حساب طاقة التنشيط ومعامل درجة الحرارة لإنزيم الاميديز في بعض الترب

راضي كاظم
كلية الزراعة / جامعة بغداد

* لمى صالح
كلية الزراعة / جامعة القادسية

الخلاصة
اختيرت عشر ترب من مواقع جغرافية مختلفة من العراق ومتباينة في بعض صفاتها الكيميائية والفيزيائية وهي ابو غريب (ثلاث ترب) والجادرية وديالى (تربتين) والسليمانية والكوت والناصرية والديوانية لتقدير القيم الحركية (طاقة التنشيط ومعامل درجة الحرارة) لأنزيم الاميديز فيها .حضنت الترب في درجات حرارة 10-60 م° وقدرت فعالية انزيم الاميديز عند كل درجة حرارة لحساب القيم الحركية Q_{10} معامل درجة الحرارة وEa طاقة التنشيط في الترب المدروسة .اظهرت النتائج ان في زيادة درجة الحرارة تزداد سرعة تحلل الفورم امايد (فعالية انزيم الاميديز) ، وبينت النتائج ان قيم Q_{10} تراوحت بين 1.83-2.37 .اما قيم Ea فقد تراوحت بين 59.17- 86.61 كيلوجول .مول$^{-1}$.

الكلمات المفتاحية
الترب ، طاقة التنشيط ، معامل درجة الحرارة ، انزيم الاميديز .

المقدمة

يعد إنزيم الاميديز من انزيمات التحلل المائي المهمة في التربة اذ يعمل على تحلل الامايدات الى امونيا وحامض كاربوكسيلي (Fran Kenberger and Tabatabai,1980a) حسب المعادلة الاتية :

$$R.CONH_2+H_2O \text{ -------- } NH_3 + R.COOH$$

وهو بذلك يقوم بتجهيز التربة بالنتروجين بصورة امونيوم .خصوصا ان تربنا تمتاز بقلة محتواها من عنصر النتروجين وإنخفاض واقعها الخصوبي لقلة محتواها من المادة العضوية لكون العراق يقع ضمن المناطق الجافة وشبة الجافة التي تمتاز بارتفاع درجات الحرارة .ان فعالية التفاعل الكيميائي تزداد بزيادة درجة الحرارة وتتضاعف تقريبا بارتفاع درجة الحرارة 10 م° اما معدل التفاعل المحفز انزيمياً فيزداد كلما ارتفعت درجة وعند الوصول الى بعض درجات الحرارة العالية يبدأ بالانخفاض اذ يصبح الانزيم غير فعال ،ان التفاعلات المحفزة انزيماً تكون اقل حساسية لتغير درجات الحرارة مقارنة بالتفاعلات غير المحفزة انزيمياً (*Tabatabai*,1994) .

تعتمد سرعة التفاعل على نظرية التصادم بين المواد المتفاعلة ويعتمد مدى التصادم على تركيز المواد المتفاعلة والسرعة التي تتم فيها هذه العملية (الطاقة الحركية) وتعتمد الطاقة الحركية على درجة الحرارة والطاقة المطلوبة بأقل كمية لاجراء اي تفاعل تمثل طاقة التنشيط (Sege L,1976 Ea) .ان العلاقة بين طاقة التنشيط ودرجة الحرارة يمكن وصفها بمعادلة Arrhenius والتي لشقت اول مره سنة 1889(Tabatabai,1994)

$$K= A_{exp}^{(-Ea/RT)}$$

اما معامل درجة الحرارة (Q_{10}) فيستخدم لدراسة تاثير درجة الحرارة في التفاعلات المحفزة انزيميا ،ويمثل العامل الذي يزداد فيه معدل سرعة التفاعل عند زيادة درجة الحرارة 10م° (Tabatabai,1994) . وبين Dixon and Webb,1964 ان قيم معامل درجة الحرارة في التفاعلات المحفزة انزيمياً تكون منخفضة فهي تقع بين 1-2 مقارنة بالتفاعلات المحفزة كيميائياً وقد قدر Frankenberger and Tabatabai, (1980b) قيم طاقة التنشيط ومعامل درجة الحرارة لانزيم الاميديز في بعض الترب وبأستخدام ثلاث مواد خاضعة الفورم امايد والاسيت امايد والبروبون امايد ولدرجات حرارة 10-60 م° ،تراوحت قيم طاقة التنشيط للترب المدروسة وللمواد الخاضعة الثلاث ما بين 43.3-49.8، 43.2-55.5 ,22.2- 29.8 كيلو جول .مول$^{-1}$ على التوالي وتراوحت قيم معامل درجة الحرارة بين 1.62-

*البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الثاني

1.79، 1.66 -1.79 ,1.49-1.63 على التوالي .

