الفصل الثامن : أيض وإنزيمات الخلية البكتيرية

Metabolism and enzymes of bacterial cell

محاضرة 1

(لطلاب مرحلة البكالوريوس - الفرقة الثانية – الشعبة العامة)

أ.م.د/ شريف محمد القاضى

أستاذ الميكروبيولوجيا الزراعية المساعد وقائم بعمل رئيس مجلس قسم الميكروبيولوجيا الزراعية - كلية الزراعة - جامعة دمياط

عمليات وطرق التخليق الحيوى Biosynthetic pathways

التحولات الأيضية Metabolism التى تقوم بها الميكروبات من شأنها القيام بوظيفتين رئيسيتين الأولى هى:

توليد الطاقة Energy-generation، ويطلق على هذه العمليات فى الخلية بعمليات الهدم Catabolism

أما الوظيفة الثانية هى إستهلاك الطاقة Energy-consumption وتعنى القيام بالتفاعلات التى تستهلك الطاقة، كما يطلق على هذه العمليات أيضاً بعمليات البناء Anabolism.

عمليات النمو فى الخلية البكتيرية تحتاج إلى : طاقة – قوة إختزالية

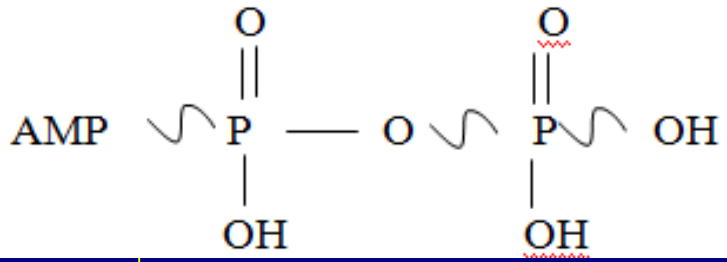
أولا : الطاقة Energy

الطاقة : هى القدرة على أحداث العمل.

- وتحصل الكائنات الحية الدقيقة على الطاقة اللازمة لها للقيام بكافة نشاطاتها الحيوية عن طريق تفاعلات الأكسدة والإختزال.
- وتتميز البكتيريا عن بقية الكائنات الحية بقدرتها على إستخدام مصارد طاقة متعددة.
- وتختلف مصادر الطاقة على حسب نوع البكتيريا:
- فنجد ان البكتيريا الممثلة للضوء Phototrophic bacteria تستخدم ضوء الشمس كمصدر للطاقة
- بينما تؤكسد البكتيريا الأوتوتروفية الممثلة للضوء Photolithoautotrophic bacteria المواد غير العضوية كمصدر للطاقة
- والبكتيريا الممثلة للمواد العضوية Chemoorganoheterotrophic bacteria لها القدرة على أكسدة معظم المواد العضوية وتعتبر المواد الكربوهيدراتية مصدر الطاقة الرئيسى لها بالإضافة إلى الأحماض العضوية والكحولات
- تخزن الطاقة الناتجة فى صورة روابط كيميائية تعرف بالروابط الغنية بالطاقة Energy-rich bonds وهذه الروابط توجد فى بعض المركبات التى تعمل كناقلات للطاقة Energy carriers وهى :

- أدينوزين تراى فوسفات Adenosine triphosphate (ATP)

والتركيب الكيماوى للـATP مشتق من النيوكليوتيد Adinosine monophosphate (AMP) وذلك بإضافة مجموعتين فوسفات هاتان الرابطتان الأخيرتان يرمز لهما برابطة مموجة ~ أى أنها روابط غنية بالطاقة، وتتحرر كمية من الطاقة قد تصل إلى أكثر من 8 كيلو كالورى لكل رابطة فى جزئ ATP (أى 16 كيلو كالورى) ولكن هذه الطاقة لا تنفرد فى شكل حرارة ولكنها تخزن على هيئة رابطة كيميائية



- أدينوزين تراى فوسفات
Adenosine triphosphate (ATP)

ثانيا : القوة الإختزالية Reducing power

بالإضافة إلى حاجة عمليات التخليق الحيوى فى الخلية البكتيرية إلى الطاقة فإنها أيضا تحتاج إلى قوة إختزالية **Reducing power** والتى تشتق من توالى تفاعلات الهدم. ويتم تخزين هذه القوة فى تفاعلات كيميائية عن طريق إختزال مركبين هما

AND (Nicotinamide adenine dinucleotide)

NADP (Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate)

واللذان يمكنهما الدخول فى تفاعلات أكسدة أو إختزال - الصورة المؤكسدة من كل منهما تحمل ذرة إيدروجين أقل من التى تحملها الصورة المختزلة. كما تحمل شحنة موجبة على ذرة الإيدروجين.

($NADPH^+$ و $NADH^+$) ($NADPH_2$ و $NADH_2$)

معادلة التنفس الحيوي

$$A\text{-}H_2 + B \longrightarrow A + B\text{-}H_2$$

تعرف المادة $A\text{-}H_2$ بأنها المادة التى ستتأكسد كمعطى الأيدروجين **Hydrogen donor** والمادة **B** هى المادة التى ستختزل كمستقبل الأيدروجين **Hydrogen acceptor** ويلزم لإتمام عملية التأكسد والإختزال فى البكتيريا يقوم به إنزيمات متخصصة وهى إنزيمات التنفس **Respiration enzymes** (**Oxido-reductases**) التى تعمل على تنشيط الأيدروجين فى المادة المعطية للأيدروجين ليسهل نقله إلى المواد المستقبلة له. وهذه الإنزيمات تعتبر حاملة للأيدروجين **Hydrogen carrier**

Bacterial respiration التنفس البكتيرى

تعريف التنفس الحيوى Biological oxidation :

هو جميع التفاعلات الحيوية التى ينتج عنها إنطلاق طاقة داخل الخلية البكتيرية

أهمية التنفس :

1- إنتاج الطاقة اللازمة لحياة ونمو البكتيريا

2- تخليق بروتوبلازم الخلية من النواتج الوسطية Precaursors الناتجة من عملية الأكسدة

طرق التنفس :

1- إكتساب المادة للأكسجين مثل :

$$C_6H_{12}C_6 + 6O_2 \longrightarrow 6CO_2 + 6H_2O + \text{Energy}$$

2- فقد المادة للأيدروجين مثل:

$$CH_3—CHOH—COOH \longrightarrow CH_3—CO—COOH + 2H + \text{Energy}$$

3- فقد المادة للإلكترونات مثل

$$Cu^+ + Fe^{++} \longrightarrow Cu^{++} + Fe^{++}$$

أقسام التنفس :

أولاً : التنفس الهوائى Aerobic respiration

ثانياً : التنفس اللاهوائى Anaerobic respiration

أولاً : التنفس الهوائى Aerobic respiration

وفيه يكون مستقبل الإيدروجين النهائى هو الأكسجين الجوى حيث يتم إنتقال هيدروجين التفاعل إلى O_2 الجوى . وتتم الأكسدة فى هذا النوع بطريقتين هما (أكسدة كاملة - أكسدة غير كاملة)

أ- أكسدة كاملة Complete oxidation

حيث تقوم البكتريا الهتيروتوفية Heterotophic bacteria بأكسدة المواد العضوية أكسدة كاملة إلى ثانى أكسيد الكربون والماء ويتم ذلك عن طريق دورات حيوية pathways معينة كما يلى:

$$C_6H_{12}C_6 + 6O_2 \longrightarrow 6CO_2 + 6H_2O + \text{Energy}$$

بينما تقوم البكتيريا الممثلة للمواد المعدنية Chemolithotrophic bacteria مثل البكتيريا المؤكسدة للكبريت بالأكسدة الكاملة للمواد المعدنية مثل الكبريت للحصول على الطاقة مثل ميكروب *Thiobacillus thiooxidans* كما يلى:

$$2S + 3O_2 + 2H_2O \longrightarrow 2H_2SO_4 + \text{Energy}$$

ب- أكسدة غير كاملة Incomplete oxidation

وفى هذا النوع من الأكسدة تقوم الميكروبات بأكسدة المادة العضوية جزئياً إلى مركبات وسطية تتراكم فى بيئة النمو مثل بكتيريا حامض الخليك *Acetobacter aceti* التى تؤكسد كحول الإيثانول إلى حامض خليك .

$$CH_3—CH_2OH + O_2 \longrightarrow CH_3—COOH + \text{Energy}$$

كما يقوم أيضا فطر *Aspergillus niger* بأكسدة السكريات إلى حمض ستريك.

كما تقوم الميكروبات الممثلة للمواد المعدنية مثل ميكروبات الـNitrifying bacteria (بكتيريا التأزت) بأكسدة المواد المعدنية (الأمونيا) جزئياً مثلما يحدث مع ميكروب *Nitrosomonas* الذى يقوم بالتفاعل الآتى :

$$2NH_3 + 3O_2 \longrightarrow 2HNO_2 + 2H_2O + \text{Energy}$$

أسباب حدوث الأكسدة الجزئية (غير الكاملة)

- قد تكون كمية الأكسجين غير كافية لإتمام عملية الأكسدة
- أو قد يكون الوقت غير كاف لإتمام الأكسدة الكاملة
- أو قد يكون الميكروب نفسه غير قادر على إتمام عملية الأكسدة الكاملة لعدم إمتلاكه للنظم الإنزيمية اللازمة للقيام بالعملية.

ثانياً : التنفس اللاهوائى Anaerobic respiration

فى هذا النوع من التنفس تتأكسد مادة التفاعل بنقل الأيدروجين منها إلى مادة أخرى غير الأكسجين الجوى وبالطبع فإن الأكسدة فى هذه الحالة تكون غير كاملة وينتج عنها تكوين غازات وأحماض عضوية وكحولات ومواد أخرى. ونلاحظ أن معدل نمو الميكروب تحت الظروف الهوائية أكبر بما يعادل 5-6 مرات فى غياب الأكسجين فنجد مثلاً الخميرة تستطيع ان تنمو تحت كل الظروف الهوائية واللاهوائية ولكنها تستغل المواد الغذائية بكفاءة أكبر تحت الظروف الهوائية عن تلك الظروف اللاهوائية. وقد أوضح باستير أنه يمكن الحصول على 1 جرام خميرة من 4-10 جرام جلوكوز تحت الظروف الهوائية بينما تحتاج إلى 60-80 جرام جلوكوز للحصول على نفس كمية النمو وتحت الظروف اللاهوائية وهذا ما يطلق عليه تأثير باستير Pasteur effect.

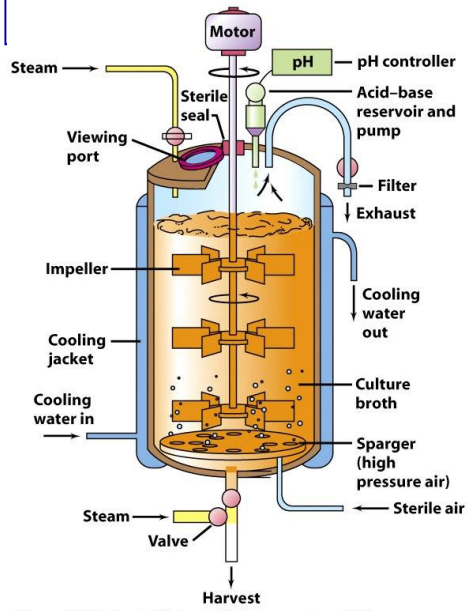


Figure 30-4b Brock Biology of Microorganisms 11/e
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

- يعتبر التخمر Fermentation من أبسط الطرق التى تؤدى إلى إنتاج الطاقة.
- ويعرف التخمر بأنه أى عملية تنتج طاقة وتكون المركبات العضوية (الكربوهيدات) كمعطية أو مستقبلة للإلكترونات فى غياب الكسجين.
- الكائنات الحية الدقيقة التى تحصل على ما يلزمها من الطاقة عن طريق التخمر تعتبر كائنات لاهوائية.

وعندما تتعرض بعض تلك الكائنات غير الهوائية التى تقوم بعملية التخمر إلى الأكسجين تغير من نظامها الحيوى إلى التنفس.

وسنكتفى بدراسة نظام واحد كمثال لهذه النظم وهو نظام إمبدن مايرهوف Embden-Meyerhof pathway وهو أكثر النظم شيوعاً لتكسير الجلوكوز بالميكروبات ويمكن تلخيص خطوات هذا النظام كالآتى :

ثلاث مراحل رئيسية لأى عملية تخمرية

1- المرحلة السابقة لعملية التخمر **Upstream fermentation**

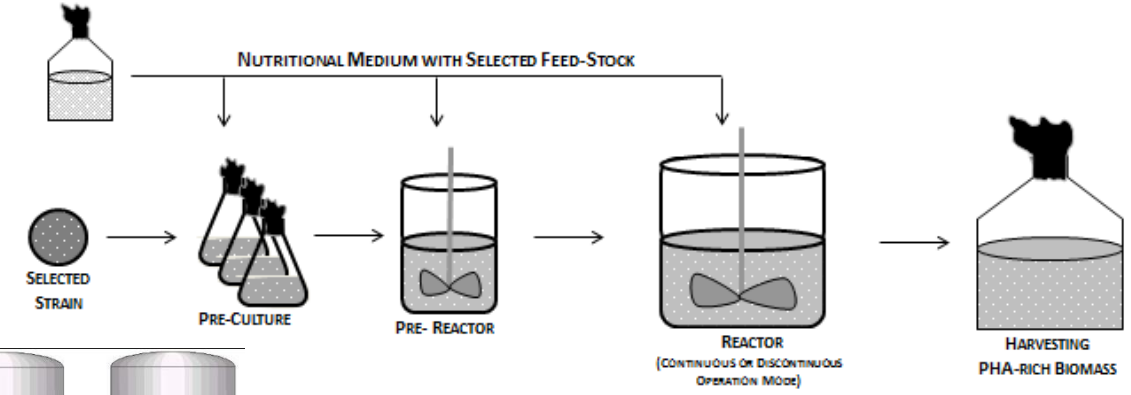
- عمليات تجرى داخل المعمل مثل :
- اختيار السلالة - إكثارها - إعداد البيئة الغذائية - تعقيم البيئة – اعداد خزان المخمر – وتنتهى بتلقيح المخمر

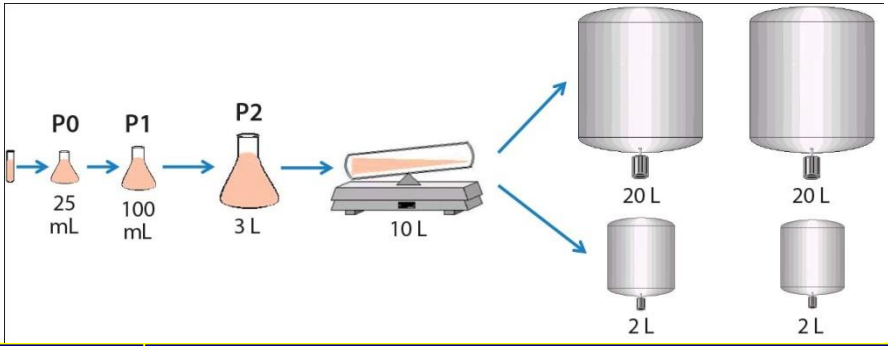
2- مراحل التخمر **Fermentation processing**

-التحكم فى عوامل النمو Growth Limiting Factors - معالجة المشاكل التى تحدث اثناء التشغيل مثل الرغوة - تنتهى هذه المرحلة بالوصول إلى Target

