيدروكلوريك ممدد نقطة فنقطة حتى يبدأ الكازيين بالترسب. عند تجاوز كمية الحمض المضافة، الكمية المطلوبة يمكن معادلتها بالقلوي. يرشح المحلول حيث يبقى الراسب (الكازيين) على ورقة الترشيح والذي يؤخذ ويذاب بهيدروكسيد الصوديوم الممدد ويعادل الزائد منه بحمض الهيدروكلوريك الممدد باستخدام دليل ورقي.

- محلول كبريتات النحاس 1%.
- محلول هيدروكسيد الصوديوم 20%
- يوريا صلبة.



طريقة العمل:

1- أضف إلى (1) ميللتر من المحلول المراد اختباره عدة نقاط من هيدروكسيد الصوديوم 20% ثم رج المزيج بشكل جيد وأضف إليه كبريتات النحاس 1% تدريجياً (بالتنقيط)، يظهر لون بنفسجي في حال كون المحلول بروتين أو ببتيد، أما ظهور لون أزرق غامق فهو دليل عدم وجود بروتين في المحلول المختبر.

2-ضع في أنبوبي اختبار 0.5 غ من اليوريا، سخن أحد الأنبوبين حتى تظهر اليوريا وتنطلق منها رائحة الأمونيا ثم برد الأنبوب، أضف إلى كلا الأنبوبين 0.5 مل هيدروكسيد صوديوم ونقطتين من كبريتات النحاس قارن بين اللون المتشكل في كلا الأنبوبين، ماذا تستنتج، دون ذلك.

7-2- ترسيب البروتينات بوساطة الأحماض العضوية

Precipitation by acidic reagents

مبدأ التجربة:

تستطيع الأحماض العضوية كحمض ثلاثي كلور حمض الخل وسلفوساليسيك والبكريك والتانيك والفوسفوتنغستيك وغيرها من ترسيب البروتينات نظراً لأن هذه الأحماض تحمل شحنات سالبة تستطيع معادلة شحنات البروتينات الموجبة وخاصة عند وجودهما في الوسط الحامضي، لذلك ترسب جزيئات البروتين. تختلف قوة الترسيب من حمض لأخر فحمض ثلاثي كلور حمض الخل يرسب البروتينات فقط ولا يرسب الببتونات والببتيدات بينما يستطيع حمض سلفوساليسيك ترسيب الببتونات والببتيدات ذات الوزن الجزيئي المرتفع بالإضافة إلى البروتينات.

المواد اللازمة:

- محاليل بروتينية (كازيين، البومين، جيلاتين، بيتون)
- ثلاثي كلور حمض الخل $C\,Cl_3\,COOH$ 10%.

الطريقة العمل:

خذ أربعة أنابيب وضع فيها على التوالي (2) ميللتر من الكازيين والألبومين والجيلاتين والببتون، أضف إلى كل أنبوب عدة نقاط من حمض ثلاثي كلور الاسيتيك، لاحظ حدوث راسب أو عكارة في بعض الأنابيب، ماذا تستنتج، سجل ملاحظاتك.

7-3- ترسيب البروتينات بوساطة أملاح المعادن القلوية Precipitation by Salts

مبدأ التجربة:

يمكن لبعض الأملاح أن تودي إلى ترسيب البروتينات المنحلة بصورة عكسية حيث يمكن إعادة إذابتها بوساطة خفض تركيز الملح، ومن هذه الأملاح كلوريد الصوديوم وكبريتات وفوسفات الأمونيوم والمغنيزيوم والصوديوم. تبلغ كفاءة الترسيب أعلى ما يمكن عندما تكون درجة الـــ PH للمحلول البروتيني مساوية لنقطة التعادل الكهربائي. تستطيع الأملاح مثل ($(NH_4)_2So_4$) تعديل شحنات البروتينات وبالتالي تخريب الطبقة المائية المحيطة بجزيئات البروتينات وبالتالي ترسبها. يختلف تأثير الأملاح حسب نوع البروتين المراد ترسيبه، ولكن المحاليل المشبعة للأملاح لا ترسب نواتج تحلل البروتينات كالببتونات.

المواد اللازمة:

- محاليل بروتينية (كازبين، ببتون، جيلاتين، البومين).
- محلول كبريتات الأمونيوم المشبع.
- مسحوق كلوريد الصوديوم .

طريقة العمل:

خذ (1) ميللتر من المحلول البروتيني وأضف إليه (3) ميللتر كبريتات الأمونيوم المشبعة ورج المزيج بشكل جيد واتركه لعدة دقائق ماذا تلاحظ؟، أعد التجربة باستخدام بقية المحاليل البروتينية، لدراسة تأثير كلوريد الصوديوم خذ (1) ميللتر من المحلول البروتيني وأضف إليه مسحوق NaC1 مع الرج المستمر حتى الحصول على محلول مشبع منه اترك الأنبوب لبضع دقائق، هل يتشكل راسب؟، علل ذلك. أضف إلى ذات الأنبوب عدة نقاط من حمض الخل، ماذا يحدث؟.

7-4- ترسيب البروتينات بوساطة المذيبات العضوية

Precipitation by Organic solvents

مبدأ التجربة:

تسبب إضافة بعض المذيبات العضوية كالإيثانول ترسيب البروتينات المتحللة ويعود ذلك إلى شراهة هذه المذيبات للماء فتجر جزيئات الماء الموجودة حول جزيئات البروتين وتودي إلى تجمعها وبالتالي ترسبها. لضمان وضوح عملية ترسيب البروتين بالكحول الإثيلي يجب أن يكون البروتين متعادلا كهربائياً ولضمان تعادل الشحنات يضاف قليل من كلوريد الصوديوم.

المواد اللازمة:

- محاليل بروتينية (البومين، جيلاتين، ببتون، كازيين).
- كحول ايتيلي.
- كلوريد صوديوم صلب.

طريقة العمل:

يؤخذ (1) مل من المحلول البروتيني المراد اختباره ويضاف إليه قليل من مسحوق كلوريد الصوديوم والذي يذاب بوساطة الرج. يضاف إلى المزيج (2) مل من الايثانول ويرج الأنبوب ثم يترك لمدة (6) دقائق، في حال تكون راسب خذ جزء من محتويات الأنبوب ومدده بالماء المقطر، ماذا يحدث؟ دون ملاحظاتك.

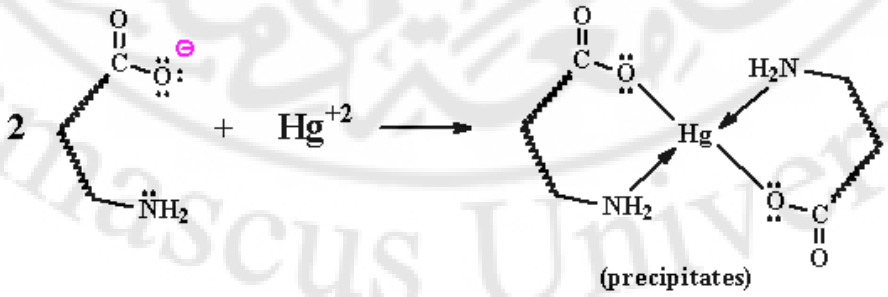
لاحظ أن إضافة الماء أدت إلى انحلال الراسب لانخفاض تركيز المحل العضوي المستخدم في ترسيب البروتين.

7-5- ترسيب البروتينات بوساطة أملاح المعادن الثقيلة

Precipitation by heavy metals

مبدأ التجربة:

عندما يكون PH المحلول البروتيني بحدود (7) فإن جزيئاته تكون مشحونة سلبياً لذلك فإن إضافة شوارد معدنية مشحونة إيجابياً مثل Pb^{++} و Cu^{++} و Fe^{+++} و Ag^{+} و Hg^{++} يؤدي إلى معادلة شحنات جزيئات البروتين وترسيبها. أما إذا كان المحلول البروتيني قلوياً فإن الشوارد المعدنية تميل إلى تشكيل هيدروكسيدات كهيدروكسيد النحاس مثلاً وبالتالي لا يترسب البروتين. كما أن زيادة تركيز الشوارد المعدنية تحل البروتين الراسب بسبب تغير طبيعة شحنات البروتين لوجود كمية زائدة من الشحنات الموجبة والتي مصدرها الشوارد المعدنية المدمصة على جزيئات البروتينات.



المواد اللازمة:

- محاليل بروتينية (البومين، كازيين، ببتون، جيلاتين).
- خلات رصاص 10% أو نترات فضة 5% أو كبريتات نحاس 5%.

طريقة العمل:

خذ (2) ميللتر من المحلول البروتيني وأضف إليه خلات الرصاص بطريقة التنقيط، لاحظ تكون الراسب. خذ جزء من الراسب وأضف إليه كمية من خلات الرصاص، تلاحظ ذوبان الراسب، بينما عندما نضيف كمية من الماء المقطر إلى الراسب المتبقي فانه لا يذوب. أعد التجربة باستخدام كبريتات النحاس، ماذا تلاحظ ؟ دون استنتاجك.

7-6- ترسيب البروتينات بتأثير الحرارة:

مبدأ التجربة:

تترسب معظم البروتينات بتأثير الحرارة عندما يكون وسط التسخين متعادلاً ولكن عندما يكون هذا الوسط قلوياً أو حمضياً فإن البروتين لا يرسب لأن جزيئاته تصبح متماثلة أي مشحونة إيجابياً في الوسط شديد الحموضة وسلبياً في الوسط شديد القلوية وبالتالي فلا تترسب، كما أن البروتينات البسيطة (ذات الوزن الجزيئي المنخفض لا تترسب بالحرارة كالببتون والجيلاتين لصغر حجم جزيئاتها).

المواد اللازمة:

- محاليل بروتينية (البومين، كازيين، جيلاتين، ببتون)
- محلول حمض الخل 1%.
- محلول كلوريد الصوديوم المشبع.
- محلول هيدروكسيد الصوديوم 10%

طريقة العمل:

خذ أربعة أنابيب وضع في كل منها (1) ميللتر من الألبومين والكازيين والجيلاتين والببتون على التوالي، سخن الأنابيب حتى الغليان، ماذا تلاحظ؟ أعد التجربة بأخذ (1) ميللتر من المحاليل البروتينية ثم أضف إلى كل أنبوب نقطة واحدة من حمض الخل ثم سخن الأنابيب، حتى الغليان هل تلاحظ تشكل راسب؟ دون ملاحظاتك. أعد التجربة للمرة الثالثة وأضف لكل أنبوب، (5) نقاط من حمض الخل ثم سخن الأنابيب، هل تشكلت رواسب في الأنابيب، وماذا تستنتج؟ كرر التجربة بإضافة (5) نقاط من هيدروكسيد الصوديوم لكل أنبوب ثم سخن

الأنابيب، ماذا تلاحظ سجل مشاهدتك. وأخيرا خذ نفس الكمية من المحاليل البروتينية (1 مل) وأضف لكل أنبوب (5) نقاط من حمض الخل و(5) نقاط من كلوريد الصوديوم المشبع ثم سخن الأنابيب حتى الغليان.

لاحظ تكون راسب لدى بعض البروتينات، فسر ذلك ودونه في دفترك.

لاحظ أن الملح (كلوريد الصوديوم) يسرع ويسهل عملية ترسيب البروتينات حتى في الأوساط الحمضية لتعديله شحنات البروتينات.

7-7- ترسيب البروتينات بالأحماض المعدنية:

مبدأ التجربة:

تسبب غالبية الأحماض المعدنية المركزة ترسب البروتينات وذلك نتيجة تكوين هذه الأحماض معقدات ملحية عن طريق ارتباطها بمجموعات الأمينو، كما أنها تسبب نزع جزيئات الماء من بينها وبالتالي تجميعها وترسيبها. نذكر من الأحماض التي ترسب البروتينات حمض الكبريت والآزوت والهيدروكلوريك ولكن حمض الفوسفور المركز لا يرسب البروتينات. لكن البروتينات الراسية يمكن أن تذوب بزيادة من حمضي الهيدروكلوريك والكبريت بينما لا تذيب الزيادة من حمض الآزوت البروتين الراسب.

المواد اللازمة:

- محاليل بروتينية.
- أحماض معدنية مركزة (حمض كبريت، حمض هيدروكلوريك، حمض آزوت، حمض فوسفور).

طريقة العمل:

خذ أربعة أنابيب وضع في الأنبوب الأول (1) ميللتر من حمض الهيدروكلوريك وفي الأنبوب الثاني (1) ميللتر من حمض الكبريت وفي الثالث (1) ميللتر من حمض الآزوت أما في الرابع فيوضع (1) مل من حمض الفوسفور. أضف إلى كل من الأنابيب الأربعة (1) ميللتر من المحلول البروتيني المراد اختباره وذلك بالتنقيط على جدار الأنبوب وباحتراس فإذا كان البروتين هو الألبومين فيمكنك ملاحظة تكون راسب في المنطقة الفاصلة بين الحمض والبروتين وذلك في الأنابيب الثلاثة الأولى، أما في الأنبوب الرابع فلا تشكل راسب، فسر ذلك. قم بعد ذلك بإضافة (1) ميللتر من الأحماض الثلاثة التي سبق استخدامها إلى الأنابيب التي تكون فيها راسب ثم رج الأنابيب بشكل جيد، ماذا تلاحظ؟ فسر ذلك.

7-8- الطبيعة الأمفوتيرية للبروتينات:

باعتبار أن البروتينات تحمل شحنات موجبة وأخرى سالبة نظراً لوجود أكثر من مجموعة كربوكسيلية واحدة لدى الحمض الأميني أو أكثر من مجموعة أمينية كما هو الحال لدى حمض الأسبارتيك واللايسين، لذلك تسلك البروتينات سلوك الأحماض والقواعد بآن واحد لذلك تدعى Amphoteric polyelctrolytes . يمكن التأكد من هذه الخاصية بوساطة الاختبارين التاليين:

أ- البروتينات كأحماض:

خذ (5) مل ماء مقطر وأضف إليه نقطة من هيدروكسيد الصوديوم 0.1 نظامي، ثم رج الأنبوب بشكل جيد وخذ منه نقطة واحدة وأضفها إلى (3) مل ماء ثم أضف إلى المزيج نقطة من دليل فينول فتالين، فيصبح اللون وردي الذي لا يلبث أن يزول عندما نضيف إليه قليلاً من محلول الببتون، هذا يدل على أن البروتين (الببتون) قد تصرف كحمض وتفاعل مع القلوي وإزالة لون الدليل.

ب- البروتينات كقواعد:

خذ (5) مل من الماء المقطر وأضف إليه نقطة من حمض الهيدروكلوريك 0.1 نظامي، وبعد رج الأنبوب خذ منه نقطة واحدة وأضفها إلى (3 مل) ماء ثم أضف نقطة من دليل أحمر الكونغو فيصبح لون المحلول أزرق دليل أن الوسط أصبح حمضياً. أضف تدريجياً قليلاً من محلول الببتون مع الرج ولاحظ تغير اللون الأزرق إلى أحمر، ماذا تستنتج من ذلك، وضح ذلك بالتفصيل.

7-9- نقطة التعادل الكهربائي:

تعرف نقطة التعادل الكهربائي للأحماض الأمينية أو البروتينات بانها درجة الـ pH التي يكون عندها صافي الشحنة الكهربائية لها صفر ويرمز لها PI وتأتي من Isoelectric point. تختلف نقطة التعادل الكهربائي من حمض أميني لأخر ومن بروتين لأخر أيضاً وفيما يلي نورد بعضاً منها:

الحمض الأميني أو البروتين	نقطة التعادل الكهربائي
سيستين	4.6
ليوسين	6.0
جلوتاميك	3.2
تيروزين	5.7
البومين البيض	4.7
البومين الدم	4.7
كازيين الحليب	4.6
الأنسولين	5.3
هيموغلوبين الدم	6.7

يمكن تقدير نقطة التعادل الكهربائي لبروتين ما بشكل تقريبي باستخدام محاليل منظمة مختلفة التراكيب ثم إضافة البروتين، أن الترسب الأعظمي يدل على نقطة التعادل الكهربائي التقريبية.

7-10- التقدير الكمي للبروتينات:

تقدر البروتينات كميا في المواد الحاوية عليها بصورة نتروجين ويحول إلى بروتين عن طريق ضربه بمعامل تحويل يتغير من مادة لأخرى، أما تقدير النتروجين فيتم بعد تحويل الأزوت العضوي إلى آزوت معدني بوساطة الأحماض القوية والمركزة كحمض الكبريت بالإضافة إلى الحرارة والعوامل المساعدة فيصبح الأزوت العضوي بصورة كبريتات أمونيوم، ثم تنزع الأمونيا من ملح كبريتات الأمونيوم بوساطة هيدروكسيد الصوديوم والتي يحملها بخار الماء ليتم استقبالها في محلول حمض البوريك، بعد ذلك تتم معايرتها بمحلول مخفف من حمض الكبريت بوجود دليل ملون.

N عضوي $\rightarrow So_4(NH_4)_2$

$So_4(NH_4)_2 + 2NaOH \rightarrow So_4Na_2 + 2NH_3 + 2H_2o$

$2NH_3 + H_2So_4 \rightarrow So_4(NH_4)_2$

التجهيزات الضرورية:

- جهاز هضم مسخن بتيار كهربائي.
- جهاز تقطير وتوليد بخار.
- أنابيب بيركس للهضم 20 × 19 سم

- زجاجيات مختلفة (سلندرات، كؤوس) وأجهزة تحريك.
- ساعة توقيت زمني.

المواد اللازمة:

- حمض كبريت نقي 66^{o}.
- عامل مساعد (كبريتات البوتاسيوم وأكسيد زئبق بنسبة 10: 1)
- هيدروكسيد صوديوم مركز بكثافة 1.33.
- محلول حمض بوريك 2%.
- دليل ملون (مزيج من أحمر الميثيل 0.06% وأخضر البروموكريزول 0.03 في الكحول).
- حمض فوسفور.
- كربونات صوديوم نقية.
- أوكزالات أمونيوم نقية.

طريقة العمل:

قم بطحن المادة المراد تقدير كمية البروتين فيها (كالقمح مثلا) وخذ منها (1 غ) وضعها في أنبوب الهضم وأضف إليه (2 غ) العامل المساعد (كبريتات البوتاسيوم وأكسيد الزئبق، ثم /7 مل/ من حمض الكبريت المركز، وضع الأنبوب في جهاز الهضم لمدة /310/ دقائق. قطر الأمونيا واستقبلها بمحلول حمض البوريك الحاوي على الدليل الملون ويتم التقطير بإضافة (20 مل) NaOH وواحد غرام هيبوفوسفيد الصوديوم لترسيب الزئبق في العامل المساعد، يمرر بعد ذلك بخار الماء الذي يجرف الأمونيا ويستمر التقطير لمدة (5) دقائق اعتباراً من وصول الأمونيا إلى محلول حمض البوريك الذي يبدأ بالتحول من الأحمر إلى الأخضر. بعد نهاية التقطير تجري عملية المعايرة بوساطة حمض الكبريت 0.2 نظامي. يوضع مع العينة الأساسية عينة شاهد لا يوضع فيها دقيق إنما ماء فقط وتجري معايرتها أيضاً. وتحسب نسبة البروتين المئوية بضرب كمية النتروجين المئوية بمعامل التحويل 5.7 للحبوب و6.25 لباقي البروتينات النباتية.