المواد وطرائق العمل

جرى جمع عينات الترب المستخدمة في هذه الدراسة من سبعة مواقع جغرافية مختلفة من شمال ووسط وجنوب العراق للحصول على تباين في بعض الصفات الكيميائية والفيزيائية أخذت العينات من الطبقة السطحية 0-30 سم عشوائياً ,جففت هوائياً وطحنت ثم نخلت بمنخل قطر فتحاته 2 ملم وحفظت في اواني بلاستيكية واجري لها بعض التحاليل الكيمائية والفيزيائية حسب الطرق الواردة Hand Book No 60 U.S.D.A 1954, (جدول 1)

- التوزيع الحجمي لمفصولات التربة قدر وفق طريقة الماصة الدولية الموصوفة من قبل Kilmer and Alexander,1949
- درجة تفاعل التربة (pH)قدر في مستخلص عجينة التربة المشبعة باستخدام جهاز pH-meter.
- التوصيل الكهربائي (ECe): قدر في مستخلص عجينة التربة المشبعة باستخدام جهاز التوصيل الكهربائي .

كما قدرت الكثافة الظاهرية بطريقة تغليف المدره بشمع البرافين الواردة في Black,1965a .

اما المادة العضوية فقدرت وفق طريقة Walkley-Black, الواردة في Black,1965b

جدول (1) بعض الصفات الكيميائية والفيزيائية لترب الدراسة .

الموقع	السلسلة	النسجة	gm.Kg^{-1}			ECe ds.m^{-1}	pH	المادة العضوية gm.Kg^{-1}	الكثافة الظاهرية ميكاغرام$^{-3}$
			الرمل	الغرين	الطين				
ابوغريب –كلية الزراعة	TM947	مزيجية	330.00	430.00	240.00	4.25	7.73	16.00	1.37
ابوغريب –كلية الزراعة	TW943	مزيجة طينية غرينية	160.00	470.00	370.00	3.10	7.30	12.00	1.43
الجادرية	DW55	مزيجة رملية	570.00	330.00	100.00	5.19	7.93	6.90	1.46
ديالى-المقدادية	MM12	طينية	70.00	360.00	570.00	2.20	7.98	22.00	1.32
ديالى-المقدادية	MW2	رملية مزيجة	830.00	80.00	90.00	2.30	7.80	3.11	1.51
السليمانية –سيد صادق	CCW1222	طينية	110.00	370.00	520.00	0.81	8.55	40.20	1.23
الكوت- الصويرة	ME1	رملية	890.00	60.00	50.00	1.30	7.24	8.00	1.56
الناصرية –الشطرة	MM7	مزيجة طينية	326.00	302.00	372.00	4.58	8.10	7.00	1.43
الديوانية –السنية	DW97	مزيجة غرينية	50.00	700.00	250.00	5.59	8.20	11.80	1.41
ابوغريب –محطة ابحاث الرائد	DW95	مزيجة طينية غرينية	87.00	515.00	398.00	1.40	7.51	14.70	1.42

قدرت قيم طاقة التنشيط Ea ومعامل درجة الحرارة Q_{10} من خلال دراسة تأثير الاختلاف في درجة حرارة التحضين في فعالية انزيم الاميديز التي قدرت بطريقة FranKenberger and Tabatabai, 1980a مع اختلاف ان درجة حرارة التحضين كانت من 10-60 م° وقدرت فعالية انزيم الاميديز عند 0.5 مولاري من محلول الفورم امايد ,ثم قدر نتروجين الامونيوم المتحرر وفق طريقة Bremner,1965 الواردة في Black (1965b), ،استخدمت معادلة Arrhenius equation حيث ان :

K= ثابت سرعة التفاعل Rate constant

A= عامل التردد Frequency factor

Ea= طاقة التنشيط Activation energy كيلوجول .مول$^{-1}$

K= ثابت الغازات 8.314 Gas constant جول.درجة$^{-1}$.مول$^{-1}$

T= درجة الحرارة Temperature degree كلفن

وعند كتابة المعادلة بالصيغة اللوغارتمية :