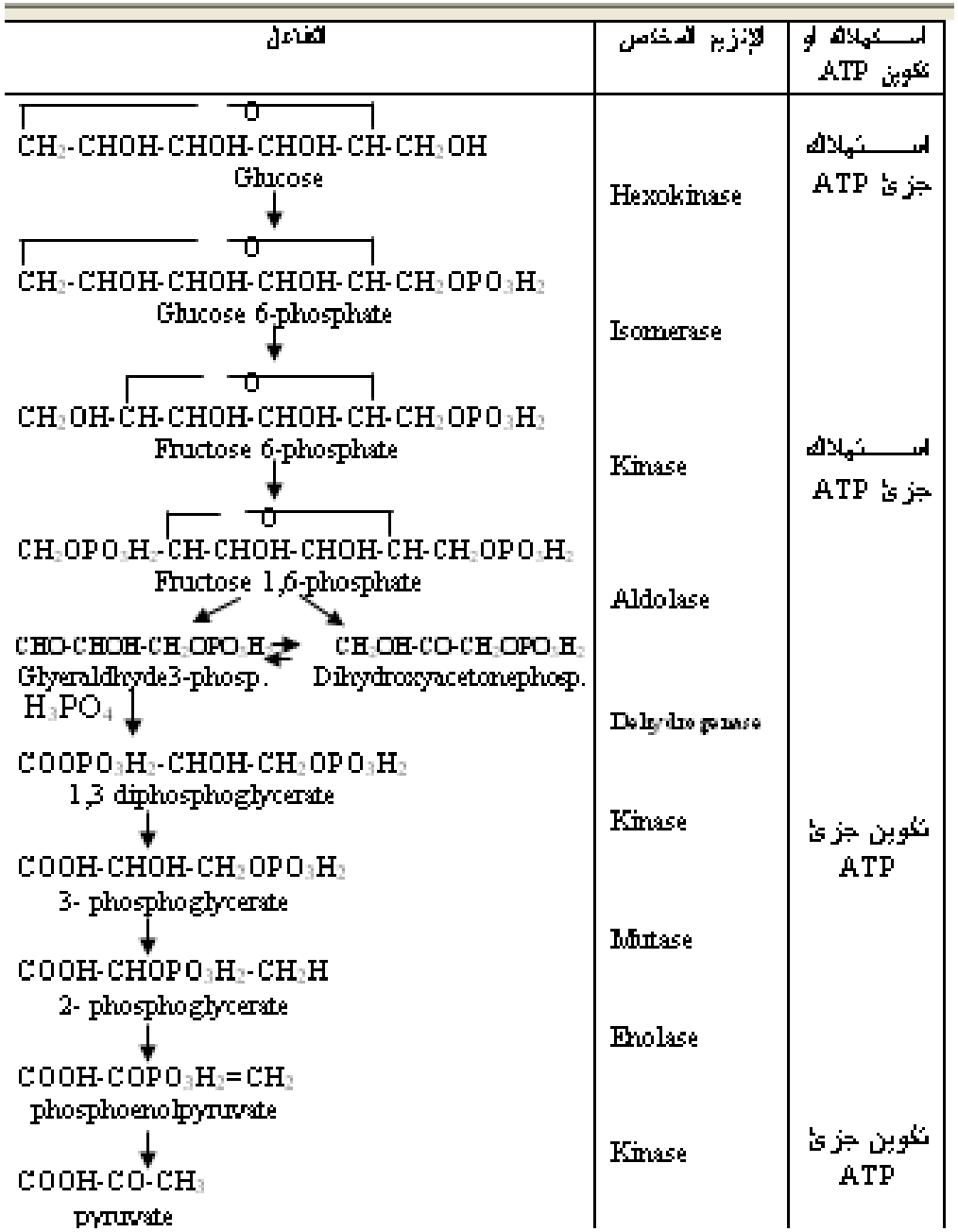
3- المرحلة النهائية للحصول على الناتج النهائى (Target) **Downstream fermentation**

- إيقاف تشغيل المخمر المتقطع – فصل الخلايا عن الراشح بالترشيح أو الطرد المركزى - التنقية – وتنتهى بالتعبأة والتغليف وتسويق المنتج النهائى





دورة التحلل الجليكولى
(نظام إمبدن – مايرهوف)
Glycolysis cycle
(E.M.P. pathway)



أهم أنواع التخمرات التى تقوم بها الكائنات الدقيقة من حمض البيروفيك

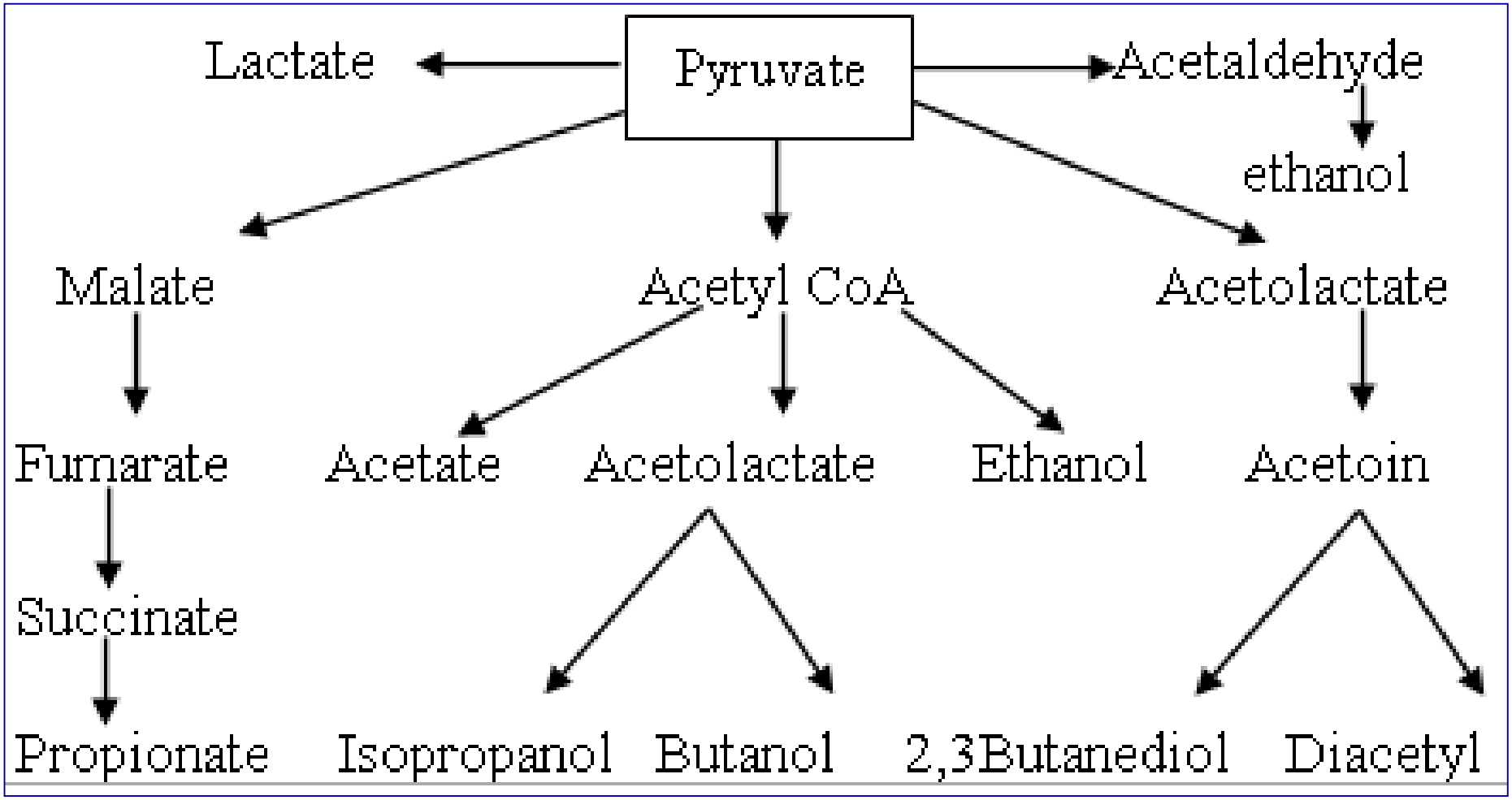
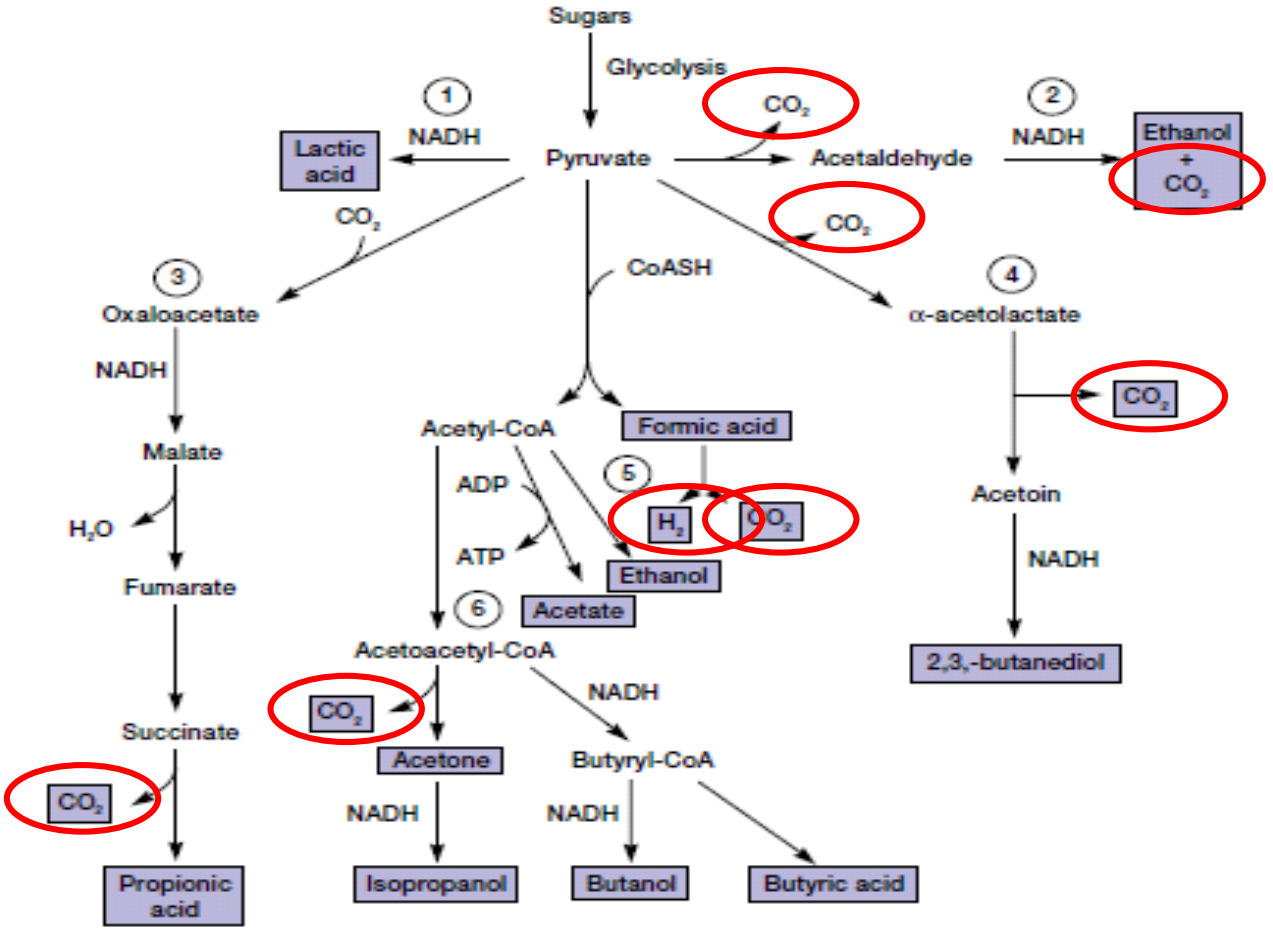
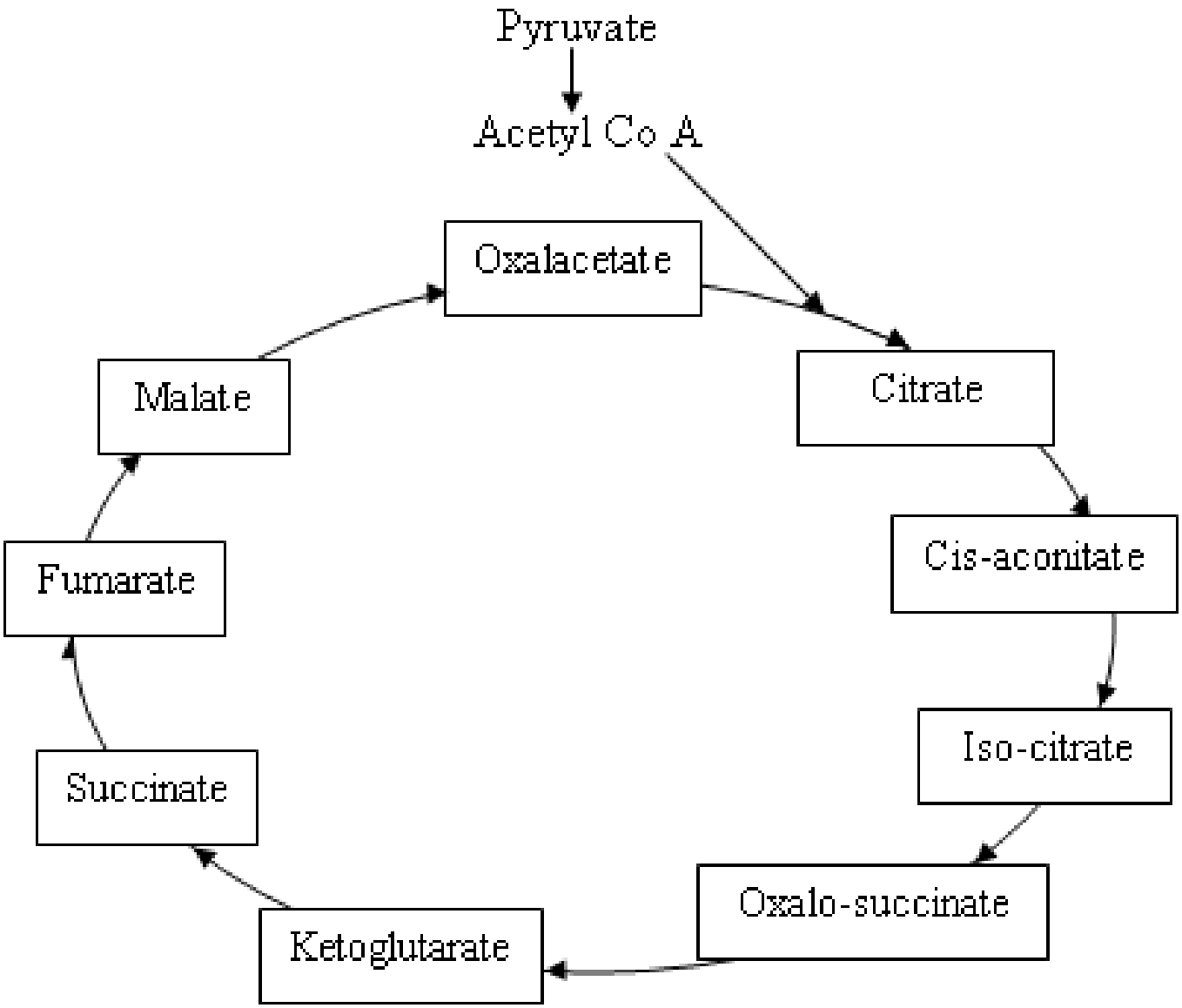