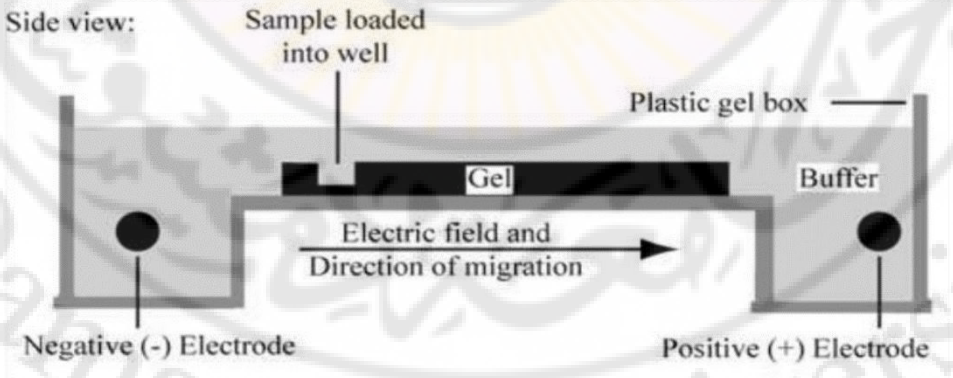
هناك طريقة أخرى لتقدير كمية البروتينات بدون المعايرة الكيميائية وتعتمد هذه الطريقة على مبدأ بيرتيلو Berthelot والتي تتلخص بتشكيل معقد ملون بين شوارد الأمونيوم وساليسيلات الصوديوم والكلور في وسط قلوي. ترتبط الشدة اللونية للمعقد بتركيز شوارد الأمونيوم والتي

تقاس على طول موجة 660 نانومتر بجهاز قياس الشدة الضوئية Photocolorimeter. تجرى للعينة عملية هضم كما سبق شرحها وتقاس الشدة اللونية باستخدام جهاز Technicon ولامجال لتفصيل هذه الطريقة لعدم ضرورتها لطلاب السنة الثانية.

7-11- تجزيء البروتينات:

باعتبار أن معظم البروتينات مشحونة إيجابياً أو سلبياً لذلك استفاد العلماء من هذه الخاصة في تجزيء البروتينات باستخدام تقنية الترحيل الكهربائي Electrophoresis والتي تعتمد على ترحيل الجزيئات البيولوجية المشحونة بتعريضها لتيار كهربائي مستمر حيث يتم نقل الجزيئات المشحونة إيجابياً باتجاه القطب السالب، أما المشحونة سلبياً فتتجه إلى القطب الموجب، وبذلك يحصل تجزيئ للبروتينات حسب الشحنات التي تحملها.

توضع العينة على الحامل الذي يمكن أن يكون عبارة عن ورق سيللوزي أو أنواع أخرى كالهلام. يغمر طرفا الحامل في محلول منظم ويطبق عليه تيار كهربائي بعد وضع عينة البروتين في وسط الحامل، وتكون قوة التيار وزمن الترحيل مرتبطة بنوع البروتينات المراد تجزئتها. في نهاية التجربة تحدد أماكن توضع إجزاء البروتينات باستخدام كاشف يعطي لوناً واضحاً كالننهايدرين. يمكن قص مكان وجود البروتين واستخلاصه وبذلك يصبح نقياً ومفصولاً عن باقي المكون البروتينية. (شكل 4-1)



الشكل (4-1) : يبين مخطط لجهاز ترحيل كهربائي أفقي.

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

الجلسة العملية الثامنة

اختبارات الحموض النووية: عزلها وتقديرها كمياً

Nucleic Acid Test Isolation and Estihation

8-1- الاختبارات اللونية للحموض النووية:

1) عزل الحمض النووي الريبي (RNA) وكشف مكوناته: Isolation of RNA:

المبدأ: نقوم في هذه التجربة بعملية عزل بسيطة وسريعة لـــ RNA من خلايا الخميرة، وذلك بسحق خلايا الخميرة مع الرمل الناعم، وتسمى هذه العملية بالتجانس، حتى نحصل على عجينة متجانسة، بوجود ماءات الصوديوم الممددة التي تساعد على سرعة تفكك RNA عن بقية مكونات الخلية، ثم نقوم بعد ذلك بعملية حلمأة في وسط قلوي. فتتم حلمأة الروابط الفوسفاتية ثنائية الأستر التي تربط بين الفوسفات والسكر في هيكل RNA. وبعد الانتهاء من الحلمهة القلوية نخضع المزيج إلى حلمهة حمضية (بإضافة حمض الكبريت) في الدرجة 100مْ ولمدة عشر دقائق فتتحلمة الروابط N – الغلايكوزيدية – البورينية والبريميدينية، وبالتالي تتفكك هذه الأسس عن الهيكل الرابط لها، وتتحرر في المحلول فيسهل عند ذلك كشفها وتقديرها.

بعد حلمأة RNA نقوم بكشف مكوناته في المحلول، فنكشف عن الرايبوز باختبار بيال الخاص بالسكريات الخماسية أو أي اختبار آخر مناسب، ونكشف عن الأسس النووية (البورين) بنترات الفضة، التي تشكل أملاح الفضة للبورينات وهي ذات أشكال مميزة، وأخيراً نكشف عن الفوسفات بكاشفه المعروف، موليبيدات الأمونيوم.

الأدوات والمحاليل:

1- دورق مخروطي سعة 125 سم^3.
2- هاون بورسلان.
3- بيشر سعة 50 سم^3.
4- حامل للأقماع.
5- قماش شاش.
6- أنابيب اختبار عدد 3.
7- كاشف بيال (الاورسينول): 1.5 غ أورسينول في 500 سم^3 حمض كلور الماء المركز، ثم أضف 20-30 قطرة 10% كلور الحديد.
8- خلايا خميرة جافة.

9- ماءات الصوديوم 0.2%.
10- حمض الكبريت 10%.
11- ماءات الأمونيوم 10%.
12- نترات الفضة 2%.
13- حمض الأزوت 10%
14- موليبيدات الأمونيوم (2.5 غ في 100 سم^3 حمض الكبريت 5 نظامي).

طريقة العمل:

يقوم كل طالبين بتجربة واحدة.

يمكن عزل RNA نموذجي من خلايا الخميرة. ضع في هاون نحو 5 غ من خلايا الخميرة الجافة ثم أضف كمية مماثلة من الرمل الناعم النظيف. اسحق المزيج، وأضف 15 سم^3 ماءات الصوديوم 0.2% تابع السحق حتى يصبح المزيج قشديا ناعم القوام. انقل المزيج إلى دورق مخروطي سعته 100 سم^3، اغسل الهاون بكميات صغيرة من ماءات الصوديوم ثم أضفها إلى الدورق المخروطي. أكمل الحجم إلى 50 سم^3 بماءات الصوديوم إذا كان ضرورياً. رج المزيج وسخنه لمدة نصف ساعة تقريباً على حمام مائي يغلي. رشح الناتج خلال عدة طبقات من الشاش (قماش الجبن)، ثم برد الرشاحة تحت الصنبور وأضف 20 سم^3 حمض كبريت 10%. سخن النواتج مرة ثانية في الحمام المائي بدرجة الغليان لمدة عشر دقائق. تكون الأن قد فصلت الحمض النووي الريبي وحلمأته بالحمض إلى مكوناته. استعمل ناتج الحلمأة في الكشف عن مكونات الحمض النووي.

1- كشف البورين (الأدنين والغوانين):

ضع 2 سم^3 من المحلول في أنبوب اختبار ثم أضف إليها 3 سم^3 10% محلول ماءات الأمونيوم، أتبعها ببضع نقاط من نترات الفضة. لاحظ النتائج.

2-كشف الرايبوز:

ضع 1 سم^3 من المحلول في أنبوب اختبار وأضف 3 سم^3 كاشف بيال، سخن حتى يبدأ المحلول بالغليان ولاحظ اللون المتكون.

3- كشف مجموعة الفوسفات:

ضع في أنبوب اختبار 1 سم^3 من المحلول، ثم أضف 1 سم^3 حمض الأزوت 10% و 2 سم^3 محلول موليبيدات الأمونيوم. سخن في حمام مائي لعدة دقائق ولاحظ التغيرات الحاصلة.

أضف بلورة صغيرة من كلور القصديري ولاحظ ظهور اللون الأزرق الخاص بوجود الفوسفات.

2) التقدير الكمي لـــ RNA بتفاعله مع الأورسينول:

Determination of RNA by means of orcinol reaction

المبدأ: تستعمل شروط حمضية قوية للتقدير اللوني للحموض النووية، منها اختبار بيال لتقدير RNA واختبار ديش (ثنائي فينيل أمين) لـــ DNA، تؤدي الشروط الحمضية القاسية إلى إزالة الماء من D- رايبوز، ويتشكل الفورفورال، ثم يتكاثف الفورفورال الناتج مع الأورسينول بوجود شوارد الحديد ويعطي نواتج ملونة، لها لون مميز هو الأزرق- المخضر وذات امتصاص أعظمي على الموجة 660 نانو متر.

المحاليل:

1- محلول الحمض النووي الريبي (50 ميكروغراما/سم^3): حل 50 ملغ RNA في 100 سم^3 ماء.

2- كاشف الاورسينول الحمضي: أضف 2 سم^3 من محلول 10% $Fe\ Cl_3.6H20$ إلى 400 سم^3 حمض كلور الماء المركز.

3- محلول الاورسينول الكحولي: حل 6 غ أورسينول في 100 سم^3 ايثانول 95%. احفظ هذا المحلول في زجاجة بنية مبردة. ثابت لمدة شهر واحد.

طريقة العمل:

سنقوم في هذه التجربة أولا بتحديد المنحني القياسي لتفاعل الاورسينول- RNA ثم نقوم بعدها بتقدير تركيز RNA في مستخلص خام من خلايا الخميرة.

1- تحضير المحاليل القياسية:

اتبع الإضافات الموجودة في الجدول التالي:

الإضافات سم^3	رقم الأنبوب			
	1	2	3	4
محلول قياسي	0.5	1.5	3	-
ماء	2.5	1.5	-	3
أورسينول حمضي	6	6	6	6
أورسينول كحولي	0.4	0.4	0.4	0.4
تركيز RNA ميكروغرام / سم^3	25	75	150	0

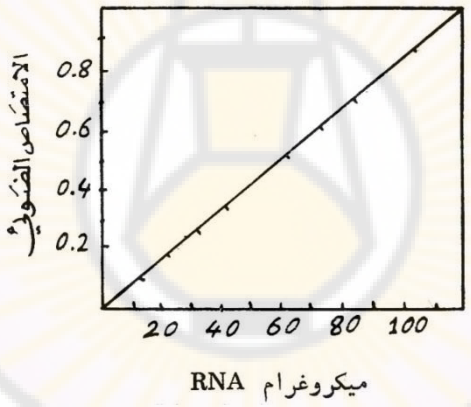
خض الأنابيب جيدا لتمتزج محتوياتها، ثم سخن الأنابيب في حمام مائي بدرجة الغليان لمدة 20 دقيقة. برد الأنابيب واقرأ الامتصاص الضوئي مستعملاً الموجة 660 نانومترا ضد الشاهدة (الأنبوب الرابع).

2- حضر عينة مجهول وذلك بأخذ 3 سم^3 منها و 6 سم^3 أورسينول حمضي و0.4 أورسينول كحولي وأكمل كما ورد بالنسبة لعينات المنحني القياسي.

3- ارسم العلاقة الكائنة بين تركيز RNA (على محور السينات) والامتصاص الضوئي (على محور العينات). هل يمر الخط المستقيم بالمركز؟ (الشكل 5).

4- الحساب: يمكن تطبيق أي من القواعد المعروفة في حساب تركيز RNA في العينة المجهولة.

$$\text{تركيز العينة المجهولة} = \frac{\text{الامتصاص الضوئي للمحلول}}{\text{الامتصاص الضوئي للمحلول القياسي}} \times \text{تركيز المحلول القياسي}$$



الشكل (5) يبين المنحني القياسي لتقدير RNA

3) التقدير الكمي لـــ DNA بتفاعل ثنائي فينيل أمين:

Determination of DNA by mean of Diphenylamine reaction

المبدأ: يعطي DNA نتائج إيجابية محدودة بتفاعله مع الاورسينول، فتزيل المعاملة بالحمض الأسس البورينية من DNA، وتعطي 2-دي أوكسي D- رايبوز، الذي ينزع منه الماء ويكون مركبات شبيهة بالفورفورال تتكاثف وبشكل محدود مع الاورسينول، والواقع أن تفاعل DNA مع الاورسينول محدود وغير كاف ليصبح طريقة كمية معتمدة. فهو يعطي مردوداً لا يتجاوز 10% والسبب في ذلك عائد إلى أن 2-دي أوكسي D- رايبوز المتحرر من المعاملة الحمضية لا ينزع منه الماء مباشرة، ويكون بالتالي مشتقات الفورفورال، بل ينزع الماء من

2–دي أوكسي D– رايبوز بطريقة أخرى، هي الأساس الذي يعتمد عليه التفاعل اللوني الذي يستعمل فيه ثنائي فينيل أمين.

يعطى نزع الماء من الشكل المفتوح لـــ 2–دي أوكسي D– رايبوز ألدهيد خاصاً يسمى D–هيدروكسي ليغولينيل ألدهيد بدلاً من الفورفورال، الذي يتكاثف مع ثنائي فينيل أمين ويعطي مجموعة من مواد ملونة، لها امتصاص ضوئي أعظمي بالموجة 595 نانومترا.

يشبه هذا التفاعل بشكل عام تفاعل الاورسينول، فيتفاعل من DNA النيوكليوتيدات الحاوية على البورين. تحتوي أنواع DNA الطبيعية على 50% نيوكليوتيدات بورينية، ولذلك فان الطريقة اللونية التي يدخل فيها ثنائي فينيل أمين طريقة كمية كافية لتقدير DNA، إذا قورنت بمحاليل قياسية ذات تركيز من DNA معروف.

المحاليل:

1– كاشف ثنائي فينيل أمين: امزج 5غ من ثنائي فينيل أمين مبلور ونقي (تجري بلورته باستخدام ايثير البترول أو 70% ايتانول) مع 500 سم^3 حمض خل مركز، ثم أضف 13.8 سم^3 حمض الكبريت المركز. هذا الكاشف ثابت لمدة ستة أشهر بالدرجة 2مْ.

2– محلول DNA القياسي (0.5 ملغ/سم^3). ضع 25 ملغ من DNA في 50 سم^3 ماء. لاحظ أنه من الصعب إذابته في الماء لذا اغل لبرهة قصيرة، أو أضف 0.1 ملغ من DNA ase (أنزيم مستحضر تجارياً). هذا المحلول ثابت لمدة أسبوعين بالدرجة 2 مْ، ولمدة سنة في الدرجة –15 مْ.

3– محلول سيترات ملحي مركز: حل 8.77 غ كلور الصوديوم و 4.4 غ من سيترات ثلاثية الصوديوم ثنائية الماء في 90 سم^3 ماء ثم أكمل الحجم إلى 100 سم^3 بالماء.

4– محلول سيترات ملحي ممدد: خذ 55 سم^3 من المحلول المحضر في البند 3 وأكمل الحجم إلى 500 سم^3.

طريقة العمل:

1– حضر الأنابيب اللازمة لعمل منحن قياسي وفق المخطط التالي:

الإضافات سم^3	رقم الأنبوب			
	1	2	3	4
DNA قياسي	1	2	3	0
ماء	2	1	–	3
كاشف ثنائي فينيل أمين	6	6	6	6
تركيز DNA (ملغ)	0.5	1	1.5	–

2- امزج محتويات الأنابيب، ثم ضعها في حمام مائي بدرجة الغليان لمدة 10 دقائق، بردها.
3- ثبت طول موجة المطياف الضوئي على الرقم 595 نانومترا. اضبط إبرة الجهاز على الصفر بعد أن تضع فيه العينة الشاهدة (الأنبوب 4)، ثم اقرأ الامتصاص الضوئي للأنابيب 1-3.
4- ارسم العلاقة البيانية التي تربط الامتصاص الضوئي (على محور العينات) مع تركيز DNA (على محور السينات).
5- تقدير العينة المجهولة:

يقدر تركيز DNA في العينة المجهولة، سواء أكانت تحضيرات مخبرية أم عينة تجارية، بحلها في محلول سيترات ملحي ممدد، ويعمل تمديد مناسب للعينة المجهولة، ثم يؤخذ من المحلول الناتج 1 سم^3، 2 سم^3، 3 سم^3 ويكمل الحجم إلى 3 سم^3 بالماء المقطر، ويجري إكمال التحليل كما هو وارد أعلاه.

ملاحظة:

يمكن استخلاص DNA والكشف عنه مخبريا من عضلة لحم بقر وفق الطريقة التالية:

أضف في أنبوب اختبار 2 غ من عضلة لحم بقر مطحونة جيداً إلى 10 سم^3 من محلول حمض الخل ثلاثي الكلور 10%. ضع الأنبوب في حمام مائي درجة حرارته نحو 90 مْ لمدة ربع ساعة تقريباً مع الرج أو التحريك عدة مرات خلال ذلك، رشح الناتج وبرد الرشاحة ثم خذ 2 سم^3 منها في أنبوب اختبار وأضف إليها ضعف حجمها من كاشف ثنائي فينيل أمين المحضر حديثاً. سخن الناتج في حمام مائي يغلي لمدة 10 دقائق ولاحظ تشكل لون أزرق دلالة على وجود DNA.

الجلسة العملية التاسعة

اختبارات الفيتامينات: Vitamins Test

9-1- الطرائق الكيميائية:

وهي تشمل استعمال طرق التحليل الكيميائي الطيفي أو غيره لتقدير الفيتامينات.

9-2-الطرائق الميكروبيولوجية:

مثل تقدير فيتامين B12 (سيانوكوبالامين) وحمض فوليك ... الخ.

9-3-الطرائق البيوكيميائية:

والتي يتم فيها استخدام الأنزيمات في تقدير الفيتامينات.

4-طرق يتم فيها استخدام حيوانات مخبرية مثل الفأر لتقدير الفعالية الحيوية كفيتامين D مثلاً وفيتامين K.

يعد تقدير الفيتامينات في الأغذية العادية الطبيعية وفي السوائل الفيزيولوجية والنسج ذا صعوبة كبيرة نظراً لوجود الكثير من المواد البيولوجية الأخرى التي يجب إزالتها بإحدى الطرق المعتمدة، يضاف إلى ذلك وجود الفيتامينات، وخاصة في النسج والسوائل الفيزيولوجية، بتراكيز ضئيلة، تعيق المواد الأخرى كشفها وتقديرها. وسنعرض فيما يلي لبعض هذه الفيتامينات وأهم اختباراتها اللونية.

(١) تقدير فيتامين (A):

يتكون فيتامين A من سلسلة جانبية غير مشبعة متمثلة بوحدات الايزوبرين ومتصلة بحلقة أيونون. ويوجد لهذا الفيتامين أكثر من مركب فعال حيوياً، وقد اصطلح على تسمية المركب الكحولي ريتينول بفيتامين A_1 وهو قابل للأكسدة إلى ريتينال (فيتامين A_1 الدهيد). أما فيتامين A_2 بصورتيه الكحولية والألدهيدية فيختلف عن A_1 بوجود رابطة زوجية في حلقة الأيونون بين الذرتين 3 و 4.

يوجد فيتامين A في المملكة الحيوانية ويتركز في الكبد والحليب والبيض، أما في النباتات فتوجد صبغات الكاروتينات الصفراء التي تتحول في الجسم إلى فيتامين A- فمثلاً يعطي جزيء بيتا كاروتين المتناظر جزيئين من فيتامين A_1 بينما يعطي كل من ألفا وجاما - كاروتين جزيئاً واحداً فقط لأنهما غير متناظرين.