Log K=-Ea/2.303 RT+ Log A

وبعد أخذ لوغاريتم طرفي المعادلة تصبح بصيغتها الخطية وعند رسم العلاقة بين Log K لوغاريتم الفعالية مايكروغرام نتروجين الامونيوم .غم تربة$^{-1}$ساعة$^{-1}$ وبين مقلوب

درجة الحرارة 1/T تم استخراج قيم Log A التي تمثل قيمة القاطع والميل الذي يمثل قيمة – Ea/2.303 R .اما قيم معامل درجة الحرارة Q_{10} فقد حسبت تبعا (Dick and Tabatabai,1978) :

$$Q_{10}= \frac{\text{Amidase activity at T}}{\text{Amidase activity at T}-10C^{\circ}}$$

النتائج والمناقشة

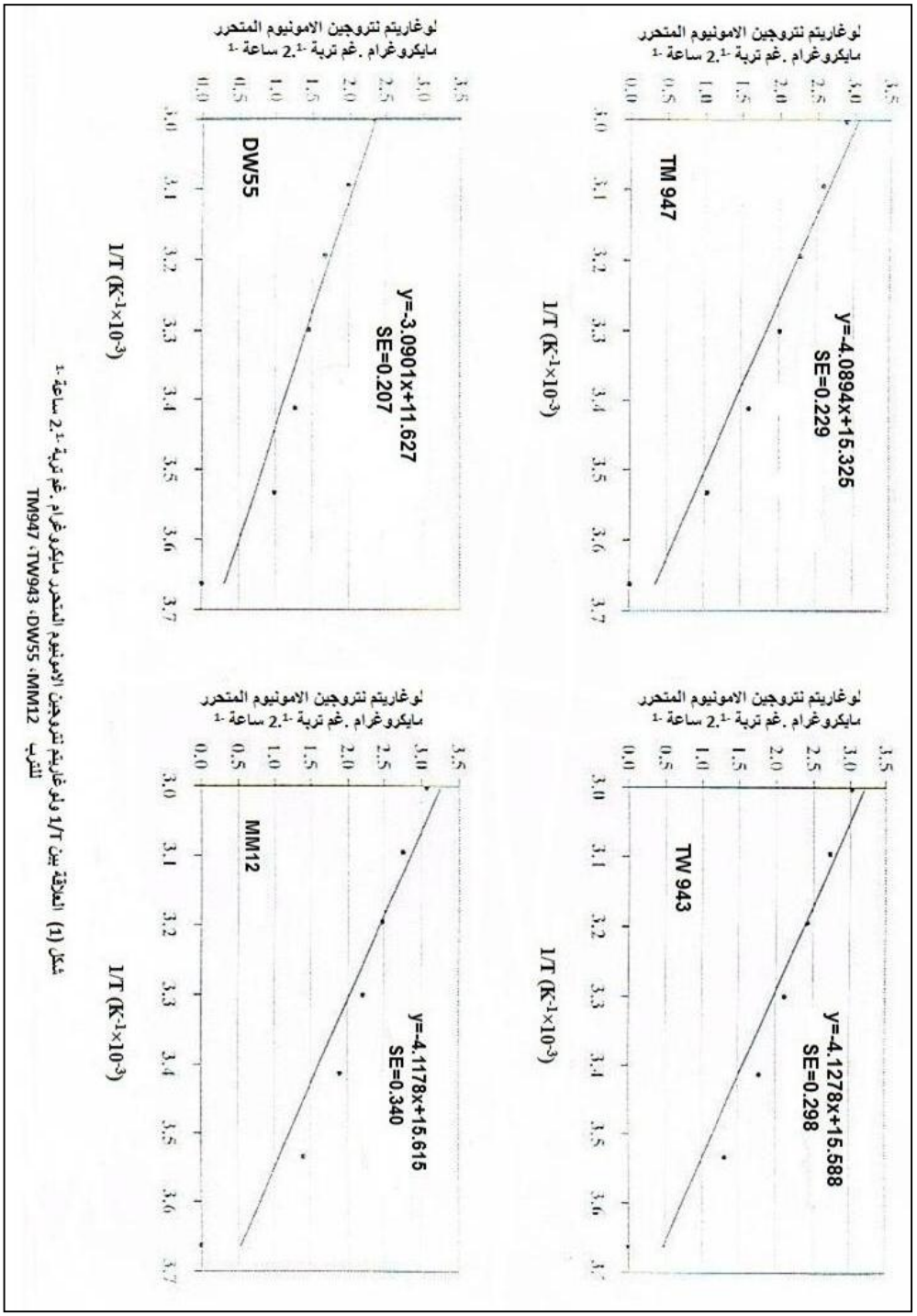
يبين جدول (2) قيم معامل درجة الحرارة Q_{10} لانزيم الاميديز التي تم حسابها من تأثير درجة الحرارة في معدل تحلل الفورم امايد ولدرجات حرارة 10-60 م°،ان قيم Q_{10} لترب الدراسة قد تراوحت بين 1.83- 2.37 جدول (2) وقد توصل Franken berger and Tabatabai,(1980b) الى نتائج مشابهة لذلك في دراسة لانزيم الاميديز ان معامل درجة الحرارة مؤشر للتفاعلات سواء كانت تفاعلات انزيمية او كيميائية كما انه العامل الذي يزيد من معدل سرعة التفاعل بارتفاع درجة الحرارة 10م°،وكذلك يعكس كمية الطاقة الحركية المطلوبة لسير التفاعل .ويزداد معدل التفاعلات الكيميائية عادة مع درجة الحرارة ويتضاعف تقريبا لكل عشر درجات مئوية ،وعليه تكون قيم Q_{10} للتفاعل الكيميائي اكبر او مساوية لـ 2 في حين ان التفاعلات الانزيمية تكون اقل حساسية لتغير درجات الحرارة وبذلك تكون قيم Q_{10} للتفاعل الانزيمي اقل من 2 (Zeffren and Hall,1973) .