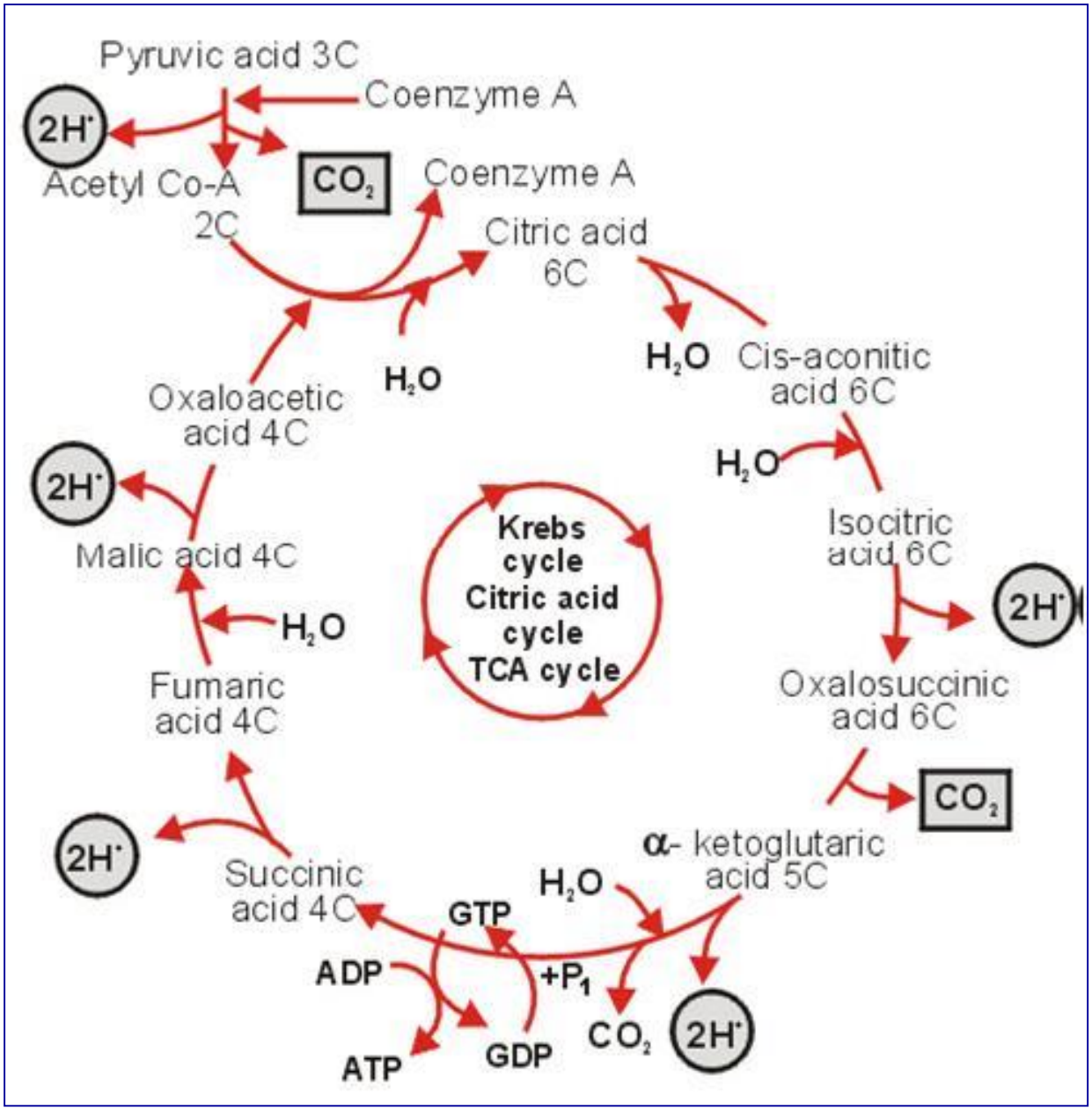
Figure 20.1 Outline of Major Fermentation Pathways. Microorganisms produce various waste products when they ferment glucose. The by-products released (shaded boxes) are often characteristic of the microorganisms and can be used as identification tools.



1. Lactic acid fermentation. Lactic acid bacteria *(Streptococcus, Lactobacillus).*
2. Alcoholic fermentation. *Zymomonas, Saccharomyces.*
3. Propionic acid fermentation. Propionic acid bacteria *(Propionibacterium).*
4. 2,3,-butanediol fermentation. *Enterobacter, Serratia, Bacillus.*
5. Mixed acid fermentation. Enteric bacteria *(Escherichia, Enterobacter, Salmonella, Proteus).*
6. Butyric acid fermentation. *Clostridium.*



دورة حمض الستريك


Pyruvic acid 3C
Coenzyme A
2H
Acetyl Co-A
2C
CO2
Coenzyme A
Citric acid
6C
H2O
Cis-aconitic
acid 6C
H2O
Oxaloacetic
acid 4C
H2O
H2O
Isocitric
acid 6C
2H
2H
Malic acid 4C
Krebs
cycle
Citric acid
cycle
TCA cycle
H2O
Fumaric
acid 4C
Oxalosuccinic
acid 6C
CO2
2H
α- ketoglutaric
acid 5C
Succinic
acid 4C
H2O
GTP
ADP
+P1
CO2
2H
ATP
GDP

أيض المركبات النيتروجينية
Metabolism of nitrogenous compounds

تحصل الحيوانات على النيتروجين فى صورة مركبات نيتروجينية عضوية Organic nitrogen كالأحماض الأمينية Amino acids . ويجب أن يحتوى غذاء الحيوان على نحو 10 أحماض أمينية لعدم قدرته على تخليقها بنفسه ولذا تسمى الأحماض الأمينية الأساسية Essential amino acids.

تحصل النباتات على النيتروجين فى صورة أمونيا أو نترات أى يحتاج النيتروجين فى صورة مركبات نيتروجينة غير عضوية Inorganic nitrogen ويقوم النبات بربط الأمونيا مع مركبات الكربون الناتجة من تحليل الكربوهيدرات لتخليق كل إحتياجاته من الأحماض الأمينية اللازمة لتخليق البروتين .

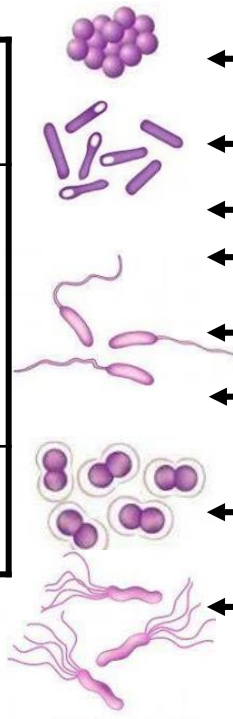
أما الكائنات الحية الدقيقة مثل البكتيريا والخمائر والفطريات فإنها تختلف كثيراً فى إحتياجاتها الغذائية فبعضها يحتاج إلى توافر بعض الأحماض الأمينية فى بيئة النمو (مثل الحيوانات) بينما يستخدم البعض الآخر الأمونيا أو النترات فقط (مثل النباتات) والبعض الآخر من الكائنات الحية الدقيقة لها قدرة فريدة لا تتشابه معها أى كائنات آخرى على كوكب الأرض وهى القدرة على تثبيت نيتروجين (أزوت) الهواء الجوى فى صورة أمونيا بواسطة نظام إنزيمى معقد يعرف باسم النيتروجينيز Nitrogenase complex أو إنزيم النيتروجينيز، ثم تستخدم الميكروب الأمونيا لتكوين الأحماض الأمينية اللازمة لتكوين البروتينات التى يتكون منها السيتوبلازم الخلوى.

المركبات الغذائية الموجودة **خارج** الكائنات الحية الدقيقة

الكائنات الحية الدقيقة

المركبات الغذائية الموجودة **داخل** الكائنات الحية الدقيقة

المركب الغذائى	عضوى	معدنى
كربون	- نشا - سليلوز	-ثانى أكسيد الكربون - كربونات كالسيوم
نيتروجين	- نيتروجين عضوى	- نيتروجين الغازى - أمونيا -نترات
فوسفور	-أحماض نووية - فسفوليبيدات - مرافقات إنزيمية	- فوسفات كالسيوم (ثلاثى)
كبريت	- أحماض أمينية كبريتية (سيستين)	- حبيبات الكبريت - كبريتات كالسيوم



المركب الغذائى	عضوى
كربون	- سكريات - كحولات -أحماض عضوية -جليكوجين
نيتروجين	-بروتين - أحماض أمينية

ما هى الإنزيمات؟؟

الإنزيمات هى أهم مفردات لغة الكيمياء الخلوية فهى تساعد على ترجمة ملايين الأوامر التى تصدرها الخلية وتحولها إلى واقع ملموس – ويمكن تصور مدى النشاط الإنزيمى الذى تقوم به الميكروبات إذا علمت أنه فى حالة توقف الميكروبات فإن الحياه على كوكب الأرض سوف تتوقف بعد أربعين يوما، كما أن من المذهل أن تعلم أن خلية صغيرة جداً مثل بكتيريا القولون ***E. coli*** تكوّن فى الثانية الواحدة **2.5** مليون جزئ من مركب **ATP** الغنى بالطاقة. لقد تعلم الإنسان كيف يعزل الإنزيمات ويفصلها بعيدا عن الخلية ليستفيد منها فى العديد من الصناعات البيوتكنولوجية. ومن الأمور الغريبة التى أودها الخالق سبحانه وتعالى فى الإنزيمات أن منها مجموعة محللة للبروتين بالرغم من أنها عبارة عن بروتينات، كما أنها توجد داخل الخلية ولا تحلل الخلية، من الإنزيمات ما هو ضار حيث تقوم بمساعدة البكتيريا على غزو أجسام الجنس البشرى حيث تفرز أنزيم الليثيثينيز **lecithinase** الذى يحلل الأغشية السيتوبلازمية للخلايا البشرية، أو تحلل المضادات الحيوية مثل إنزيم **penicillinase**، ومنها أيضا ما هو مفيد مثل إنزيم الرنين وهو أول إنزيم تجارى تم تداوله فى العالم (1874) والذى يعتبر استخلاصه مشكلة ربما تكون أخلاقية، لذلك لجأ العالم إلى الميكروبات ليوفر بديل للحيوانات الرضيعة المذبوحة.

قصة إكتشاف الإنزيمات

Anselme Payen
1795-1871

أطلق على الإنزيمات قديما المخمرات ferments ويرجع تاريخ إكتشاف الإنزيمات إلى عام 1833 حيث قام الكيميائى الفرنسى Anselme Payen الذى كان يعمل بمصنع للسكر بالإشتراك مع زميله Jean François Persoz باستخلاص مادة تحلل النشا إلى سكر من مخمرات الشعير أطلق عليها اسم الدياستيز diastase (الآن amylase). ويعتبر Willy Kuhne أول من صاغ لفظة "إنزيم enzyme" عام 1878 وهى مشتقة من أصل يونانى من مقطعين "En" وتعنى بالإنجليزية "In" وبالعربية "فى" والمقطع الثانى "zyme" وتعنى بالإنجليزية "yeast" وبالعربية "خميرة" أو كائن حى أى أن كلمة "إنزيم" تعنى بالعربية "فى الخميرة" أى أنها مواد كيميائية توجد فى الخميرة أو الكائن الحى. وأول إنزيم تم عزله وتنقيته هو إنزيم اليورياز عام 1926، ويبلغ عدد الإنزيمات المستخلصة أكثر من 2000 إنزيم إلا أن 20 منها فقط هى التى أكتسب أهمية تجارية مثل إنزيمات (الأميليز – البروتييز – السليوليز – الليبيز – البكتينيز - ...). وأحدث ما توصل إليه العلم فى مجال الإنزيمات هى عملية ربط أو تسكين الإنزيمات immobilization ولها استخدامات تجارية عديدة.

Microbial enzymes الإنزيمات الميكروبية

تعرف الإنزيمات بأنها مركبات عضوية بروتينية معقدة متخصصة تفرزها الخلايا الحية تقوم بإسراع التفاعلات البيوكيميائية كعوامل مساعدة حيوية وذلك بدون أن تستهلك فى التفاعل وتخرج من التفاعل بدون حدوث أى تغير فيها ثم تقوم بمساعدة التفاعلات مرة أخرى وبنفس الكفاءة. الإنزيمات لها خواص البروتينات من حيث أنها ذات وزن جزيئى مرتفع جداً - تكون محلولاً غروياً - لا تنفذ من خلال الأغشية شبه المنفذة - لها خواص أمفوتيرية - يمكن ترسيبها من محاليلها بنفس طرقة ترسيب البروتين.