المبدأ: يستخلص فيتامين A مع اللبيدات من المواد البيولوجية ثم تجري عملية تصبن على هذا المستخلص، بعدها يفصل بالاثير قبل إجراء التقدير الكيميائي.

يوجد فيتامين A في الثمالة الباقية بعد عملية التصبن، والتي تسمى ثمالة العينة غير القابلة للتصبن، ولذلك يظهر في طبقة الأثير، ويجب أن يتم هذا الجزء من تقدير فيتامين A في الظلام لحساسية فيتامين A كحول للضوء.

يقدر فيتامين A بعد استخلاصه بقياس شدة اللون الأزرق المتكون من إضافة محلول لا مائي من ثلاثي كلور الانتموان في الكلوروفورم إلى مستخلص طبقة الأثير. وتؤخذ قراءة المطياف الضوئي بعد عشر ثوان، وتقارن مع سلسلة من القراءات لمحاليل قياسية.

تجدر الملاحظة أن الفعالية الحيوية لفيتامين A في الغذاء لا يمكن تقديرها بمعرفة تراكيز الفيتامين كما تعطيها الطرائق الكيميائية، لتواجد أشكال متعددة من هذا الفيتامين تختلف بشدة فعاليتها البيولوجية. وتعتمد الفعالية البيولوجية أيضاً على وجود ليبيدات أخرى والمواد الغذائية المرافقة له في الغذاء المقدم للحيوانات، ولهذه الأسباب فإن الطرائق البيولوجية التي تعتمد على الفئران لا تزال قيد الاستعمال وخاصة إذا كان المطلوب معرفة الفعالية الحيوية للفيتامين. تعرف الوحدة الدولية من فيتامين A (IU) بأنها الفعالية التي يعطيها 0.30 ميكروغراماً من فيتامين A كحول، والتي تساوي 0.344 ميكروغراماً من فيتامين A خلات.

المحاليل:

1- عينات تحليل: زبدة، زيت سمك، كبد،... الخ .

2- ماءات البوتاسيوم (حل 50غ في 100 سم3 ماء) .

3- ماءات البوتاسيوم الكحولية (خذ حجما من ماءات البوتاسيوم المائية المحضرة في الفقرة السابقة وعشرة حجوم كحول).

4- ايثير (خال من البيروكسيد).

5- مشعر فينول فتالين.

6- كبريتات الصوديوم اللامائية.

7- كلوروفورم مجفف فوق كبريتات الصوديوم.

8- كاشف ثلاثي كلور الانتموان: حضر محلول 25% ثلاثي كلور الانتموان في الكلوروفورم، حل المادة الصلبة بالتحريك لمدة ساعة مع التسخين اللطيف، رشح واحفظ في زجاجة بنية جافة.

9- محلول فيتامين A القياسي: يستحصل عليه عادة كمحلول زيتي لفيتامين A خلات.

10- جهاز زجاجي يصلح لعملية التصبن.

11- قمع فصل سعة 250 سم3

12- ماءات البوتاسيوم تركيز 0.2 نظامي.
13- بلاماء حمض الخل.
14- حمام مائي.

طريقة العمل:

1- التصبن: زن كمية من العينة تحتوي على 50-500 وحدة دولية من فيتامين A في كأس زجاجي، ثم انقلها إلى دورق ذي قاعدة مدورة سعته 250 سم^3. زن الكأس الزجاجي مرة ثانية واحسب الوزن الصحيح من العينة المنقولة فعلاً إلى الدورق الكروي، تعد كمية 0.1-1غ من زيت السمك أو 5 غ من الزبدة أو المارغارين عينة ملائمة للتحليل.

أضف 10 سم^3 من ماءات البوتاسيوم الكحولية، ثم سخن تحت مكثف عاكس لمدة 30 دقيقة. يجب أن تتم هذه الخطوات والعمليات الأتية في جو مخبري مظلم أو ضمن زجاج غامق اللون.

2- الاستخلاص: برد الدورق إلى درجة حرارة الغرفة، واغسل المبرد العاكس به 10 سم^3 ماء. انقل المزيج المتصبن إلى قمع فصل واغسل الدورق الكروي بنفس حجم ماءات البوتاسيوم الكحولية التي استعملتها بالتصبن.

أضف 50 سم^3 ايثير إلى الدورق الكروي، اغسل وانقلها إلى قمع الفصل، لا تمزج بشدة حتى لا يتشكل طور استحلاب، وإذا تشكل فأزله بإضافة بضع قطرات من الكحول أو الماء. أفصل الطبقة المائية السفلى إلى الدورق الكروي وانقل طبقة الايثير العلوية إلى قمع فصل آخر سعة 250 سم^3.

أعد عملية الاستخلاص بالايثير ثلاث مرات أخرى واجمع مستخلص الايثير مع بعضه. اغسل مستخلص الايثير بـــ 50 سم^3 ماء، ثم بـــ 50 سم3 من KOH (0.2 نظامي) لإزالة آثار الصابون الذواب في الاثير وخض عدة مرات بـــ 50 سم3 ماء حتى تزول آثار القلوي من ماء الغسيل الذي يعرف من إضافة بضع نقاط من الفينول فتالين.

جفف مستخلص الايثير بإضافة كبريتات الصوديوم اللامائية واخفض حجم المستخلص بالتسخين في حمام مائي ضمن خزانة شفط الغازات.

بخر مستخلص الايثير حتى تمام الجفاف باستعمال تيار من النتروجين وبدرجة حرارة الغرفة، ثم حل الراسب مباشرة بـــ 10 سم^3 كلورو فورم.

3- القياس اللوني:

(1) شغل المطياف الضوئي على الموجة 620 نانومتر.

(2) ضع إبرة القياس على الصفر باستعمال 0.5 سم3 كلوروفورم و3 سم^3 محلول $Sb\ Cl_3$ كعينة شاهدة.

(3) أضف 0.5 سم^3 من المحلول المختبر إلى الخلية الزجاجية (Cuvette) اتبعها بـــ 3 سم^3 كاشف ثلاثي كلور الانتموان ثم ضع الخلية الزجاجية مباشرة في المسار الضوئي للجهاز وخذ القراءة.

سجل الامتصاص الضوئي للعينة، مدد العينة إذا كانت القراءات عالية.

4- تحضير المحلول القياسي:

خذ حجماً من المحلول القياسي فيه 1.5 ملغ فيتامين A كحول، في 100 سم^3 كلوروفورم واستعمله لإنشاء المنحني القياسي.

5- قراءات المحلول القياسي Standards :

تقارن القراءات التي تعطيها العينات مع سلسلة من المحلول القياسي لفيتامين A في الكلوروفورم حاوية على 5-25 وحدة دولية في سم^3.

استعمل عينة شاهدة بإضافة 0.5 سم^3 كلوروفورم و 3 سم^3 ثلاثي كلور الانتموان. أحذف قراءة العينة الشاهدة من قراءات العينات والقراءات التي تعطيها المحاليل القياسية قبل إجراء الحسابات. إذا حصلت على محلول ملون عكر فأعد القراءات بإضافة نقطة من بلا ماء حمض الخل لإزالة أثار الماء الموجودة.

وأخيراً تأكد من عدم ضياع فيتامين A أثناء العمليات المتعددة (تصبن، استخلاص بالاثير) بوضع محلول قياسي من فيتامين A محتو على 50-500 وحدة دولية وإجراء خطوات العينة المختبرة نفسها.

جدول يبين الإضافات اللازمة للحصول على منحن قياسي لتقدير فيتامين (A)

الإضافات مل	رقم الأنبوب					
	1	2	3	4	5	6
محلول قياسي	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	-
كلوروفورم	0.4	0.3	0.2	0.1	-	0.5
ثلاثي كلور الانتموان	3	3	3	3	3	3
ميكروغرام فيتامين A كحول	1.5	3	4.5	6	7.5	0
عدد الوحدات الدولية	5	10	15	20	25	0

ملاحظة (1):

1- امزج كل أنبوب لوحده واقرأ مباشرة على الجهاز.

2- يجب القراءة على الجهاز خلال نصف دقيقة من إضافة ثلاثي كلورالانتموان، لذا ضع الإضافات في كل أنبوب على حدة واقرأ الامتصاص الضوئي، أضف ثلاثي كلور الانتموان كآخر محلول.

ملاحظة (2):

اجر اختباراً كيفياً مستعملاً زيت الزيتون وزيت السمك ويتم ذلك بوضع 3 سم^3 من كاشف ثلاثي كلور الانتموان في أنبوبي اختبار وإضافة قطرة من زيت الزيتون إلى الأنبوب الأول وقطرة من زيت السمك إلى الأنبوب الثاني ومقارنة اللونين الناتجين.

ملاحظة (3):

إذا لم يتوافر ثلاثي كلور الانتيموان استخدم محلولاً مشبعاً من ثلاثي كلور حمض الخل في الكلوروفورم. أضف إلى 3 سم^3 منه قطرتين من زيت السمك ورج المزيج ولاحظ اللون الناتج الذي يدل على وجود فيتامين A.

(2) تقدير فيتامين (D):

وهو الفيتامين المضاد للكساح ولين العظام لأنه يساعد على امتصاص الكالسيوم من الأمعاء وعلى تثبيته في العظام. يتبع فيتامين D مركبات الستيرولات ويضم مجموعة مركبات لها جميعاً فعل الفيتامين وتوجد في الحليب وصفار البيض وزيت السمك، كما تتشكل من ستيرولات الجلد عند تعريضه لأشعة الشمس أو للأشعة فوق البنفسجية. يوجد الأرغوستيرول (مولد فيتامين D2) في أوراق النباتات الخضراء والفطور والخمائر ويتحول أيضاً بوساطة الأشعة فوق البنفسجية (U. V.) إلى فيتامين D2 المسمى أرغو كالسيفيرول.

يعطي محلول ثلاثي كلور الأنتيموان بالكلوروفورم مع فيتامينD لونا برتقالياً أصفر، وله امتصاص أعظمي بالموجة 500 نانومتر، على عكس فيتامين A الذي يعطي مع الكاشف نفسه لونا أزرق عند الموجة 620 نانومترا. ومن أجل تقدير كمية فيتامين D بدقة في العينة يجب عزل المواد التي تعيق التقدير، لأنها تتفاعل مع الكاشف المذكور. ومن أمثلة المواد التي تتفاعل مع ثلاثي كلور الأنتيموان إلى جانب فيتامين A نذكر مولد فيتامين D ومشتقات حمض الليمون وغيرها. وسوف نكتفي هنا بطريقة مبسطة تساعدنا على الكشف الكيفي عن فيتامين D في العينات الغذائية من خلال تفاعله مع كاشف الأنيلين.

المبدأ: يعطي فيتامين D مع كاشف الأنيلين معقدات ذات لون أحمر.

المحاليل:

1- زيت سمك.

2- أنيلين- حمض كلور الماء المركز (15 : 1 حجماً لحجم).

طريقة العمل:

ضع في أنبوب اختبار جاف ونظيف نحو 1 سم^3 من زيت السمك ثم أضف إليها 1 سم^3 من كاشف الأنيلين في حمض كلور الماء المركز، رج المزيج وسخن بحذر مع التحريك المستمر وحتى الغليان واغل لمدة 0.5 دقيقة. يتحول المستحلب الأصفر، الذي يحتوي على فيتامين D، إلى أخضر في البدء ثم أحمر. وينفصل المستحلب خلال 1-2 دقيقة إلى طبقتين: السفلى بلون أحمر كرزي.

(3) الكشف عن فيتامين B1 أو الثيامين:

وهو من الفيتامينات المهمة والضرورية لاستقلاب الكربوهيدرات، حيث يسبب نقصه في الغذاء مرض الهزال المعروف باسم Beri Beri والمصحوب عادة باضطرابات عصبية. وتكمن أهميته الحيوية في دخوله في تركيب مرافق أنزيمي مهم يدعى ثيامين ثنائي فوسفات (TPP)، الذي يلعب دوراً مهماً في أكسدة الحموض الكيتونية ونزع مجموعتها الكربوكسيلية وفي نقل مجموعة الكربونيل (لمزيد من التفاصيل راجع الجزء النظري لمقرر الكيمياء الحيوية).

يحتوي الثيامين في تركيبه على حلقة بيريميدين وحلقة ثيازول.

تعد طريقة الفلورة من أكثر الطرائق تمييزاً لتقدير كمية فيتامين B1 في المواد الغذائية وتدعى بطريقة ثيوكروم. هذه الطريقة تعتمد على أكسدة الثيامين في الوسط القلوي إلى ثيوكروم، وتملك هذه المركبات لون أزرق مع تفلور واضح يمكن قياس شدته بدقة كبيرة، وبالعودة إلى محاليل قياسية من هذا الفيتامين يمكن تقدير كمية هذا الفيتامين في أي عينة غذائية. ومن الطرائق اللونية البسيطة المستخدمة في الكشف الكيفي عن هذا الفيتامين نذكر الطريقة التالية:

المبدأ: يتفاعل فيتامين B1 (الثيامين) مع أملاح البيزموث مؤدياً إلى تشكيل معقدات أو رواسب ملونة.

المحاليل:

1- محلول الثيامين (1 ملغ/سم^3).

2- كاشف البيزموث: يحضر الكاشف بإذابة 2 غ من نترات البيزموث Bi(NO3)3 في 500 سم^3 من يود البوتاسيوم 5%. يترك الكاشف بضع ساعات ثم نجري له عملية ترشيح لإزالة الرواسب قبل الاستعمال.

طريقة العمل:

أضف نحو 1 سم^3 من محلول الثيامين إلى 5 سم^3 من كاشف البيزموث في يود البوتاسيوم ولاحظ الراسب الملون الناتج الذي يدل على وجود حلقة الثيازول.

(4) الكشف عن فيتامين B2 أو الرايبوفلافين:

تعزي الأهمية الحيوية لهذا الفيتامين إلى دخوله في تركيب مرافقين أنزيميين مهمين هما الفلافين أحادي النيوكليوتيد (FMN) والفلافين أدنين ثنائي النيوكليوتيد (FAD). يدخل هذان المرافقان في تركيب الفلافوبروتينات المحتوية على الأنزيمات النازعة للهيدروجين ذات الأهمية الكبيرة في تفاعلات الأكسدة والإرجاع الحيوية (راجع الجزء النظري من مقرر الكيمياء الحيوية). وبالاعتماد على نوع العينة الغذائية المراد تحليلها يستخدم في تقدير فيتامين B2 الطرق التالية:

(1) قياس اللون الأصفر- الأخضر للرايبوفلافين المتفلور.

(2) طريقة لومي فلافين: وضع الرايبوفلافين في محلول قلوي فيتشكل لدينا لومي فلافين الذي يتم تقديره، بعد عزله من الوسط بالكلوروفورم، بوساطة التحليل الضوئي أو التفلور.

(3) قياس شدة اللون الأصفر المميز للرايبوفلافين بالمطياف الضوئي.

(4) طريقة فرق الكمون الاستقطابي Polarographimetric:

وقد جرت العادة على استخدام الطريقتين الأولى والثانية في تحليل المواد الغذائية، أما الطريقة الثالثة والطريقة الرابعة فغالباً ما تستخدم في اختبارات المستحضرات الصيدلانية. ومن أجل الكشف السريع عن وجود هذا الفيتامين نلجأ إلى الطريقة التالية:

المبدأ: تستطيع حلقة الفلافين أن تستقبل على ذرتي النيتروجين 1 و 10 (أو تعطي منهما) ذرتي هيدروجين فتتحول بذلك من الصورة المؤكسدة ذات اللون الأصفر المخضر إلى الصورة المرجعة عديمة اللون والعكس صحيح.

المواد والمحاليل:

1- محلول فيتامين B2 (الرايبوفلافين): 0.2 ملغ/سم^3.

2- محلول حمض كلور الماء الممدد (1: 1)

3- توتياء على شكل مسحوق.

طريقة العمل:

ضع في أنبوب اختبار جاف ونظيف 1 سم3 من محلول الرايبوفلافين المحفوظ في زجاجة عاتمة وأضف إليه 1 سم^3 من محلول حمض كلور الماء الممدد. أضف إلى المزيج قطعة صغيرة من التوتياء ولاحظ تغير اللون الأصفر للرايبوفلافين نتيجة إرجاعه بالهيدروجين الناتج ويصبح المحلول في النهاية عديم اللون. رج المحلول واتركه بضع دقائق ولاحظ عودة اللون الأصفر إلى الطبقة العليا منه نتيجة لتأكسد الرايبوفلافين المرجع بأوكسجين الهواء.

(5) فيتامين C أو حمض الأسكوربيك: Vitamin C (Ascorbic acid)

هو من الفيتامينات الذوابة في الماء والقابلة للتبلور بسهولة. ومن أهم خصائصه قدرته الكبيرة على إعطاء ذرتي هيدروجين (في تفاعل عكوس) فيتحول إلى حمض أسكوربيك منزوع الهيدروجين الذي يمتلك الفعالية الحيوية نفسها كفيتامين.

وتجدر الإشارة إلى أن هذا الفيتامين شديد الحساسية تجاه الأوكسجين الهوائي، حيث يتأكسد بسهولة وخاصة في المحاليل القلوية وبوجود شوارد النحاس والحديد.

يوجد طرق عديدة ومختلفة لتقدير حمض الأسكوربيك وحمض الأسكوربيك منزوع الهيدروجين. وكافة هذه الطرق تعتمد على القدرة الإرجاعية القوية لهذا الفيتامين. يمكن تقسيم جميع طرائق تقدير حمض الأسكوربيك إلى:

آ- طرائق المعايرة:

يوجد عدة طرائق للمعايرة ويستخدم منها ثلاث طرائق بشكل واسع.

1- المعايرة بوساطة محلول اليود: تستخدم هذه الطريقة فقط عند وجود محلول نقي من حمض الأسكوربيك ولا تستخدم في تحليل المواد الطبيعية نتيجة تفاعل اليود مع المواد الأخرى المرافقة وإعطاء نفس النتائج.

2- المعايرة بوساطة 2-6 ثنائي كلوروفينول اندوفينول، الذي يعمل على أكسدة حمض الأسكوربيك إلى حمض الاسكوربيك منزوع الهيدروجين ويتحول بنفسه إلى الشكل المرجع، وهي طريقة معتمدة في كتب التحليل.

3- المعايرة بوساطة ازرق الميثيلين: تعتمد هذه الطريقة على إرجاع أزرق الميثلين بوساطة حمض الأسكوربيك وتحول هذا الأخير إلى حمض أسكوربيك منزوع الهيدروجين.

ب- الطرق الفيزيائية:

تعد طريقة التحليل الضوئي اللوني من الطرق المميزة التي تحول حمض الأسكوربيك إلى حمض الأسكوربيك منزوع الهيدروجين وتعطي لونا أحمر بوساطة المركب 2-4 ثنائي

نتروفينيل هيدرازين. وبقياس شدة اللون الناتج يمكن تقدير كمية فيتامين C في العينة المختبرة.

ج- الطرق الفيزيائية والفيزيوكيميائية:

تعتمد هذه الطرائق على استخدام الخواص الامتصاصية لحمض الأسكوربيك. ومن أمثلة هذه الطرق تقدير حمض الأسكوربيك بوساطة الكروماتوغرافيا الورقية أو غيرها من الطرائق الكروماتوغرافية.