جدول(2) قيم طاقة التنشيط Ea ومعامل درجة الحرارة Q_{10} لأنزيم الاميديز في ترب الدراسة

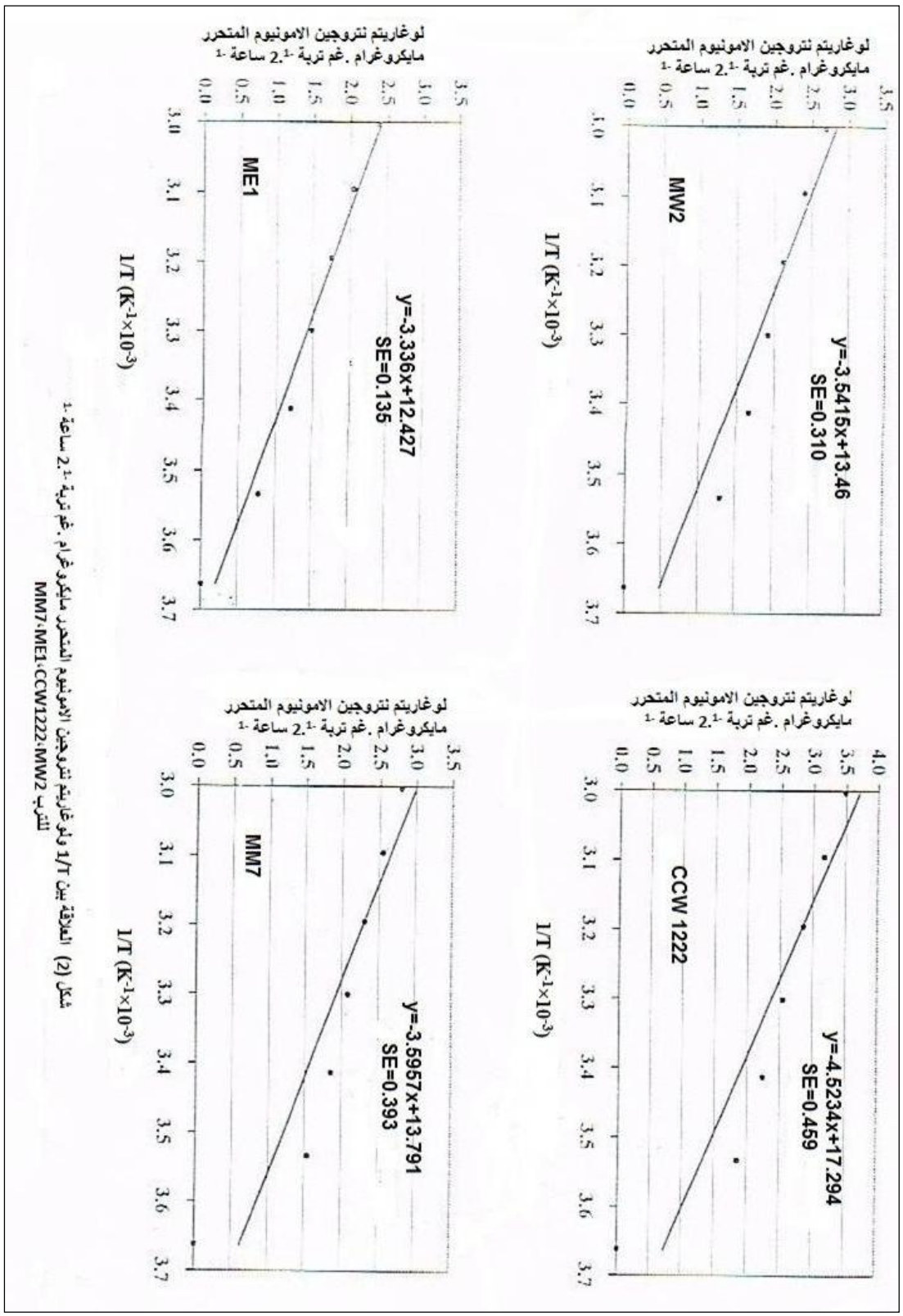
الترب	طاقة التنشيط Ea كيلوجول.مول$^{-1}$	معامل درجة الحرارة Q_{10} عند كل 10م°					
		20	30	40	50	60	المتوسط
TM947	78.21	1.38	1.62	2.18	2.01	1.91	1.83
TW943	79.04	1.52	1.82	2.00	2.00	1.91	1.85
DW55	59.17	2.08	2.81	2.52	1.98	1.78	2.15
MM12	78.84	1.46	1.96	2.17	2.16	1.91	1.93
MW2	67.81	1.76	2.29	2.57	2.09	2.09	2.16
CCW1222	86.61	1.70	1.96	1.98	1.93	1.94	1.95
ME1	63.88	1.62	2.06	2.18	2.00	1.91	1.90
MM7	68.88	1.95	2.39	2.51	2.33	2.21	2.28
DM97	68.08	1.74	2.43	2.58	2.50	2.20	2.29
DM95	72.68	2.16	2.46	2.57	2.45	2.21	2.37