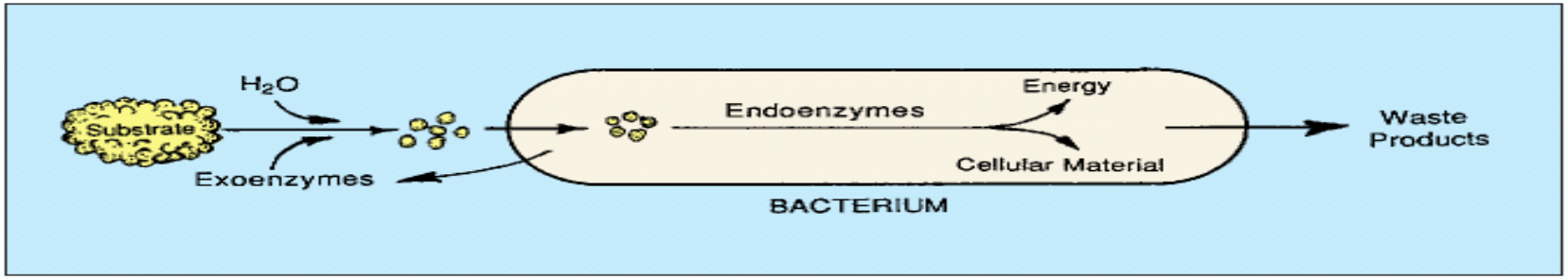
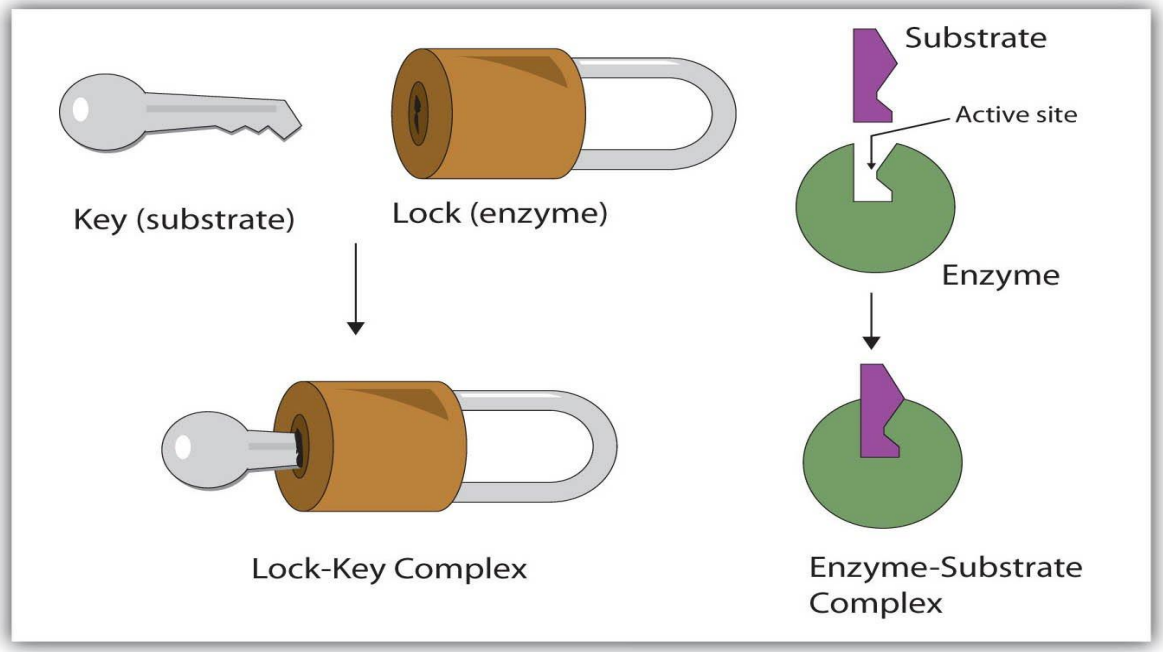
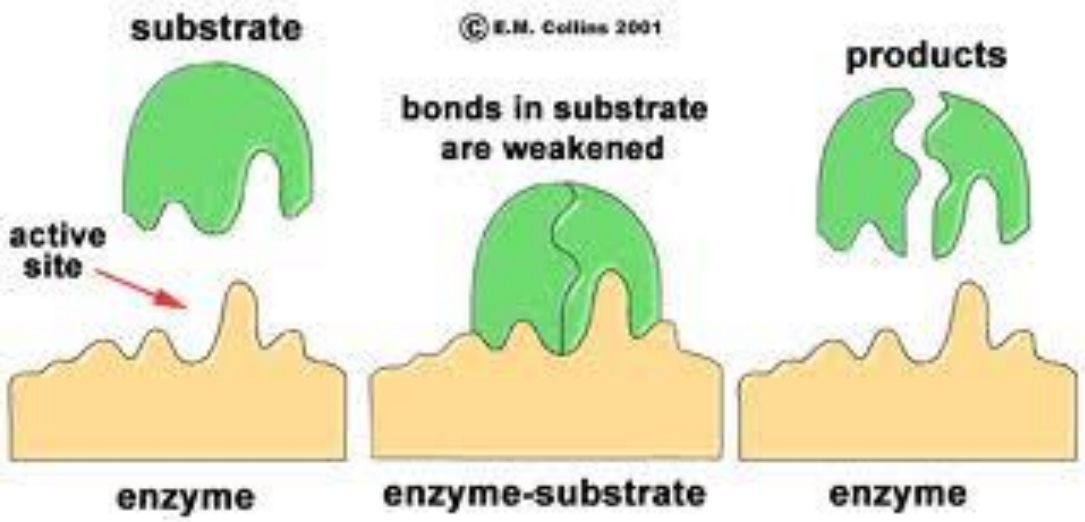


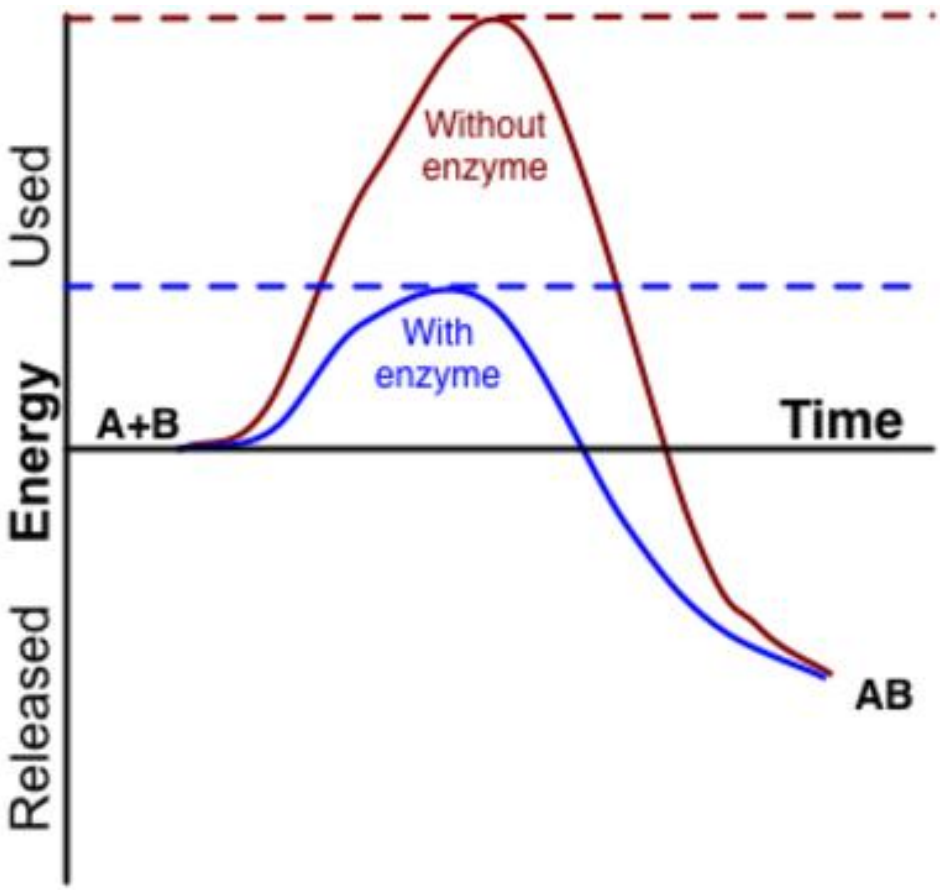
Figure 48.1 Note that the hydrolytic exoenzymes split larger molecules into smaller ones, utilizing water in the process. The smaller molecules are then assimilated by the cell to be acted upon by endoenzymes to produce energy and cellular material

آلية عمل الأنزيمات
نظرية القفل و المفتاح



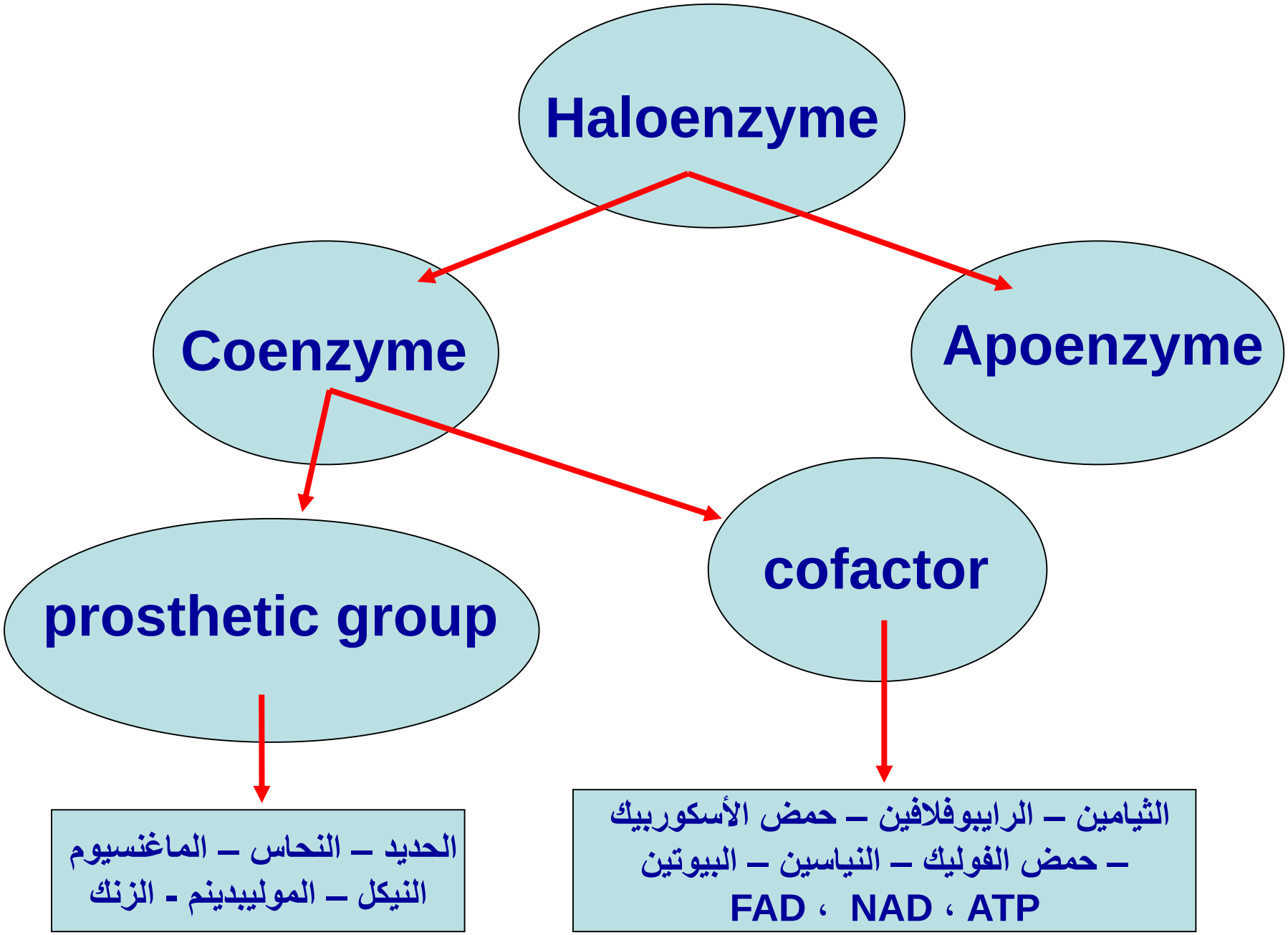


طاقة التنشيط : هي الحد الدنى من الطاقة اللازمة لبدء التفاعل



التركيب الكيميائى للإنزيم

يتركب الإنزيم الكامل Halo-enzyme من جزئين هما Apoenzyme وهو عبارة عن جزء بروتينى له وزن جزيئى مرتفع ويختلف تركيبه من إنزيم إلى أخر وإليه يرجع تخصص الإنزيم وهو سريع التأثر بالحرارة. أما الجزء الثانى فهو المرافق الإنزيمى Coenzyme وهو الجزء الذى لابد من إتحاده بالإنزيم لكى يصبح الإنزيم نشطاً وهو أما أن يكون مجموعة إضافية prosthetic group وهى فى العادة كاتيونات ويصعب فصلها عن الإنزيم لأنها تكون متحدة مع الإنزيم بروابط التشابك chelating أو متحدة مع مجاميع الكربوكسيل أو الأمين فى البروتين الإنزيمى (الحديد – النحاس – الماغنسيوم – النيكل – الموليبدينم - الزنك) أو عوامل مرافقة cofactor وهى فى العادة عبارة عن فيتامينات (الثيامين – الرايبوفلافين – حمض الأسكوربيك – حمض الفوليك – النياسين - البيوتين) ومنها أيضا (ATP ، NAD ، FAD).


Haloenzyme
Coenzyme
Apoenzyme
prosthetic group
cofactor
الحديد – النحاس – الماغنسيوم
النيكل – الموليبدينم - الزنك
الثيامين – الرايبوفلافين – حمض الأسكوربيك
– حمض الفوليك – النياسين – البيوتين
FAD ، NAD ، ATP

تقسيمات الإنزيمات الميكروبية

1

وتقسم الإنزيمات على حسب وجود أو غياب مادة التفاعل Substrate إلى إنزيمات أصلية أو أساسية Constitutive enzymes وهى التى تفرزها الخلية سواء فى وجود أو فى غياب مادة التفاعل ويتحكم فى إنتاجها التركيب الوراثى للخلية. والنوع الثانى يسمى إنزيمات الحث (Adaptive) Inducible enzymes وهى إنزيمات تفرز فى وجود مادة التفاعل فقط

2

وفى تقسيم أخر للإنزيمات على حسب مكان إفرازها تقسم إلى : 1- إنزيمات خارجية Extracellular enzymes وهى الإنزيمات التى تفرز خارج الخلية. وهذه الإنزيمات تقوم بتحليل المواد الغذائية المعقدة ذات الكبيرة الحجم إلى مواد بسيطة صغيرة الحجم يسهل دخولها الخلية ومن أمثلتها تلك المحللة للنشا والبروتين والسليولوز. 2- إنزيمات داخلية Intracellular enzymes وهى الإنزيمات التى تفرز داخل الخلية ومن أمثلتها تلك الإنزيمات التى تقوم بالعمليات الحيوية للحصول على الطاقة catabolism أو عمليات بناء خلايا جديدة Anabolism .

جدول (٤-١) : بعض الإنزيمات الميكروبية المفرزة خارج الخلايا .

الميكـــروب	الإنزيـــم	المـــادة
Bacillus subtilis	ألفا – أميليز	النشا
	البروتييز	البروتينات
Bacillus megaterium	البروتييز	البروتينات – البولى ببتيدات
Bacillus cereus	البنسيلينيز	البنسيلين
Pseudomonas saccharophila	ألفا – أميليز	النشا
Cytophaga species	آجاريز	اللآجار
Vibrio chlorea	نيرأمينيديز	حمض نيرأمينيك
Streptococcus haemolyticus	دى أوكسى ريبونيوكلييز	حمض دى أوكسى ريبونيوكليك
	ريبونيوكلييز	حمض ريبونيوكليك
Staphylococcus aureus	البنسيلينيز	البنسيلين
	فوسفو داى إستيريز	الإسترات
Clostridium welcbii	الليبيز	الليبيدات
	البروتييز	البروتينات – البولى ببتيدات
Micrococcus lysodeikticus	البروتييز	البروتينات – البولى ببتيدات
Trichoderma viride	السليوليز	السليلوز

التقسيم العالمى الموحد للإنزيمات

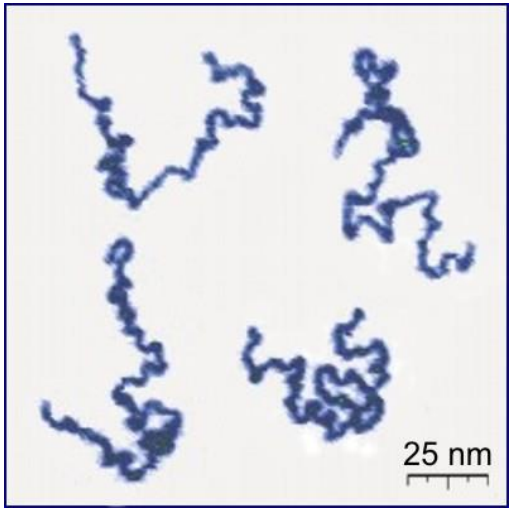
3

أوصت لجنة الإنزيمات Enzyme commission (EC) بالإتحاد الدولى للكيمياء الحيوية The International Union of Biochemistry (IUB) بتسمية نظامية معقدة لكل إنزيم إلى جانب اسمه الإعتيادى الدارج ويعتمد هذا النظام على تقسيم الإنزيمات إلى ستة أقسام classes وتأخذ أرقام من رقم 1 إلى رقم 6 ثم كل قسم يحتوى على من 4 إلى 13 تحت قسم subclass ويتكون اسم الإنزيم الأول من جزئين الأول اسم مادة التفاعل والثانى المقطع ase ولكل إنزيم رقم كودى خاص يبدأ بالمقطع (EC) وهو مكون من أربعة أرقام : الأول يبين القسم الذى ينتمى إليه الإنزيم - والثانى يبين نوع التفاعل الذى يحفزه الإنزيم - والرقم الثالث يشير إلى sub sub class وهو يوضح أيضا نوع التفاعل الذى يساعد فيه الإنزيم - والرقم الرابع يشير إلى الاسم المعتاد للانزيم. مثلا لو كان هناك إنزيم له الكود التالى "EC:3.2.1.1"** فالرقم الأول يعنى أن هذا الإنزيم ينتمى للقسم الثالث من الإنزيمات وهى إنزيمات التحلل المائى والرقم الثانى يعنى أنه يتبع تحت قسم الإنزيمات التى تحلل الروابط الجليكوسيدية والرقم الثالث والرابع يشير إلى أن التفاعل على ذرة كربون ولا يوجد بهذا المركب روابط كبريتية أو نيتروجينية.