د- الطرق الحيوية:

تعتمد هذه الطرائق على التأثير الأنزيمي، حيث يمكن التخلص من حمض الأسكوربيك بتأثير أنزيم أسكوربات أوكسيداز (Ascorbate oxidase) ويتم التقدير قبل وبعد التأثير الأنزيمي وذلك عن طريق المعايرة بوساطة 2-6 ثنائي كلوروفينول أندوفينول.

يضاف إلى ما تقدم مجموعة أخرى من الطرق الكيميائية التي تعتمد أساساً على القدرة الإرجاعية لفيتامين C. ومن خلال هذه الدراسة المبسطة سوف نتعرض باختصار إلى أهم الطرائق المستخدمة بشكل واسع في الكشف عن وجود هذا الفيتامين في العينات الغذائية المختلفة وتقديره كمياً.

أولاً: الاختبارات اللونية للكشف عن فيتامين C (حمض الاسكوربيك):

1-اختبار ازرق الميثيلين:

المبدأ: يعتمد هذا الاختبار على إرجاع أزرق الميثيلين (ذي اللون الأزرق) بوساطة حمض الاسكوربيك إلى مركب عديم اللون. ويتحول حمض الاسكوربيك إلى حمض الاسكوربيك منزوع الهيدروجين.

المحاليل:

1- محلول حمض الاسكوربيك 1 %.

2- كربونات الصوديوم 5%.

3- ازرق الميثيلين 0.1%.

4- عصير فاكهة.

طريقة العمل:

ضع في أنبوب اختبار جاف ونظيف 1 سم^3 من محلول حمض الاسكوربيك وثلاث قطرات من محلول كربونات الصوديوم، ثم أضف إلى المزيج قطرتين من محلول أزرق الميثيلين.

رج الناتج ولاحظ زوال اللون الأزرق نتيجة لإرجاع أزرق الميثيلين في الضوء بوساطة حمض الاسكوربيك.

أعد الخطوات السابقة نفسها مع عصير الفاكهة ومع الماء المقطر. سجل نتائجك وعللها.

2-اختبار كبريتات الحديدي:

المبدأ: يتفاعل حمض الاسكوربيك مع كبريتات الحديدي مؤدياً إلى تشكل ناتج ملون.

المحاليل:

1- محلول حمض الاسكوربيك 1%.

2- محلول ماءات الصوديوم 10%.

3- كبريتات الحديدي 5%.

طريقة العمل:

ضع في أنبوب اختبار جاف ونظيف 2 سم^3 من محلول حمض الاسكوربيك وثلاث نقاط من محلول ماءات الصوديوم، ثم أضف إلى المزيج مثل حجمه تقريباً من محلول كبريتات الحديدي. اترك الناتج لعدة دقائق حتى ظهور اللون الدال على وجود حمض الاسكوربيك. أعد نفس الخطوات السابقة مع عصير الفاكهة ومع الماء المقطر سجل نتائجك وعللها.

ثانياً: تقدير حمض الاسكوربيك بوساطة كاشف 2-6 ثنائي كلوروفينول اندوفينول:

المبدأ: تتم معايرة حمض الاسكوربيك بوساطة كاشف 2-6 ثنائي كلوروفينول اندوفينول ذي اللون الأزرق، بحيث يتأكسد إلى حمض اسكوربيك منزوع الهيدروجين. ويختزل الكاشف إلى الشكل المرجع عديم اللون.

يستفاد من هذا التفاعل في التقدير الكمي لحمض الاسكوربيك بالمعايرة مع محلول الكاشف الذي سبق تحديد قوته بمحلول قياسي من الحمض النقي. وتجدر الإشارة إلى أن الناتج وهو حمض الاسكوربيك منزوع الهيدروجين (الشكل المؤكسد الحمض الاسكوربيك) يمتلك الفعالية الحيوية لفيتامين C ولكنه لا يختزل الكاشف ولذلك فإن هذه الطريقة تصلح فقط عند عدم وجود نسبة عالية من الحمض المنزوع الهيدروجين في المواد المراد تقدير فيتامين C فيها كما هو الحال في العصائر الطازجة والمستحضرات الصيدلانية. أما في المواد الأخرى (كالأغذية المعاملة بالحرارة) فلابد من اختزال حمض الاسكوربيك منزوع الهيدروجين وتحويله إلى حمض اسكوربيك حتى يمكن تقدير كمية فيتامين C الكلية. ولتحقيق هذه الغاية فقد جرت العادة على اختزال حمض الاسكوربيك منزوع الهيدروجين بوساطة كبريت الهيدروجين H_2S. تعتمد سرعة تفاعل حمض الاسكوربيك مع الكاشف 2-6 ثنائي كلوروفينول اندوفينول، على تركيز شوارد الهيدروجين، ويتم التفاعل ببطء في الوسط المتعادل والقلوي ولكن من الصعب ملاحظة تغير اللون على اعتبار أن محلول الكاشف يتلون بسرعة بتأثير أوكسجين الهواء، علاوة عن سهولة تأكسد حمض الاسكوربيك في محاليله بالأوكسجين الجوي وبخاصة في الأوساط القلوية. أما في الوسط الحمضي فيتم التفاعل بشكل

جيد مع ملاحظة مراعاة درجة الحموضة. ولقد تبين بنتيجة التجربة أن أفضل معايرة تتم على درجة حموضة تتراوح بين 4 و 6 (pH = 4–6) لأن الوسط الحمضي القوي يؤدي إلى تفكك الكاشف 2–6 ثنائي كلوروفينول اندوفينول، ونحصل بذلك على كمية مستهلكة من هذا الكاشف غير حقيقية، ومن الأحماض المستخدمة عادة في استخلاص ومعايرة فيتامين C حمض الخل أو حمض ثلاثي كلور الخل أو حمض ميتافوسفوريك أو حمض الاوكزاليك، وهذان الأخيران يؤثران أيضاً بتشكيل معقدات مع بعض الشوارد (كالنحاس) التي تسرع من أكسدة حمض الاسكوربيك عند وجودها.

المحاليل:

1- عصير حمضيات طازج.

2- محلول حمض أوكزاليك 0.4%

3- محلول قياسي لحمض اسكوربيك (0.2 ملغ/سم^3) يحضر على النحو التالي: أذب 40 ملغ حمض اسكوربيك نقي في 100 سم^3 من محلول حمض أوكزاليك 0.4% ثم انقلها كمياً باستخدام الماء المقطر إلى دورق معياري سعة 200 سم^3 وأكمل الحجم بالماء المقطر إلى العلامة.

4- محلول كاشف 2–6 ثنائي كلوروفينول اندوفينول: أذب 42 ملغ بيكربونات صوديوم في 50 سم^3 من الماء المقطر، ثم أضف للناتج 50 ملغ من الملح الصودي للصبغة ورج جيداً لإتمام ذوبان الصبغة. أكمل الحجم إلى 200 سم^3 بالماء المقطر ثم رج الناتج ورشحه واستقبل الرشاحة في زجاجة عاتمة ذات غطاء محكم (مصنفر) واحفظها في البراد لمدة لا تزيد على ثلاثة أيام.

طريقة العمل:

1-تقدير قوة محلول الكاشف2–6 ثنائي كلوروفينول اندوفينول:

خذ 10 سم^3 من المحلول القياسي لحمض الاسكوربيك (تحتوي على 2 ملغ) في دورق مخروطي وعايره بمحلول الكاشف الموضوع في السحاحة حتى الحصول على لون وردي فاتح يدوم مع الرج لمدة 30 ثانية على الأقل. يفضل إجراء المعايرة بسرعة ما أمكن وتكرار التجربة حيث يجب أن لا تختلف النتيجتان بأكثر من 0.1 سم^3. تحسب قوة الكاشف بالميليغرامات من حمض الأسكوربيك التي تعادل 1سم^3 منه. فإذا كان متوسط نتيجتي المعايرة ح فإن قوة محلول الكاشف = $\frac{2}{ح}$ ملغ حمض اسكوربيك لكل سم^3 من محلول الكاشف.

2- تقدير كمية حمض الاسكوربيك في العصير:

خذ 100 سم^3 من العصير ومددها بمثل حجمها من محلول حمض الأوكزاليك 0.4% رج الناتج ورشحه (إذا لم يكن رائقاً) خلال ورق سريع الترشيح ثم خذ من الرشاحة 10 سم^3 وهي عينة تعادل 1/20 من حجم العصير وعايرها بمحلول الكاشف حتى ظهور لون وردي أو بنفسجي فاتح يدوم مع الرج لمدة 30 ثانية على الأقل. كرر التجربة وخذ متوسط تجربتين لا يزيد الفرق بينهما على 0.1 سم3. إذا تعذر تحديد نقطة انتهاء المعايرة يضاف أثناء المعايرة 2 سم^3 من الكلوروفورم ويحدد انتهاء المعايرة بظهور اللون البنفسجي في طبقة الكلوروفورم.

3- الحساب:

يحسب تركيز حمض الاسكوربيك بالميلليغرام في 100 سم^3 من العصير الأصلي. فإذا كانت نتيجة معايرة العصير ح1 فإن تركيز حمض الاسكوربيك يساوي:

$$\text{ح1} \times \frac{2}{\text{ح}} \times 20 = (40 \frac{\text{ح1}}{\text{ح}})$$ ملغ في 100 سم^3 عصير.

ملاحظة 1:

تكون نتيجة التحليل أكثر دقة عندما تتراوح قيمة كل من ح1 وح بين 5 و15 سم3.

ملاحظة 2:

يتفكك الكاشف 2-6 ثنائي كلوروفينول اندوفينول بسهولة، فيصبح تحديد نقطة انتهاء المعايرة غير ممكن ولذلك يجري اختبار صلاحية المحلول المحضر منها كما يلي:

أضف كمية زائدة من بللورات حمض الاسكوربيك (عدة ميلليغرامات) إلى 5 سم^3 محلول حمض اوكزاليك 0.4% ثم أضف الناتج إلى 10 سم^3 تقريباً من محلول الكاشف. إذا لم ينتج بعد الرج محلول عديم اللون فإن محلول الكاشف يكون غير صالح للمعايرة. حضر محلولاً جديداً من الكاشف واختبره بالطريقة نفسها فإذا لم ينتج محلول عديم اللون بعد إضافة محلول حمض الاسكوربيك فإن العبوة الأصلية للكاشف تكون غير نقية أو تكون متفككة وبالتالي لا تصلح للاستعمال.

ملاحظة 3:

من الناحية النظرية كل 1 سم^3 من 0.001 نظامي من الكاشف المحضر حديثاً يعادل 0.088 ملغ من حمض الاسكوربيك.

ملاحظة 4:

في التحاليل الدقيقة يجب إجراء معايرة لعينة شاهدة، تضم سائر المحاليل ما عدا العينة، ومعايرتها بالكاشف اندوفينول.

الجلسة العملية العاشرة

الأنزيمات Enzymes

تحري نشاطها والعوامل التي تؤثر على سرعة تفاعلها:

10-1- مقدمة:

الأنزيمات هي عوامل مساعدة من طبيعة بروتينية تسمح للتفاعلات البيوكيميائية الضرورية للحياة والتكاثر الخلوي أن تتم بسرعة عالية وبنوعية مميزة ضمن الظروف الطبيعية للكائنات الحية. والأنزيمات، كعوامل مساعدة، فعالة بكميات قليلة، ولا تتغير خلال التفاعل مهما وجدت بتراكيز صغيرة مقارنة مع تراكيز مواد التفاعل التي تعمل عليها، ولا تؤثر على ثابت التوازن ولكنها تزيد سرعة التفاعل حتى يصل لحالة التوازن. والأنزيمات بروتينات ذات تخصص نوعي دقيق في أغلب الحالات، فالأنزيم يسرع تفاعلاً واحداً أو على الأكثر مجموعة متماثلة من التفاعلات وبهذا تختلف عن العوامل المساعدة غير الحيوية. وبما أن الأنزيمات مواد بروتينية (بروتينات كروية) فإن لها الصفات نفسها الفيزيائية والكيميائية المميزة للبروتينات (الذوبانية، تبادل الشوارد، الانتشار، التخرب الحراري والحساسية تجاه الكواشف الكيميائية القوية... الخ)، إذ يمكن فصلها من الخلايا وتنقيتها والحصول على معظمها بشكل متبلور عالي الفعالية. وبذلك يمكن القول أن الفعالية الأنزيمية والتخصص النوعي يكمنان في التركيب البروتيني الخاص بالأنزيم، غير أن كثيراً من الأنزيمات تحوي بالإضافة إلى الجزء البروتيني المسمى أبو أنزيم (Apoenzyme) جزءاً آخر ضرورياً لعمل الأنزيم يدعى العامل المتمم (Cofactor). يمكن أن يكون العامل المتمم واحداً من ثلاثة:

- مركب عضوي غير بروتيني يرتبط بقوة ببروتين الأنزيم (برابطة مشتركة) أو يحتاج الأنزيم أكثر من عامل لنشاطه. ويطلق عليه اسم المجموعة الضميمة(Prosthetic Group).
- مركب عضوي غير بروتيني يمكن فصله عن الجزء البروتيني للأنزيم بالتحال ويدعي تميم الأنزيم (Coenzyme) أو كوآنزيم.
- شاردة معدنية مرتبطة ارتباطاً قوياً أو ضعيفاً مع بروتين الأنزيم فتعمل على تنشيطه وتدعى بالمنشط (Activator).

أن المعقد المتكون من الجزء البروتيني والعامل المتمم يدعى بالأنزيم المكتمل (Holoenzyme). هذا وتتطلب الدراسة الكمية للأنزيمات التعرف على بعض الوحدات المستعملة أثناء هذه الدراسة، ومن هذه الوحدات نذكر:

1- وحدة الأنزيم Enzyme Unit: وهي الكمية من الأنزيم أو المستحضر الأنزيمي التي تتوسط في تحويل ميكرومول واحد (10^{-6} مول) من مادة التفاعل إلى نواتج في الدقيقة الواحدة في ليتر ضمن الشروط المثلى لنشاط الأنزيم من حرارة ودرجة حموضة وغيرها.

2- وحدة كاتال Katal Unit: وهي كمية الأنزيم أو المستحضر الأنزيمي التي تتوسط في تحويل مول واحد (جزيئة غرامية) من مادة التفاعل إلى نواتج في الثانية ضمن الشروط المثلى لنشاط الأنزيم، أي أن الميكروكاتال يساوي ستين وحدة أنزيمية (μ Katal = 60U).

3- الفعالية النوعية للأنزيم Specific Activity: وهي عدد الوحدات الأنزيمية التي يحصل عليها من جراء استعمال ميلليغرام واحد من البروتين الأنزيمي. وتعد الفعالية النوعية معياراً لنقاوة المستحضر الأنزيمي، إذ كلما ازدادت الفعالية النوعية ازدادت نقاوة الأنزيم.

4- الفعالية الجزيئية للأنزيم Molecular Activity: وهي عدد جزيئات مادة التفاعل التي يحولها جزيء واحد من الأنزيم إلى نواتج خلال دقيقة واحدة. ولكن قياسها يتطلب معرفة الوزن الجزيئي للأنزيم.

إن الشكل العام للتفاعل الأنزيمي يكتب عادة على النحو التالي:

$$E + S \rightleftarrows ES \rightarrow E + P$$

أنزيم: E — مادة التفاعل: S — معقد: أنزيم – ركيزة: ES — ناتج التفاعل: P

تستخدم التفاعلات الأنزيمية، أما لقياس نشاط أزيم معين، أو لقياس تركيز إحدى المواد في النظم البيوكيميائية. ويقاس نشاط أنزيم ما بتقدير التحول الذي يطرأ على مادة تفاعل الأنزيم خلال وحدة الزمن وتحت شروط محددة وثابتة. ومن هذه الشروط أن يكون تركيز مادة تفاعل الأنزيم مرتفعاً حتى يتحول جزء منها خلال المدة الزمنية التي يلاحظ فيها التفاعل الأنزيمي.

ولقياس تركيز إحدى المواد، كإحدى المستقلبات في النظم الحية، يوضع الأنزيم المناسب للمادة، والذي يعمل على تحويلها إلى ناتج، لأنها مادة تفاعله، وهو بحالة نقية، أو مبلورة أو بدرجة عالية من النقاوة، ويتابع التفاعل حتى نهايته، أي حتى يتفاعل الأنزيم مع كمية مادة التفاعل كلها. ولا حاجة هنا لعزل مادة التفاعل من مزيج المواد (كمستخلص نسيج معين) فالتفاعل الأنزيمي يجري اعتماداً على صفة التخصص النوعي التي تتصف بها معظم الأنزيمات. ولذلك أطلق بعض المؤلفين على الأنزيم، بأنه أفضل كاشف نوعي متخصص، هذا

على الرغم من أن بعض الأنزيمات ليست شديدة التخصص في تفاعلاتها، فهي تتفاعل مع مواد تفاعل غير مادتها الأصلية، وإنما بسرعة بطيئة.

10-2- التحري عن وجود نازعات الهيدروجين Test for dehydrogenase:

المبدأ: يتأكسد في الخلايا الحية عدد كبير من المواد العضوية، مثل حمض اللاكتيك، سكسنيك، الحموض الأمينية... الخ، بينما نجد أن هذه المواد لا تتأكسد على الإطلاق أو يتم أكسدتها ببطء شديد في غياب النسج الحية الحاوية على أنزيمات تسمى بنازعات الهيدروجين dehydrogenase تتوسط تفاعل أكسدة المواد المذكورة.

تتم أكسدة المواد الوسيطية في المسارات، وبشكل عام المستقلبات Metabolites إما بإضافة الأوكسجين إلى المادة المتأكسدة أو بنزع الهيدروجين منها وهو الأكثر حدوثاً في الخلية الحية. ويتم تفاعل نزع الهيدروجين في الخلايا الحية بنقل ذرتي هيدروجين من مادة التفاعل المتأكسدة إلى مادة قابلة للهيدروجين تسمى بالمرافق الأنزيمي (Co-enzyme) مثل FMN, FAD, $NADP^+$, NAD^+ حيث تتحول هذه المرافقات الأنزيمية إلى شكلها المرجع (المختزل)، فيتحول NAD^+ إلى NADH2 ويتحول FAD إلى FADH2 وهذا ما ينطبق على بقية المرافقات الأنزيمية ما عدا السيتوكرومات (Cytochromes) التي تستقبل الإلكترونات فقط (راجع الجزء النظري لمقرر الكيمياء الحيوية).

لتسهيل إجراء التجارب الحيوية في المختبر ولتبسيطها، يستعمل بدلاً من مستقبلات الهيدروجين الطبيعية أصبغة تقوم مقامها فتقبل الهيدروجين من المواد المتأكسدة بدلاً من NAD^+ أو FAD أو غيرها من المرافقات الأنزيمية، وتتحول من شكل متأكسد إلى آخر مرجع. ويترافق هذا التحول بتغير في لونها، يمكن مشاهدته وقياسه. من هذه الأصبغة أزرق الميتيلين الذي يقبل ذرتي هيدروجين من المادة المتأكسدة، ويتحول لونها من الأزرق إلى عديم اللون.

إذا مثلنا المادة المانحة للهيدروجين (مادة التفاعل المتأكسدة) بـ AH2 وأزرق الميتيلين بـ MB، فالتفاعل الناتج عن فعل أنزيم نازع الهيدروجين يتمثل بالمعادلة التالية:

$$AH2 + MB \xrightleftharpoons{\text{أنزيم نازع}} A + MBH2$$

الهيدروجين أزرق — عديم اللون

ويمكن متابعة أكسدة AH2 إلى A من خلال تغير لون الصبغة من الأزرق إلى عديم اللون، أي عندما يتحول أزرق الميتيلين من شكل متأكسد أزرق اللون إلى شكل مختزل عديم اللون.