ان السبب في تباين قيم Q_{10} بين الترب قد يعود الى تباين هذه الترب في بعض صفاتها الكيميائية والفيزيائية ،وتبين النتائج في جدول (2) ان قيم Q_{10} لانزيم الاميديز كانت منخفضة نسبياً وهذا يعني إنخفاض الطاقة الحركية المطلوبة للتفاعل المحفز بواسطة هذا الانزيم في الترب .حددت قيم طاقة التنشيط Ea لانزيم الاميديز في الترب المدروسة باستخدام معادلة Arrhenius ومن العلاقة الخطية بين 1/T وLog K ،اذ تمثل K سرعة تحلل الفورم امايد (فعالية انزيم الاميديز) مايكروغرام نتروجين الامونيوم .غم تربة$^{-1}$.مول$^{-1}$ والمبينة في الشكل 1، 2، 3 .يوضح الشكل ان رسم معادلة Arrhenius لقيم فعالية انزيم الاميديز من العلاقة اعلاه كانت خطية ولدرجات الحرارة 10-60 م° وقد حددت قيم طاقة التنشيط من ميل الخط المستقيم يبين جدول (2) قيم طاقة التنشيط لترب الدراسة والمستخرجة من العلاقات السابقة ،ان قيم طاقة التنشيط تراوحت بين 59.17 -86.61 كيلوجول.مول$^{-1}$ لترب الدراسة (جدول 2) وقد تقاربت هذه النتائج مع