**(ألفا أميليز)

التصنيف العالمى للإنزيمات

1- إنزيمات الأكسدة والأختزال Oxidoreductases	(EC:1.--.--.--)
2- إنزيمات النقل Transferase	(EC:2.--.--.--)
3- إنزيمات التحلل المائى Hydrolytic enzymes	(EC:3.--.--.--)
4- إنزيمات الهدم Lyases	(EC:4.--.--.--)
5- إنزيمات التشابه Isomerases	(EC:5.--.--.--)
6- إنزيمات الربط (البناء) Ligases	(EC:6.--.--.--)



Single_Polymer_Chains

Enzyme nomenclature database

Group	Reaction catalyzed	Typical reaction	Enzyme example(s) with trivial name
EC 1 ***Oxidoreductases***	To catalyze oxidation/reduction reactions; transfer of H and O atoms or electrons from one substance to another	AH + B → A + BH (**reduced**) A + O → AO (**oxidized**)	Dehydrogenase, Oxidase
EC 2 ***Transferases***	Transfer of a functional group from one substance to another. The group may be methyl-, acyl-, amino- or phosphate group	AB + C → A + BC	Transaminase, Kinase
EC 3 ***Hydrolases***	Formation of two products from a substrate by hydrolysis	AB + H_2O → AOH + BH	Lipase, amylase, peptidase
EC 4 ***Lyases***	Non-hydrolytic addition or removal of groups from substrates. C-C, C-N, C-O or C-S bonds may be cleaved	RCOCOOH → RCOH + CO_2 or [X-A-B-Y] → [A=B + X-Y]	Decarboxylase
EC 5 ***Isomerases***	Intramolecule rearrangement, i.e. isomerization changes within a single molecule	ABC → BCA	Isomerase, mutase
EC 6 ***Ligases***	Join together two molecules by synthesis of new C-O, C-S, C-N or C-C bonds with simultaneous breakdown of ATP	X + Y+ ATP → XY + ADP + Pi	Synthetase

http://enzyme.expasy.org/

Enzyme Subclasses

Subclass	Name
EC 1	Oxidoreductases إنزيمات الأكسدة والإختزال
EC 1.1	Acting on the CH-OH group of donors
EC 1.2	Acting on the aldehyde or oxo group of donors
EC 1.3	Acting on the CH-CH group of donors
EC 1.4	Acting on the CH-NH_2 group of donors
EC 1.5	Acting on the CH-NH group of donors
EC 1.6	Acting on NADH or NADPH
EC 1.7	Acting on other nitrogenous compounds as donors
EC 1.8	Acting on a sulfur group of donors
EC 1.9	Acting on a heme group of donors
EC 1.10	Acting on diphenols and related substances as donors
EC 1.11	Acting on a peroxide as acceptor
EC 1.12	Acting on hydrogen as donor
EC 1.13	Acting on single donors with incorporation of molecular oxygen (oxygenases)
EC 1.14	Acting on paired donors, with incorporation or reduction of molecular oxygen
EC 1.15	Acting on superoxide radicals as acceptor
EC 1.16	Oxidising metal ions
EC 1.17	Acting on CH or CH_2 groups
EC 1.18	Acting on iron-sulfur proteins as donors
EC 1.19	Acting on reduced flavodoxin as donor
EC 1.20	Acting on phosphorus or arsenic in donors
EC 1.21	Acting on the reaction X-H + Y-H = X-Y
EC 1.22	Acting on halogen in donors
EC 1.23	Reducing C-O-C group as acceptor
EC 1.97	Other oxidoreductases

Last update 10 November, 2015

http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/

Enzyme Subclasses

Subclass	Name
EC 2	Transferases إنزيمات النقل
EC 2.1	Transferring one-carbon groups
EC 2.2	Transferring aldehyde or ketonic groups
EC 2.3	Acyltransferases
EC 2.4	Glycosyltransferases
EC 2.5	Transferring alkyl or aryl groups, other than methyl groups
EC 2.6	Transferring nitrogenous groups
EC 2.7	Transferring phosphorus-containing groups
EC 2.8	Transferring sulfur-containing groups
EC 2.9	Transferring selenium-containing groups
EC 2.10	Transferring molybdenum- or tungsten-containing groups

Last update 10 November, 2015

http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/

Enzyme Subclasses

Subclass	Name
EC 3	Hydrolases إنزيمات التحلل المائى
EC 3.1	Acting on ester bonds
EC 3.2	Glycosylases
EC 3.3	Acting on ether bonds
EC 3.4	Acting on peptide bonds (peptidases)
EC 3.5	Acting on carbon-nitrogen bonds, other than peptide bonds
EC 3.6	Acting on acid anhydrides
EC 3.7	Acting on carbon-carbon bonds
EC 3.8	Acting on halide bonds
EC 3.9	Acting on phosphorus-nitrogen bonds
EC 3.10	Acting on sulfur-nitrogen bonds
EC 3.11	Acting on carbon-phosphorus bonds
EC 3.12	Acting on sulfur-sulfur bonds
EC 3.13	Acting on carbon-sulfur bonds

Last update 10 November, 2015

http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/

Enzyme Subclasses

Subclass	Name
EC 4	Lyases إنزيمات الهدم
EC 4.1	Carbon-carbon lyases
EC 4.2	Carbon-oxygen lyases
EC 4.3	Carbon-nitrogen lyases
EC 4.4	Carbon-sulfur lyases
EC 4.5	Carbon-halide lyases
EC 4.6	Phosphorus-oxygen lyases
EC 4.7	Carbon-phosphorus lyases
EC 4.99	Other lyases

Last update 10 November, 2015

http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/

Enzyme Subclasses

Subclass	Name
EC 5	Isomerases انزيمات التشابه
EC 5.1	Racemases and epimerases
EC 5.2	*cis-trans*-Isomerases
EC 5.3	Intramolecular isomerases
EC 5.4	Intramolecular transferases (mutases)
EC 5.5	Intramolecular lyases
EC 5.99	Other isomerases

Last update 10 November, 2015

http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/

Enzyme Subclasses

Subclass	Name
EC 6	Ligases انزيمات الربط
EC 6.1	Forming carbon—oxygen bonds
EC 6.2	Forming carbon—sulfur bonds
EC 6.3	Forming carbon—nitrogen bonds
EC 6.4	Forming carbon—carbon bonds
EC 6.5	Forming phosphoric ester bonds
EC 6.6	Forming nitrogen—metal bonds

Last update 10 November, 2015

http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/

العوامل المؤثرة على نشاط الإنزيم

1- الـpH : حيث أن لكل إنزيم رقم pH أمثل **Optimum** يكون عنده التفاعل أقصاه ورقم أدنى **Minimum** لا يحدث التفاعل عند درجة أقل منه ورقم أقصى **Maximum** لا يحدث التفاعل إذا إرتفع الرقم الأيدروجينى عنه .

2- درجة الحرارة Temperature : حيث تزداد سرعة التفاعل الإنزيمى تدريجياً بزيادة درجة الحرارة حتى تصل إلى درجة حرارة معينة يكون عندها النشاط الإنزيمى فى أقصاه وهى الدرجة المثلى **Optimum temperature** حتى يصل إلى حد معين ثم يقل النشاط الإنزيمى بعد ذلك نتيجة حدوث عملية الدنترة للبروتين الإنزيمى **Enzyme`s denaturation**. وإذا رفعت الحرارة عن هذه الدرجة يحدث تناقص فى النشاط الإنزيمى إلى أن يتوقف التفاعل.

ومثال لعملية الدنترة فى البروتين ما يحدث لبياض البيض (الألبيومين) عند تعرضه للحرارة المرتفعة. ويمكن أن تحدث الدنترة نتيجة مؤثرات كيماوية مثل الأحماض المركزة والقواعد والمعادن الثقيلة والكحولات والأشعة فوق البنفسجية.

تابع : العوامل المؤثرة على نشاط الإنزيم

3- تركيز الإنزيم Enzyme concentration كلما زاد تركيز الإنزيم كلما زاد النشاط الإنزيمى حتى يصل إلى درجة معينة لا يصبح لزيادة التركيز بعدها أى تأثير نشاط الإنزيم.

4- تركيز مادة التفاعل Substrate concentration كلما زاد تركيز مادة التفاعل كلما زاد النشاط الإنزيمى إلى حد معين وبعدها يتوقف هذا النشاط. حيث يصل الإنزيم إلى حالة تسمى التشبع الإنزيمى أو إلى إشغال المواقع النشطة بمواد التفاعل أو ناتج التفاعل قبل إنفصالها. وتحت هذه الظروف فإن الزيادة فى تركيز مادة التقاعل لا تؤثر على معدل التفاعل بالزيادة ألا إذا أضيف المزيد من تركيز الإنزيم .

5- المثبطات Inhibitors تعتبر المثبطات الإنزيمية من الطرق الفعالة للتحكم فى نمو البكتيريا، فمن المثبطات الإنزيمية ما يستخدم فى عملية التعقيم مثل السيانيد والسليمانى التى تتحد مع الإنزيم وتمنع نشاطه وبالتالى يتوقف النمو الميكروبى.

المثبطات الإنزيمية Enzymes inhibitors

تقسم هذه المثبطات على حسب تفاعلها مع الإنزيم إلى :

أ- مثبطات تنافسية Competative inhibitors :

حيث تتنافس تلك المثبطات مع مادة التفاعل على الإرتباط بالمواقع النشطة على الإنزيم لأنها تشبه مادة التفاعل الأصلية فى التركيب الكيميائى أو الشكل الفراغى وعندما يتحد المثبط مع المواقع النشطة على الإنزيم لا ينفصل ويتوقف النشاط الإنزيمى، ومن أمثلتها مركب السلفانيل أميد Sulfanil amide.

** مثال

تحول البكتيريا حمض البارأمينو بنزويك (PABA) إنزيميا إلى حمض الفوليك وعند تواجد مركب السلفانيل أميد فإن قدرته على الإتحاد مع الإنزيم أكبر من (PABA) وبالتالى يحدث التثبيط التنافسى مع الإنزيم ولا يتكون حمض الفوليك. ونظراً لأن الخلية الآدمية لا تحتاج إلى PABA لتخليق حمض الفوليك فإن مركبات السلفا تستخدم كدواء حيث تقتل البكتيريا ولا تؤثر على الخلية البشرية.

تابع : المثبطات الإنزيمية Enzymes inhibitors

ب- مثبطات لا تنافسية Non competative inhibitors

تلك المثبطات لا تتنافس مع مادة التفاعل على الموقع النشط للإنزيم ولكنها تعمل على جزء آخر من الإنزيم أو تتحد مع المرافقات الإنزيمية أو prosthetic group حيث يؤدى ذلك إلى عرقل عمل الإنزيم فيقل النشاط الإنزيمى.

**** مثال**

يرتبط السيانيد مع الحديد مما يؤدى إلى ضعف قدرة هيموجلوبين الدم على الإرتباط بالأكسجين التى تثبط الإنزيمات التى تحتاج فى نشاطها إلى أيونات معدنية حيث ترتبط المثبطات اللاتنافسية مع هذه الأيونات المعدنية وبالتالى تمنع التفاعل الإنزيمى .

التثبيط العكسى وغير العكسى
Reversible and Irreversible inhibition

التثبيط العكسى Reversible inhibition
يحدث عندما يترتبط الإنزيم بالمثبط سواء أكان تنافسى أو غير تنافسى يتكون معقد إنزيمى يتفكك بسهولة مرة أخرى إلى الإنزيم والمثبط.
بينما التثبيط غير العكسى Irreversible inhibition.
يمكن الكشف عن حدوث هذا النوع من التثبيط بدراسة حركيات الإنزيمات enzymes kinetics فنجد أنه يحدث فى إتجاه واحد ولا يرتد

**** مثال**

يوقف البنسلين نمو الميكروبات عن طريق منعه للخطوة الأخيرة من تكون الجدار وخصوصا الروابط العرضية cross linking حيث يتحد البنسلين مع إنزيم ترانسبتيديز المسئول عن تكوين تلك الروابط ويكون معقد بلا رجعه فيما يعرف باسم التثبيط غير العكسى.

التثبيط بالتغذية العكسية Feedback inhibition

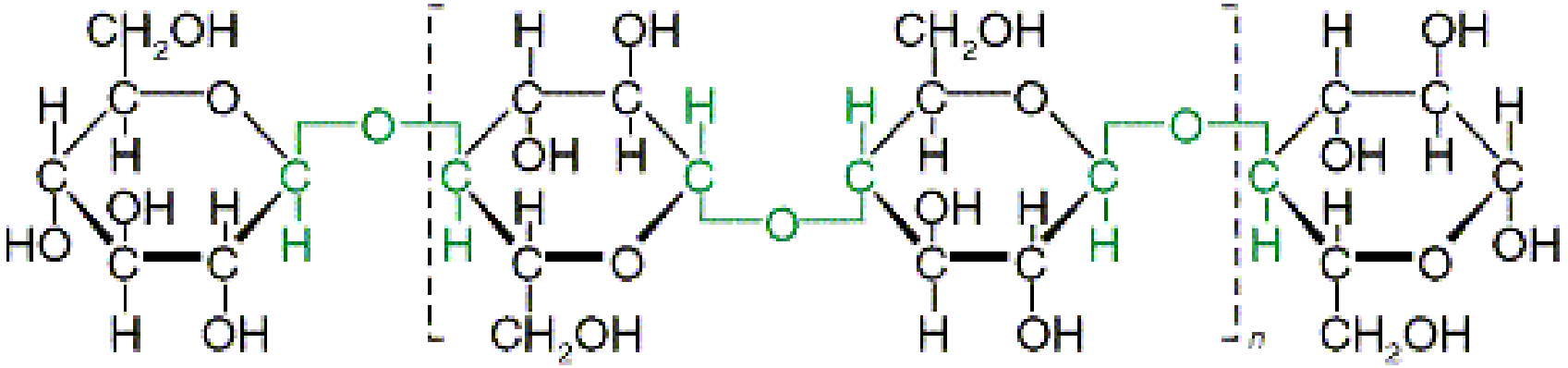
وقد تعمل المثبطات اللاتنافسية كمواد منظمة للتفاعل الإنزيمى عن طريق التثبيط الرجعى أو عن طريق التغذية العكسية فيما يعرف بـFeedback inhibition.
وعملية الثبيط العكسى هذه تمنع الإنزيم من إنتاج مواد جديدة (Product) حيث يقوم الناتج النهائى للإنزيم بتثبيط خطوة من خطوات التفاعل مما يؤدى إلى وقف التفاعل.

