

التفاعلات الأيضية

في

الخلية البكتيرية

تأليف

دكتور / محمد نجيب أبو سعدة

مراجعة

أ.د. محمد علي البرلسي

أ.د. / رابحة فتحي جمال



المكتبة الأكاديمية

التفاعلات الأيضية

فى

الخلية البكتيرية

تأليف

دكتور / محمد نجيب إبراهيم أبو سعدة

دكتوراه الميكروبيولوجى جامعة هوهنهايم - شتوتنجارت - ألمانيا
أستاذ الميكروبيولوجيا المساعد كلية الزراعة - جامعة عين شمس

مراجعة

أ.د/ محمد على البرلسى

قسم الميكروبيولوجيا
كلية الزراعة - جامعة عين شمس

أ.د/ رابوية فتحى جمال

قسم الميكروبيولوجيا
كلية الزراعة - جامعة عين شمس



الناشر

المكتبة الأكاديمية

١٩٩٨

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

فضاء العلوم الطبيعية
www.snvdz.com



مع تحيات د. سلام حسين عويد الهلالي

<https://scholar.google.com/citations?>

[user=t1aAacgAAAAJ&hl=en](https://scholar.google.com/citations?user=t1aAacgAAAAJ&hl=en)

salamalhelali@yahoo.com

<https://www.facebook.com/salam.alhelali>

[https://www.facebook.com/groups/
/Biothesis](https://www.facebook.com/groups/Biothesis)

[https://www.researchgate.net/profile/
/Salam_Ewaid](https://www.researchgate.net/profile/Salam_Ewaid)

07807137614



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

إِهْلَاءُ

* إلى وجه الله تعالى

* إلى كل من علمني حرفاً

* إلى روح والدي عليهما رحمة الله

* إلى زوجتي ورفيقه عمري

* إلى أولادي

بعض الاختصارات الشائعة مرتبة أبجدياً

Commonly abbreviations in alphabetical order

Co A	Coenzyme A
cyt.	Cytochrome
DH	dehydrogenase
DNA	deoxyribonucleic acid
FAD	Flavine adenine dinucleotide
FBP	Fructose -1,6- biphosphate
Fd	Ferredoxin
F-6P	Fructose -6- phosphate
G-6P	Glucose -6- phosphate
GSH	Glutathione (reduced form)
KDPG	2-keto-3-deoxy-6-phosphogluconic acid
NAD(P)+	Nicotinamide adenine dinucleotide (Phosphate)
NAD(P)H.H+	reduced form of NAD(P)
PALP	
PEP	phosphoenolpyruvate
Pi	Orthophosphate
PPi	Pyrophosphate
PQQ	Pyrroloquinoline quinone
RNA	Ribonucleic acid
TCA	Tricarboxylic acid cycle
THFA	
TPP	Thiamine diphosphate
UQ	Ubiquinone

Pathways

ED	Entner-Doudoroff pathway
EMP	Embden-Meyerhof-Paranas pathway
HMP	Hexose monophosphate pathway
PK	Phosphoketolase

أسماء بعض الميكروبات الحديثة

List of some recent bacterial names

FORMER NAMES

Acetobacter peroxydans
Acetobacter xylinum
Acetomonas suboxidans
Aerobacter aerogenes
Bacterioides rumin
Butyribacterium sp.
Diplococcus glycinophilus
Ferrobacillus ferrooxidans
Hydrogenomonas eutropha
Micrococcus denitrificans
Moraxella calcoaceticus
Nitrosocystis oceanus
Propionibacterium pentosaceum
Pseudomonas acidovorans
Sarcina lutea
Streptococcus cremoris
Streptococcus faecalis
Streptococcus lactis
Vibrio succinogenes

New designation (Bergey, s Manual, 1984 and 1994)

Acetobacter pasteurianus
Acetobacter aceti var. *xylinum*
Gluconobacter oxidans
Enterobacter aerogenes
Fusobacterium ruminicoli
Eubacterium sp.
Peptococcus anaerobius
Thiobacillus ferrooxidans
Alcaligenes eutrophus
Paracoccus denitrificans
Acinetobacter calcoaceticus
Nitrosococcus oceanus
Propionibacterium acidi-propionici
Comamonas aeruginosa
Comamonas testosteroni
Sporosarcina leutus
Lactobacillus lactis subsp. *cremoris*
Enterococcus faecalis
Lactobacillus lactis subsp. *lactis*.
Molliella succinogenes

مقدمة

الحمد لله والصلاة والسلام على رسوله الكريم وبعد عملا بقول رسول الله ﷺ « إذا مات ابن آدم انقطع عمله إلا من ثلاث صدقة جارية أو علم ينتفع به أو ولد صالح يدعو له » لذا اقدمت على إصدار هذا المؤلف رغم ما فى الطريق من أشواك أكثر من الورود ومن نقد أكثر من الشكر ومن الألم أكثر من السعادة ولكن فى النهاية فإن الكمال لله وحده فالله أرجو أن يكون هذا خالصا لوجهه الكريم ولمصرنا الحبية راجيا رد جزءا من جميلها علينا . . وإلى أساتذتى الاجلاء أرجو أن يحوز قبولهم . . . ولتلاميذى وأولادى أرجو أن يكون ذكرى ينتفع بها . . . ولنفسى فى النهاية لعله يكون علما نافعا وشفيعا يوم الدين .

من المعروف أن علم الكائنات الدقيقة (الميكروبيولوجيا) من العلوم الديناميكية التى يأتى كل يوم بجديد فيه مما يجعل من الصعب ملاحقة التطورات المستمرة التى تحدث على فترات متقاربة فيه سواء من الناحية التقسيمية للميكروبات أو الفسيولوجية بما تتضمنه من عمليات التخليق الحيوى وتقنيات الحصول على الطاقة اللازمة للنمو وأهم من ذلك النواحي التطبيقية لهذا العلم والتى تتسع فى كثير من المجالات الصناعية والطبية والزراعية .

ومن هنا حاولت التوصل إلى نقطة توازن فى كتاب يضم بين دفتيه قدراً كبيراً من الأسس العلمية والتقنيات الحديثة التى تبحث فى أحد الأفرع الرئيسية لهذا الحقل وهو مجال التفاعلات الأيضية فى الخلية البكتيرية بدءاً من قوانين الديناميكا الحرارية التى تحكم علاقات الطاقة فى الأنظمة المختلفة ومروراً بالانزيمات الميكروبية ومرافقاتها ثم الدخول فى التحولات الأيضية فى مختلف المجاميع الميكروبية بداية من الميكروبات التى تستطيع تمثيل الضوء (الفوتوتروفية) ثم الميكروبات التى تستخدم بدائل الأكسجين كمستقبل نهائى للالكترونات (التنفس اللاهوائى) ثم الميكروبات التى تقوم بعملية التنفس الهوائى من كيموأوتوتروفية وهتيروتروفية ثم ميكروبات التخمر ومتضمنا تحولات الكربوهيدرات والدورات المختلفة للتمثيل الأيضى لها وتحولات الهيدروكربونات والبروتينات والأحماض العضوية والأمينية وذلك فى منظومة متناسقة ومنظمة لحد بعيد .

وأخيراً فإنني أهدى هذه الثمرة العلمية إلى المكتبة العربية التي تخلو تقريباً من مؤلف بلغة الضاد سواء قديم أو حديث في هذا الفرع من العلم (فسيولوجيا البكتريا) راجيا من الله حسن القبول والثواب . ولقد حرصت على كتابه المصطلحات العلمية واسماء المركبات الكيماوية باللغتين العربية والإنجليزية لتحقيق الفائدة لطلاب الكليات العلمية المختلفة .

كما أود أن أشكر كل من قدم لى العون والنصح والمساعدة من أساتذتى الاجلاء فى مراجعة المادة العلمية وظهور هذا المؤلف فى صورته النهائية وأخص بالذكر الأستاذة الفاضلة أ. د. راوية فتحى جمال والأخ العزيز أ. د. محمد على البرلسى بقسم الميكروبيولوجيا بكلية الزراعة جامعة عين شمس على ما بذلوه من جهد كبير فى المراجعة وسيظل جميلهما يطوق عنقى .

المؤلف

فهرس محتويات الكتاب

Subjects Index

الصفحة	الموضوع
	١ . الباب الاول : الديناميكا الحرارية للتفاعلات الحيوية
٣١	
٣٣	١ . ١ قوانين الديناميكا الحرارية
٣٦	٢ . ١ الطاقة الحرة
٣٧	٣ . ١ الديناميكا الحرارية للتفاعلات الحيوية
٤٠	٤ . ١ تفاعلات الأكسدة والاختزال
٤٢	٥ . ١ حفظ الطاقة وانطلاقها
٤٤	٦ . ١ الفسفرة المؤكسدة (بانتقال الالكترون)
٤٩	٧ . ١ الفسفرة عند مستوى مادة التفاعل
٥٣	أسئلة للمراجعة
٥٤	المراجع
	٢ . الباب الثاني : الانزيمات - المرافقات الانزيمية - القوى المحركة للنمو البكتيري
٥٥	
٥٧	١ . ٢ تعريف وخواص الانزيمات
٥٩	٢ . ٢ سرعة التفاعلات الانزيمية
٦٢	٣ . ٢ تقسيم الانزيمات
٦٤	٤ . ٢ المرافقات الانزيمية
٦٦	١ . ٤ . ٢ المرافقات الانزيمية الناقلة للايدروجين (نيوكليدات النيكوتين أميد - نيوكليدات الفلافين - الكينونات - حمض الليبويك - الجلوتاثيون - حامض الاسكوربيك)

الصفحة	الموضوع
٧٢	٢ . ٤ . ٢ المرافقات الانزيمية الناقله للالكترونات I - السيتوكروم II - الفيرودوكسين III - الفلافودوكسين
٧٧	٣ . ٤ . ٢ المرافقات الانزيمية الناقله للمجاميع I - الناقله للفوسفات II - الناقله لمجموعة ذات ذرة كربون واحده III - الناقله لمجموعة ذات ذرتين كربون IV - الناقله لمجاميع اخرى القوى المطورة للنمو البكتيرى
٨٦	٥ . ٢
٨٦	١ . ٥ . ٢ المزارع ذات الدفعه الواحده
٩٢	١ . ٥ . ٢ المزارع المستمره
٩٧	أسئله للمراجعه
٩٨	المراجع
٩٩	٣ - الباب الثالث : البكتريا الممثله للضوء والتحولت الايضية فى وجود الضوء
١٠١	١ . ٣ نبذة تاريخية عن التحولات الفوتوتروفية
١٠٢	٢ . ٣ تقسيم البكتريا الممثله للضوء
١٠٢	١ . ٢ . ٣ بكتريا الكبريت الخضراء
١٠٤	٢ . ٢ . ٣ بكتريا الكبريت الارجوانية
١٠٥	٣ . ٢ . ٣ البكتريا الارجوانية الغير كبريتية
١٠٧	٣ . ٣ الصبغات البكتيرية
١٠٧	١ . ٣ . ٣ الكلوروفيل البكتيرى
	١٢