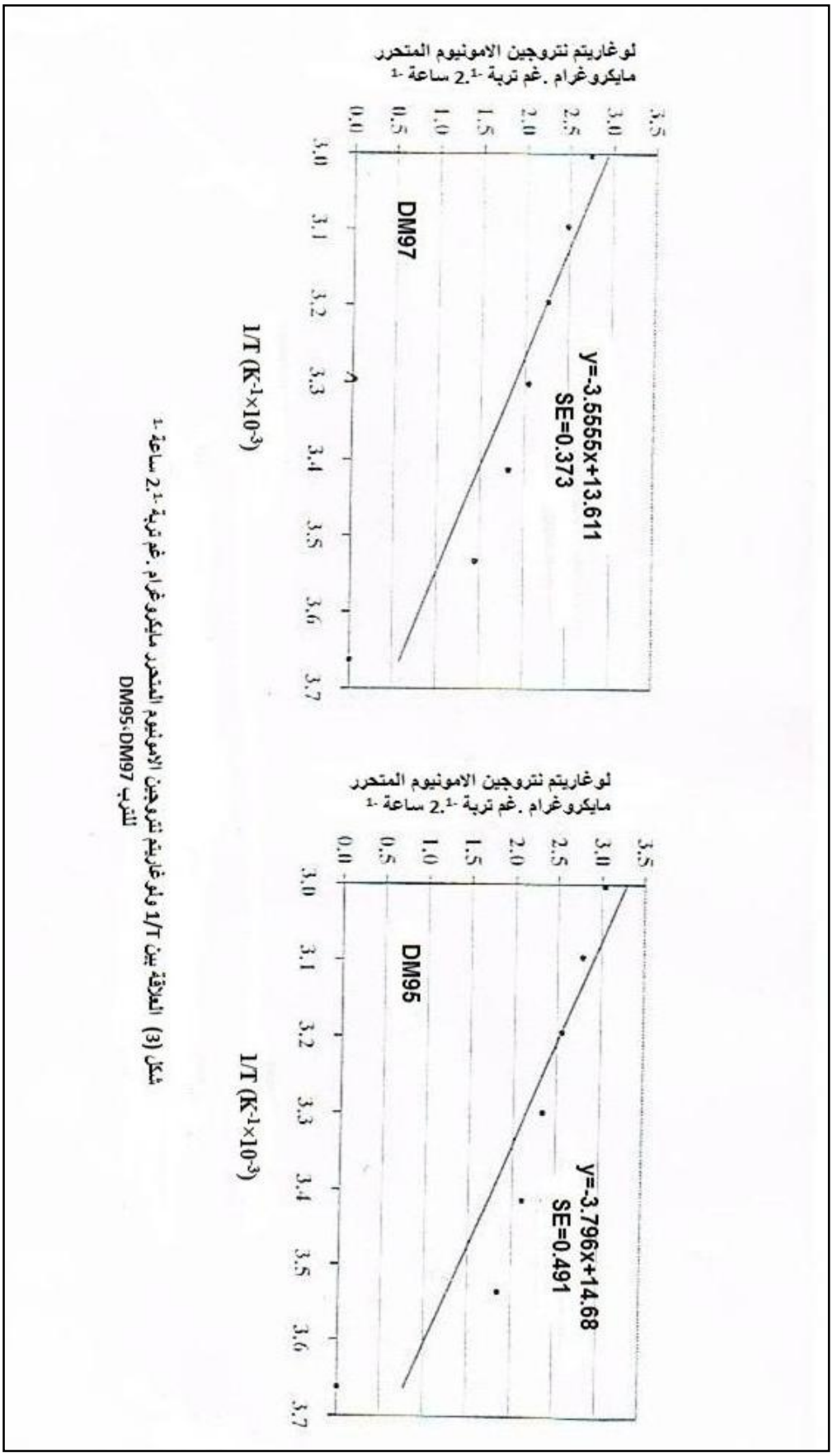
ما وجده (Frankenberger and Tabatabai, 1980b) ان قيم طاقة التنشيط تعكس لنا تأثير درجات الحرارة في تحلل الفورم امايد ،ويلاحظ من التنائج ان قيم طاقة التنشيط لانزيم الاميديز في ترب الدراسة كانت منخفضة اذ ان وجود العامل المساعد مثل الانزيم (الاميديز) يخفض من قيم طاقة التنشيط وهذه تزيد من معدل تحلل الفورم امايد .عند مقارنة قيم طاقة التنشيط لترب الدراسة المختلفة (جدول 2) نجد ان اقل قيمة لطاقة التنشيط للانزيم كانت في التربة DW55 59.17 كيلوجول.مول$^{-1}$ وهي اقل الترب تأثرا بالحرارة وبذلك فان هذه التربة تحتاج الى طاقة اقل من بقية الترب لبدء عملية تحلل الفورم امايد تحت ظروف التجربة ، في حين نجد ان اعلى قيمة لطاقة التنشيط كانت في التربة CCW1222 81.61 كيلوجول.مول$^{-1}$ وهي اكثر الترب تأثرا بالحرارة وبذلك فهي تحتاج الى طاقة اعلى من بقية الترب لبدء عملية تحلل الفورم امايد .