يتأكسد الشكل المختزل عديم اللون لأزرق الميتيلين: والمتمثل بالمعادلة السابقة بالصيغة MBH2، بالهواء إلى أزرق الميتيلين ذي اللون الأزرق الممثل بالمعادلة السابقة بالصيغة MB، لذا يتوجب عزل محاليل هذا التفاعل عن الهواء لمنع أكسدة الشكل المختزل.

يحتوي الحليب الطازج والخمائر الحية على نازعات الهيدروجين الألدهيدية Aldehyde dehydrogenas التي تؤكسد في هذه التجربة الفورم ألدهيد إلى حمض فورميك. ونستطيع أن نمثل التفاعل الذي تقوم نازعات الهيدروجين الألدهيدية بوساطته، وبوجود أزرق الميتيلين كمادة مستقبلة للهيدروجين بالمعادلة التالية:

$$H\,CHO + MB + H_2O = HCOOH + MBH_2$$

فورمالدهيد ازرق حمض فورميك عديم اللون

المحاليل:

1- حليب طازج.

2- أزرق الميتيلين (حل 0.2 غ بودرة في ليتر ماء).

3- فورمالدهيد (10 سم^3 محلول مركز في ليتر ماء).

4- كبريتات النحاس 1%.

طريقة العمل:

رقم أربعة أنابيب جافة ونظيفة وضع فيها الإضافات المبينة في الجدول التالي:

الإضافات سم^3	رقم الأنبوب			
	1	2	3	4
حليب طازج	–	5	5	5
حليب مغلي ومبرد	5	–	–	–
أزرق الميتيلين (0.02%)	1	1	1	1
فورمالدهيد (0.4%)	1	1	1	–
كبريتات النحاس (1%)	–	–	1	–

امزج محتويات الأنابيب بلطف، وأضف 1-2 سم^3 بارافين سائلاً (يشكل طبقة تطفو فوق محتويات الأنابيب فتعزلها عن الهواء). احضن الأنابيب في حمام مائي بالدرجة 37 مْ ولاحظ النتائج.

هل يتغير لون ازرق الميتيلين في كافة الأنابيب أم لا؟. اشرح سبب عدم تغير لون ازرق الميتيلين في بعض الأنابيب، وما هو العمل الذي تقوم به كبريتات النحاس في الأنبوب الثالث.

ملاحظة:

يستخدم هذا الاختبار لأخذ فكرة عن مدى تلوث الحليب بالبكتريا ونشاطها فيه، فكلما زال لون صبغة أزرق الميتيلين بسرعة أكبر في شروط معينة دل ذلك على زيادة تلوث الحليب بالبكتريا وقيامها بتفاعلات الأكسدة والاختزال التي تزيل لون الصبغة.

10-3- دراسة العوامل التي تؤثر على التفاعل الأنزيمي باستخدام الكاتالاز Catalase:

المبدأ: يوجد أنزيم الكاتالاز Catalase في المملكتين النباتية والحيوانية ويكثر في خلايا الثدييات حيث يتركز في أنسجة الكبد والكلى وكريات الدم الحمراء. يقوم الكاتالاز بتحليل فوق أوكسيد الهيدروجين H_2O_2 الى ماء وأوكسجين حسب التفاعل التالي:

$$2H_2O_2 + \text{كاتالاز} \rightarrow 2H_2O + O_2$$

والكاتالاز، أنزيم نشط جداً، وكمثال عن فعاليته الجزيئية العالية نذكر أن الجزيء الواحد منه يحلل قرابة خمسة ملايين جزيء من فوق أوكسيد الهيدروجين في الدقيقة الواحدة بالدرجة صفر مئوية. إلا أنه ليس بالأنزيم شديد التخصص النوعي، ففوق أكاسيد الألكيل ROOH، تستعمل كمادة تفاعل بدلا من فوق أوكسيد الهيدروجين. يضاف إلى ذلك، أن استبدال بذرة الهيدروجين الثانية لفوق أوكسيد الهيدروجين مركبات عضوية قادرة على إعطاء ذرة هيدروجين، كالفورمات على سبيل المثال، يمكن استعمالها كمادة تفاعل لهذا الأنزيم (Boyer et al., 1963).

يحتوي الكاتالاز على الحديد، وهو عنصر ضروري لنشاطه. تشكل شاردة السيانيد (CN^-) معقداً مع الحديد الموجود في الأنزيم وبالتالي يثبط نشاط الإنزيم. كما أن شوارد النحاس والأسكوربات تثبط الكاتالاز.

يتأثر كما هو معروف نشاط أي أنزيم بعوامل ستة: تركيز الإنزيم، تركيز مادة التفاعل، درجة الحرارة، درجة الـ PH، زمن التفاعل، وجود المثبطات. والتجارب الأتية توضح تأثير تركيز الإنزيم، ودرجة الحرارة، وتغيرات الـ PH وتأثير تغيرات تركيز مادة التفاعل، في نشاط الكاتالاز، ونتابع نشاط الكاتالاز، بقياس تركيز فوق أوكسيد الهيدروجين المتبقي بعد انتهاء التجربة، بالمعايرة بمحلول برمنجنات البوتاسيوم القياسية طبقا للتفاعل التالي:

$$2KMnO_4 + 5\ H_2O_2 + 3H_2\ SO_4 \rightarrow 5O_2 + 2Mn\ SO_4 + K_2SO_4 + 8H_20$$

تتم أولا معايرة كمية محددة من مادة التفاعل (التجربة الشاهدة) التي لم يضف إليها الأنزيم. ثم تتم معايرة كمية مماثلة أضيف إليها الإنزيم وترك لينشط فترة محددة من الزمن، فالفرق بين المعايرتين يعبر عن كمية فوق أوكسيد الهيدروجين التي حللها الإنزيم في تلك الفترة.

المحاليل:

1- محلول فوق أوكسيد الهيدروجين تركيزه 0.24 % في محاليل منظمة عند PH ، 3، 5، 7، 9.

2- محلول قياسي من برمنغنات البوتاسيوم (0.05 نظامي).

3- حمض كبريت (4 نظامي).

طريقة العمل:

يمكن اشتراك طالبين أو أكثر في التجربة حسب تعليمات الأستاذ. اقرأ خطوات العمل وتفهمها جيداً قبل البدء لأن التوقيت مهم فيها.

أولاً- المستحضر الأنزيمي:

ضع في أنبوب اختبار كبير الحجم (20 سم^3) ماء مقطراً، ثم برد الأنبوب بالثلج. عقم طرف أصبعك بقطعة قطن مبللة بالكحول، وبعد جفاف الأصبع اثقب الجلد بإبرة معقمة. اضغط على الأصبع واجمع الدم في ماصة شعرية 0.2 سم^3. أضف الدم مباشرة إلى الماء البارد في أنبوب الاختبار الكبير وامزج جيداً فتحصل على مستحضر غير نقي لأنزيم الكاتالاز يتمتع بالفعالية المطلوبة.

ثانياً- تأثير تركيز الإنزيم:

تهدف هذه التجربة إلى دراسة تأثير تغير تركيز الإنزيم في نشاط التفاعل الأنزيمي مع بقاء العوامل الأخرى المؤثرة في التفاعل الأنزيمي ثابتة.

1- رقم خمسة دوارق مخروطية وضع فيها الكميات التالية من المستحضر الأنزيمي: 1/2 سم^3 في الدورق الأول، 1 سم^3 في الدورق الثاني، 2 سم^3 في الدورق الثالث، 3 سم^3 في الدورق الرابع، أما الدورق الخامس، فهو التجربة الشاهدة لذا لا يوضع فيه أنزيم.

2- أضف إلى محتويات كل دورق 25 سم^3 من محلول فوق أوكسيد الهيدروجين ذي PH=7.

3- بعد مرور خمس دقائق من إضافة H_2O_2، ضع في كل دورق 5 سم^3 حمض كبريت لإيقاف نشاط الأنزيم.

4- عاير بمحلول برمنغنات البوتاسيوم، الكميات المتبقية من H_2O_2 في كل دورق، حتى اللون الوردي الخفيف.

5- اطرح ما استهلكه كل دورق (1، 2، 3، 4) من البرمنغنات من استهلاك الشاهدة من البرمنغنات. يعبر حاصل طرح البرمنغنات عن كمية H_2O_2 التي فككها الأنزيم في كل

دورق. رتب النتائج التي حصلت عليها وفق الجدول المبين أدناه، ثم ارسم الخط البياني الذي يربط بين تركيز الأنزيم وكمية H_2O_2 المتفككة.

رقم الأنبوب	حجم H_2O_2	حجم الأنزيم	حجم البرمنغنات	كمية H_2O_2 المتفككة
1	25 سم^3	1/2 سم^3		
2	25 سم^3	1 سم^3		
3	25 سم^3	2 سم^3		
4	25 سم^3	3 سم^3		
5	25 سم^3	–		

ثالثاً- تأثير درجة الحموضة (الـ PH):

سبق وأشرنا إلى أن لكل أنزيم درجة حموضة مثلى يعمل عليها بشكل أعظمي يرجع ذلك لعوامل متعددة، تعمل مع بعضها مجتمعة، منها تشرد بروتين الأنزيم ومادة التفاعل. وتهدف هذه التجربة إلى تتبع نشاط أنزيم الكاتالاز في درجات حموضة مختلفة ليصار إلى تحديد درجة الحموضة المثلى لنشاطه.

1- رقم ثمانية دوارق مخروطية صغيرة وضع فيها الكميات التالية من مادة التفاعل:

الدورق 1 و 2 25 سم H_2O_2 في PH = 3

الدورق 3 و 4 25 سم H_2O_2 في PH = 5

الدورق 5 و 6 25 سم H_2O_2 في PH = 7

الدورق 7 و 8 25 سم H_2O_2 في PH = 9

2- أضف 2 سم^3 أنزيم إلى كل من الدوارق 1، 3، 5، 7، تاركا الدوارق 2، 4، 6، 8، بدون إضافة أنزيم، أي كشواهد.

3- أوقف التفاعل بعد خمس دقائق بإضافة 5 سم^3 حمض كبريت إلى كل دورق.

4- أضف إلى الدوارق 2، 4، 6، 8، بعد إضافة الحمض، 2 سم^3 أنزيما.

5- عاير المتبقي من H_2O_2 في كل دورق بمحلول برمنغنات البوتاسيوم حتى اللون الوردي الفاتح.

6- اطرح كمية البرمنغنات التي تطلبتها معايرة الدوارق 1، 3، 5، 7، التي تحتوي الأنزيم، من نظيراتها الشواهد، الدوارق 2، 4، 6، 8. أي أطرح كمية البرمنغنات التي تطلبها الدورق 1 مما تطلبه الدورق 2، و3 من 4، و 5 من 6، و7 من 8 رتب النتائج التي حصلت عليها وفق الجدول المبين أدناه، ثم ارسم المنحني البياني الذي يبين العلاقة بين درجة الـ PH والمتفكك من H_2O_2 ما هو الـ PH الأمثل للكاتالاز.

رقم الدورق	PH	حجم H_2O_2 ($سم^3$)	حجم الأنزيم ($سم^3$)	حجم حمض الكبريت	حجم البرمنغنات	كمية H_2O_2 المتبقية	كمية H_2O_2 المتفككة
1	3	25	2	5 $سم^3$			
2	3	25	–	5 $سم^3$ ثم أنزيم			
3	5	25	2	5$سم^3$			
4	5	25	–	5 $سم^3$ ثم أنزيم			
5	7	25	2	5 $سم^3$			
6	7	25	–	5 $سم^3$ ثم أنزيم			
7	9	25	2	5 $سم^3$			
8	9	25	–	5 $سم^3$ ثم أنزيم			

رابعاً- تأثير درجة الحرارة:

سبق وأشرنا إلى أن لكل أنزيم درجة حرارة مثلى يعمل عليها بشكل أعظمي مع بقاء العوامل الأخرى ثابتة. ومن خلال هذه التجربة سوف نتتبع سرعة التفاعل لأنزيم الكاتالاز في درجات حرارة مختلفة بهدف تحديد درجة الحرارة المثلى لنشاطه.

1- رقم ثمانية دوارق مخروطية صغيرة، وأضف لكل دورق 25 $سم^3$ من محلول H_2O_2 ذو pH =7.

2- ضع الدورقين 1 و 2 في حمام مائي بالدرجة 10 مْ، والدورقين 3 و 4 في درجة حرارة المختبر 25 مْ، والدورقين 5 و 6 في حمام مائي بالدرجة 40 مْ، والدورقين 7 و 8 في حمام مائي بالدرجة 60 مْ.

3- أضف 2 سم3 أنزيما إلى كل من الدوارق 1، 3، 5، 7.

4- أضف إلى كل من الدوارق الثمانية، بعد مرور خمس دقائق من إضافة الأنزيم، 5 سم3 حمض كبريت.

5- أضف 2 سم3 أنزيم إلى كل دورق من الدوارق 2، 4، 6، 8.

6- عاير H_2O_2 المتبقي في كل دورق بمحلول برمنغنات البوتاسيوم حتى اللون الوردي.

7- اطرح كمية برمنغنات البوتاسيوم التي تطلبتها معايرة الدوارق 1، 3، 5، 7 من نظيراتها الشواهد، الدوارق 2، 4، 6 و 8.

8- رتب نتائجك وفق الجدول المبين أدناه، واستعمل حاصل الطرح لرسم المنحني البياني الذي يربط العلاقة بين درجة حرارتها وكمية H_2O_2 المتفككة.

رقم الدورق	درجة الحرارة	حجم H_2O_2 المضاف PH=7	حجم الأنزيم	حمض كبريت	حجم الرمنغنات	كمية H_2O_2 المتبقية	كمية H_2O_2 المتفككة
1	15	25	2	5 سم^3			
2	15	25	–	5 سم^3 ثم أنزيم			
3	المختبر	25	2	5 سم^3			
4	المختبر	25	–	5 سم^3 ثم أنزيم			
5	40	25	2	5 سم^3			
6	40	25	–	5 سم^3 ثم أنزيم			
7	60	25	2	5 سم^3			
8	60	25	–	5 سم^3 ثم أنزيم			

خامساً– تأثير تركيز مادة التفاعل:

يتم في هذه التجربة استعمال تراكيز مختلفة من مادة التفاعل (فوق أوكسيد الهيدروجين) مع بقاء العوامل الأخرى التي تؤثر في سرعة تفاعل الكاتالاز ثابتة:

أ–رقم ستة دوارق مخروطية وضع فيها الإضافات التالية:

الدورقان 1 و 2 5 سم^3 H_2O_2 في PH = 7

الدورقان 3 و 4 2.5 سم^3 H_2O_2 في PH =7. مع 2.5 سم^3 ماء مقطراً.

الدورقان 5 و 6 1.25 سم^3 H_2O_2 في PH = 7 مع 3.75 سم^3 ماء مقطراً.

ب– أضف إلى الدوارق 1 ، 3، و 5، 2 سم^3 أنزيماً. واترك الدوارق الأخرى بدون أنزيم.

ج– أضف لجميع الدوارق، بعد مرور خمس دقائق من إضافة الأنزيم 5 سم^3 حمض كبريت.

د– أضف إلى الدوارق 2، 4، 6، 2 سم^3 أنزيماً.

هـ– عاير جميع الدوارق بالبرمنغنات.

و– اطرح المستهلك من البرمنغنات لمعايرة الدوارق 1، 3، 5، مما تتطلبه نظيراتها الشواهد، رتب نتائجك وفق الجدول المبين أدناه، واستعمل حاصل الطرح لرسم المنحني البياني الذي يربط بين تركيز مادة التفاعل وكمية H_2O_2 المتفككة.

ملاحظة: يكافئ 1 سم^3 0.05 عياري برمنغنات 0.85 ملغ H_2O_2

رقم الدورق	حجم H_2O_2	حجم H_2O	حجم الأنزيم	حجم H_2SO_4	حجم الرمنغنات	كمية H_2O_2 المتبقية	كمية H_2O_2 المتفككة
1	5 سم^3	–	2 سم^3	5 سم^3			
2	5 سم^3	–	–	5 سم^3			
3	2.5 سم^3	2.5 سم^3	2 سم^3	5 سم^3			
4	2.5 سم^3	2.5 سم^3	–	5 سم^3			
5	1.25 سم^3	3.75 سم^3	2 سم^3	5 سم^3			
6	1.25 سم^3	3.75 سم^3	–	5 سم^3			

من المنحني البياني قدر السرعة القصوى V_{max} وثابت ميكاليس K_m وهو قيمة [S] عند منتصف السرعة القصوى.

هل يمكنك حساب الفعالية النوعية للأنزيم في الميلليليتر (Specific Activity) وهي التي تدل على مدى نقاوة المستحضر الأنزيمي. ماذا ينقصك من معلومات لحسابها؟.

سادساً- تأثير المثبطات في نشاط أنزيم الكاتالاز:

يحتوي أنزيم الكاتالاز على عنصر الحديد في تركيبه. ويعد هذا العنصر ضرورياً وأساسياً لنشاط الأنزيم في التفاعلات الحيوية. تشكل شاردة السيانيد (CN^-) معقداً مع عنصر الحديد الموجود في الأنزيم وتعمل بالتالي على تثبيط نشاطه.

1- حضر ثلاثة دوارق مخروطية ورقمها من 1 إلى 3، وأضف لكل دورق 25 سم^3 محلول H_2O_2 ذو PH =7.
2- أضف إلى الدورق رقم 2، 1 سم^3 محلول سيانيد الصوديوم 10^{-3} M (حديث التحضير).
3- أضف إلى الدوارق 1 و 3، 1 سم^3 ماء مقطرا.
4- أضف 2 سم^3 أنزيم إلى كل من الدورقين 1 و 2.
5- أضف إلى كل من الدوارق الثلاثة، بعد مرور خمس دقائق من إضافة الأنزيم، 5 سم^3 حمض كبريت.
6- أضف 2 سم^3 أنزيم إلى الدورق رقم 3.
7- عاير H_2O_2 المتبقي في كل دورق بمحلول البرمنغنات حتى اللون الوردي.
8- اطرح كمية البرمنغنات التي تطلبتها معايرة الدوارق 1 و 2 من العينة الشاهدة (رقم 3).
9- قارن بين سرعة التفاعل الأنزيمي V في الدورق رقم 1 (ترمز لها بالرمز V_1) وبين سرعته في الدورق رقم 2 (V_2)، أي في الدورق الذي أضيف إليه السيانيد. أحسب نسبة التثبيط المئوية (Inhibition %) التي سببتها شاردة السيانيد لأنزيم الكاتالاز كما يلي:

$$\text{النسبة المئوية للتثبيط} = \frac{V2-V1}{V1} \times 100$$

ملاحظة: عند تحضير محلول سيانيد الصوديوم 10^{-3} M، يحظر استخدام الفم مع الماصة لهذا المحلول لأنه شديد السمية.

الجلسة العملية الحادية عشرة

الأنزيمات: قياس نشاط بعض الأنزيمات الخاصة

11-1- متابعة نشاط انزيم اليورياز:

المبدأ: يحلمأ انزيم اليورياز مادة اليوريا إلى نشادر وثاني أوكسيد الكربون.

وتجدر الإشارة إلى أن مادة اليوريا تشكل بحد ذاتها أهم نواتج استقلاب البروتينات في الثدييات وبعض الحيوانات ماعدا الطيور التي تطرح بدلاً عنها حمض يوريك.