١٠٨	الكاروتينات	٣ . ٢ . ٢
١٠٩	أماكن وجود الصبغات	٣ . ٢ . ٣
١٠٩	تنظيم وتخليق الصبغات وحواملها	٣ . ٣ . ٤
١١٠	أسس عملية الفسفرة الضوئية	٣ . ٤
١١٠	الفسفرة الضوئية الحلقية	٣ . ٤ . ١
١١١	الفسفرة الضوئية الغير حلقية	٣ . ٤ . ٢
١١٣	عملية التمثيل الضوئي تحت ظروف هوائية	٣ . ٥
١١٧	عملية التمثيل الضوئي تحت ظروف لاهوائية	٣ . ٦
١١٧	Chlorobacteriaceae فى بكتريا الكبريت الخضراء	٣ . ٦ . ١
١١٨	Thiorhodaceae فى بكتريا الكبريت الارجوانية	٣ . ٦ . ٢
١٢٠	Athiorhodaceae فى البكتريا الارجوانية الغير كبريتية	٣ . ٦ . ٣
	التحولات الايضية بواسطة البكتريا المثلثة للضوء	٣ . ٧
١٢١	Photometabolisms	
١٢٢	تحولات الايدروجين والكبريت غير العضوى	٣ . ٧ . ١
١٢٤	تحولات الاسيتات	٣ . ٧ . ٢
١٢٦	تحولات البيروفات	٣ . ٧ . ٣
١٢٦	تحولات الفورمات	٣ . ٧ . ٤
١٢٧	تحولات السكسينات	٣ . ٧ . ٥
١٣٠	تحولات الاسيتون والكحولات	٣ . ٧ . ٦
١٣٠	تحولات الميثان	٣ . ٧ . ٧
١٣١	تحولات المركبات الحلقية	٣ . ٧ . ٨
١٣٢	دورة حمض الستريك لاهوائيا وتثبيت ك أم اختزاليا	٣ . ٨
١٣٤	تثبيت النتروجين ضوئيا	٣ . ٩

الصفحة	الموضوع
١٣٥	٣ . ١٠ مستقبل الالكترون فى البكتريا الارجوانية
١٣٧	أسئلة للمراجعة
١٣٨	المراجع
١٤١	٤ . الباب الرابع : التنفس اللاهوائى
١٤٥	٤ . ١ البكتريا المختزلة للكبريتات أو Sulfate respiration
١٤٦	٤ . ١ . ١ اختزال الكبريتات باستخدام الايدروجين كمعطى للالكترون
١٥١	٤ . ١ . ٢ اختزال الثيوسلفات فى وجود الايدروجين
١٥٣	٤ . ١ . ٣ اختزال الكبريتات باستخدام المواد العضوية كمعطى للالكترونات
١٥٧	٤ . ٢ البكتريا المختزلة للنترات أو Nitrate respiration
١٥٩	٤ . ٢ . ١ اختزال النترات تحت الظروف الاتوتروفية
١٦٠	٤ . ٢ . ٢ اختزال النترات تحت الظروف الهيتروتروفية
١٦٥	٤ . ٣ ك أ هـ كمستقبل للالكترون أو Carbonate respiration
١٦٥	٤ . ٣ . ١ تكوين الميثان
١٦٩	٤ . ٣ . ٢ تكوين الاسيتات
١٦٩	٤ . ٣ . ٣ تكوين السكسينات من الفيومارات
١٧١	٤ . ٤ اختزال الحديدىك إلى الحديدوز
١٧٢	أسئلة للمراجعة
١٧٣	المراجع
١٧٥	٥ - الباب الخامس : تمثيل الكربوهيدرات
١٧٧	٥ . ١ تحولات الجلوكوز Glucose metabolism
١٧٧	٥ . ١ . ١ دورة التحلل الجليكولى EMP-pathway

الصفحة	الموضوع
١٨٥	Hexose monophosphate (HMP) Pathway or pentose shunt
١٩٣	Entner-Doudoroff (ED) دورة
١٩٩	Phosphoketolase (PK) دورة
٢٠٣	ميكانيكية انتقال الجلوكوز
٢٠٥	Fructose metabolism تحولات الفركتوز
٢٠٧	Lactose تحولات اللاكتوز
٢٠٩	Mannose تحولات المانوز
٢١٠	Allose تحولات الالوز
٢١٠	Gluconate تحولات الجلوكونات
٢١٣	Mannitol تحولات المانيتول
٢١٥	Sorbitol تحولات سوربيتول
٢١٧	Inositol تحولات الانوسيتول
٢١٩	Hexouronic acid تحولات الاحمض الهكسويورنية
٢٢٠	Pentose & Pentitol تحولات البنتوز والبنتيتول
٢٢١	Glycerol تحولات الجليسرول
٢٢٣	Glycol تحولات الجليكول
٢٢٤	أكسدة الكحولات الأولية ١ . ١٣ . ٥
٢٢٦	أكسدة الكحولات الثانوية ٢ . ١٣ . ٥
٢٢٧	2,3 Butanediol تحولات البيوتاندول ١٤ . ٥
٢٢٩	أسئلة للمراجعة
٢٣٠	المراجع

الصفحة	الموضوع
٢٣٣	٦ . الباب السادس : التنفس الهوائي
	Chemolithotrophic bacteria
٢٣٦	Nitroso-group بكتريا التأزت ١ . ٦
٢٤١	Nitro-group بكتريات التأزت ٢ . ٦
٢٤٥	Knallgas bacteria بكتريا الايدروجين ٣ . ٦
٢٤٩	Iron-oxidizing bact. بكتريا أكسدة الحديد ٤ . ٦
٢٥٦	Sulfer oxidizing bact. بكتريا أكسدة الكبريت ٥ . ٦
٢٦٦	الفرق بين الميكروبات الاوتوتروفية والهتيروتروفية ٦ . ٦
٢٦٨	تثبيت ك أم أوتوتروفيا من خلال دورة كالفن ٧ . ٦
٢٧٥	أسئلة للمراجعة
٢٧٦	المراجع
٢٧٩	٧ - الباب السابع : التنفس الهوائي
	Chemoorganotrophic bacteria
٢٨١	TCA دورة حمض الستريك ١ . ٧
٢٨١	تكوين اسيتيل كوانزيم A ١ . ١ . ٧
٢٨٤	TCA خطوات دورة ٢ . ١ . ٧
٢٩٠	DCA (Glyoxylate) دورة ٢ . ٧
٢٩١	تحولات الاحماض الكربوكسيلية ٣ . ٧
٢٩١	تحولات السترات ١ . ٣ . ٧
٢٩٢	تحولات المالات ٢ . ٣ . ٧
٢٩٣	تحولات الجليكولات ٣ . ٣ . ٧
٢٩٤	تحولات الطرطرات ٤ . ٣ . ٧
٢٩٦	تحولات الاوكسالات والفورمات ٥ . ٣ . ٧
٢٩٧	تحولات المألونات ٦ . ٣ . ٧
	١٦

الصفحة	الموضوع
٢٩٨	٧ . ٣ . ٧ تحولات الجلوتارات
٣٠٠	٨ . ٣ . ٧ تحولات البروبيونات
٣٠١	٩ . ٣ . ٧ تحولات اللاكتات
٣٠١	٤ . ٧ تنظيم تحولات الأحماض الكربوكسيلية
٣٠٥	٥ . ٧ تحولات الأحماض الأمينية
٣٠٦	١ . ٥ . ٧ تحولات حمض اليوريك والالتوين
٣٠٩	٢ . ٥ . ٧ تحولات الترتوفان
٣١٣	٣ . ٥ . ٧ تحولات الثيونين
٣١٥	٤ . ٥ . ٧ تحولات الليسين
٣١٧	٥ . ٥ . ٧ تحولات الهيدروكسي برولين
٣١٨	٦ . ٥ . ٧ تحولات الفالين
٣١٩	٧ . ٥ . ٧ تحولات الهستيدين
٣٢٠	٨ . ٥ . ٧ تحولات الارجينين
٣٢١	٦ . ٧ تحولات الايثانول
٣٢٣	أسئلة للمراجعة
٣٢٤	المراجع
٣٢٧	٨ . الباب الثامن : تحولات الهيدروكربونات Hydrocarbon metabolism
٣٢٩	١ . ٨ طرق أكسدة الأحماض الدهنية
٣٢٩	١ . ١ . ٨ α -oxidation الأوكسدة من النوع ألفا
٣٢٩	٢ . ١ . ٨ β -oxidation الأوكسدة من النوع بيتا
٣٣٠	٣ . ١ . ٨ ω -oxidation الأوكسدة من النوع أوميغا

الصفحة	الموضوع	
٣٣١	أكسدة الالكانات والالكينات	٢ . ٨
٣٣١	monoterminal الأكسدة من طرف واحد	١ . ٢ . ٨
٣٣٢	diterminal الأكسدة من الطرفين	٢ . ٢ . ٨
٣٣٣	أكسدة الميثان	٣ . ٢ . ٨
٣٣٦	أكسدة البروبان	٤ . ٢ . ٨
٣٣٦	n-Decane أكسدة الديكان	٥ . ٢ . ٨
٣٣٧	undecane أكسدة الغيرديكان	٦ . ٢ . ٨
٣٣٨	أكسدة الهيدروكربونات الحلقية	٣ . ٨
٣٣٨	الاعداد لكسر الحلقة	١ . ٣ . ٨
٣٤٠	كسر الحلقة	٢ . ٣ . ٨
	ortho cleavage (I)	
	Meta cleavage (II)	
٣٤٣	D-Mandelate تحولات	٣ . ٣ . ٨
٣٤٤	Naphthalene تحول النفتالين	٤ . ٣ . ٨
٣٤٥	Anthracene & phenanthrene تحول	٥ . ٣ . ٨
٣٤٦	تحول هيدروكسي بنزوات	٦ . ٣ . ٨
٣٤٧	3,4-xyleneol تحول الزيلينول	٧ . ٣ . ٨
٣٤٨	Gentisate تحولات	٨ . ٣ . ٨
٣٤٩	Anthranilic acid تحولات	٩ . ٣ . ٨
٣٥٠	Thymol تحولات	١٠ . ٣ . ٨
٣٥٠	P-xylene تحولات	١١ . ٣ . ٨
٣٥١	تحولات الهيدروكربونات الحلقية الهالوجينية	٤ . ٨
٣٥٣	تحولات الأحماض الكربوكسيلية الفينوكسي الكيلية	٥ . ٨
٣٥٤	تحول ٤ - كلوروفينوكسي اسيتات	١ . ٥ . ٨

الصفحة	الموضوع
٣٥٥	٢ . ٥ . ٨ تحول ٤ - كلورو - ٢ - ميثيل فينوكسي استيات
٣٥٧	٣ . ٥ . ٨ تحول ٤,٢ داي كلوروفينوكسي استيات
٣٥٨	٤ . ٥ . ٨ تحولات DDNU , DDMS , DDD , DDT
٣٥٩	٥ . ٥ . ٨ تحولات الريبوفلافين
٣٦١	٦ . ٥ . ٨ تحولات فيتامين B ₆ (Pyridoxine)
٣٦٣	٧ . ٥ . ٨ تحولات سلفونات التولوين
٣٦٤	٨ . ٥ . ٨ تحولات Pipecolate
٣٦٥	٩ . ٥ . ٨ تحول 2-furoic acid
٣٦٦	٦ . ٨ انزيمات Oxygenases
٣٦٨	أستلة للمراجعة
٣٦٩	المراجع
٣٧٣	٩ . الباب التاسع : التخمرات
٣٧٥	١ . ٩ مقدمة عامة
٣٧٨	٢ . ٩ تخمرات بكتريا حمض البروبيونيك Propionibacteria
٣٧٩	١ . ٢ . ٩ تكوين حمض البروبيونيك من الجلوكوز
٣٨٢	٢ . ٢ . ٩ تكوين حمض البروبيونيك من اللاكتات
٣٨٣	٣ . ٩ تخمرات بكتريا الكلوستريديم المحللة للسكريات Saccharolytic clostridia
٣٨٥	١ . ٣ . ٩ تكوين الاستيات
٣٩٠	٢ . ٣ . ٩ تكوين البيوتيرات
٣٩٢	٣ . ٣ . ٩ تكوين الاسيتون ، الايزوبروبانول ، البيوتال ، الايثانول
٣٩٤	٤ . ٣ . ٩ تكوين اللاكتات
٣٩٤	٥ . ٣ . ٩ تكوين البيوتريك من الايثانول والاستيات
٣٩٥	٦ . ٣ . ٩ تكوين السكسينات