** مثال

يستطيع ميكروب *E. coli* إنتاج حمض الأيزوليوسين Isoleucine من الحمض الأمينى الثريوثين Threonine إنزيميا (خمس خطوات). وعندما يزداد تركيز الحمض الأمينى الأيزوليوسين فى بيئة النمو فإن النشاط الإنزيمى يتوقف مؤقتا إلى أن يستهلك هذا الحمض ثم يعود مرة أخرى .
ويمكن الإستفادة من عملية التثبيط العكسى فى مجال التخمرات الصناعية كوسيلة للتحكم فى تنظيم إنتاج الأحماض الأمينية والفيتامينات فيما يعرف باسم تنظيم الإنزيمات Enzymes regulation.

التركيب الكيميائى للسليلوز

السليلوز من الناحية الكيميائية عبارة عن مادة كربوايدراتية معقدة وزنها الجزيئي كبير جدا ويتركب من بوليمر لسكر الجلوكوز (Polymer of glucose) (10000 – 1400 جزئ) وترتبط وحدات سكر الجلوكوز مع بعضها برابطة جليكوسيدية من النوع بيتا (وهى رابط بين جزيئين جلوكوز حيث ترتبط الذرة رقم 4 من أحد الجزيئات مع الذرة رقم 1 من الجزئ الآخر فى الوضع بيتا) β-1,4-glycosidic linkage والسليلوز لا يوجد في الطبيعة منفردا ولكن توجد هذه السلاسل متحدة في وحدات دقيقة جدا تسمي Micelles وهذه بدورها تترتب بشكل خاص في تراكيب أكبر تسمي Microfibrils ليعطى السيليلوز البللوري crysttaline cellulose (Avicel) وهذه الوحدات توجد بينها عادة مادة اللجنين.



cellulose

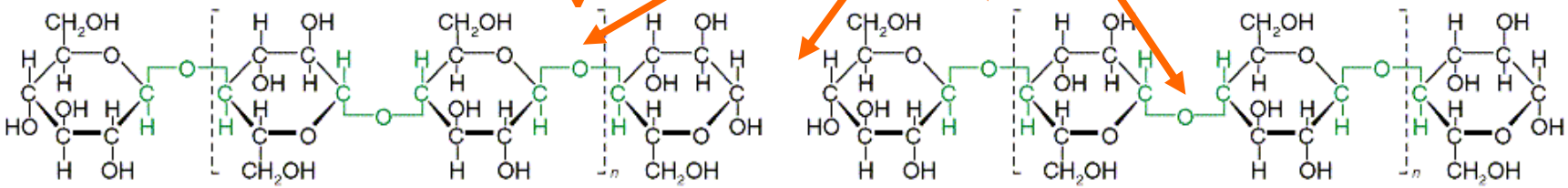
إنزيمات تحليل السليلوز

Cellobiase

endo-β-1,4–glucanase Cx

exo-β–1,4-glucanase C1

Unnamed enzyme X



التحليل المائى الإنزيمي للسليلوز يعتبر عملية معقدة حيث تحتاج لعمل ثلاثة أنزيمات علي الأقل لذلك يطلق علي تلك الإنزيمات cellulases الأول يسمى exo-β–1,4-glucanase (E.C.3.2.1.-) أو ما يعرف بـ C1 ويقوم بفصل جزئيات كبيرة من السيليلوز من نهاية السلسلة السليلوز والثانى يسمى endo-β-1,4– glucanase (E.C.3.2.1.4) فيقوم بتحليل السليولوز بطريقة عشوائية أو ما يعرف بـ Cx وهذان الإنزيمان يعملان معا لتكوين السيلوبيوز Cellobiose والثالث يسمى β–glucosidase أو السلوبييز Cellobiase وهو يحلل سكر السلوبيوز لتكوين 2 جزئ جلوكوز، ولتجنب حدوث عملية التثبيط فإنه يجب التخلص من السلوبيوز من وسط التفاعل الأنزيمي. وأثبتت الدراسات الحديثة أن هناك إنزيم أخر ربما يزيد من فهم هذا النظام المعقد ويسمى X (Unnamed enzyme) ويعتقد أن لديه القدرة على فصل اللجنين (Phenylpropane) عن السليلوز كما يحدث مع فطريات عيش الغراب.

Cellulytic microorganisms

البكتيريا هوائية مثل:

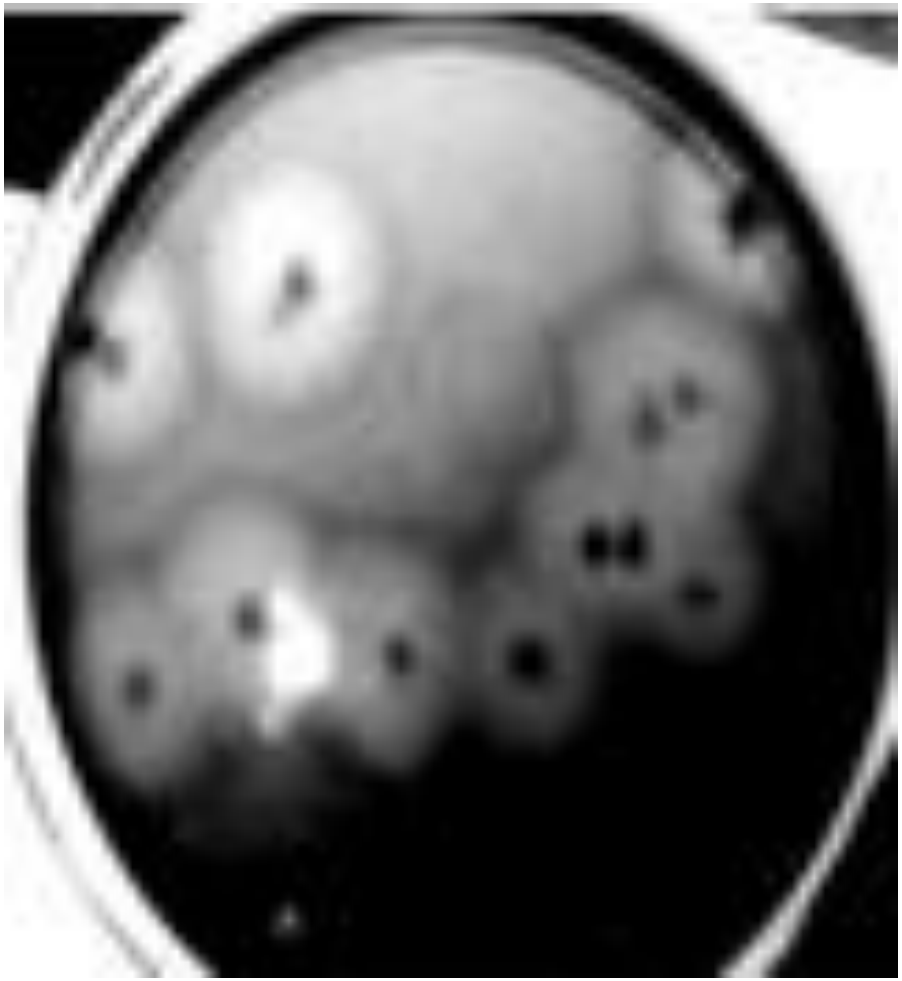
Pseudomonas
Cytophaga
Bacillus
Sporocytophaga

والأكتينوميستات مثل:

Micromonospora
Thermoactinomyces
Thermomonospora
Nocardia
Streptomyces

والفطريات مثل :

Sporotrichum
Alternaria
Fusarium
Penicillium
Aspergillus
Trichoderm



السليلوز يلي السكريات البسيطة والنشا في حيث سرعة التحلل.

Cellulytic microorganisms

البكتيريا لا هوائية مثل:

Clostridium dissolvens

Cl. thermocellum

لاهوائيا في المجترات ruminants

Ruminococcus

Flavofaciens

Butyrivibrio

Fabrisolvens

Bacteroides

الميكروبات اللاهوائية لا تستطيع القيام بالأكسدة الكاملة للمركبات العضوية لذلك فإن النواتج النهائية لتحليلها للسليلوز تشمل مركبات عديدة غير كاملة الأكسدة مثل الأحماض العضوية:

Succinic , Lactic , Acetic والكحولات Formic , Butyric, والغازات مثل H_2; CO_2, CH_4; وتلعب البكتريا اللاهوائية المحللة للسليلوز دوراً هاماً في قاع البرك والمستنقعات وفي كرش وروث الحيوانات المجترة وفي إنتاج المركبات الوسطية اللازمة لإنتاج غاز البيوجاز Biogas.

التحليل المائى للسليلوز Cellulose Hydrolysis

هوائى

** لاحظ أن :

** البيئة المستخدمة بيئة دوبس.

** يتم الكشف عن ايجابية الإختبار بوجود البقع البنية أو الصفراء أو التآكل.

+ *Cytophaga* sp.

- *E. coli*

لاحظ أن الميكروب المفرز لإنزيم السليوليز فى الظروف الهوائية يعمل على تآكل ورقة الترشيح ويكون فى نهاية التفاعل الجلوكوز بينما الميكروب غير المحلل تظهر ورقة الترشيح بيضاء

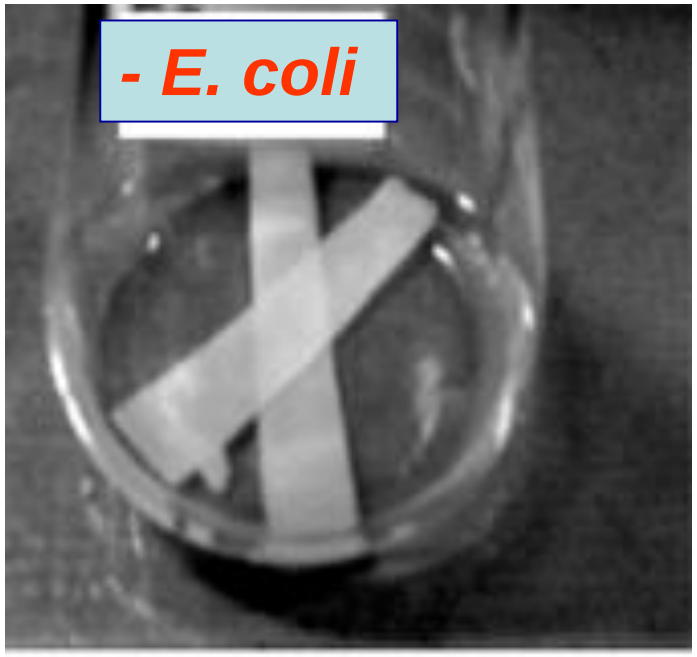
التحليل المائى للسليلوز Cellulose Hydrolysis

لاهوائى

** لاحظ أن :

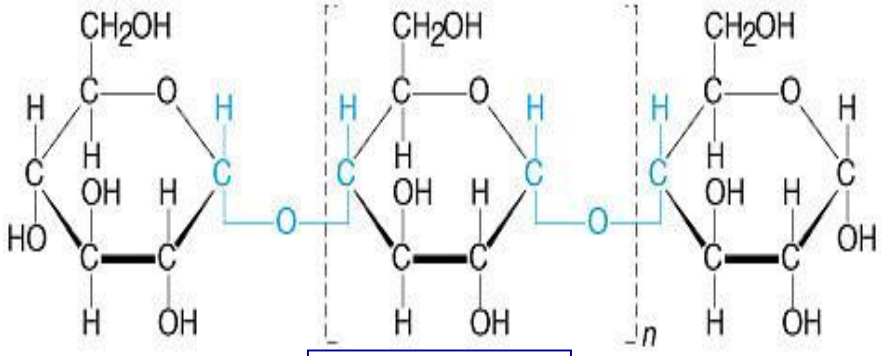
** البيئة المستخدمة بيئة أومليانسكى.

** يتم الكشف عن ايجابية الإختبار بوجود البقع البنية أو الصفراء أو التآكل أو الغاز.

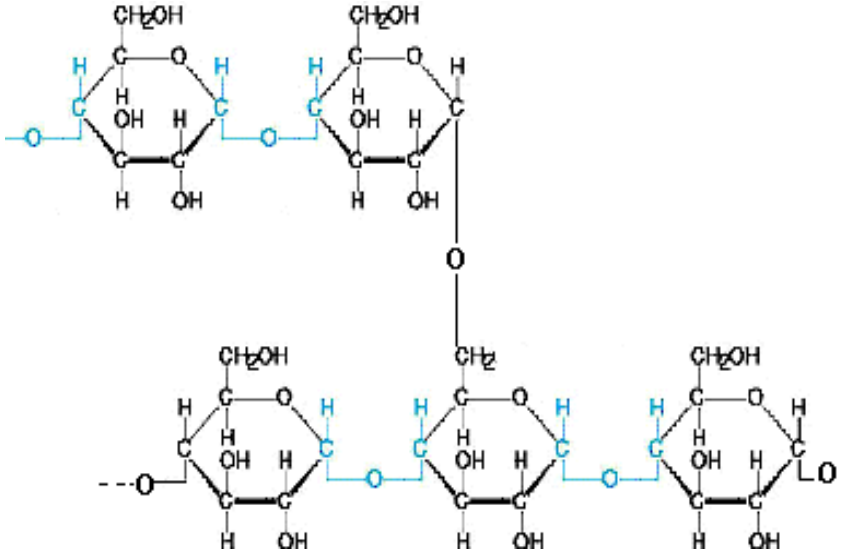


لاحظ أن الميكروب المفرز لإنزيم السليوليز فى الظروف اللاهوائية يعمل على تآكل ورقة الترشيح وأيضا تتكون الغازات كناتج نهائى للتحلل بينما الميكروب غير المحلل تظهر ورقة الترشيح بيضاء

التركيب الكيميائى للنشا



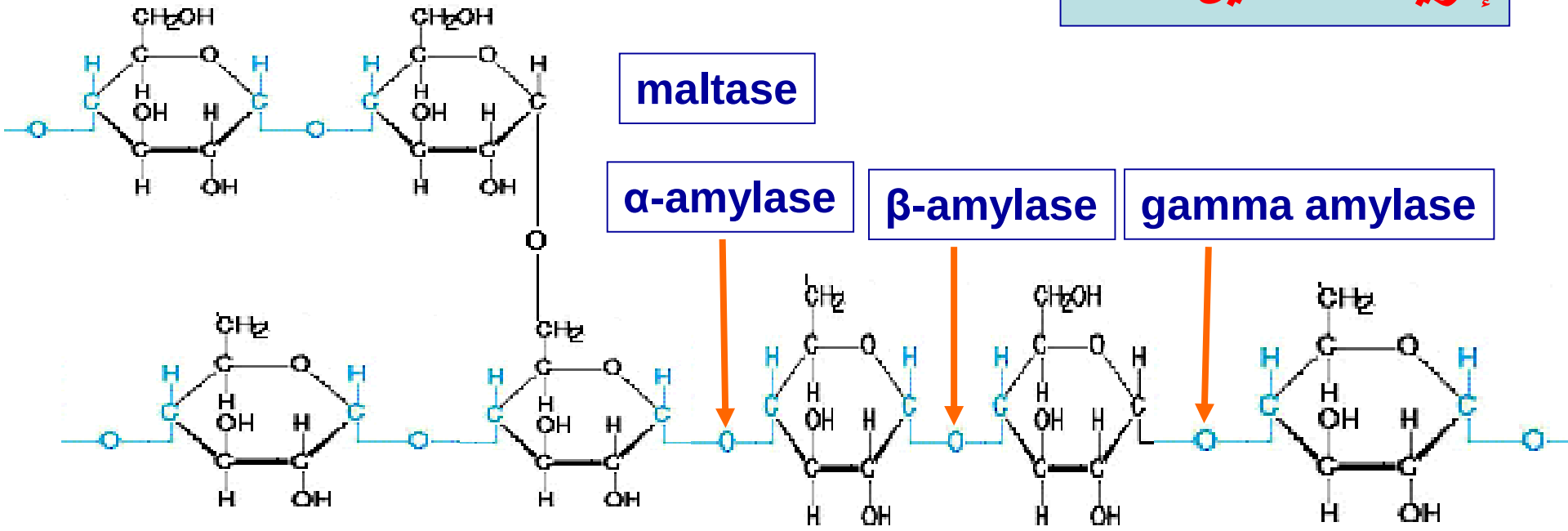
Amylose



Amylopectin

النشا من الناحية الكيميائية عبارة عن سكريات عديدية معقدة Polysaccharides (بوليمر) يتكون من وحدات عديدة من سكر الجلوكوز وتتكون حبيبة النشا من نوعان هذا البوليمر الأول يسمى الأميلوز Amylose وهو يتكون من سلاسل مستقيمة من الجلوكوز عددها (100- 10000) مرتبطة مع بعضها برابطة جليوسيدية من النوع ألفا 1,4-α-glycosidic linkage (وهى رابط بين جزيئين جلوكوز حيث ترتبط الذرة رقم 4 من أحد الجزيئات مع الذرة رقم 1 من الجزئ الآخر فى الوضع ألفا) والثانى يسمى الأميلوبكتين Amylopectin ويتكون من سلاسل متفرعة من الجلوكوز (10000-50000) تفرعا شديدا مثل الشجرة مرتبطة مع بعضها برابطة جليوسيدية من النوع ألفا فى أماكن السلسلة المستقيمة أيضا أما عند التفرع فترتبط فيما بينها بنفس نوع الرابط ولكن على الذرة رقم 6 من جزء الجلوكوز لذلك تسمى 1,6-α-glycosidic linkage.