تتكون اليوريا بمسارات استقلابية خاصة يطلق على مجموعها اسم دورة اصطناع اليوريا. وعملية الاصطناع هذه تصنف كإحدى الوظائف المهمة التي يقوم بها الكبد (راجع الجزء النظري من مقرر الكيمياء الحيوية). وتطرح اليوريا مع البول، حيث تشكل الجزء الرئيسي من مادته العضوية. يستعمل التفاعل السابق إما لتقدير نشاط انزيم اليورياز (شديد التخصص تجاه مادة تفاعله) في المستخلصات النسيجية بإضافة اليوريا إلى مستخلص النسيج، أو لتقدير تركيز اليوريا في السوائل الفيزيولوجية كالدم والبول بإضافة كمية محددة من اليورياز إلى لسائل الفيزيولوجي.

نقيس في هذه التجربة نشاط انزيم اليورياز، في مستحضرات مجهزة لهذه الغاية، بمعايرة الامونيا المتحررة بفعل الانزيم، بحمض الخل الممدد، ودلالة أحمر الفينول. يتغير لون هذا الدليل من الأصفر إلى الأحمر، عندما يرتفع رقم حموضة محلول التجربة (الـ pH) من 6.4 إلى 8، بتأثير الأمونيا المتحررة. وبإجراء المعايرة بالحمض يعود لون الدليل من جديد إلى الأصفر، وهو اللون الذي بدأ فيه التفاعل.

وتحسب سرعة تفاعل انزيم اليورياز، وهو قياس لنشاط هذا الانزيم، بحساب كمية الامونيا المتحررة عبر الزمن الذي استغرقه التفاعل.

المحاليل:

1- مستحضر انزيم اليورياز، اذا لم يتوافر مستحضر جاهز لهذا الانزيم يمكن أن نحضر مخبرياً مستخلص غير نقي لانزيم اليورياز من حبوب فول الصويا وفق الطريقة التالية:

تنقع حبوب فول الصويا في الماء لمدة 24 ساعة، ثم تنزع قشورها بوساطة اليد لتطحن بهاون من البورسلين مع بضع سنتيمترات مكعبة من الماء المقطر البارد (يمكن استخدام آلة طحن صغيرة مع مراعاة عدم ارتفاع درجة حرارة المزيج). استمر بالطحن مع إضافة بضع سنتيمترات مكعبة من الماء المقطر البارد في كل مرة.

رشح المزيج، واستخدم الرشاحة الناتجة، الغنية بالانزيم، في تجاربك اللاحقة كمستحضر انزيمي.

2- كاشف أحمر الفينول 1% (امزج المسحوق في 50 سم^3 ايثانول ثم مدد حتى 100 سم^3 بالماء المقطر 9).

3- محلول فزيولوجي ملحي، 1.8 غ NaCl نقي في ليترين ماء مقطر.

4- حمض خل ممدد 0.025 غ: اضف 5.8 سم^3 حمض خل مركز في ليترين ونصف ماء مقطر ثم معايرته بهيدروكسيد الصوديوم والتخفيف للحصول على 0.025 نظامي حمض الخل.

5- محلول اليوريا: 2 غ في ليتر ماء مقطر.

طريقة العمل:

1- ضع في دورق مخروطي صغير 5 سم^3 محلول يوريا وثلاث قطرات كاشف أحمر الفينول. اجعل المحلول قلوياً بإضافة قطرة فقطرة ماءات الصوديوم ليصبح لونه أحمر. أضف مع التحريك حمض الخل الممدد حتى أول تغير لوني اصفر. ضع الدورق في حمام مائي حتى تصبح حرارة السائل داخله 40°، يحتاج إلى 5 – 10 دقائق.

2- ضع في دورق مخروطي آخر 2 سم^3 مستحضر انزيم اليورياز، و5 سم^3 محلول فزيولوجي ملحي، ثم عدل الـ pH كما في الفقرة الأولى. ضع الدورق في حمام مائي حتى تصبح حرارة السائل بداخله 40°م.

3- بعد أن تتوازن حرارة السائل المحتوي على اليوريا وحرارة السائل المحتوي على الانزيم، وتغدو في الدرجة 40°م، صب محتويات أحد الدورقين في الآخر وسجل الزمن.

4- حرك الدورق، وهو موجود في الحمام المائي المثبت على 40°م، فيتحول لون سائله إلى الأحمر، وبعد مضي دقيقتين، عاير بحمض الخل الممدد حتى يعود لون السائل إلى لأصفر.

5- سجل الزمن، وأعد الدورق إلى الحمام المائي مع التحريك من فترة لأخرى فيتحول لون سائله إلى الاحمر، وبعد مضي دقيقتين، عاير كما سبق.

6- كرر الخطوة السابقة حتى يصل التفاعل إلى حالة التوازن، ويعرف من تناقص استهلاك حمض الخل في المعايرات المتعاقبة، ويفضل أن يستمر حتى ثمان دقائق.

7- ارسم المنحني البياني الذي يربط بين سرعة التفاعل والزمن. تحسب سرعة التفاعل (V)، معبراً عنها بكمية الناتج (ميكرومول امونيا/ليتر/دقيقة) من ميل الجزء المستقيم من

المنحني. رتب نتائجك كما في الجدول التالي مع ملاحظة أن نظامية حمض الخل 0.025، وأن مول امونيا يتعادل مع مول حمض الخل.

الزمن	الحمض المستهلك سم^3	ملي مول امونيا	ميكرومول امونيا/ليتر/دقيقة
2			
4	5.2	0.13	
6	4.6 + 5.2	0.245	
8			

11-2- متابعة نشاط انزيمات الليباز:

المبدأ: الليباز، انزيمات واسعة الانتشار، ففي الانسان على سبيل المثال نجد الليباز المفرزة من غدة البنكرياس، والليباز المفرزة من جدار الأمعاء إضافة إلى ليباز الكبد ذات الأهمية الحيوية الكبيرة.

تحلمأ الليباز الدهون (الجليسريدات الثلاثية = ثلاثي اسيل جلسيرول)، واسترات كحولات أخرى غير الجلسيرول مع الحموض الدهنية طويلة السلسلة.

ينتج من تفاعل الليباز مع مول مادة تفاعل، 2 مول حمض دهني ومول أحادي جلسيريد، كما تنتج كمية صغيرة من الجليسرول. يفضل الليباز حلمأة روابط الاستر الطرفية في استرات الجلسيرول. فليباز البنكرياس يحلمأ الروابط الاستيرية في الموقعين 1 و 3، بينما تحلمأ ليباز جدار الامعاء الرابطة الاستيرية في الموقع 3.

يبلغ الـ PH المفضل لانزيمات ليباز بنكرياس الإنسان 8.6 – 9. وتقوم انزيمات الليباز بحلمأة مادة تفاعلها اذا كانت بهيئة مستحلب فقط، فلا تحلمأ مادة تفاعلها المذابة في محلول حقيقي. يمتز الانزيم على سطح دقائق المستحلب، وتعتمد سرعة التفاعل على كمية جزيئات الانزيم الممتزة على سطح دقائق المستحلب، ولذلك يطلق على مثل هذه التفاعلات اسم التفاعلات السطحية. وتقوم حموض الصفراء، كعوامل استحلاب، بالمساعدة على حدوث استحلاب الدهون والزيوت في الامعاء الدقيقة، حتى تتمكن الليباز من حلمأتها.

يتنشط الليباز بشوارد M_g , S_r , C_a، والسيستئين وحموض الصفراء ويتثبط بالزنك والنحاس والزئبق واليود. يبلغ تركيز ليباز المصل 50–250 وحدة في الليتر. وتعرف وحدة هذا الانزيم، بأنها كمية الانزيم التي تحرر1 ميكرومول حمض دهني في ساعة واحدة، PH=7،

في الدرجة 37° م. يرتفع بشدة مستوى ليباز المصل بوجود التهاب البنكرياس وفي أمراض الكلية الحادة والمزمنة.

المواد والمحاليل:

1-بذور الخروع: يحضر معلق الليباز من بذور الخروع حسب الطريقة التالية:

انزع قشرة 6 بذور خروع، اطحنها بهاون مع بضع سنتيمترات مكعبة ماء، واستمر بالطحن مع إضافة بضع سنتيمترات مكعبة ماء في كل مرة حتى تستعمل 25 سم^3 ماء، وتحصل على مستحلب حليبي اللون متجانس. يحتوي المستحلب على انزيمات الليباز مع دهون مستحلبة، لأن بذور الخروع غنية بالانزيم والزيوت.

2-ماءات الصوديوم 0.1 مول/ليتر 1 نظامي.

3-حمض الخل 0.1 مول/ليتر 1 نظامي.

4-كاشف أحمر الميثيل.

طريقة العمل:

لتقدير نشاط الليباز في المعلق الذي سبق وحضرته من بذور الخروع اتبع الآتي:

1. انقل 10 سم^3 من معلق الليباز المستحلب في كل من الانبوبين أ و ب.
2. اضف لكل انبوب 1 سم^3 حمض الخل (0.1 M) حتى يتنشط الانزيم.
3. اغل الانبوب ب لمدة دقيقتين، ثم ضع الانبوبين أ و ب في حمام مائي بالدرجة 37° م لمدة 45 دقيقة.
4. برد الانبوبين وأضف لكل منهما 3 قطرات أحمر الميثيل، وعاير بمحلول NaOH (0.1 M) حتى يظهر لون المحلول أصفر. لاحظ أن المحلول في الانبوب أ رائق بينما لا يزال حليبي المظهر في الأنبوب ب.
5. احسب عدد وحدات أنزيم الليباز، على اعتبارها تساوي فعالية الانزيم التي تقابل 1 ميكرومول حمض بالميتيك في ليتر في الدقيقة.

الجلسة العملية الثانية عشرة

التحليل الطيفي الضوئي

Spectrophotometric Analysis

12-1- المبدأ:

تعد قياسات الطيف الضوئي إحدى أهم التقنيات السهلة المستعملة بكثرة في الكيمياء الحيوية. وهي تعتمد على قياس الضوء الممتص أو الصادر من تعريض مركب لإشعاعات كهرمغناطيسية. يوجد لهذه التقنية ثلاثة استعمالات رئيسية:

1- قياس تركيز مركب بقراءة الكثافة الضوئية (الامتصاص الضوئي) عند طول موجة معين، بعد معرفة معامل امتصاص المركب في الموجة المستعملة، أو بعد الرجوع إلى منحن قياسي يربط بين تركيز المركب وامتصاصه الضوئي.

2- متابعة مجرى تفاعل ما بقياس تكون أو اختفاء أحد المركبات الداخلة أو الخارجة من التفاعل شريطة أن تمتص إحدى هذه المركبات الضوء. كما في متابعة تكون NADH في تفاعلات الأكسدة والاختزال التي تقوم بها أنزيمات ديهايدروجيناز، حيث يمتص NADH الضوء بالموجة 340 نانومترا، في حين أن NAD^+ لا يمتص الضوء في هذه الموجة ولذلك فان التفاعلات التي تتضمن تكون أو استخدام NAD^+, NADH يمكن متابعتها بسهولة بالمطياف الضوئي.

3- تمييز كثير من المركبات بدراسة طيف امتصاصها في مجال الأشعة المرئية وفوق البنفسجية وتحت الحمراء.

يعتمد التحليل الطيفي الضوئي على امتصاص المحاليل للأشعة الضوئية. والضوء جزء من الطيف الكهرطيسي الذي يضم أنواعاً مختلفة من الأشعة المرئية وغير المرئية. تقاس أطوال موجات الأشعة عادة بالميلليمكرون (الذي يسمى أيضاً نانومترا nm) وهو جزء من مليون من الميلليمتر أو 10^{-9} متر.

تتراوح أطوال موجات الضوء المرئي بين 400 و 700 نانومتر تقريباً ويمكن تحليله بمروره خلال موشور زجاجي إلى مكوناته بالترتيب التالي: أحمر، برتقالي، أصفر، أخضر، أزرق، بنفسجي. أقصر هذه الموجات البنفسجي (380-435 nm) وأطولها الأحمر (650-780nm). ولا يقتصر التحليل الطيفي الضوئي على المحاليل الملونة لأن معظم المركبات تمتص أيضاً بعض الأشعة تحت الحمراء التي تزيد أطوال موجاتها عن 780 nm، أو الأشعة

فوق البنفسجية التي تقل أطوال موجاتها عن 380 nm، حيث يستفاد من ذلك في التقدير الكمي إضافة إلى الكشف والتحليل الوصفي أحياناً.

إن أساس هذه الطرائق في التحليل يعتمد على أنه إذا مرت حزمة ضوئية ذات طول موجة معين في محلول له القدرة على امتصاص ذلك الضوء فإن شدة الضوء النافذ من المحلول والتي يرمز لها بالرمز P ستكون أقل من شدة الضوء المسلط على المحلول والتي يرمز لها بالرمز P_o. وبنسب شدة الضوء النافذ إلى شدة الضوء المسلط نحصل على النفاذية الضوئية التي يرمز لها بالرمز T أي:

$$T = \frac{P}{P_o}$$

واصطلح أن يطلق على اللوغاريتم السالب للنفاذية الضوئية اسم الامتصاص الضوئي الذي يرمز له بالرمز A، أي:

$$A = - \log T = - \log \frac{P}{P_o}$$

ونص قانون بير – لامبيرت Beer- Lamberts Law للامتصاص الضوئي أنه عند أي موجة ضوئية معينة تمر في محلول تتناسب كمية الضوء الممتصة طرداً مع الجزيئات التي تعترض مسار الضوء أي أنها تتناسب طرداً مع تركيز المحلول ومع طول الممر الضوئي، ونظراً لان القدرة على امتصاص الضوء تختلف من مركب الآخر فان العلاقة الطردية تنقلب إلى مساواة بإدخال معامل ثابت يختلف تبعا لنوع المركب. وبذلك يصبح قانون لابيرت كما يلي:

$$A = \varepsilon L . C$$

حيث إن:

A– الامتصاص الضوئي.

ε– معامل الامتصاص الذي يسمى أيضا معامل الخفوت أو التلاشي وتعتمد قيمته على نوع المركب الممتص للضوء.

L– طول الممر الضوئي ويقاس بالسنتيمتر.

C– تركيز المركب في المحلول ويقاس عادة بالغرام في الليتر وأحياناً بالمول في الليتر.

يعبر عن النفاذية الضوئية (T) بنسبة مئوية (%T) ولتحويل النسبة المئوية إلى امتصاص ضوئي (A) تستخدم العلاقة التالية:

$$A = 2 - \log \% T$$

وهي مستخرجة كما يلي:

بما أن $T = \frac{\%T}{100}$ وأن $A = -\log T$ وبالتعويض نجد:

$$A = -\log \frac{\%T}{100}$$

ومنه:

$$A = -\log \%T - (-\log 100)$$
$$A = 2 - \log \%T$$

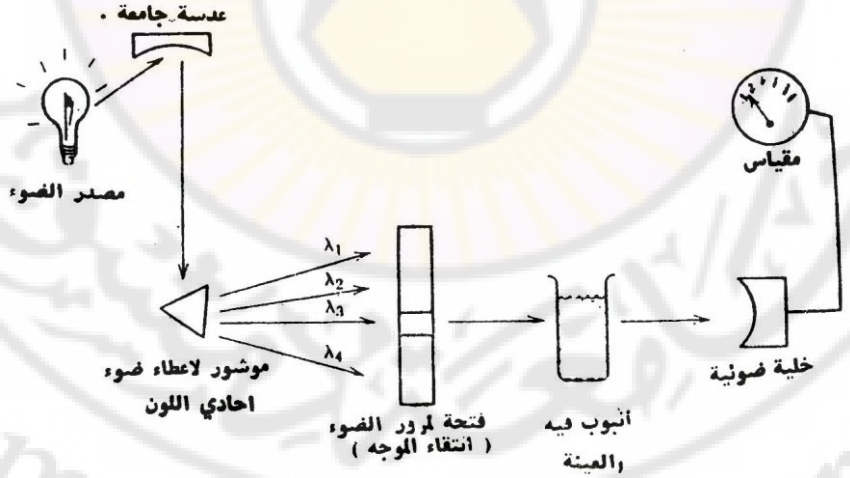
وهذا يعني أن الامتصاص الضوئي (A) يساوي الصفر عندما تكون النفاذية الضوئية (T) مساوية 100%

وبما أنه بشكل عام يتناسب تركيز محلولين لنفس المادة أحدهما معلوم التركيز والأخر مجهول مع الامتصاص الضوئي لكل منهما، يمكن بالتالي حساب تركيز المحلول المجهول بمقارنة امتصاصه الضوئي مع الامتصاص الضوئي للمحاليل القياسية (المعلومة).

12-2- الأجزاء المختلفة التي يتكون منها جهاز التحليل الطيفي الضوئي:

يتكون جهاز التحليل الطيفي الضوئي من الأجزاء الرئيسية التالية (الشكل 8):

1- مصدر للطاقة الضوئية، حيث يفضل أن يكون قوياً وصغير الحجم، ويختلف المصدر حسب نوع الضوء المطلوب (أشعة مرئية أو فوق بنفسجية أو تحت حمراء).



الشكل 8: الأجزاء الرئيسية لجهاز التحليل الطيفي الضوئي

2- عدسة مجمعة للضوء تعمل على الإقلال من تناثره وتعطي حزمة مركزة منه.

3- موشور محلل للضوء، أو في الأجهزة قليلة الدقة تستعمل مرشحات زجاجية ملونة تسمح لنوع واحد من الضوء بالمرور. ولكن حتى باستعمال المواشير لا نحصل على ضوء له

طول موجة واحدة فقط (طيف خطي) ولكن الطاقة الضوئية الناتجة تشمل عدة موجات قريبة من بعضها.

4- فتحة تحكم، حيث يمكن التحكم بعرض الحزمة الناتجة (أطوال الموجات) وشدتها بإمرارها خلال فتحة تحكم قابلة للتكبير والتصغير.

5- أنابيب زجاجية يوضع فيها المحلول ليمر خلاله الضوء وتكون ذات مقطع دائري أو مربع أو مستطيل وتصنع من الزجاج أو الكوارتز. ويجب أن تكون حوامل العينة مصنوعة بدقة فائقة لكي تكون متماثلة من حيث قطرها ونفاذيتها للضوء المار بها.

6- خلية كهرضوئية حساسة تقيس شدة الضوء الذي يصل إليها بتحويل الطاقة الضوئية إلى إشارة كهربائية.

7- مقياس الإشارة الكهربائية المزود بلوحة مدرجة حيث تشير الإبرة فيه إلى رقم يدل على الامتصاص (A) أو النفاذية الضوئية (T) معبراً عنها كنسبة مئوية.