الصفحة	الموضوع	
٣٩٨	Enterobacteriaceae تخمرات	٤ . ٩
٣٩٩	mixed acids الميكروبات المنتجة لخليط الأحماض	١ . ٤ . ٩
٤٠١	تكوين الاسيتالدهيد	١ . ١ . ٤ . ٩
٤٠٢	تكوين الايثانول	٢ . ١ . ٤ . ٩
٤٠٢	تكوين الاستيات	٣ . ١ . ٤ . ٩
٤٠٣	تكوين ك٣ ، يد٣ من الفورمات	٤ . ١ . ٤ . ٩
٤٠٤	تكوين السكسينات	٥ . ١ . ٤ . ٩
٤٠٥	تكوين اللاكتات	٦ . ١ . ٤ . ٩
٤٠٦	الميكروبات المنتجة للبيوتاندول	٢ . ٤ . ٩
٤٠٦	acetoin تكوين الاسيتوين	١ . ٢ . ٤ . ٩
٤٠٩	تكوين البيوتاندول من الاسيتوين	٢ . ٢ . ٤ . ٩
٤١٠	الميكروبات المنتجة للجليكول ثلاثى الميثيلين	٣ . ٤ . ٩
٤١٠	تنظيم تحولات الكربوهيدرات فى الميكروبات اللاهوائية (pasteur and crabtree effect)	٤ . ٤ . ٩
٤١٢	Lactobacillaceae تخمرات بكتريا حمض اللاكتيك	٥ . ٩
٤١٢	تخمير الجلوكوز بواسطة	١ . ٥ . ٩
٤١٣	Homofermentative lactobacteria	١ . ١ . ٥ . ٩
٤١٤	Heterofermentative lactobacteria	٢ . ١ . ٥ . ٩
٤١٦	تخمير الفركتوز	٢ . ٥ . ٩
٤١٧	تخمير المالات	٣ . ٥ . ٩
٤١٩	تخمير الطرطرات	٤ . ٥ . ٩
٤٢٠	N-streptococci تخمير اللاكتوز بواسطة	٥ . ٥ . ٩
٤٢١	Deoxyribose تخمير ديزوكسى ريبوز	٦ . ٥ . ٩
٤٢٢	تحول البيوتين	٧ . ٥ . ٩

الصفحة	الموضوع
٤٢٣	الفسفرة ونظام انتقال الالكترن في بكتريا حمض اللاكتيك
	تخميرات بكتريا الكلوستريديم المحلله للبروتينات
٤٢٧	Proteolytic clostridia
٤٢٨	تحويلات الأحماض الأمينية المفردة
٤٣٠	Arginine
٤٣٠	glycine
٤٣٢	serine
٤٣٢	threonine
٤٣٣	tryptophane
٤٣٤	Lysine
٤٣٥	ornithine
٤٣٧	تحويلات زوج من الاحماض الامينية
٤٤٠	تحويلات الاحماض الامينية مع أحماض كيتونية
٤٤٠	تحول الألانين
٤٤٢	تحويلات امينوبيوترات
٤٤٥	أسئلة للمراجعة
٤٤٧	المراجع

فهرس الصور والاشكال

Figures index

الصفحة	عنوانه	رقم الشكل
الباب الاول		
٤٢	التركيب الكيماوى للمركبات الفوسفاتية الغنية بالطاقة	١.١
٤٥	تفاعلات الأكسدة والاختزال فى السلسلة التنفسية	٢.١
٤٦	النظام العام لانتقال الالكترونات	٣.١
٤٦	الاحتمالات المختلفة لنظام انتقال الالكترون فى الكائنات الدقيقة	٤.١
٤٩	السلسلة التنفسية والفسفرة بانتقال الالكترون	٥.١
	تصور عام لنظام انتقال الالكترون فى البكتريا الهوائية ، والاختيارية واللاهوائية	٦.١
٥١		
الباب الثانى		
٥٩	العلاقة بين سرعة التفاعل الإنزيمى ومادة التفاعل	١.٢
	تقدير V_{max} (السرعة القصوى) ، K_m (ثابت ميخائيل) من lineweaver - Burk plot	٢.٢
٦٠		
٦٧	التركيب البنائى لمركبى NAD^+ ، $NADP^+$	٣.٢
٦٨	دور $NAD^+ / NADH.H^+$ فى التلامس الإنزيمى	٤.٢
٦٩	التركيب البنائى لمركب FAD	٥.٢
٧٢	التركيب البنائى لفيتامين K	٦.٢
٧٣	التركيب البنائى لسيتوكروم b	٧.٢
٧٩	توزيع الطاقة من ATP للتخليق الحيوى لمكونات الخلية	٨.٢
٨٠	ميكانيكية عمل المرافق الإنزيمى الميثونين	٩.٢
٨١	مركب تتراهيدروفوليك ومشتقاته	١٠.٢
٨١	دور البيوتين فى تفاعلات تثبيت ك أ _٢	١١.٢
٨٢	التركيب البنائى لمركب بيروفوسفات الثيمين TPP	١٢.٢
٨٣	كيفية أنطلاق ك أ _٢ وانتقال الأستالدهيد بملامسة (TPP)	١٣.٢
٨٤	التركيب البنائى للمركب كوانزيم A (CoA)	١٤.٢
	تكوين Schiff's base من مادة التفاعل والمرافق بيريدوكسال	١٥.٢
٨٥	فوسفات (PALP)	

الصفحة

٨٩	تقدير معدل النمو المتخصص (μ) من المنحنى القياسي	١٦.٢
	العلاقة بين معدل النمو المخصص للبكتريا (μ) وتركيز مادة	١٧.٢
٩٠	التفاعل (S) ومنه يمكن تحديد ثابت تشبع مادة التفاعل (K_s)	
٩١	تقدير K_s ، μ_m باستعمال lineweaver - Bruk plots	١٨.٢
الباب الثالث		
١٠٣	الشكل المورفولوجى (الظاهرى) لبكتريا الكبريت الخضراء	١.٣
	الشكل المورفولوجى لبكتريا الأرجوانية والبكتريا الأرجوانية	٢.٣
١٠٥	غير الكبريتية	
	الفرق بين الكلوروفيل a ، الكلوروفيل البكتري بأنواعه	٣.٣
١٠٨	(a, b, c, d, e)	
١١٠	الأنسياب الحلقى وعملية الفسفرة الحلقية فى النباتات	٤.٣
	اختزال $NADP^+$ فى بكتريا اختزال الكبريت بواسطة معطى	٥.٣
١١٢	أيدروجين خارجى	
	الفسفرة الغير حلقية وتكوين القوة المختزلة فى بكتريا الكبريت	٦.٣
١١٢	اللاهوائية	
١١٥	عملية التمثيل الضوئى تحت ظروف لاهوائية (z-scheme)	٧.٣
	نظام انتقال الألكترون عبر أغشية Thylakoid فى البكتريا	٨.٣
١١٦	الفوتوتروفية	
	ميكانيكية انتقال الالكترن فى عملية التمثيل الضوئى فى	٩.٣
١١٨	بكتريا الكبريت الخضراء	
	نظامى انتقال الالكترن (الحلقى والمفتوح) فى بكتريا الكبريت	١٠.٣
١٢٠	الأرجوانية	
	نظام أنسياب الالكترن المؤدى لاختزال NAD^+ بواسطة	١١.٣
١٢٢	الأيدروجين فى البكتريا الممثلة للضوء	
	نظام انتقال الالكترن للاختزال الضوئى للأيدروجين الناتج	١٢.٣
١٢٣	من الثيوسلفات	
	ميكانيكية تحول الأسيتات إلى البولى هيدروكسى بيوترات	١٣.٣
١٢٤	بواسطة <i>Rhodospirillum rubrum</i>	

الصفحة

١٢٨	<i>R. rubrum</i> التحولات الأيضية للسكسينات بواسطة	١٤.٣
	<i>R. rubrum</i> , <i>chromatium</i> التحولات الأيضية فى وجود بكتريا	١٥.٣
١٣٣	للأسيتات والأحماض ثنائية الكربوكسيل	
	ميكانيكية انتقال الإلكترون من المعطى إلى المستقبل وتكوين	١٦.٣
١٣٦	القوة المختزلة بواسطة البكتريا الأرجوائية	

الباب الرابع

	اختزال السلفات باستخدام الأيدروجين بواسطة	١.٤
١٤٧	<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	
١٥١	اختزال الثيوسلفات فى وجود الأيدروجين	٢.٤
	اختزال الثيوسلفات فى وجود lipoamide بواسطة	٣.٤
١٥٢	<i>Thiobacillus denitrificans</i>	
١٥٢	كيفية اختزال الثيوسلفات لاهوائياً بمصاحبة إنزيم <i>rhodanese</i>	٤.٤
	اختزال الكبريتات باستخدام المواد العضوية كمعطى للإلكترون	٥.٤
١٥٣	(تحويلات اللاكتات والبيروفات)	
	ميكانيكية تحول اللاكتات واختزال السلفات بواسطة بكتريا	٦.٤
١٥٥	اختزال الكبريتات	
	سلسلة انتقال الإلكترون فى التنفس الهوائى واللاهوائى	٧.٤
	(النيتراى) بواسطة ميكروبي <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
١٦١	<i>Micrococcus denitrificans</i> ،	
١٦٧	المرافقات الإنزيمية prosthetic group فى بكتريا الميثان	٨.٤
١٧٠	تكوين الفيومارات من السكسينات بواسطة Fumarate reductase	٩.٤

الباب الخامس

١٧٨	دورة التحول الجليكولى (EMP - pathway)	١.٥
١٨٦	دورة السكريات السداسية أحادية الفوسفات (HMP - cycle)	٢.٥
١٩٤	دورة Entner - Doudorof (ED - pathway)	٣.٥
١٩٨	الخل بين الدورات الرئيسية الثلاث EMP ، HMP ، ED	٤.٥
٢٠٠	دورة phosphoketolase (PK)	٥.٥
٢٠٢	دورة PK فى <i>Acetobacter xylinum</i>	٦.٥

الصفحة

٢٠٤	تقنيات انتقال الجلوكوز الأربع خلال الغشاء	٧.٥
٢٠٦	الطرق المختلفة لتحويلات الفركتوز الأيضية	٨.٥
٢٠٧	تحويلات اللاكتوز في Streptococci	٩.٥
٢٠٩	تحويلات الماتوز في <i>Aerobacter aerogenes</i>	١٠.٥
٢١١	تحويلات الجلوكوز والجلوكونات في بكتريا حمض الخليك	١١.٥
٢١٧	تحويلات myoinositol	١٢.٥
٢١٩	تحويلات الأحماض الهكسويورنيه	١٣.٥
٢٢٠	تصور عام لتحويلات الببتوز ، الببتيتول	١٤.٥
٢٢٨	تحويلات ٣,٢ بيوتاندول بواسطة <i>Aerobacter</i>	١٥.٥

الباب السادس

٢٣٩	المركبات الوسطية في أكسدة الأمونيا بواسطة <i>Nitrosomonas sp.</i>	١.٦
٢٤٠	انتقال الالكترولون العكسى في <i>Nitrosomonas sp.</i>	٢.٦
٢٤٢	نظام انتقال الالكترولون العكسى في <i>Nitrobacter sp.</i>	٣.٦
٢٤٤	سلسلة انتقال الالكترولون في <i>N. winogradskyi</i>	٤.٦
	نظام انتقال الالكترولونات في <i>Hydrogenomonas eutropha</i>	٥.٦
٢٤٧	النامية تحت ظروف اتوتروفية	
٢٥١	أكسدة الحديدوز بواسطة <i>Ferrobacillus Ferrooxidans</i>	٦.٦
	النمو الاتوتروفى والنمو الهيتروتروفى والتحويلات الأيضية في	٧.٦
٢٥٤	<i>Thiobacillus ferroxidans</i>	
٢٥٨	انتقال وأكسدة مركبات الكبريت بواسطة Thiobacilli	٨.٦
٢٥٩	ميكانيكية أكسدة مركبات الكبريت وتكوين الطاقة	٩.٦
٢٦٠	الدورة الحلقية لأكسدة الثيوسلفات	١٠.٦
٢٦١	تفاعلات أكسدة واختزال المركبات الكبريتية في الطبيعة	١١.٦
٢٦٣	نظام انتقال الالكترولونات في Thiobacilli	١٢.٦
	تحويلات الأسيتات بواسطة الميكروب الاتوتروفى الحتمى	١٣.٦
٢٦٤	<i>Thiob. neapolitanus</i>	
٢٦٨	تصور عام لدورة كالفن (الريبولوزيبوفوسفات)	١٤.٦
٢٧٣	دورة تثبيت ك أم المضاعفة في <i>Chromatium</i>	١٥.٦