إنزيمات تحليل النشا



الميكروبات المحللة للنشا تفرز مجموعة من الأنزيمات الخارجية تسمى الأميليز (الذى كان يعرف سابقاً باسم إنزيم الدياستيز) وهى : 1- الألفا أميليز α-amylase وهو قادر علي تكسير الروابط في السلاسل المستقيمة لكل من الآميلوز والآميلوبكتين بطريقة عشوائية لكنة غير قادر علي تكسير الروابط المتفرعة وبذلك ينتج عن فعل هذا الأنزيم علي النشا الدكسترين. 2- البيتا أميليز β-amylase وهو يحلل السلاسل من نهايتها تدريجيا، ويكون التكسير عند الرابطة الثانية بين وحدات الجلوكوز ليعطي وحدات من السكر الثنائي (مالتوز) علاوة علي نسبة من الدكسترينات. وكلا الانزيمين غير قادر علي تكسير الرابطة المتفرعة في جزيء الآميلويكتين. 3- المالتيز maltase يحلل السكر الثنائى المالتوز إلى 2 جزء من جلوكوز. وبالأضافة لهذه الإنزيمات، فإن بعض الميكروبات المحللة للنشا تفرز 4- أنزيم gamma amylase الذي يفصل وحدات الجلوكوز من نهاية جزيء النشا.

Amylolytic microorganisms

النشا من أسرع المواد الكربوايدراتية تحللا فهو يلي السكريات البسيطة في سرعة التحلل وهناك العديد من الميكروبات التى لها القدرة على تحليله (80%) وتشتمل على :

البكتيريا مثل:

Cytophaga
Clostridium
Bacillus
Micrococcus
Flavobacterium
Chromobacterum

والأكتينوميستات مثل:

Micromonospora
Streptomyces

والفطريات مثل :

Fusarium
Rhizopus
Aspergillus

Starch Hydrolysis تحليل النشا

** لاحظ أن :

** البيئة المستخدمة تسمى بيئة آجار النشا.

** محلول اليود للكشف عن وجود النشا من عدمه حيث يكون لون ازرق فى حالة وجوده.

- *E. coli*

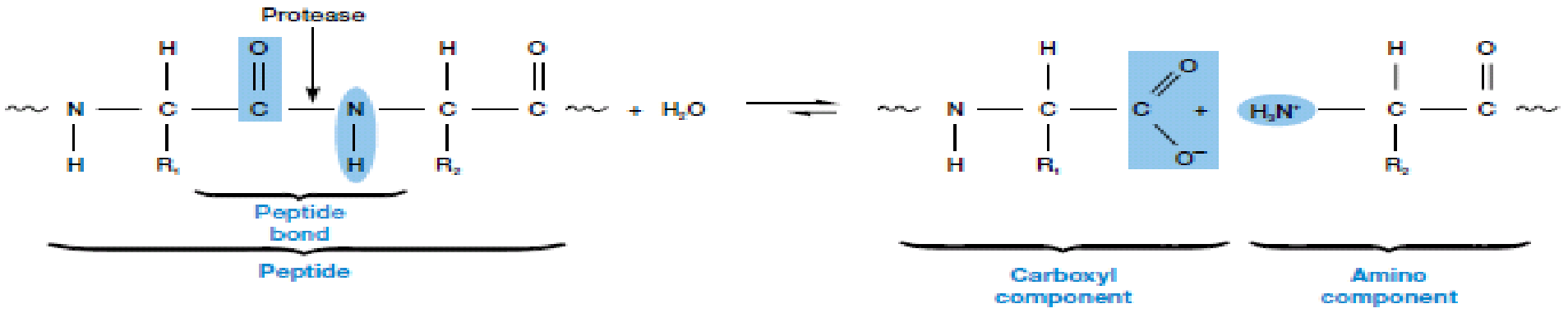
+ *Bacillus subtilis*

لاحظ تكون هالة شفافة نتيجة تحليل النشا حول مستعمرات الميكروب المحلل للنشا (A) والذى له القدر على إفراز إنزيم الأميليز بينما بقية البيئة تظهر بلون أزرق لعدم قدرة الميكروب (B) على تحليل النشا

التركيب الكيميائى للبروتين

البروتين من الناحية الكيميائية عبارة عن أحماض أمينية عديدية معقدة Polyaminoacids (بوليمر) ترتبط فيما بينها بروابط ببتيدية (رابطة بين مجموعة الكربوكسيل فى أحد الأحماض الأمينية ومجموعة الأمين فى حمض أمينى أخر) مكونة سلاسل ببتيدية فيما يعرف بالنباء الأول للبروتين ثم تلتف السلاسل حول بعضها فى شكل حلزونى مكونة البناء الثانى ثم تتحد فى شكل معقد أكثر ثلاثى الأبعاد مكونة جزيئات البناء الثالث ثم تتحد كل مجموعة جزيئات معا مكونة البناء الرابع. وعند تحلل البروتين والمواد النيتروجينية عموما مثل الأحماض النووية يكون الناتج الأساسى الأمونيا NH_3 كما يتم إنتاج كل من CO_2 , H_2O , H_2S كنواتج نهائية لعملية التحلل الهوائى بينما التحلل تحت الظروف اللاهوائية يصاحبه روائح كريهه فيما يعرف بأسم " تعفن Putrefaction" وفي هذه الحاله تختلف نواتج التحلل النهائية فتتكون الأمونيا والأمينات والأحماض الأمينية والأحماض عضوية والـ H_2S و CO_2 والمركبتون mercaptane وغيرها.

إنزيمات تحليل البروتين



تتم عملية تحلل البروتين بواسطه إنزيمات خارجية تسمى بروتييز **Extracellular proteases** وهذه الأنزيمات تقوم بتكسير الروابط البيتيدية فى سلسلة جزيء البروتين وتقسم إلي مجموعتين هما **Exopeptidases** وهي الإنزيمات التي تحلل الروابط البيتيدية الطرفية في السلسلة و**Endopeptidases** وهي الإنزيمات التي تحلل الروابط البيتيدية الداخلية في السلسلة وفى نهاية عملية التحلل تتكون جزيئات أصغر فأصغر حتي تكون الأحماض الأمينية. ويتم تحلل الأحماض الآمينية بواسطة الميكروبات بطرق عديدة منها طريقة **Decarboxylation** وتعني نزع مجموعة الكربوكسيل مع تكوين مركبات قاعدية تعرف بالآمينات **Amines** والطريقة الثانية تعرف باسم **Deamination** وتعني نزع مجموعة الآمين مع تكوين أمونيا والهدف منها هو نزع مجاميع الآمين **NH2** الموجودة في جزيء الحمض الآمينى لتكوين الأمونيا **NH3**, حيث يستخدم هذا الجزئ فى بناء خلايا الميكروبات.

Protein ⟶ Peptones ⟶ Polypetides ⟶ Dipeptides ⟶ Amino acids

Proteoytic microorganisms

الكازين عبارة عن فوسفوبروتين - يوجد فى اللبن كمعلق غروى يعطى للبن لونه الأبيض وعند تحلله يكون مركبات قابلة للذوبان وأكثر شفافية منه

البكتيريا مثل:

Bacillus
Pseudomonas
Arthrobacter
Micrococcus
Sporosarcina
Proteus

والأكتينوميستات مثل:

Streptomyces

والفطريات مثل :

Rhizopus
Penicillium
Alternaria
Aspergillus
Clostridium sporogenes

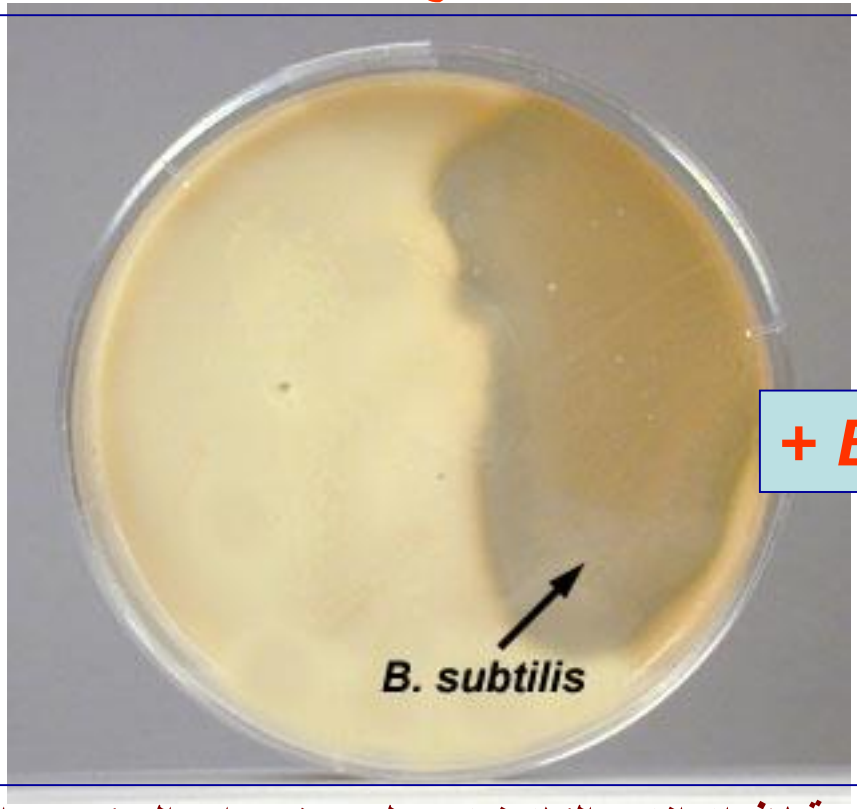
التحليل المائى للكازين Casein hydrolysis

** لاحظ أن :

** البيئة المستخدمة بيئة الأجار المغذى + مضاف إليها لبن فرز معقم.

** محلول HCl المخفف للكشف عن نواتج تحلل البروتين حيث تتكون هالة شفافة.

- *E. coli*



+ *Bacillus subtilis*

لاحظ تكون هالة شفافة نتيجة لإفراز إنزيم الكازينيز حول مستعمرات الميكروب المحلل للكازين لأن نواتج التحليل أكثر شفافية من الكازين كما أن استخدام حمض HCl المخفف يساعد على ذوبان نواتج التحلل وبالتالى يعمل على زيادة وضوح الهالة الشفافة بينما الميكروب غير المحلل يكون اللون أبيض معتم

Figure 27.1 Hydrolysis of Gelatin. If gelatin is hydrolyzed by the enzyme gelatinase, it does not gel when cooled but remains a liquid. Thus it flows when the culture is tilted backward (right tube). A negative control tube is on the left. Notice that the solid gelatin does not flow when the tube is tilted.

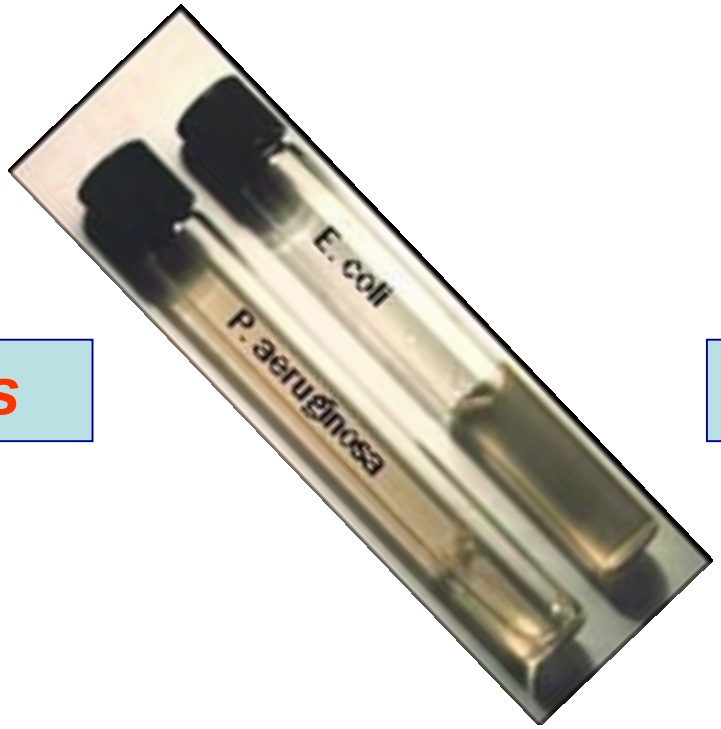
التحليل المائى (الإسالة) للجيلاتين Gelatin liquefaction