12-3- أهم تطبيقات التحليل الطيفي الضوئي:

إن من أهم تطبيقات التحليل الطيفي الضوئي تقدير تركيز مادة ما في محلول ولذلك يجب معرفة الموجة الضوئية التي يحدث عندها الامتصاص الأعظمي للضوء من قبل المحلول ويعرف ذلك عادة من المراجع، كما يمكن تحديده بالتجربة حيث تمرر حزم ضوئية ذات أطوال موجات معروفة تتزايد باطراد (20 نانومترا مثلاً بين مركز الحزمة والحزمة التي تليها) ويقاس الامتصاص الضوئي للمحلول عند كل منهما. بعد اختيار الموجة يتم تحضير محلول قياسي من المادة مقارب في لونه للمحلول المجهول أو يجري تحضير عدة محاليل قياسية تحتوي على تراكيز متزايدة من المادة ثم قياس الامتصاص الضوئي على الموجة الضوئية المختارة لكل من المحاليل القياسية والمحلول المجهول. يمكن معرفة تركيز المادة في المحلول المجهول التركيز إما حسابياً بتطبيق العلاقة التالية:

$$\frac{A_1}{A} = \frac{C_1}{C}$$

حيث إن:

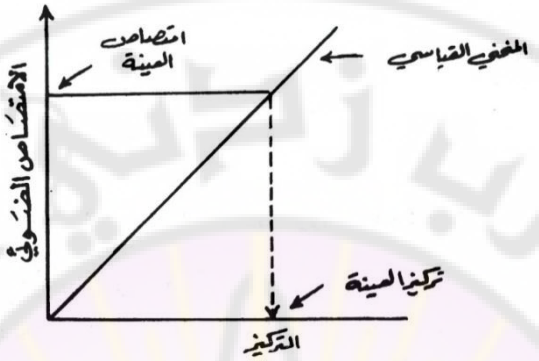
A_1- الامتصاص الضوئي للمحلول مجهول التركيز .

A- الامتصاص الضوئي للمحلول القياسي (معلوم التركيز).

C_1- تركيز المحلول المجهول.

C- تركيز المحلول القياسي.

أو بيانياً بوساطة منحني الامتصاص الضوئي للمحاليل القياسية وعلاقته بالتركيز (الشكل 9)



الشكل (9) يبين منحني الامتصاص الضوئي للمحاليل القياسية وعلاقته بالتركيز.

تجدر الإشارة إلى أن بعض المركبات الذوابة لا تخضع لقانون بير لامبيرت بسبب تجمع بعض الجزيئات مع بعضها في المحلول أو بسبب تفككها أو تشردها ما يؤثر في تركيزها الحقيقي وبذلك تنحرف انحرافاً موجباً أو سالباً عن قانون بير لامبيرت. ومع ذلك فليس خضوع المركبات في محاليلها لقانون بير لامبيرت شرطاً لازماً لتقديرها كمياً بالتحليل الطيفي الضوئي إلا عندما يتم حساب تركيز المحلول المجهول من امتصاصه الضوئي والامتصاص الضوئي لمحلول قياسي واحد بتطبيق العلاقة المذكورة أعلاه، أما عند تحضير عدة محاليل قياسية، وهذا هو المتبع تجريبياً، يمكن قياس تركيز المحلول المجهول بيانياً من المنحني. ويكون القياس أدق كلما كانت قيمة الامتصاص الضوئي للمحلول المجهول التركيز محصورة بين قيمتين متقاربتين للامتصاص الضوئي لمحلولين معلومي التركيز حتى ولو لم يكن المنحني مستقيماً أو مطابقاً لقانون بير لامبيرت.

وللحصول على أفضل النتائج في التحليل الطيفي الضوئي يستحسن أن تكون النفاذية الضوئية (T) للمحاليل المختبرة واقعة بين 15 و 65 % وهذا يقابل امتصاصاً ضوئيا (A) يتراوح بين 0.2 و 0.8 لذلك يمدد المحلول كثيف اللون إذا كانت النفاذية الضوئية له ضئيلة لكي يقل الخطأ في التحليل.

ولإقلال الخطأ الناجم عن تناثر الضوء أو انعكاسه وعن وجود الشوائب. يقاس الامتصاص الضوئي لعينة شاهدة تحتوي على جميع المحاليل المستعملة في طريقة العمل ما عدا المادة المقيسة وتمر بجميع ظروف التجربة. ويقاس الامتصاص بعد تعيير صفر الجهاز على الشاهدة أو أن تطرح قراءة الشاهدة من قراءة العينة.

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

الجلسة العملية الثالثة عشرة

التحليل الكروماتوغرافي

Chromatographic Analysis

13-1- مقدمة:

إن التحليل الكروماتوغرافي عبارة عن تقنية تهدف إلى فصل مزيج ما إلي مكوناته. وبتعبير أدق فصل مكونات مزيج ما على طور ثابت بوساطة طور متحرك يحمل تلك المكونات بسرعات مختلفة على الطور الثابت. إن أول تجربة كروماتوغرافية قام بها العالم الكيميائي الروسي ميخائيل تسويت Michael Tswett في عام 1903 ونشرها في عام 1906، حيث قام هذا العالم بفصل صبغات الأوراق الخضراء للنبات بعد استخلاصها باثير البترول، ثم صب المزيج على رأس أنبوب زجاجي حاو على حبيبات من كربونات الكالسيوم، ثم أضاف زيادة من ايثير البترول فلاحظ أن الصبغات الملونة قد انفصلت إلى أربع عصابات ملونة، بعد ذلك قام بنزع عمود كربونات الكالسيوم وقطع منطقة العصابات الملونة فيه وأذابها في مذيب مناسب ثم فصلها عن كربونات الكالسيوم، وبخر المزيج فحصل على المادة الملونة نقية. وبهذه الطريقة فصل تسيت الكلوروفيل من أوراق النبات.

إن سبب الفصل بهذه الطريقة يعود للتفاوت في ادمصاص مكونات المزيج النباتي الأخضر على كربونات الكالسيوم، لذلك يسمى هذا النوع من التحليل الكروماتوغرافي بـــ كروماتوغرافي الادمصاص المبنية على التفاوت في الادمصاص على طور صلب، فالجزيئات ذات الادمصاص الضعيف تزاح من القمة بوساطة جزيئات أكثر ادمصاصاً منها، وهذه الأخيرة تزاح بجزيئات أكثر إدمصاصاً وهكذا حتى يحدث الفصل التام.

وإن إضافة المزيد من مذيب مناسب بعد ذلك سيزيح هذه الجزيئات بالتدريج من الأسفل إلى الأعلى حيث سيحمل الجزيئات الأضعف ثم التي تليها وهكذا.

إن كلمة كروماتوغرافي Chromatography مشتقة من اللغة اليونانية التي تعني الكتابة بالألوان، وعلى الرغم من أن هذا الاسم لا يطابق الواقع حالياً حيث تستخدم هذه التقانة لفصل مواد غير ملونة، إلا أن هذا الاسم ما زال سائداً.

لقد قسمت الطرق الكروماتوغرافية إلى الأقسام التالية تبعاً للخواص الفيزيائية للطورين الثابت والمتحرك.

1- كروماتوغرافي الادمصاص Adsorption chromatography

2- كروماتوغرافي التوزيع Partition chromatography

3- كروماتوغرافي التبادل الشاردي Ion - Exchange chromatography

وحسب طبيعة الطور الثابت قسمت أيضاً للأقسام التالية:

1 - كروماتوغرافي العمود الأنبوبي Colum chromatography

2- كروماتوغرافي الورقية Paper chromatography

3- كروماتوغرافي الطبقة الرقيقة Thin - Layer chromatography

4- كروماتوغرافي الغازية Gas chromatography

يوجد تقسيم أخر للطرائق الكروماتوغرافية آنفة الذكر يعتمد على طبيعة التوازن القائم بين الطورين، الثابت والمتحرك. وهذا التقسيم الجديد يشمل الأقسام التالية:

1-سائل-صلب كروماتوغرافي (LSC) أو كروماتوغرافي الادمصاص:

هذه الطريقة تستخدم في تحليل المركبات العضوية والحيوية. أما العمود الفاصل فهو من السيليكاجل silica Gel أو الألومينا Alumina نظراً لكون نسبة سطح حبيباتها إلى حجمها كبيرة جداً بالإضافة إلى أن سطح حبيباتها فعالة كيميائياً لذلك استخدمت في إملاء العمود الكروماتوغرافي.

2- سائل- سائل كروماتوغرافي (LLC) أو كروماتوغرافي التقسيم:

يتكون الطور الصلب في هذه الطريقة من طبقة من سائل متوضع على سطح مسامي لجسم صلب خامل. وثابت التوزيع لهذه الطريقة من الكروماتوغرافي ثابت تقريباً والفصل بها جيد.

3- غاز- صلب كروماتوغرافي (GSC):

استخدمت هذه الطريقة في البداية لتنقية الغازات، ثم تطورت من قبل عدد من الكيميائيين لتتماشى مع متطلبات التحليل الحديث.

4-غاز- سائل كروماتوغرافي (GLC):

وتدعى هذه الطريقة أحيانا بكروماتوغرافي الطور البخاري. وهذه الطريقة تعد من أهم الطرائق الألية للتحليل الكروماتوغرافي لجميع مجالات العلم. أول من ابتكر هذه الطريقة الباحثان جيمس JAMES ومارتن MARTIN عام 1952. يتكون الطور المتحرك في هذه الطريقة من غاز خامل كالهيليوم أو النتروجين، أما الطور الثابت فيتكون من سائل معين (كزيت السيليكون مثلاً) موزع بانتظام على أسطح حبيبات ناعمة من مادة خاملة كالزجاج أو الخزف المسحوق. تتوزع مكونات الخليط المجهول بين الطور الثابت، وتبعاً لتطايرها مع

الطور المتحرك (أو الغاز). وبعد خروجها يقاس تركيز كل منها على حده بوساطة كاشف خاص.

يتكون الجهاز من مدخل للمادة المراد قياسها (المجهولة) يبتدئ بسدادة مطاطية ويتم إدخال العينة داخله بوساطة محقن أو إبرة خاصة. يتصل المدخل بأنبوب من الزجاج أو النحاس يحتوي على الطور الثابت، ويسمى هذا الأنبوب بعمود الفصل. ينتهي عمود الفصل من الطرف الأخر بجهاز الكشف والتسجيل.

يتم تمرير الغاز الخامل من بداية مدخل العينة لكي يحملها داخل العمود. ويمكن رفع درجة حرارة العمود بوساطة مسخنات خاصة للمساهمة في تطاير المادة. أما الكاشف فيعتمد على قياس إحدى خواص الغاز الخامل التي تختلف في الغاز النقي عنها في الغاز الذي يكون حاملاً معه لمركب ما. ونذكر من هذه الخواص الناقلية الكهربائية مثلاً حيث تتناسب الناقلية مع تركيز المركب الذي يحمله الغاز. أما جهاز التسجيل فيتلقى الإشارات الكهربائية من الكاشف ويسجلها على شكل منحنيات بيانية تتناسب مساحة كل منها مع كمية المركب المسبب لها. وقد يعطي جهاز التسجيل مساحات هذه المنحنيات مباشرة أو تقاس يدويا بتقريبها إلى مثلثات أو بطرق أخرى.

تتميز الكروماتوغرافي الغازية السائلة كطريقة تحليل آلية بفوائدها الكثيرة في مجالات متعددة كالصناعة والزراعة والطب والصيدلة وبقية العلوم. وهي دقيقة جداً وتحتاج كميات ضئيلة من المادة لتحليلها (أجزاء من الميلليغرام)، ولكن نقطة الضعف الوحيدة لها هي كونها لا تحلل إلا المواد القابلة للتطاير، أو التي يمكن جعلها قابلة للتطاير بمفاعلتها مع مواد أخرى قبل إدخالها إلى الجهاز وأثناء التسخين داخله حيث يجب أن يكون لها ضغط بخار يعادل بضعة ميلليمترات من الزئبق على الأقل ليتمكن الغاز من حملها على درجة حرارة عمود الفصل أو الأنبوب الزجاجي.

5- كروماتوغرافي السائلة عالية الأداء (الإنجاز) (HPLC):

وهي من أحدث الطرائق الكروماتوغرافية حتى وقتنا الحاضر. كما أنها تحتل أهمية مماثلة للطريقة السابقة في فصل وتقدير العديد من المركبات العضوية والحيوية لاسيما تلك التي يتعذر فصلها وتقديرها بالطريقة السابقة لصعوبة تطايرها مع الطور المتحرك (الطور الغازي).

يتكون الجهاز هنا من مدخل للمادة المجهولة (المراد فصلها وتقديرها) يبتدئ بما يسمى ما قبل عمود الفصل (عمود صغير يسبق عمود الفصل ويحميه من الشوائب التي قد تترافق مع

العينة) ويتم إدخال العينة داخله بوساطة محقن أو إبرة خاصة. يتصل العمود الصغير بدوره بعمود الفصل (الذي يختلف من حيث طبيعة الطور الثابت وقياسات العمود بحسب طبيعة المادة أو المواد المراد فصلها وتقديرها) الذي ينتهي من الطرف الأخر بجهاز الكشف (جهاز تحليل طيفي ضوئي) والتسجيل.

يتم إدخال المذيب أو المذيبات المعتمدة لفصل نوع معين من المركبات من بداية مدخل العينة تحت ضغط ثابت ومستمر طوال مدة الفصل. وطبيعة العمل في هذا الجهاز تمكننا من تغيير تركيب خلائط المذيبات المضافة بحيث يزداد تركيز أحدها في المزيج المضاف بالنسب التي تختارها حتى الوصول إلى نهاية عملية الفصل. وهذه الخاصية تمكن المحلل من التحكم في تراكيز المذيبات المضافة تحت ضغط ثابت خلال فترة زمنية محددة وصولاً إلى تحقيق أفضل النتائج في عمليتي الفصل والتقدير الكمي.

وتجدر الإشارة إلى أنه منذ بداية عملية التحليل نختار طول الموجة الضوئية التي يحدث عندها الامتصاص الأعظمي لمكونات العينة. ويقوم جهاز التسجيل بتلقي الإشارات الكهربائية من جهاز التحليل الطيفي الضوئي ويسجلها على شكل منحنيات كما مر ذكره آنفا.

6- كروماتوغرافي التبادل الشاردي (IEC):

تعد هذه الطريقة حالة خاصة من كروماتوغرافي سائل–صلب. وكما يستدل من اسمها فإنها تستخدم لفصل المركبات المتشردة، فهي تختلف عن جميع الطرائق السابقة. وهذه الطريقة حديثة العهد فقد ابتكرت لأول مرة قبل الحرب العالمية الثانية مباشرة على أثر ابتكار الراتنجيات الصنعية (أمينات متعددة) التي لها صفات التبادل الشاردي نفسها. وهي تضم نوعين من المركبات:

آ- الراتنجيات مبادلات الشوارد (الأيونات) السالبة، ولها الصيغة العامة التالية:

$$Resine - NH3^{+}. OH^{-}$$

ب- الراتنجيات مبادلات الشوارد (الأيونات) الموجبة، ولها الصيفة العامة التالية:

$$Resine - SO3^{-}.Na^{+}$$

وقد أمكن بهذه الطريقة فصل الحموض الأمينية والعديد من المعادن الترابية النادرة (كاليورانيوم والثوريوم والراديوم).

7- كروماتوغرافي الورقية (P . C):

هذه الطريقة من التحليل الكروماتوغرافي هي أيضاً حالة خاصة من كروماتوغرافي سائل – سائل، والطور الثابت هنا عبارة عن طبقة رقيقة (فيلم) من سائل مدمص على ورق ترشيح.

وهذه الطريقة من أسهل الطرق الكروماتوغرافية. حيث تبقع العينة على طرف قطعة من ورق الترشيح الخاص بالتحليل الكروماتوغرافي (ورق وتمان Whatman رقم 1، 2، 3) ثم يغمر الطرف السفلي لهذه الورقة في المذيب المناسب الذي يشكل الطور المتحرك. يتحرك المذيب إلى الطرف الأخر من الورقة إما بالانتشار من أسفل إلى أعلى بالطريقة الصاعدة أو بالجاذبية من أعلى إلى أسفل بالطريقة النازلة. وفي كل الأحوال يحمل المذيب مكونات البقعة إلى مسافات مختلفة تبعاً لمدى ارتباطها الفيزيائي مع كل من الطورين الثابت والمتحرك. وهذه المسافة (بالنسبة لذلك المذيب) هي صفة للمركب ثابتة إلى حد كبير وتفيد في تمييزه عن بقية المركبات. فلكل مركب إذن معامل انتشار يرمز له بالرمز Rf وهو نسبة المسافة التي قطعها المركب على ورقة الترشيح إلى تلك التي قطعها المذيب:

$$Rf = \frac{\text{المسافة التي قطعها المركب على ورقة الترشيح}}{\text{المسافة التي قطعها المذيب على ورقة الترشيح}}$$

عندما يقطع المذيب المتحرك مسافة محددة على ورقة الترشيح يعلم مكان وصوله، ثم تجفف الورقة من آثار المذيب.

إذا كانت المركبات المفصولة ملونة فان بقعها تظهر واضحة للعين على ورقة الترشيح، أما المركبات غير الملونة فلا بد لإظهارها من رش الورقة بكاشف معين يتفاعل مع تلك المركبات فيوضح أماكنها على الورقة، تحدد مراكز البقع المنفصلة وتقاس المسافة التي قطعتها كل بقعة ثم يحسب معامل الانتشار لكل منها. ومن مقارنة معامل انتشار البقع المجهولة بمعامل انتشار مركبات معروفة عوملت تحت الظروف نفسها وبالمذيب نفسه يمكن تحديد أنواع المركبات المجهولة.

8- كروماتوغرافي الطبقة الرقيقة (TLC):

يشابه هذا النوع من الكروماتوغرافي النوع السابق (الكروماتوغرافي الورقية) إلا أنه استبدلت بالورق هنا صفحة من الزجاج (أو صفيحة معدنية) عليها طبقة رقيقة من الألومينا أو السيليكاجل أو السيللوز أو أية مادة مسحوقة. وتعطي هذه الطريقة نتائج أدق من الورق. كما يمكن فيها كشط الطبقة الرقيقة الحاوية على البقع المنفصلة واستخلاص المركبات منها بغرض دراستها. ويمكن أيضاً استخدام كواشف شديدة الفعالية لرش البقع وإظهارها بالتفحيم مثل حمض الكبريت وحمض الكروم.

9- الترشيح الهلامي (الجيلي) Gel Filtration:

يعتمد الفصل هنا على استخدام هلام الدكستران dextran الذي هو جزيئات من السكريات المتعددة، فعندما تمتص هذه المادة الماء تصبح بنيتها قادرة على فصل الجزيئات تبعا لحجمها، حيث تمر الجزيئات ذات الحجم الصغير وتحتبس الجزيئات كبيرة الحجم لعدم قدرتها على النفاذ من خلال الفتحات البينية لتركيب الهلام الداخلي. وتصلح هذه الطريقة لفصل وتركيز جزيئات وزنها الجزيئي يتراوح بين 100 إلى عدة ملايين.

10- الرحلان الكهربائي Electrophoresis:

وهي تشابه من حيث المبدأ كروماتوغرافي الورقية بالإضافة إلى تطبيق حقل كهربائي عمودي على انسياب المذيب الحاوي على المكونات. تتجه المركبات التي تسود فيها الشحنات الموجبة باتجاه القطب السالب Cathode بينما تتجه المركبات التي تسود فيها الشحنات السالبة باتجاه القطب الموجب Anode أما المركبات المتعادلة فلا تتجه إلى أي من القطبين وهذا هو الأساس في فصل المركبات بطرائق الرحلان الكهربائي.

13-2- فصل مكونات مستخلص أوراق السبانخ الخضراء بالطبقة الرقيقة:

المبدأ: راجع المبدأ العام للتحليل الكروماتوغرافي بالطبقة الرقيقة.

المواد والمحاليل:

1- سيليكاجل G.
2- شرائح زجاجية مجهرية.
3- فرن بالدرجة 100 مْ.
4- كلوروفورم.
5- ميثانول.

طريقة العمل:

أولاً: تحضير شرائح الطبقة الرقيقة:

اغسل الشرائح بالماء الساخن والصابون ثم بالماء المقطر وجففها، متجنباً لمس سطحها بأصابعك، وخذها من أطرافها.