انصفحة

الباب السابع

٢٨٥	دورة حمض الستريك (TCA) ، تفرعة glyoxylate في التنفس الهوائي	١.٧
٢٩٣	تكوين أوكسوجلوكونات بواسطة <i>Acetomonas suboxydans</i>	٢.٧
٢٩٥	تحويلات الطرطرات بواسطة <i>Ps. putido</i>	٣.٧
٢٩٦	تحويلات الأوكسالات والفورمات بواسطة <i>Ps. oxalaticas</i>	٤.٧
٢٩٨	تحول المالونات في <i>Ps. fluorescens</i>	٥.٧
٣٠٠	تحول البروبيونات في <i>E. coli</i>	٦.٧
٣٠٢	التفاعلات الأيضية التي تمد الخلية بالطاقة والكربون أثناء النمو على الأسيتات	٧.٧
٣٠٥	كيفية الحصول على مركبات C_4 (المالات ، الاكسال استيات) من المركبات C_3 (البيروفات ، فوسفو إينول بيروفات)	٨.٧
٣٠٨	تحويلات حمض البوريك والالنتوين	٩.٧
٣٠٩	تحويلات الترتوفان بواسطة pseudomanads	١٠.٧
٣١٢	تحويلات الترتوفان بواسطة المجموعة الرابعة ويمثلها <i>Ps. aerugenosa</i>	١١.٧
٣١٦	تحويلات الليسين بواسطة <i>Ps. putida</i>	١٢.٧
٣١٨	تحويلات الفالين بواسطة <i>Ps. aerugenesa</i>	١٣.٧
٣٢٠	تحويلات الهستيدين الهوائية	١٤.٧

الباب الثامن

٣٣٤	دورة الريبولوز مونو فوسفات لتثبيت الفورمالدهيد	١.٨
٣٣٥	تمثيل المركبات C_1 عبر دورة السيرين	٢.٨
٣٣٧	أكسدة n.Decane بواسطة الميكروبات	٣.٨
٣٣٨	أكسدة المركبات undecane	٤.٨
٣٣٩	طرق هدم المركبات الأروماتية المؤدى إلى Catechol	٥.٨
٣٣٩	طرق هدم المركبات الأروماتية المؤدى إلى protocatechuate	٦.٨

الصفحة

	كسر الحلقة بطريقة ortho cleavage وتحولات	٧.٨
٣٤١	oxoadipate pathway	
٣٤٢	كسر الحلقة بطريقة meta - cleavage	٨.٨
	تحولات D - mandelate كنموذج لكسر حلقة البنزين	٩.٨
٣٤٣	بطريقة ortho - cleavage	
٣٤٤	أكسدة النفثالين بواسطة Pseudomonads	١٠.٨
٣٤٥	تحولات anthracene ، phenanthrene	١١.٨
٣٤٦	تحولات هيدروكسي بنزوات في <i>Ps. putida</i>	١٢.٨
٣٤٧	تحولات ٢, ٤ الزيلينول بواسطة Pseudomonads	١٣.٨
٣٤٨	تحولات Gentisate بواسطة Pseudomonads	١٤.٨
٣٤٩	تحولات anthranilic بواسطة <i>Nocordia</i>	١٥.٨
٣٥٠	تحولات الثيمول بواسطة <i>Ps. putida</i>	١٦.٨
٣٥١	تحولات P-xylene	١٧.٨
٣٥٢	تحولات P - فلوروبنزوات بواسطة Pseudomonads	١٨.٨
	تصور عام للأكسدة الأولية للأحماض الكربوكسيلية الفينوكسي	١٩.٨
٣٥٤	الكيلية	
٣٥٥	تحولات ٤ - كلوروفينوكسي أسيتات	٢٠.٨
	تحولات مبيد العشب الهرموني ٢- كلورو - ٢ - مثيل	٢١.٨
٣٥٦	فينوكسي أسيتات	
٣٥٧	تحول ٢, ٤ داي كلوروفينوكسي أسيتات	٢٢.٨
٣٥٨	تحولات DDNU ، DDMS ، DDD ، DDT	٢٣.٨
٣٦٠	تحول الريبوفلافين بواسطة <i>Pseudomonas RF</i>	٢٤.٨
٣٦١	تحولات فيتامين B ₆ (Pyridoxine)	٢٥.٨
٣٦٤	تحولات التولوين سلفونات	٢٦.٨
٣٦٥	تحولات L - pipecolate بواسطة <i>Ps. putida</i>	٢٧.٨
٣٦٦	تحولات حمض 2 - furoic	٢٨.٨

الباب التاسع

	ملخص التفاعلات والنواتج لأهم العمليات التخمرية	١.٩
٣٧٦	والميكروبات التي تقوم بها	
٣٨١	طريق ميشيل مالونيل كوانزيم A لتكوين البريونات	٢.٩
	تكوين حمض البروبيونيك باستخدام اللاكتات كمصدر	٣.٩
٣٨٢	للكربون	
	تكوين الأسيتات ، الأسيتون ، البيوترات ، البيوتانول ،	٤.٩
٣٨٤	الإيثانول بواسطة Saccharolytic clostridia	
٣٨٦	عملية نزع ك أ هـ من البيروفات من النوع Clostridial type	٥.٩
٣٨٧	التحول المباشر لـ ك أ هـ إلى الأسيتات	a ٥.٩
	التحول الغير مباشر لـ ك أ هـ إلى الأسيتات	٦.٩
٣٨٩	بواسطة Clostridia	
	تكوين حمض البيوتريك من أسيتيل كوانزيم A	٧.٩
٣٩١	بواسطة Clostridia	
	تكوين البيوترات أثناء تخمر الإيثانول والأسيتات	٨.٩
٣٩٤	بواسطة <i>Cl. kluyveri</i>	
٣٩٦	تكوين السكسينات من البيروفات بواسطة <i>Cl. kluyveri</i>	٩.٩
	تكوين السكسينات من البيروفات بواسطة Enterobacteraceae	١٠.٩
٤٠٤	مستعملاً دورة TCA العكسية	
٤٠٧	التصورات الثلاث لتكوين الأسيتون من البيروفات	١١.٩
٤١٤	تكوين اللاكتات من الجلوكوز بواسطة Homofermentation	١٢.٩
٤١٥	التخمر بواسطة Heterofermentative lactobacilli	١٣.٩
٤١٧	تحولات الفركتوز بواسطة بكتريا حمض اللاكتيك	١٤.٩
٤٣١	تحولات الجليسين بواسطة proteolytic clostridia	١٥.٩

الصفحة

٤٣٣	تصور عام لتفاعلات الثريونين	١٦.٩
٤٣٥	تحويلات الليسين بواسطة <i>Cl. sticklandii</i>	١٧.٩
٤٣٦	تحويلات الاورنيثين فى <i>Cl. sticklandii</i>	١٨.٩
٤٣٦	تحويلات الاورنيثين بواسطة <i>Cl. botulinum</i>	١٩.٩
	تفاعلات نزع وانتقال مجموعة الامينو de - and transamination	٢٠.٩
٤٣٨	فى الميكروبات اللاهوائية	
٤٣٩	تفاعل Stickland والإنزيمات الرئيسية الثلاث المشاركة فيه	٢١.٩
٤٤٢	تحويلات الآتين بواسطة <i>Cl. propionicum</i>	٢٢.٩

فهرس الجداول

الصفحة	عنوانه	رقم الجدول
٤٧	جهد الأكسدة والاختزال وأمثلة لبعض معطيات ومستقبلات وناقلات الألكترون	١-١
٦٥	المرافقات الإنزيمية والمجاميع التي تنقلها	١-٢
١٠٦	مقارنة بين العائلات الرئيسية للبكتريا الممثلة للضوء	١-٣
١٩٧	تقدير نسب الدورات الأيضية الرئيسية الثلاث (EMP ، HMP ، ED) فى بعض الميكروبات	١-٥
٣٨٣	حصر ميكروبات Clostridia طبقاً لخواص التخمر من مواد داخلية ونواتج نهائية	١-٩
٣٩٩	التركيب الكمي والنوعي للنواتج المكونة بواسطة المجموعة المنتجة لخليط الأحماض والمجموعة المنتجة للبيوتاندول فى Enterobacteriaceae	٢-٩
٤١٣	تقسيم بكتريا حمض اللاكتيك حسب نوع التخمر	٣-٩

الباب الأول
الديناميكا الحرارية للتفاعلات الحيوية

Thermodynamics of Bioreactions

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الباب الأول

الديناميكا الحرارية للتفاعلات الحيوية

Thermodynamics of Bioreactions

١-١ قوانين الديناميكية الحرارية :

تحتاج الميكروبات لتخليق معظم المكونات الكيماوية فى الخلية إلى مصدر طاقة تحت الظروف الطبيعية (بيئة غذائية مناسبة وحموضة متعادلة ودرجة حرارة منخفضة نسبيا) . وعادة فإن تفاعلات الهدم تكون منتجة للطاقة exergonic ($-\Delta F$) بينما تفاعلات التخليق والبناء تكون مستهلكة للطاقة endergonic ($+\Delta F$) . ولذا لتخليق أى مكونات جديدة بالخلية فإن التفاعلات الكيماوية الداخلة لابد أن ترتبط أو تتلازم مع تفاعلات منتجة للطاقة . ولدراسة تفاعلات انتاج الطاقة وانتقالها فإنها تعتمد على الديناميكا الحرارية حيث انها الجزء الاساسى والمحدد فى الفيزياء المتعلقة بكتلة المادة ليس من ناحية خواص الجزيئ أو الذرة ولكن من ناحية خواص المادة مثل الحجم والضغط والحرارة والكثافة .

القانون الاول للديناميكية الحرارية :

« الكمية الكلية للطاقة فى الطبيعة ثابتة » .

ومن المعروف أن معظم صور الطاقة تكون فى صورة حرارة وجميع العمليات الكيماوية أو الفيزيائية إما تستهلك أو تنتج حرارة من أو إلى الوسط المحيط بها . فالعملية المصحوبة بإنتاج حرارة تسمى exothermic والعملية المصحوبة بامتصاص حرارة تسمى endothermic وعندما تكون العملية حيوية داخل الخلايا الحية تستخدم اصطلاحى endergonic & exergonic للتفاعلات المنتجة أو المستهلكة للطاقة على الترتيب .

وأيضاً من المعروف أن انتقال الحرارة أو الطاقة يكون نتيجة اختلاف الحرارة بين الأجسام حيث تنساب من الدافئة إلى الباردة .

فإذا أخذنا نظاماً معزولاً ذو محتوى طاقة معين وإعطيناه الرمز q للحرارة فإن الحرارة

المضافة للنظام لا بد أن تظهر « كتغير في الطاقة الداخلة ΔE » للنظام أو في كمية الشغل الكلى w الحادث بواسطة النظام في الوسط المحيط به أي أن :

$$q = \Delta E + w \text{ or } \Delta E = q - w$$

والقيمة المطلقة لـ "E" والتي تسمى بالطاقة الداخلة لا يمكن تقديرها ولكن الذى يعيننا هو التغير فى E حيث أن ΔE لا تعتمد على الوسيلة أو الطريقة pathway الحادث بواسطة التغير بينما q ، w تعتمد تماما على pathway .