** لاحظ أن :

** البيئة المستخدمة بيئة الجيلاتين المغذى.

** يتم الكشف عن ايجابية الإختبار بالتبريد.

+ *Proteus vulgaris*



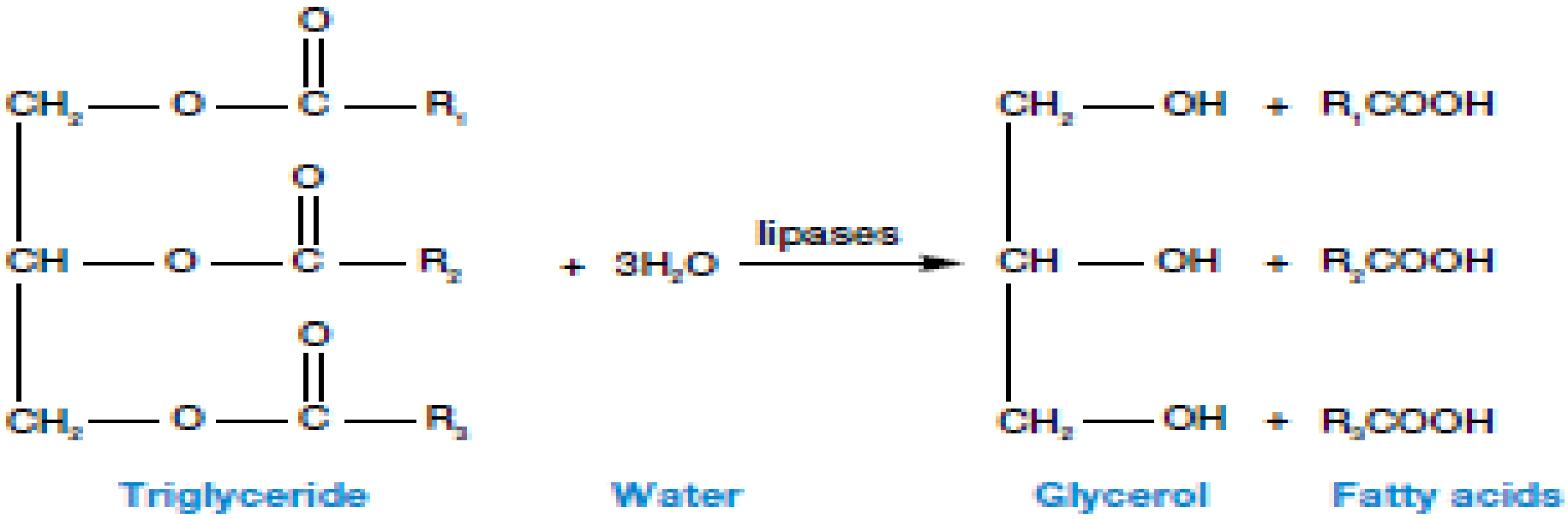
- *E. coli*

لاحظ أن الميكروب المفرز لإنزيم الجيلاتينيز يغير من حالة الجيلاتين الصلبة ويحوله إلى سائل ويتم الكشف عن اسالة الجيلاتين بوضع الأنابيب فى الثلاجة أو فى كأس يحتوى على ثلج أو ماء بارد بينما الإنبوبة التى تحتوى على الميكروب غير محلل يكون الجيلاتين فيها صلب

التركيب الكيميائى للدهون

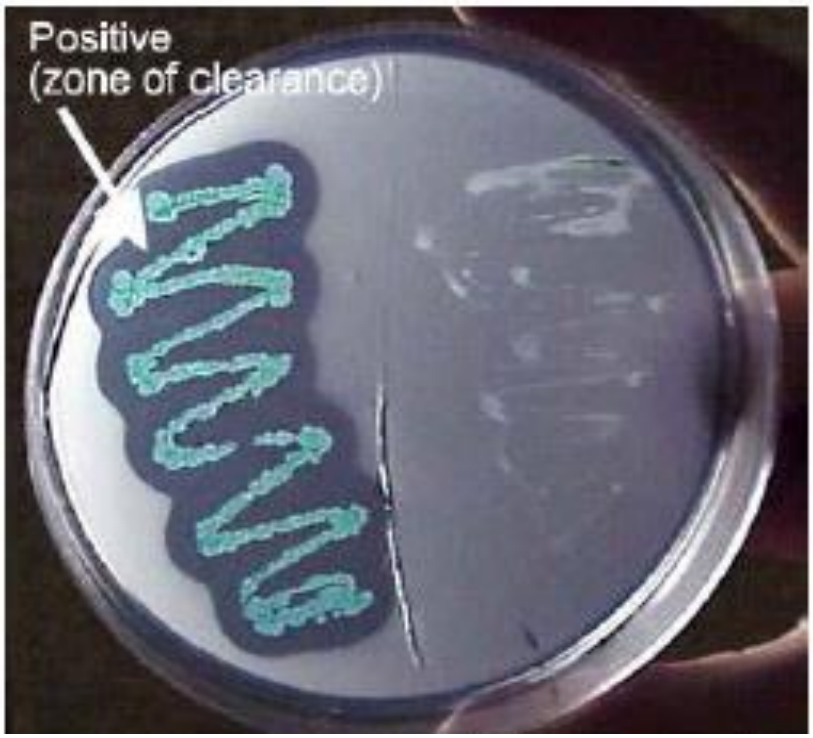
الدهون من الناحية الكيميائية عبارة عن جليسريدات ثلاثية triglycerides تتكون من ثلاثة أحماض دهنية متحدة مع كحول ثلاثى يسمى جليسرول ومرتبطة مع بعضها برابطة استرية. وهى تحتوي على الكربون والهيدروجين والأكسجين مثل السكريات إلا أن نسبة الهيدروجين إلى الأكسجين فيها تختلف عن نسبتها في السكريات. الدهون لا تذوب في الماء ولكن تذوب في الكحول والايثر والبنزين والكلوروفورم وغيرها من المذيبات العضوية والزيوت والدهون لها نفس التركيب الكيماوى ولكن جرت العادة على تسمية الدهون السائلة في الظروف العادية زيوت أما الدهون الصلبة على درجة حرارة الغرفة فتسمى دهن. وتقسم الدهون إلى ثلاثة أقسام : الأول يسمى الدهون البسيطة مثل الجلسريدات الثلاثية والشموع waxes وفي الشموع يكون الحمض الدهنى طويل (10-40 ذرة كربون) والثانى يسمى الدهون المركبة وهي دهون بسيطة مرتبطة مع جزء غير دهني ومن أهمها الفوسفوليبيدات Phospholipides حيث تحتوي على حمض الفوسفوريك ومنها أيضا الدهون الاسفنجية, والدهون السكرية الجليكوليبيدات والدهون البروتينية التي تحتوي على البروتينات والقسم الثالث يسمى الدهون المشتقة وهو عبارة عن نواتج تحلل الدهون مثل الأحماض الدهنية الطليقة والكحولات طويلة السلسلة أو الحلقية التي من أمثلتها الستيرولات وفيتامين A والكاروتينويدات كما تلحق بهذه المجموعة الفيتامينات الذائبة هي الدهون (K. D. H)

إنزيمات تحليل الدهون



الميكروبات المحللة للدهون تفرز إنزيم خارجي تسمى الليبيز وهو قادر علي تكسير الروابط الإسترية بين الأحماض الثلاثية والجلسرول.

Lipolytic microorganisms



البكتيريا مثل:

Clostridium
Bacillus
Pesudomonas

والأكتينوميستات مثل:

Streptomyces

والفطريات مثل :

Fusarium
Penicillium
Rhizopus
Aspergillus

الدهون من أكثر المواد الغذائية إنتاجا للسعرات الحرارية والأحماض الدهنية عبارة عن أحماض كربوكسيلية لديها سلسلة أساسية أليفاتية طويلة وغير متفرعة وهى إما أن تكون مشبعة أو غير مشبعة ويمكن اعتبار الأحماض الكربوكسيلية ذات سلسلة قصيرة مثل حمض البوتيريك (حمض الزبدة) (4 ذرات كربون) حمض دهني.

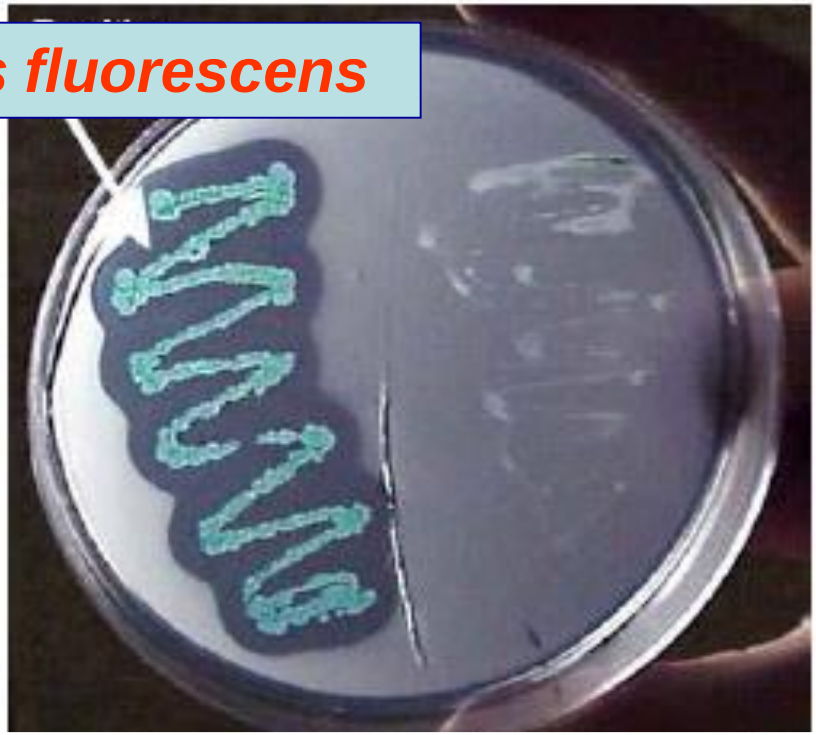
التحليل المائى للدهون Lipids Hydrolysis

** لاحظ أن :

** البيئة المستخدمة بيئة الأجار المغذى + مضاف إليها زيت معقم.

** محلول كبريتات النحاس للكشف عن وجود الأحماض الدهنية يكون لون أخضر مزرق.

+ *Pseudomonas fluorescens*



- *E. coli*

لاحظ تكون لون أخضر مزرق حول المستعمرات التى لها القدرة على تحليل الدهن نتيجة لإفرازها إنزيم الليبيز حيث ينفرد الأحماض الدهنية وتتفاعل مع كبريتات النحاس بينما الميكروب غير المحلل لا يكون هذا الون

References

Al-Sabagh, A. M.; S. A. Khalil; A. Abdelrahman, N. M. Nasser, M. R. N. Eldin; M. R. Mishrif and M. El-Shafie (2012). Investigation of oil and emulsion stability of locally prepared metalworking fluids. Industrial Lubrication and Tribology. 64(6): 346–358.

Benson, H.J (2001). Microbiological Applications Lab Manual, 8th ed., The McGraw−Hill Companies, USA.

Fogarty, W. M. and C. T. Kelly (1990) Microbial Enzymes and Biotechnology, 2nd ed. Elsevier Science Publishing Co. INC, 655 Avenue of the Americas. New York. NY 10010 USA

Halt, J.G.; N.R. Krieg; P.H.A. Sneath; J.T. Stanley and S.T. Williams (1994). Bergy's Manual of Determinative Bacteriology. The 9th ed., Williams & Wilkins, Baltimore.

Harley, J.P and L.M. Prescott (2002). Laboratory Exercises in Microbiology. 5th ed., The McGraw−Hill Companies. USA.

Mirsal, I.A (2008). Soil Pollution, Origin, Monitoring and Remediation. 2nd ed., Springer-Verlag Berlin, Germany.

Norris, J.G.; and D.W. Ribbons (1969). Methods in Microbiology. Academic Press INC, London.

Pelczar, M.J.; Jr.E.C.S. Chan and N.R. Krieg (1993). Microbiology Concepts and Applications. 1st ed., McGraw-Hill, Inc. USA.

Rogers, P.H. (1993). Bacterial Cell Structure. 1st ed., Van Nostrand Reinhold (UK) Co., Ltd. England.

Singleton, P (1997). Bacteria in Biology, Biotechnology and Medicine, 4th ed., John Wiley & Sons Ltd, England.

Takasuka, T. E.; A. J. Book, G. R. Lewin, C. R. Currie and B. G. Fox (.(2013 Aerobic deconstruction of cellulosic biomass by an insect-associated *Streptomyces.* Scientific Perports..10-1 :3

Walstra, P.; T.J. Geurts; A. Noomen; A. Jellema and M.A.J.S van Moekel (2005). Dairy Technology, Principles of Milk Properties and Processes. 1st ed., Marcel Dekker, Inc. USA.

أعضاء هيئة التدريس بقسم الميكروبيولوجيا الزراعية (1999). مذكرات فى الميكروبيولوجيا الزراعية العملية - قسم الميكروبيولوجيا الزراعية – كلية الزراعة – جامعة المنصورة – مصر.

حسين عبد الله محمد الفضالى (2007). الميكروبيولوجيا العامة – الطبعة الأولى - مكتبة نانسى - دمياط الجديدة – مصر.

حسين عبد الله محمد الفضالى (2008). تدريبات عملية فى الميكروبيولوجيا العامة – الطبعة الأولى - مكتبة نانسى - دمياط الجديدة – مصر.

حسين عبد الله محمد الفضالى (2008). ميكروبيولوجيا التربة الزراعية – الطبعة الأولى - مكتبة نانسى - دمياط الجديدة – مصر.

سعد على زكى محمود (1988). الميكروبيولوجيا التطبيقية العملية – مكتبة الأنجلو المصرية – شارع محمد فريد – القاهرة – مصر.

سعد على زكى محمود وعبد الوهاب محمد عبد الحافظ ومحمد الصاوى مبارك (1980). ميكروبيولوجيا الأراضى . مكتبة الأنجلو المصرية – ش محمد فريد – القاهرة.

الشحات محمد رمضان طه وراوية فتحى جمال (2005). ميكروبيولوجيا التخمرات . دار الفكر العربى . الطبعة الأولى . المكتبة العصرية . المنصورة . مصر.

فتحى اسماعيل حوقة وسامية مرسى بيومى وشريف محمد القاضى (2010). تلوث البيئة إلى أين . المكتبة العصرية - المنصورة – مصر.

فتحي إسماعيل علي حوقه وتوفيق سعد محمد شادى (2004). الأسمدة الحيوية ودورها فى حماية البيئة وسلامة الغذاء . الطبعة الأولى . المكتبة العصرية . المنصورة . مصر.

محمود محمد عوض الله السواح (2002). الإنزيمات الميكروبية . المكتبة العصرية . الطبعة الأولى . المنصورة.

محمود محمد عوض الله السواح (2003). إستراتيجيات التحولات الحيوية . المكتبة العصرية . المنصورة.

محمود محمد عوض الله السواح (2003). البيوتكنولوجيا والميكروبات. المكتبة العصرية . المنصورة.

محمود محمد عوض الله السواح وآخرون (2002). الميكروبيولوجيا العامة العملية . الطبعة الأولى . المكتبة العصرية . المنصورة.

محمود محمد عوض الله السواح وإيمان حسين عاشور يوسف (2002). الميكروبيولوجيا العامة . المكتبة العصرية . الطبعة الأولى . المنصورة.

مصطفى كمال أبو الدهب ومحمد عبد القادر الجعرانى (1984) . البكتيريا - الجزء الثانى - التمارين المعملية الأساسية - الطبعة الثانية – دار المعارف – الإسكندرية – مصر.

مصطفى كمال أبو الدهب ومحمد عبد القادر الجعرانى (1984) . البكتيريا . دار المعارف – القاهرة – الطبعة الثانية.

http://biology.uwsp.edu/faculty/TBarta/hydrolysis.html

http://medic.med.uth.tmc.edu/path/oxidase.htm

http://www.austin.cc.tx.us/microbugz/38nutgel.html

http://www.cat.cc.md.us/courses/bio141/labmanua/lab8/catpos.html

http://www.mans.edu.eg/heepf/daac/

http://www.medicalliterature.bravepages.com/diff%20media.htm

http://www.mhhe.com/prescott5

http://www.mmc.edu/microb/dentmicro/PQ/Quizes/Clin_cases99/Lab%20Enterics/Lab_EntCase8.html

http://www.sterilizers.com/

http://www2.austincc.edu/microbugz/31citrate.htm