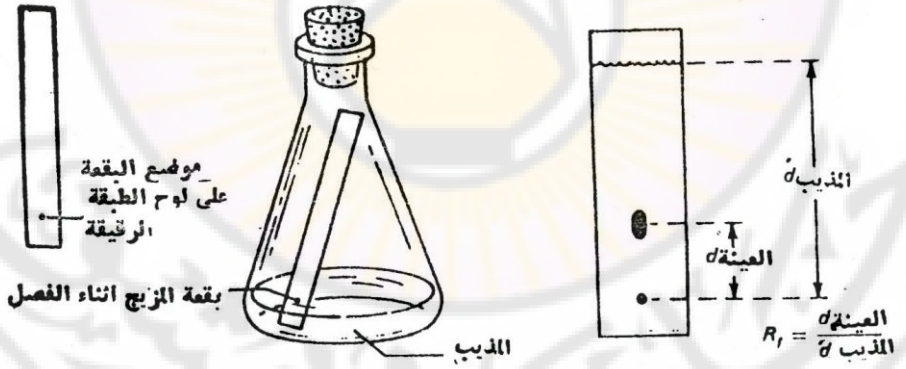
حرك لمدة دقيقة مزيجا من 4 غ سيليكاجل في 100 سم3 مزيج كلوروفورم – ميثانول 3: 1. اغمس شريحتين متلاصقتين مع بعضهما في معلق سيليكاجل واسحبهما ببطء، ثم دع المذيب ينساب منهما حتى يتبخر بكامله ويترك طبقة رقيقة من السيليكاجل على شرائح الزجاج، ضع الشرائح على ورقة نظيفة موضوعة على طاولة العمل، وانتظر لمدة 15 دقيقة حتى تجف

بالهواء، ثم انقلها إلى فرن مثبت في الدرجة 100 مْ واتركها لمدة 30 دقيقة حتى تتنشط طبقة السيليكاجل، ولا تنسى أن تحافظ على الشرائح جافة بعد خروجها من الفرن بوضعها في مجفف. احفظ فائض عجينة السيليكاجل بوضعها في وعاء مغلق لاستعمالها في المستقبل.

ثانياً: فصل مستخلص أصبغة الأوراق الخضراء:

اهرس في هاون نحو 70غ من أوراق سبانخ وأضف 20 سم^3 ميثانول وتابع عملية الهرس لمدة خمس دقائق، بعدها رشح بقمع بوخنر واغسل المتبقي في القمع بـــ 30 سم3 بنتان. أضف إلى الرشاحة الناتجة 25 سم^3 مزيج (60: 40) بنتان- ميثانول انقل الناتج إلى قمع فصل واغسل مرتين بـــ 25 سم^3 ماء حتى تزيل الميثانول، تخلص من طبقة الماء في قمع الفصل وبخر الطور العضوي على حمام مائي حتى يصبح حجمه 3 سم3.

استعمل ماصة شعرية وخذ 10–15 ميكروليترا وضعها على الطبقة الرقيقة. وإذا لم تتوافر الماصة الشعرية خذ أنبوب انصهار شعرياً مغلقاً من أحد طرفيه واغمسه في مستخلص الصبغة حتى يرتفع المستخلص 2–3 سم، ثم ضع أنبوب الانصهار بحيث يلامس سطح الطبقة الرقيقة وتكون البقعة الموضوعة على بعد 2 سم من حافة الشريحة وفي منتصف المسافة (انظر الشكل 10).



الشكل (10) بعض الأدوات المستعملة في كروماتوغرافي الطبقة الرقيقة وموضع البقع الناتجة عن الفصل وقياسها.

لفصل الأصبغة ضع في دورق مخروطي كمية كافية من الكلوروفورم حتى يصل إلى الطبقة الرقيقة ولا يمس بقعة الأصبغة، ثم أضف 3–4 قطرات ميثانول. سد الدورق حتى يشبع جوه بالمذيب، بعدها ضع الشرائح وانتظر حتى يرتفع المذيب إلى ما قبل نهاية الشريحة. خذ الشريحة من الدورق ووضع إشارة بسرعة الحد الذي وصل إليه المذيب، وبالملاحظة الدقيقة

تشاهد أربع بقع ملونة على الشريحة تمثل الأصبغة الموجودة في الأوراق الخضراء، وهي الكاروتينات (برتقالي إلى برتقالي مصفر)، فيوفايتين (رمادي)، كلورو فيلات (أخضر إلى أخضر مزرق)، كزانثوفيللات (أصفر). أحسب Rf لكل صبغة.

دليل المصطلحات العلمية

A	
Acid	حمض
-- Value	قرينة الحمض
Activator	منشط
Acceptor	مستقبل
Absorbance	امتصاص
Adsorption	ادمصاص
Aerobic Respiration	تنفس هوائي
Alcohol dehydrogenase	ديهايدروجيناز الكحولية
Acid value	الرقم الحمضي
Alcohol	كحول
Aldehyde	الدهيد
Amphoteric polyectrolytes	الكتروليتات عديدة امفوتيرية
Analyser	محلل
Aniline acetate test	اختبار خلات الانيلين
Anthrone reaction	تفاعل الانثرون
Ascorbic acid	حمض الاسكوربيك
Alcoholic Fermentation	تخمر كحولي
Aldose	الدوز (سكر الدهيدي)
Amino acid	حمض أميني
Amphoteric	متردد (مذبذب)
Amylase	أميلاز (أنزيم)
Amylopectin	أميلو بكتين
Amylose	أميلوز
Anions	شوارد سالبة
Anaerobic Respiration	تنفس لا هوائي

Argine	أرجنين (حمض أميني)
Ascorbic acid	حمض أسكوربيك (فيتامين C)
Asparagine	أسبارجين (حمض أميني)
B	
Biuret	بايوريت
Biological oxidation	أكسدة حيوية
Biosynthesis	اصطناع حيوي
Blank	شاهد
Buffer solution	محلول واقي
Barfoed's test	اختبار بارفوئد
Benidict's test	اختبار بندكت
Bial's test	اختبار بيال
Biuret test	اختبار البيوريت
Bromocresol purple	بنفسجي البروموكريزول
Bromophenol blue	أزرق البروموفينول
Buffer solutions	محاليل منظمة
C	
Calciferal	كالسيفيرول
Cations	شوارد موجبة
Carbohydrates	كربوهيدرات
Chromatography	كروماتوغرافي (الرسم اللوني)
Chromatography Ascending	كروماتوغرافي الصاعدة
Chromatography Thin Layer	كروماتوغرافي الطبقة الرقيقة
Chromatography Colum	كروماتوغرافي العمود
Chromatography Paper	كروماتوغرافي الورقي
Chromatography Descending	كروماتوغرافي الهابطة
Chromatography Tow dimensional	كروماتوغرافي في البعدين

Chromatography Gas liquid	كروماتوغرافي السائل الغازي
Chromatography Partition	كروماتوغرافي التوزيع
Chromatography Ion-Exchange	كروماتوغرافي تبادل الأيونات
Calciferols	الكالسيفرولات
Calomel electrode	قطب الكالومبل
Carotines	كاروتينات
β- Carotene	بيتا – كاروتين
Carotinase	كاروتياز
Carr - Brice test	اختبار كار – برايس
Coenzyme	مرافق أنزيم
Cholecalciferol	كولي كالسيفوول
Cholesterol	كولسترول
Chromatography	كروماتوغرافيا
Combined electrode	قطب مركب
Cobalt sulphate	كبريتات الكوبالت
Coagulation	تخثر
Coefficient	معامل
Co-factor	العامل المتمم
Colloid	غروي
Colum	عمود أنبوبي
Constituents	مكونات
Concentration	مركز
Condensation	تكثيف
Control	تحكم
Crystallization	تبلور
Cystine	سيستين
Cysteine	سيستيين (حمض أميني)

D	
Density	كثافة
Dehydration	تجفيف
Desiccator	مجفف
Dehydroascorbic acid	حمض الاسكوربيك منزوع الهيدروجين
Dehydrocholesterol	كولسترول منزوع الهيدروجين
Dextrorotatory	تدوير نحو اليمين
Decoloration	إزالة الألوان
Derivatives	مشتقات
Denaturation	تشوه (تخرب)
Determination	تقدير
Decomposition	تفكك
Dehydrogenase	نازعة الهيدروجين (أنزيم)
Deoxy-ribonucleic acid (DNA)	الحمض النووي الريبي المنقوص الأوكسجين
Deoxyribose	رايبوز منقوص الأوكسجين
Dextrin	ديكسترين
Dialysis	تحال
Disaccharide	سكر ثنائي
Distillation	تقطير
Disulphide bond	رابطة ثنائية الكبريت
Diffusion	انتشار
Electrophoresis	الرحلان الكهربائي
Emulsification	استحلاب
Enzyme	أنزيم
Enzyme substrate complex	معقد أنزيم – ركيزه
Enzyme Unit	وحدة الأنزيم

Equivalent weight	الوزن المكافئ
Estimation	تقدير
Evaporation	تبخير
Extraction	استخلاص
E	
Electromotive force	القوة الدافعة الكهربائية
Electrophoresis	الترحيل الكهربائي
Enzymatic browning	الاسمرار الأنزيمي
Ergocalciferol	ارغوكالسيفيرول
F	
Fat	دهن
Fermentation test	اختبار التخمر
FAD	فلافين ادينيين ثنائي النيوكليوتيد
Fatty acid	حمض دهني
Fermentation	تخمر
Fractionation	تجزئة
Fructose	فركتوز
G	
Gas chromatography	كروماتوغرافيا الغاز
Galactose	غالاكتوز
Gel	هلام
Globulin	غلوبولين
Glucose	غلوكوز
Glucides	سكريات
Glyceride	غليسريد
Glycerol	غليسرول (غليسرين)
Glycogen	غليكوجين

H	
Heavy metals	معادن ثقيلة
Hopkins Cole’s test	اختبار هوبكنز – كول
High performance liquid chromatography	كروماتوغرافيا السائل ذو الكفاءة العالية
Hemoglobine	هيموغلوبين
Heterocycle	حلقة لا متجانسة
Hexose	هكسوز (سكر سداسي)
Hydrolysis	حلمأة
Hydrolase	هايدرولاز (أنزيم الحلمأة)
Hydrophilic	محب للماء
Hydroscopic	ماص للماء
HPLC	كروماتوغرافيا السائل عاليالأداء (الإنجاز)
I	
Indicators	دلائل لونية
Iodine number	الرقم اليودي
Iodine test	اختبار اليود
Isoelectric point	النقطة التعادل الكهربائي
Isoprene	ايزوبرن
Identification	تمييز
Impure	غير نقي
Indicator	مشعر
Inhibition	تثبيط
Inositol	اينويتول
Iodine Value	قرينة اليود
Ionic	شاردي
Isoelectric Point	نقطة التعادل الكهربائي

Isomer	مماكب
Isolation	عزل
K	
Ketoses	كيتوزات (سكريات)
Ketos	كيتوز
L	
Lambert - Beer's law	قانون لامبرت – بيير
Levorotatory	تدوير نحو اليسار
Liebermann-Burchard's test	اختبار ليبرمان – بورشارد
Lactose	لاكتوز (سكر الحليب)
Lecithin	ليستين
Lipase	ليباز (آنزيم)
Lipids	ليبيدات
Lyases	أنزيمات التفكيك
M	
Magnetic stirrer	خلاط مغناطيسي
Methyl red	أحمر الميثيل
Millon's test	اختبار ميلون
Molisch’s test	اختبار موليش
Maltose	مالتوز (سكر الشعير)
Mannose	مانوز
Molecular activity	الفعالية الجزيئية
Monosaccharides	سكريات أحادية
N	
Naphthoquinone	نافتوكوينون
Niacin	نياسين (فيتامين)
Nicol prism	موشور نيكول
Nicotinamide	نيكوتين أميد

Nicotinic acid	حمض النيكوتينيك
Ninhydrin	تنهايدرين
Nicotin amid	نيكوتين اميد (فيتامين)
Nucleosides	نوكليوزيدات
Nucleotides	نوكليوتيدات
Nucleic acid	حمض نووي
O	
Osazone test	اختبار الأوسازون
Organic solvent	مذيب عضوي
Oleic acid	حمض أوليك (حمض الزيت)
Organic	عضوي
Oses	سكريات بسيطة
Oxidation	أكسدة
Oxidase	أوكسيداز (أنزيم)
P	
Pellagra	بيلاجرار (مرض)
Pentoses	بنتوزات (سكريات)
pH meter	جهاز قياس درجة الحموضة
Pharnoquinone	فارنوكوينون
Phenol phthalein	فينول فتالين (دليل لوني)
Phenol red	أحمر الفينول
Protocolorimeter	جهاز قياس الشدة الضوئية
Phylloquinone	فيلوكوينون
Polarized light	ضوء مستقطب
Polarimeter	جهاز قياس الاستقطاب
Polarimetery	استقطاب الضوء
Polyphenol oxidase	بولي فينول اوكسيداز

Precipitation	ترسيب
Prosthetic group	المجموعة المرتبطة
Pyrex	بيركس (نوع زجاج)
Palmitic acid	حمض النخيل
Pentose	بنتوز (سكر خماسي)
Phospholipids	غليسريدات فوسفورية
Phosphorylase	فوسفوريلاز (أنزيم)
Photopigments	أصبغة ضوئية
Polysaccharides	متعددات السكر
Polarography	رسم قطبي
Proteins	بروتينات
Preparation	تحضير
Precipitation	ترسيب
Prolin	برولين (حمض أميني)
Prosthetic group	الضميمة (مجموعة إضافية)
Purification	نقاوة
Pyridoxal	بيريدوكسال (فيتامين B6)
R	
Reagent	كاشف
Resorcinol	ريزورسينول
Rf	معامل الانتشار (للمذيبات)
Reducing sugar	سكر مرجع
Retinol	ريتينول (فيتامين A)
Riboflavin	ريبوفلافين (فيتامين B2)
Ribonucleic acid (RNA)	حمض نووي ريبي
Ribose	رايبوز

S	
Saccharomyces cerevisiae	خميرة الخبز
Sakagushi's test	اختبار ساكاغوشي
Salt	ملح
Saccharides	سكريات
Saturation	إشباع
Saponification	تصبن
Saponification number	رقم التصبن
Salting out	التمليح المرسب
Separation	فصل
Solution	محلول
Solvent	محل
Solubility	قابلية الانحلال
Specific gravity	الوزن النوعي
Specific Activity	الفعالية النوعية
Spectrophotometer	مطياف ضوئي
Standard	قياسي
Starch	نشاء
Substrate	ركيزة (مادة التفاعل للأنزيم)
Surface Reaction	تفاعلات سطحية
T	
Test	اختبار
Tetrose	تيتروز (سكر رباعي)
Thiamine	ثيامين (فيتامين B1)
Thin layer chromatography	كروماتوغرافي الطبقة الرقيقة
Titration	معايرة
Transmittance	نفاذ ضوئي

Transcription	نسخ
Triose	ترايوز (سكر ثلاثي)
Triglyceride	ثلاثي غليسريد
Tyrosine	تايروزين (حمض أميني)
U	
Unsaturation	غير مشبع
Urea	بولة
W	
Wax	شمع
X	
Xylose	كسيلوز
Y	
Yeast	خميره
Z	
Zwitterion	أيون ثنائي القطبية

Damascus University

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

المراجع العلمية

المراجع العربية

1. الصالح، عبود. 1992. الكيمياء الحيوية، الجزء العملي، منشورات جامعة حلب.
2. سمينة، غياث، 1970. الكيمياء الزراعية (العضوية والحيوية) الجزء العملي- منشورات جامعة دمشق.
3. سمينة، غياث، 1980. الكيمياء الحيوية، الجزء العملي – منشورات جامعة دمشق.
4. سمينة، غياث، اليوسفي، لميس 1986. الكيمياء الحيوية، الجزء العملي – منشورات جامعة دمشق.
5. دهان، محمود، 1989. كيمياء وتحليل الأغذية، الجزء العملي – منشورات جامعة حلب.
6. حيدر، محمد، 1985. اختبارات وتجارب في الكيمياء الحيوية – منشورات جامعة تشرين.
7. حيدر، محمد (1986). اختبارات وتجارب في الكيمياء الحيوية، مديرية الكتب والمطبوعات الجامعية – جامعة تشرين.
8. محمد، محمد، 1990. الكيمياء التحليلية، الجزء العملي – منشورات جامعة تشرين.

وقل رب زدني علما
جامعة دمشق
Damascus University

المراجع الأجنبية

1. Bergmeyer, H. V. (ed). (1974) 2nd. ed. Methods of Enzymatic Analysis, 2nd. ed. Vol (1-4) Verlag chemic, Academic Press, New York.
2. Bralshaw, L. J. (1966). Introduction to Molecular Biological Techniques, Prentice - Hall. Englewood diffs, New Jersey.
3. Bryan, L. W. and Keitn Wilson (eds) (1975) Principles and Techniques of Practical Biochemistry, Arnold.
4. Chemistry : Organic and Biochemistry . 4th edition, Addison - Wesley publishing company. Massachusettes U.S.A.
5. Clark, H.T. (1975). Organic analysis, qualitative and quantitative. 5th edition, Edward Arnold, Irland.
6. Clark, J. M., and Switzer, R. L. (1977). Experimental Biochemistry, 2nd. ed. Free man and Company, san Francisco.
7. Clark, J.M. and Switzer R.L. (1977). Experimental biochemistry, second edition, W.H. Freeman and Company, San Francisco, U.S.A.
8. Cooper, T. G. (1977). The Tools of Biochemistry, John Wiley; New York.
9. Donald D - Bills , Shain - dow Kung. (1990). Biotechnology and food safety. Butter worth - Heinemann. U.S.A.
10. -James, A. and Prichard, M. (1975) . Practical physical, Chemistry 3rd edition, Longmans, U.K.
11. Lees, R. (1975) , Analytical and Quality control, Methods for the Food Mannfacturer and Buyer. Pitman Press. Great Britain.
12. Oser, B. L. (ed). (1975). Hawk's physiological chemistry (14th. ed), Mc Graw-Hill Book company, New York and London.
13. Plummer, D. T., (1978). An Introduction to practical Biochmistry 2nd. ed. Mc Graw-Hill, London.

14. -Plummer, D.T. (1978). An introduction to practical biochemistry, second edition, Mc.

15. Smith, I. (1976) .Chromatographic and Electrophoretic techniques , 4th edition ,Heinemann W., U.K.

16. Smith, Ivor (ed) (1960). Chromatographic and Electrophoretic Techniques, Inter Science publishers., New York.

17. Varley, H., (1974). Practical clinical Biochemistry (4th. ed.) william Heineman. Medical Books LTD, London.

18. -Vogel , A. I. (1977). Practical organic chemistry 5th edition, Longmans, London .

19. -Williams A.L., Richardson, R.W., Debey , H.J. Kelley L.A. and Lien, 0.6. (1988). Introduction to laboratory

20. Zwarenstein, H., and Vander Schyff, V. E., (1963). Practical Biochemistry (7th. ed.), E & S. Livingstone LTD. Edinburgh and London.

Damascus University

اللجنة العلمية:

أ. د. عبد الجليل النفوري

أ. د. صياح أبو غرة

أ. د. عبد الوهاب مرعي

المدقق اللغوي:

د. ذياب راشد

حقوق الطبع والترجمة والنشر محفوظة لمديرية الكتب والمطبوعات الجامعية