وفى كثير من الأحوال فإن اضافة الطاقة كحرارة للنظام يؤدي إلى تغير فى الحجم بينما الضغط ثابت (الهواء الجوى) فتأخذ المعادلة الشكل التالى .

$$\Delta E = q - p \Delta v - w$$

حيث p = الضغط الثابت

Δv = التغير فى الحجم

w = هى الشغل المتغير

وحيث أن $P\Delta v$ تقترب من الشغل المفيد للعمل فلقد وجد من الانسب أن ترتبط بـ ΔE كالتالى :

$$\Delta E + P\Delta v = q - w$$

وبما أن التفاعلات الحيوية تتم عند ضغط ثابت (الهواء الجوى) ولكن ليس عند حجم ثابت فإن التغير فى الطاقة $\Delta E + P\Delta v$ يمكن استبداله بالمصطلح ΔH أو ما يسمى enthalpy change أى التغير فى المحتوى الحرارى .

$$\Delta H = q - w = \Delta E + P\Delta v \quad (1)$$

وعند ثبات الضغط فإن ΔH تمثل الطاقة أو الحرارة المدمصة فى التفاعل أما عند ثبات الضغط وأيضا ثبات الحجم فإن ذلك يعنى عدم وجود شغل وعندئذ .

$$\Delta H = \Delta E$$

ويمكن تقدير enthalpy change (ΔH) للتفاعل بسهولة بواسطة جهاز

قياس الكالورى Calormetry ويأخذ الحرارة T فى الاعتبار تبعاً لمعادلة الغازات

$$Pv = n RT \quad \text{العامّة}$$

حيث n تمثل عدد المولات

$$R = \text{ثابت الغازات (١,٩٨٧ كالورى / مول / درجة)}$$

$$T = \text{درجة الحرارة المطلقة (صفر } ^\circ\text{م} + ٢٧٣)}$$

وبالتالى تأخذ المعادلة (١) الشكل التالى :

$$\Delta H = \Delta E + n RT$$

ولقد أمكن تقدير المولر من enthalpy كالتالى $\Delta H = - 673.000 \text{ cal / mole}$

حيث الكالورى هو كمية الطاقة اللازمة لرفع حرارة ١ جرام ماء من ١٤,٥ م إلى ١٥,٥ م والعلامة السالبة (-) تدل على أنه تفاعل منتج للطاقة exergonic .

وهذه الحرارة تنتج بسبب احتواء جزئى المادة العضوية المعقدة على كمية طاقة ضخمة وعند تحليلها إلى مركبات ثابتة أبسط مثل ك أم ، يدب أ ذات محتوى طاقة أقل بكثير فإن الحرارة (الطاقة) تنطلق .

ويلاحظ أنه فى الأنظمة الحيوية فإن الحرارة ليست الطريقة المثلى لانتقال الطاقة لان المكونات المختلفة للخلية الحية اساسا isothermal وإذا لم يكن هناك فرق جهد حرارى فإن الحرارة لا يمكن تحويلها إلى شغل تحت أى ظرف ولهذا فإن القانون الأول لا يمكنه شرح أو تفسير انتقال الطاقة التلقائى spontaneous transformation بالكامل .

القانون الثانى للديناميكية الحرارية :

« الكمية الكلية للطاقة الكامنة entropy فى الطبيعة تزداد » .

فى أغلب التفاعلات الكيمياوية فإن الطاقة الكيمياوية تتحول إلى طاقة حرارية thermal energy والتي تتكون بدورها من :

- عامل الكثافة intensity factor

- عامل السعة capacity factor

وهذا العامل يمكن وصفه q / T وبما أن الحرارة تناسب من الأجسام الساخنة إلى

الأجسام الباردة فإن المعادلة التالية يمكن تطبيقها على أى انتقال حرارى .

$$(q/T)_{\text{system}} + (q/T)_{\text{surrounding}} = \text{positive value}$$

$$\therefore \sum (q/T) > 0$$

ويمكن تمثيل entropy بالرمز S ويقاس بالكالورى / مول وعند أى حرارة معطاة فإن الجوامد تكون ذات طاقة كامنة منخفضة نسبياً بينما السوائل متوسط اما الغازات فعالية جدا .

والطاقة الكامنة entropy (S) هي جزء من المحتوى الحرارى enthalpy (H) والذى يحتمل عدم استعماله فى تجهيز الشغل المفيد والنتائج T x S حيث T هي الحرارة المطلقة تمثل الطاقة المفقودة فى تكوين الحركة العشوائية للجزيئ Raudam meleclar motions ولذا فإن القانون الثانى للديناميكية الحرارية يحدد الطاقة الكامنة entropy كحالة عشوائية للطاقة والغير ميسرة لعمل شغل .

القانون الثالث للديناميكية الحرارية :

« الطاقة الكامنة entropy فى كل المواد النقية عند الصفر المطلق هو صفر »
فإذا كان النظام متعادلا فإن

$$q = T \Delta S$$

وإذا لم يكن متعادلا

$$T \Delta S > q$$

وبالتعويض فى معادلة القانون الأول (1) عند التعادل فإن :

$$\Delta H = T \Delta S - w \quad (2)$$

وفى التفاعلات الحيوية فإن

$$\Delta H < T \Delta S - w$$

٢٠١ الطاقة الحرة :

وتمثل مكونات الطاقة الكلية للنظام القادرة على عمل شغل تحت ظروف isothermal

وهذا يعنى اعتمادة على حالة النظام وليس على الأسلوب pathway فعندما يحدث تغير فى الحالة (كما هو الوضع فى معظم التفاعلات الكيماوية) فإنه يلاحظ تغير فى الطاقة الحرة يسمى ΔF والطاقة الحرة عندئذ هى طاقة مفيدة useful energy بينما الطاقة الكامنة entropy هى طاقة هدم degraded energy .

عموما فإن ΔF هى الطاقة الميسرة للاستخدام المصاحب للشغل .

$$\therefore \Delta F = - w$$

فمثلا إذا تغير النظام من حالة لآخرى عند نفس درجة الحرارة فإن التغير فى الطاقة الحرة المصاحبة لهذا التغير يكون (بالتعويض فى معادلة 2) .

$$\Delta F = \Delta H - T \Delta S \quad (3)$$

وعند التعادل فإن التغير فى الطاقة الحرة يكون صفرا

$$\Delta F = 0$$

$$\therefore \Delta H = T \Delta S$$

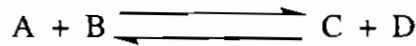
٣٠١ الديناميكا الحرارية للتفاعلات الحيوية :

عادة التفاعلات الكيماوية منتجة للطاقة exothermic إلا أن الحرارة المشاركة خلال العمليات المنتجة للطاقة لا تتطابق مع التغير فى الطاقة الحرة .

وفى التفاعلات الكيماوية التقليدية يمكن قياس ΔH فقط بينما تقدير الطاقة الحرة أو التغير فيها ΔF يعتمد على كفاءه القياس للقوى الكهربائية المحركة electromotive forces

أو ثابت التعادل "K" للتفاعل العكسى

فمثلا التفاعل



فإن الثابت k يمكن حسابه كالتالى

$$K = \frac{[C] \times [D]}{[A] \times [B]}$$

ومن ثمّ يمكن حساب المعادلة

$$\Delta F^{\circ} = - RT \ln K \quad (4)$$

حيث :

$$\Delta F^{\circ} = \text{التغير في الطاقة الحرة تحت ظروف قياسية}$$

$$R = \text{ثابت الغازات}$$

$$T = \text{الحرارة المطلقة}$$

$$\ln K = \text{اللوغاريتم الطبيعي لثابت التفاعل}$$

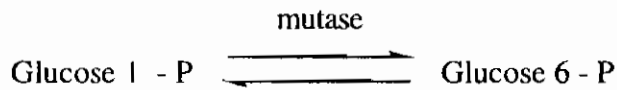
وهذا التغير القياسي في الطاقة ΔF° ثابت لأي تفاعل معطى ويجب عدم الخلط بينه وبين التغير في الطاقة الحرة في الظروف العادية ΔF حيث يمكن استخدام المعادلة التالية لحسابهما .

$$\Delta F = \Delta F^{\circ} + RT \ln \frac{[C] \times [D]}{[A] \times [B]}$$

ولان معظم التفاعلات الحيوية تتم عند الاس الايدروجيني (pH) المتعاد فإن الرمز ΔF° يستعمل للدلالة على التغير القياسي في الطاقة الحرة عند 7 pH .

مثال :

لحساب ثابت التفاعل والتغير في الطاقة الحرة للتفاعل



$$K = \frac{\text{Glucose 6 - P}}{\text{Glucose 1 - P}} = \frac{0.019}{0.001} = 19$$

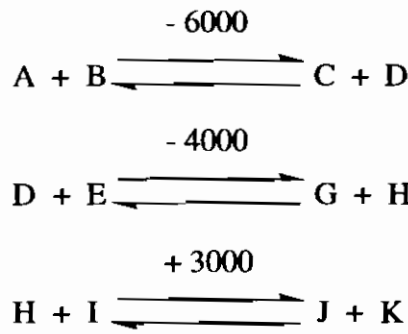
ويكون التغير القياسي في الطاقة الحرة عند حرارة ٢٥ م ، 7 pH هو

$$\begin{aligned}\Delta F^0 &= - RT \ln K \\ &= - 1.987 \times 298 \times \ln 19 \\ &= - 1745 \text{ cal / mole}\end{aligned}$$

ويعنى آخر فإن هناك نقص فى الطاقة الحرة حوالى ١٧٤٥ كالورى عند تحويل واحد مول جلوكوز ١ - فوسفات إلى واحد مول جلوكوز ٦ - فوسفات عند ٢٥ م ، 7 pH .

وسلسلة التفاعلات الكيمياوية فى الخلايا الحية تسمى التفاعلات الايضية metabolic pathways ولهذا يجب حساب السلسلة (التعاقب) ككل .

مثال :



فيكون التغير فى الطاقة الحرة ΔF كالتالى :

$$\Delta F = - 6000 - 4000 + 3000 = - 7000 \text{ cal / male of (A)}$$

والطاقة الناتجة من مثل هذه التفاعلات المتعاقبة اما تستعمل مباشرة فى تفاعلات مستهلكة للطاقة enderganic أو تخزن لتكوين مركبات غنية بالطاقة (ليس كحرارة ولكن كطاقة كيمياوية) وتوجد عدة أنواع من هذه المركبات فى الكائنات الدقيقة مثل :

أ (مشتقات حمض الفوسفوريك مثل ATP ، UTP ، acyl phosphates .

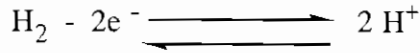
ب (مشتقات الاحماض الكربوكسيلية مثل استيل كوانزيم Acetyl Coenzyme A .

واهمهم جميعا مركب ATP (adenosine triphosphate) حيث ينقل الطاقة الكيمياوية الناتجة من تفاعلات الاكسدة إلى العمليات أو التفاعلات التى تحتاج للطاقة داخل الخلية .

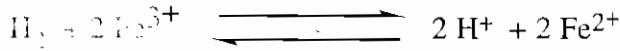
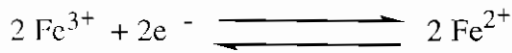
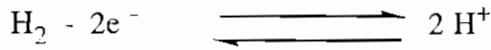


٤.١ تفاعلات الأكسدة والاختزال :

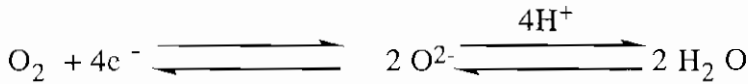
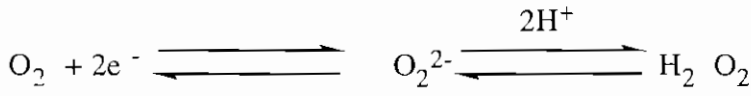
التفاعلات المنتجة للطاقة عادة هي تفاعلات أكسدة oxidation وتعرف الأكسدة عموماً بأنها فقد الإلكترون بينما الاختزال هو اكتساب الإلكترون ولذا يعبر عن أكسده جزئ الأيدروجين كالتالي :



ولابد أن يستقبل الإلكترون بواسطة عامل مؤكسد oxidizing agent كالمثال التالي :



وجزئ الأكسجين يمكن أن يعمل كعامل مؤكسد بنفس الطريقة السابقة حيث يكتسب اما اثنين أو اربعة إلكترونات .



$$\Delta F = - 57 \text{ kcal / mole H}_2\text{O}$$

وحيث انه لابد من وجود تيار كهربى لنقل الإلكترون ما بين معطى لإلكترون وقرينة مستقبل الإلكترون فإن يمكن قياس فرق الجهد الكهربى كميما الذى يعرف بجهد الأكسدة والاختزال redox potential وبالتالي حساب كمية الطاقة الحرة .