شكل (1) العلاقة بين 1/T ولوغاريتم نتروجين الامونيوم المتحرر مايكروغرام .غم تربة$^{-1}$.2 ساعة$^{-1}$ للترب TM947 ،TW943 ،DW55 ،MM12



شكل (2) العلاقة بين 1/T ولوغاريتم نتروجين الامونيوم المتحرر مايكروغرام .غم تربة -1.2 ساعة -1 للتربة MM7،ME1،CCW1222،MW2



شكل (3) العلاقة بين 1/T ولوغاريتم نتروجين الامونيوم المتحرر مايكروغرام .غم تربة -1.2 ساعة -1 للترب DM95-DM97

المصادر

Black ,C.A.(ed).(1965a). Methods of soil analysis . part 1 –Physical and Mineralogical properties. Am. Soc. Agron .In: publisher, Madison, Wisconsin U. S. A.

Black ,C.A.(ed).(1965b). Methods of soil analysis . part 2 –Chemical and Microbiological properties. Am. Soc. Agron .In: publisher, Madison, Wisconsin U. S. A.

Dick ,W.A.and M.A.Tabatabai. (1978).Inorganic pyrophosphates activity of soil .Soil Biol.Biochem.10:59-65.

Dixon ,M. and E.C.Webb.(1964). Enzymes,2nd (ed) .Academic press, New York .P.116-145.

Frankenberger,W.T.Jr.and M.A. Tabatabai .(1980a). Amidase activity in soils ,I. Methods of assay. Soil Sci.Soc.Am.J.44:282-287.

Frankenberger,W.T.Jr.and M.A. Tabatabai .(1980b). Amidase activity in soils ,II. Kinetic parameters. Soil Sci.Soc.Am.J.44:532-536.

Segel,I.H .(1976). Biochemical calculations , 2nd(ed) . John Wiley and Sons,Inc. New York.

Tabatabai ,M. A.(1994). Soil enzymes .In : Methods of Soil analysis .part 2 .Microbiological and Biochemical properties .(page ,A.L.,R.H. Miller and D.R. Keeney,eds) Am. Soc. Agron In: publisher, Madison, Wisconsin U. S. A.p.775-833.

U.S.D.A.(1954). Diagnosis and improvement of Saline and alkali soils. U.S.D.A. Hand book No, 60.Washington.

Zeffren ,E. and P.L.Hall.(1973).The study of enzyme mechanisms .Wiley New York p.60-64.

Calculate of Activation Energy and Temperature Coefficient of Amidase in Some Soils .

Radhi Kadhum
College of Agriculture
University of Baghdad

Luma Salih *
College of Agriculture
University of Qadisiya

Abstract

Ten soils are chosen from different geographic sites from Iraq :Abu Ghraib(Three soils) ,Al-Jadriya ,Dyala (Tow soils) , AL-Sulaimaniya,Al-Kut ,Al-Nasriya , Al-Dewniya they differ in their chemical and physical properties , to determine Kinetic values (activation energy and temperature coefficient) of amidase enzyme in soils . The ten soils are incubated at 10-60 C° of incubation temperatures ,and amidase activity is determined at each degree to calculate kinetic values temperature coefficient (Q_{10}) and activation energy (Ea) in soils .Results have shown that the increasing of temperature cause increasing hydrolysis of formamide (Amidase activity) ,and the results have shown Q_{10} values of soils are between 1.83-2.37 ,where as Ea values are between 59.17-86.61 K Jol.mol^{-1} .

Key words : Soils , Activation Energy , Values Temperature Coefficient , Amidase .

***Part of MSc. Thesis of the second author.**