ويحسب فرق الجهد E_{11} بين العنصر وايونه طبقا لمعادلة ارنت Nernst كالتالى .

$$E_h = E_o + \frac{RT}{nF} \ln \frac{(A_{ox})}{(A_{red})}$$

$$\therefore \Delta E = \left(\frac{RT}{nF} \right) \ln K \quad \text{or} \quad nF \Delta E = RT \ln K \quad \dots\dots\dots (5)$$

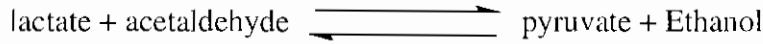
وعندما يكون نشاط الاكسده مماثل لنشاط الاختزال فإن المعادلة تصبح :

$$E_h = E_o$$

وقد يستخدم الرمز E_{m7} ليعبر عن فرق الجهد القياسى (E_o) عند اختزال 50% من الوسط وعند pH 7.0 (أى عند نقطة الوسط midpoint).

مثال :

لحساب الطاقة الحرة القياسية (ΔF^o) فى تفاعلات الاكسده والاختزال البيولوجية للتفاعل .



وذلك عند pH 7.0 علما بأن E_m لنظام لالكتات / بيروفات هى 0.19 V - ولنظام اسيتالدهيد / ايثانول هى 0.20V -

$$\therefore \Delta E_{m7} = - 0.20 - (- 0.19) = - 0.01V$$

ومن التعويض فى معادلتى (4) , (5) يكون

$$\Delta F^o = - nF \Delta E_m \quad \dots\dots\dots (6)$$

حيث $n =$ عدد الالكترونات $= 2$

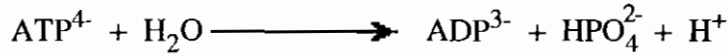
$F =$ ثابت فارادى $96.500C$

$\Delta E_m =$ الفرق بين قيم E_m للنظامين

$$\begin{aligned} \Delta F^o &= - 2 \times - 0.01 \times \frac{96.500}{418} \\ &= 461.72 \text{ cal} \end{aligned}$$

5.1 حفظ الطاقة وانطلاقها : Energy storage and release

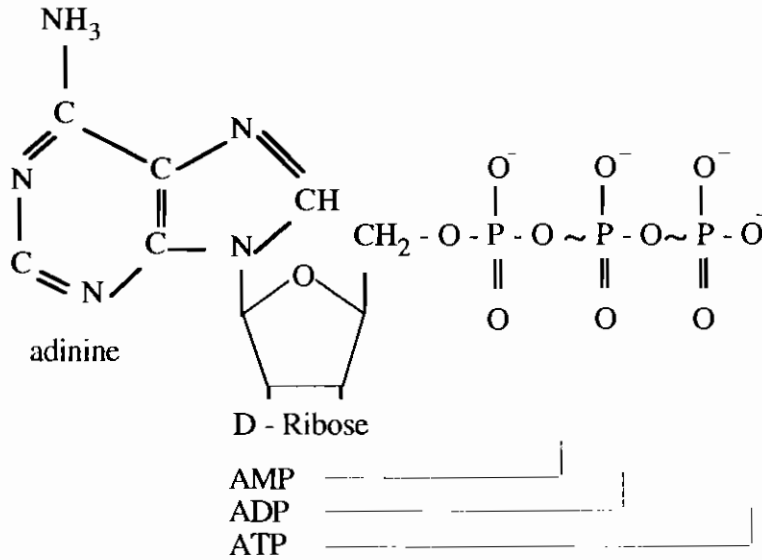
يوجد نظام لتحويل الطاقة الناتجة من تفاعلات الأكسدة داخل الخلايا الحية لتستخدم في التفاعلات المستهلكة للطاقة وذلك بتكوين مركبات فوسفاتية خاصة لتخزين الطاقة والتي يمكن استعادته بتحويل ATP إلى ADP أو ما يسمى acceptor - (P) وقد عرفت كيفية هذا التفاعل بالكامل حيث لوحظ عند عزل ATP لأول مرة من العضلات حدوث تفاعل تحلل مائي انزيمى مع تكوين ADP وفوسفات معدنى .



مع انطلاق كمية طاقة (حرارة) محسوسة وقد قدرت عند pH 7.0 ودرجة حرارة ٢٥ م كالتالى :

$$\Delta F^0 = - 7000 \text{ cal / mole}$$

وهذه الكمية من الطاقة (7000 cale) لا تمثل الطاقة الحرة الحقيقية المنطلقة أثناء تحلل ATP لأن ADP ، لا توجد فى الخلايا فى تراكيز متعادلة كما أنهما يكونا مع Mg^{++} مركبات معقدة مما يؤدي إلى اختلال التوازن فى المعادلة السابقة ولقد افترح hehninger سنة ١٩٦٥ انها تصل إلى ١٢٠٠ كالورى / مول .



شكل ١-١ : التركيب الكيميائى للمركبات الفوسفاتية الغنية بالطاقة

والطاقة الحرة الناتجة من التحليل المائى لـ ATP اعلى بكثير من الناتجة من تحلل الاسترات البسيطة أو الجليكوسيدات وهذا احد الأسباب التى دعت إلى تسمية ATP بالمركب الفوسفات الغنى بالطاقة حيث يتميز بخاصتين اساسيتين :

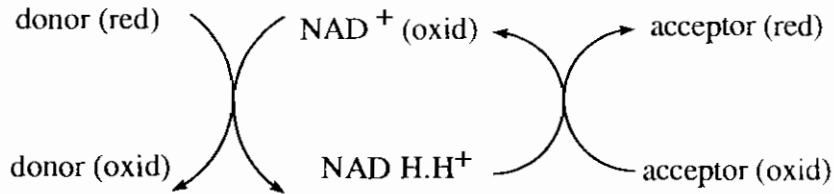
أولاً: البناء الكيماوى يحتوى على ٣ انواع من الهياكل البنائية هى الحلقة الارومانية المعروفة بالادينين مرتبطة برابط جليكوزيديه مع سكر الريبوز الخماسى الذى يرتبط به مجاميع الفوسفات المرتبطة ببعضها بروابط استرته .

وعند pH 7.0 فإن بناء البولى فوسفات الخطى (المستقيم) للمركب ATP يتأين بالكامل معطياً ATP ذو اربع شحنات سالبة فإذا تحللت مجموعة الفوسفات الطرفية فإن الكهروستاتيكية بين المجاميع تتفكك وتتوزع جزئياً على ADP^{3-} ، ايون الفوسفات PO_4^{2-} .

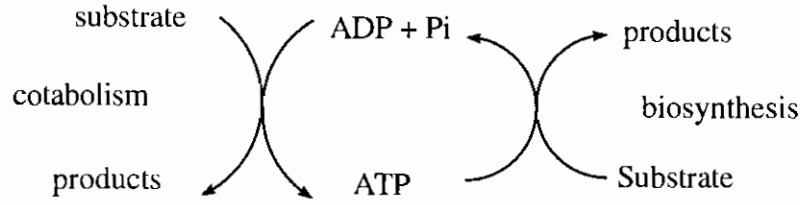
ثانياً: نواتج التحليل $HPO_4^{2-} + ADP$ ثابتة والوضع الجديد لالكترونات ADP يتكيف بسرعة عند كسر الرابطة بطريقة لا تحتاج إلى طاقة كبيرة . وعند كسر وتأين مجاميع الفوسفات الثلاثة بالكامل فإن مركبات ثابتة ذاتية تتكون بالاتحاد مع Ca^{++} ، Mg^{++} .

كيفية حفظ الطاقة فى ATP : هناك طريقتان

(١) يعقب عملية الاكسدة (للمعطى) عملية اختزال للمركبات الوسطية (المستقبل) وانتقال الشحنات المختزلة يجرى بواسطة حوامل اكسدة واختزال وسطية مثل NAD^+ ، $NAD P^+$ كالتالى .



(٢) اكسده المواد الداخلة فى تفاعل الهدم Catabolite يتبعه عملية انتقال طاقة للتفاعلات الحيوية التخليقية التى تحتاج لطاقة endergonic وعندئذ فإن ATP يخلق ثم يهدم مرة أخرى .



وفي كلا الحالتين فإن تفاعلات الهدم والتخليق تتقابل أو تتلازم عبر ميكانيكية الأكسدة والاختزال وكلاهما يؤديان لانتاج وحفظ وانطلاق الطاقة عن طريق استرة الفوسفات التي تعرف بالفسفرة التي تقسم إلى قسمين يطلق عليهما :

- (١) الفسفرة المؤكسدة . oxidative phosphorylation
- (٢) الفسفرة عند مستوى مادة التفاعل substrate level phosphorylation .

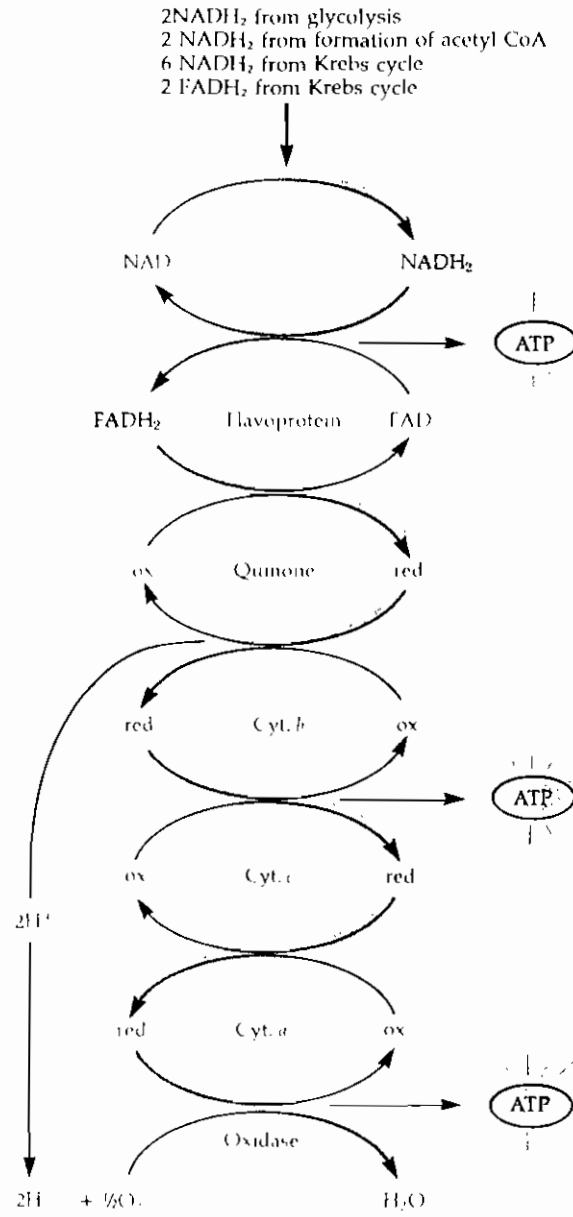
٦٠١ الفسفرة المؤكسدة : oxidative or e-transport phosphorylation

أثناء أكسدة مادة التفاعل فإن الالكترونات تنطلق وتستقبل بواسطة عامل مؤكسد . فلو فرضنا أن مادة التفاعل جزئى الأيدروجين والعامل المؤكسد هو الأكسجين فإن فرق الجهد بينهما سيكون .

$$\Delta E_m = 0.81 - (-0.42) = 1.23 \text{ V}$$

والذى يعادل $\Delta F^0 = 57 \text{ kcal / mole}$ طبقا لقانون $\Delta F^0 = -n F \Delta E_m$ السابق .

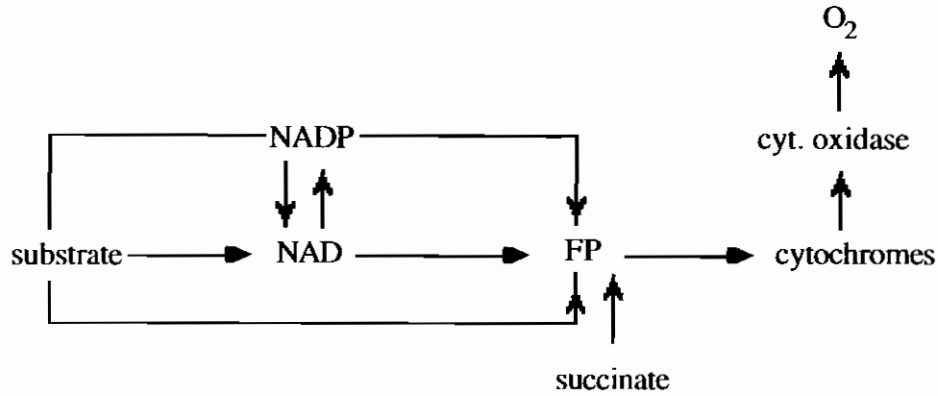
وفي تفاعلات الخلية الحية فإن جزئى الأيدروجين يعتبر كمعطى للإلكترون ثم تنتقل الالكترونات لمواد وسطية تعمل كحامل للإلكترون مثل NAD^+ , $NADP^+$ حيث يختزل هذا الحامل إلى $NADH.H^+$, $NADPH.H^+$ وفرق الجهد لهذا الاختزال هو 1.12V أى ما يعادل $\Delta F^0 = -52 \text{ kcal}$ وهذه الكمية من الطاقة يمكن أن تؤدي لتحطيم الخلية إذا انطلقت فى شكل حرارة ولهذا تقوم الخلية بتقسيم هذا التفاعل إلى عدد من الخطوات الفردية الصغيرة بمعنى أن $NAD(P)H.H^+$ غير قادرة على التفاعل مباشرة مع الأكسجين ولكن تتفاعل مع عدد من المركبات الوسيطة فى عدة خطوات متتالية وهو ما يطلق عليه سلسلة تفاعلات الأكسدة والاختزال أو سلسلة انتقال الالكترونات وبالتالي تصبح الخلية قادرة على حفظ جزء من الطاقة فى صورة طاقة كيميائية (ATP) وهذا النظام يعرف فى النهاية بالسلسلة التنفسية .



شكل ١-٢ : تفاعلات الأكسدة والاختزال في السلسلة التنفسية نقلا عن

Tortora et al, 1986

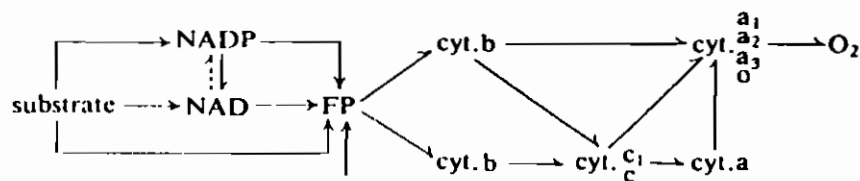
وبالرغم من ان ميكانيكية انتقال الالكترن في الثدييات قد درست جيدا إلا أنها في الخلية الكثرية مازالت محل الدراسة والسبب الرئيسي فى ذلك الاختلافات الكبيرة بين التفاعلات الايضية فى أنواع البكتيريا المختلفة . والصيغة العامة لهذا الميكانيكية قد لخصها Dolin سنة ١٩٦١ كما يلى :



شكل ١-٣ : النظام العام لانتقال الالكترونات

حيث ينتقل الالكترن من مادة التفاعل (donor) إلى NAD^+ والذي ينقله بدوره إلى السيتوكروم عبر الفلافوبروتين أما نوع أو عدد مكونات السيتوكروم فإنها تختلف من نوع لآخر فى البكتيريا وايضا باختلاف ظروف النمو للنوع الواحد وقد تكون هذه الصيغات على صورة سيتوكروم a_3, b, C, C_1 . أو قد يحدث عدد من التداخلات بينهم والاختلاف الرئيسى بين الثدييات والبكتيريا فى نظام السيتوكروم يبدو فى وجود oxidases عديدة فى البكتيريا .

ويمكن تلخيص الطرق المختلفة الممكن حدوثها فى مختلف أنواع البكتيريا كما يلى :



شكل ١-٤ الاحتمالات المختلفة لنظام انتقال الالكترونات فى الكائنات الدقيقة

والسيتوكروم في النظام البكتيري الذي يرتبط مع جزيئات غير ذائبة داخل الخلية له القدرة على التحول بمعدلات عالية جدا والصور الأكثر شيوعا لتوليفات السيتوكروم البكتيري يمكن تلخيصها في الجدول التالي مع بعض صور معطيات ومستقبلات وحاملات الالكترون .

Couple	E_0' (V at pH 7.0)
$2 H_2O \rightleftharpoons O_2 + 4 H^+ + 4 e$	+0.816
$NO_3^- + H_2O \rightleftharpoons NO_2^- + 2 H^+ + 2 e$	+0.421
$H_2O_2 \rightleftharpoons O_2 + 2 H^+ + 2 e$	+0.295
$Cyt. a_3^{2+} \rightleftharpoons cyt. a_3^{3+} + 1 e$	+0.285
$Cyt. a^{2+} \rightleftharpoons cyt. a^{3+} + 1 e$	+0.290
$Cyt. c^{2+} \rightleftharpoons cyt. c^{3+} + 1 e$	+0.250
$Succinate \rightleftharpoons fumarate + 2 H^+ + 2 e$	+0.031
$H_2 \rightleftharpoons 2 H^+ + 2 e$ (pH 0)	0.0
$Cyt. b^{2+} \rightleftharpoons cyt. b^{3+} + 1 e$ (pH 7.4)	-0.040
$Lactate \rightleftharpoons pyruvate + 2 H^+ + 2 e$	-0.19
$FADH + H^+ \rightleftharpoons FAD + 2 H^+ + 2 e$	-0.22
$NADH + H^+ \rightleftharpoons NAD + 2 H^+ + 2 e$	-0.32
$NADPH + H^+ \rightleftharpoons NADP + 2 H^+ + 2 e$	-0.324
$H_2 \rightleftharpoons 2 H^+ + 2 e$	-0.414
$Glyceraldehyde\ 3-P + H_2O \rightleftharpoons 3-phosphoglycerate + 3 H^+ + 2 e$	-0.57
$\alpha\text{-Ketoglutarate} + H_2O \rightleftharpoons succinate + CO_2 + 2 H^+ + 2 e$	-0.673
$Pyruvate + H_2O \rightleftharpoons acetate + CO_2 + 2 H^+ + 2 e$	-0.699

جدول ١-١ : جهد الاكسدة والاختزال وصور بعض معطيات ومستقبلات وناقلات

الالكترونات نقلًا عن Dolin , 1961

ومن الجدول السابق يمكن معرفة أن أكثر معطيات الالكترونات جهدا هي الجليسرلدهيد ، حمض الكتيوجلوتاريك ، حمض البيروفيك إلى مركبات الكربونيل والكربوكسيل .

وترجع أهمية السلسلة التنفسية في امكانية نقل الطاقة الحرة الناتجة في كل خطوة إلى طاقة كيميائية بواسطة تكون ATP وتخزينه وتعتمد كمية الروابط الفوسفواستيرية الغنية بالطاقة (~ P) على ΔF للتفاعل وعلى عدد الخطوات الممكنة لحفظ الطاقة .

وكمثال :

إذا تفاعل امول $NADH \cdot H^+$ مع 0.5 مول اكسجين وخرجت كمية طاقة مقدارها ٥٢

كيلو كالورى (كما سبق حسابه) فإن تكوين ٣ مول ATP من $Pi + ADP$ يحتاج حوالى ٢١ كيلو كارى وهكذا فإن ٤٠٪ من الطاقة ستتحول فقط . كما ان بعض مواد التفاعل التى تختزل (ليس بواسطة NAD^+) ولكن بواسطة FP (الفلافوبروتين) مثل السكسينات كما بالرسم السابق أو بواسطة Cyt. C فإنها تحتاج أقل من ٣ مول ATP علما بأن الاكسجين هو المستقبل النهائى للالكترتون .

ونتيجة مثل هذه الحسابات يعبر عنها بـ P/o ratio حيث تمثل هذه النسبة كمية الفوسفات التى أُسترت ($\sim P$) بالنسبة لذرة الاكسجين .

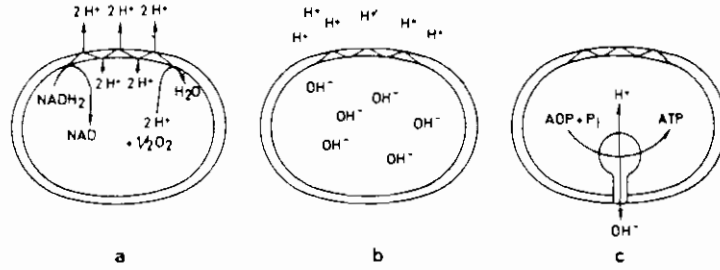
ولكن يظل السؤال الهام فى عملية الفسفرة المؤكسدة قائماً وهو ما هى الميكانيكية التى تتحول بها الطاقة الحرة الناتجة إلى المركب ATP وحتى الآن يوجد افتراضين اساسيين :

(١) نظرية slater عن التقابل (التلازم) الكيماوى chemical coupling خلال (عبر) المركبات الوسيطة الغنية بالطاقة $C \sim A$ والذى تشابه مع فسفرة مادة التفاعل ويعيب هذه النظرية أنه حتى الآن لم يعزل أى من الوسيطات الغنية بالطاقة .

(٢) نظرية Mitchell عن chemoiosmosis حيث يلزم أولاً وجود فرق فى التركيز الكهروكيماوى وتعتمد على افتراض انه أثناء تفاعلات الاكسدة والاختزال بملازمة الانزيمات المرتبطة على الغشاء السيتوبلازى فإن ايون H^+ يتكون فقط خارج الغشاء اما ايون OH^- فداخله حيث يتبادل H^+ مع K^+ بينما OH^- مع Cl^- مسبباً تدرج كهروكيماوى القادر على احداث شغل مفيد ويعتقد أن هذا التدرج يتوازن (يتعادل) عند مناطق معينة مع تكوين حوامل غنية بالطاقة وطاقة هذه الحوامل كافيها لربط الفوسفات المعدنى برابط استر مع ADP وتكوين ATP اما فرق الجهد عبر الغشاء فهو نتيجة Proton translocation .

ولقد طورت حديثاً هذه النظرية كما بصورها رسم (رقم ١-٥) معتمدة على تصور وجود بناء غشائى داخلى كما هو الحال فى الكائنات الراقية eucaryotes (الميتوكوندريا) أو فى البكتيريا Procaryotes (الغشاء السيتوبلازى) وتنتقل المكافئات المختزلة (البروتون أو الالكترتون) المشتقة من مادة التفاعل عبر الغشاء مكونة تدرج كهروكيماوى ذو جهد موجب على السطح الخارجى وجهد سالب على السطح الداخلى للغشاء وينتج عن هذا التدرج ما يعرف بـ proton motive force وهى القوة اللازمة لتخليق ATP من $Pi + ADP$ فى

وجود انزيم متخصص على السطح الداخلي للغشاء (ATP - Synthase) بسبب هجرة البرتونات من السطح الخارجى إلى الداخلى للغشاء ولذا اطلق على تكوين ATP بهذا الأسلوب electron transport phosphorylation .



(a) NADH₂ oxidation and proton extrusion; (b) electrochemical gradient between inner and outer sur-

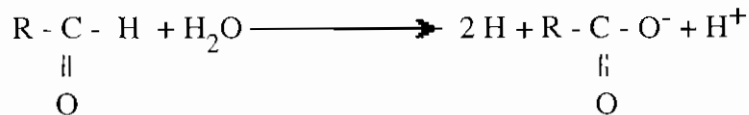
faces; (c) regeneration of ATP as a consequence of the backflow of protons

شكل (٥-١) : رسم توضيحي لعملية الفسفرة بانتقال الالكترون (شليجل ١٩٨٦)

٧٠١ الفسفرة عند مستوى مادة التفاعل : Substrate level phosphorylation

يُعتقد أن تفاعل الاكسدة والاختزال مع انطلاق كمية طاقة حرة كبيرة يؤدي إلى تخليق ATP مباشرة بدون الحاجة إلى سلسلة انتقال الالكترونات وقد اثبت Lehninger سنة ١٩٦٥ هذا الافتراض بتفاعل حقيقى يلاحظ كمايلى :

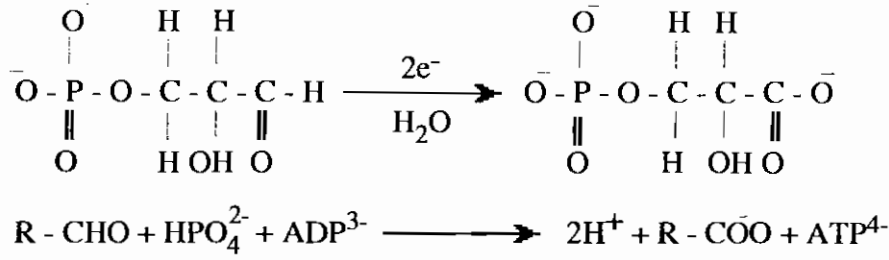
عملية اكسده الالدهيد إلى حمض الكربوكسيل فى وسط مائى يؤدي لاننتاج طاقة كبيرة .



$$\Delta F^0 \cong - 7000 \text{ Cal / mole}$$

وفى داخل الخلية الحية فإن هذه الطاقة لا تفقد بسهولة كحرارة ولكن يخزن معظمها .

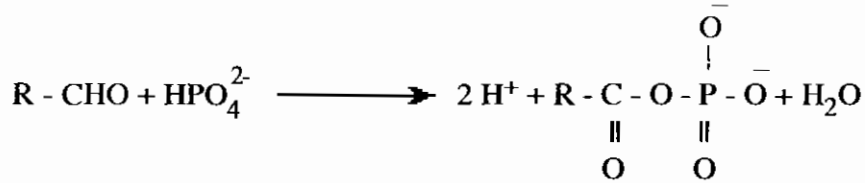
وعلى سبيل المثال أكسده ٣- فوسفو جليسرلدهيد إلى حمض ٣ فوسفوجليسررات أثناء أكسدة الجلوكوز .



$$\Delta F^0 = 0 \text{ Cal / mole}$$

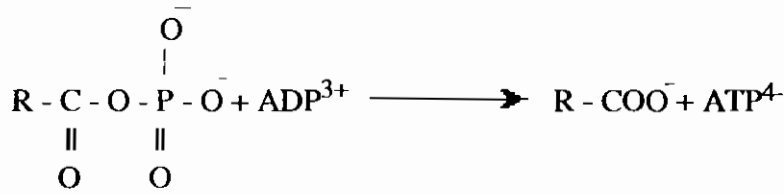
وهكذا فإن الطاقة الحرة (~ 7000 cal / mole) الناتجة من أكسدة الالدهيد تدمص في تكوين ATP من ADP والفوسفات وبالتالي فإن ناتج التفاعل هو Zero cal / mole .
ويحدث انتقال الفوسفات من خلال خطوتين مستقلتين يلامس كل منهما انزيم مستقل .

خطوة (١) :



حيث تخزن الطاقة في رابطة الفوسفات المرتبطة مع حمض الكربوكسيل وهذا يعتبر مركب وسطي .

خطوة (٢) :

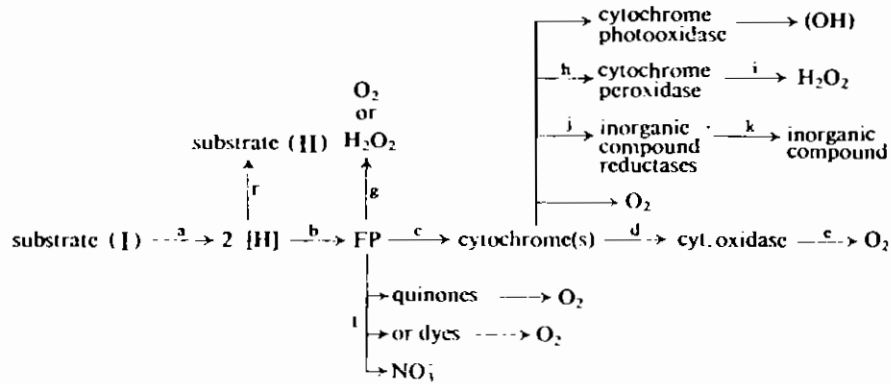


حيث تنتقل الطاقة الناتجة من التحليل المائي لمجموعة الفوسفات الكربوكسيلية انزيميا إلى ADP وتكون ATP .

وهناك العديد من البكتريا قادرة على تكوين بولى فوسفات أو ميتافوسفات ذات وزن جزئى مرتفع وهذه العملية تبدو كطريقة لتخزين الطاقة العالية فى صورة مركبات فوسفاتية .

وتلاحظ عملية الفسفرة عن مستوى مادة التفاعل Substrate level phosphorylation عادة فى البكتريا اللاهوائية أثناء العمليات التخمرية . ولكن عموما ليس هناك أى تحديد بأن نظام انتقال الالكترون فى البكتريا اللاهوائية يختلف عن الهوائية والدليل على ذلك أنه لا يوجد فرق فى نظام انتقال الالكترون المرتبط بالسيوكروم فى البكتريا الاختيارية عند تنميتها سواء هوائيا أو لاهوائيا وانما يوجد نظام وسطى تستطيع البكتريا بواسطته أن تكون أقل اعتمادا على السيوكروم مثلما الحال فى *lactobacillaceae* النامية هوائيا حيث لا تعتمد كلية على السيوكروم وسناقش ذلك فيما بعد (باب ٩) .

ومن خلال المعلومات المتاحة حاليا فإن تصور نظام انتقال الالكترونات فى معظم الكائنات الدقيقة كما وصفه Dolin, 1961 مازال يستخدم كدليل لدراسة التفاعلات الايضية فى البكتريا .



شكل (٦-١) : تصور عام لنظام انتقال الالكترونات

فى البكتريا الهوائية ، الاختيارية واللاهوائية

ومنه استنتج Dolin, 1961 بعض النتائج التالية كما هو مبين بشكل (٦-١) السابق :

(١) البكتريا الهوائية الحتمية لا تستطيع النمو فى غياب O_2 ولا يقوم بأى عمليات تخمرية وطريقة انتقال الالكترون هو (خطوات a , b , c , d , e) .

(٢) اللاهوائية الاختيارية يمكن ان تنمو في وجود أو غياب O_2 حيث تستخدم التفاعلات التخمرية في غياب O_2 ويوجد منها مجموعتين :

(أ) لا تعتمد على السيتوكروم مثل بكتريا حمض اللاكتيك وطريقة انتقال الالكترونات اما هوائى (خطوات a , b , g) أو لاهوائى (a , f) .

(ب) تعتمد على السيتوكروم مثل الكوليفورم وطريقة انتقال الالكترونات اما هوائيا (خطوات a , b , c , d , e , g) لا هوائيا (خطوات a , f , a , b , c , j) أو اختزال النترات (a , b , l) .

(٣) اللاهوائية الحتمية وهو لا تنمو هوائيا مطلقا ومنها مجموعتين :

(أ) لا تعتمد على السيتوكروم مثل *Clostridium* وطريقة انتقال الالكترونات (خطوات a , f) .

(ب) تعتمد على السيتوكروم مثل *Desulfovibrio* وطريقة انتقال الالكترونات a , b , j , c (ماعد اختزال ايون الكبريت بدون الخطوة c) .

اسئلة لمراجعة الباب الاول

- ١ - ما هي الطاقة ؟
- ٢ - ما هي قوانين الديناميكية الحرارية الثلاث ؟
- ٣ - عرف كل من Free energy - enthalpy - entropy .
- ٤ - اشرح المعادلة $\Delta F = \Delta F^0 + RT \ln k$.
- ٥ - كيف يمكنك حساب الطاقة الحرة لعديد من التفاعلات المشتركة في دوره ايضيه ؟
- ٦ - ماهو جهد الاكسدة والاختزال لنظام معين ؟
- ٧ - اشرح معادلة نرنست Nernst eq .
- ٨ - كيف تؤثر الحرارة ، pH على جهد الاكسدة والاختزال ؟
- ٩ - اشرح الأسس العامة لحفظ الطاقة في الأنظمة البيولوجية .
- ١٠ - لماذا يسمى مركب مثل ATP مركب غني بالطاقة ؟
- ١١ - اشرح الفرق بين فرضى Mitchell & Slater فى الفسفرة المؤكسدة .
- ١٢ - اشرح الفرق بين الفسفرة المؤكسدة والفسفرة عند مستوى مادة التفاعل .

مراجع الباب الأول

- 1- Dolin, M. I. (1961). Survey of microbiol electron transport mechanisms. In : The bacteria. (Gunsalus and stanier, eds), Vol 2, Academic Press, New York.
- 2- Glasstone S. (1954). Introduction to electrochemistry. 6th Ed. Van Nostrand, Reinhold, princeton. New Jersey.
- 3- Klots I. M. (1967). Energy Changes in biochemical reactions. Academic press, New York .
- 4- Karlson, P. (1970) . Kurzes Lehrbuch der Biochemie. 7th Ed. Thieme - Stuttgart .
- 5- Lehninger, A. L. (1965). Bioenergetics. Benjamin, New York.
- 6- Schlegel, H. G (1969). "Allgemeine Mikrobiologie" Thieme, stuttgart.
- 7- Smith, L. (1961). Cytochrome System in aerobic electron transport. In: The bacteria. (Gunsalus and stanier eds), Vol 2, Academic Press, New York.
- 8- Tortora, G. J., Funke, B.R. and Case, C.L. (1986). Microbiology: an introduction. 2nd Ed. Benjamin/ Cummings Publ. Co., California.

الباب الثانى
الانزيمات - المرافقات الانزيمية - الطاقة
الحركية للنمو البكتيرى

**Enzymes, Coenzymes and
bacterial growth kinetics**

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الباب الثانى

الانزيمات - المرافقات الانزيمية - الطاقة

الحركية للنمو البكتيرى

Enzymes, Coenzymes and bacterial growth kinetics

يمكن للتفاعلات المنتجة لطاقة عالية (ΔF^0 عالية وسالبة القيمة) أن تتم فى اتجاه ثابت وتكون المحصلة مواد ناتجة products اكبر من المواد الداخلة reactants عند التعادل . اما التفاعلات ذات ΔF المنخفضة أو الغير سالبة فتحتاج إلى عامل لمسى Catalyst . ومن الوجهة الترموديناميكية فإن العامل اللمسى هو الذى يخفض lowers طاقة التنشيط الحرة . أما من الناحية الفيزيائية فإن مادة التفاعل تتحد مؤقتا مع العامل اللمسى وبالتالي فإن طاقة مادة التفاعل يعاد توزيعها لجعل روابط معينة أكثر مرونة للتحلل .

١٠٢ تعريف وخواص الانزيمات :

الانزيمات هى عوامل لمسية حقيقية لانها لا تؤثر على نقطة التعادل للتفاعل الذى تلامسه ولا تُستهلك أثناء التفاعل ولها القدرة على خفض طاقة التنشيط activation energy للتفاعل الذى تلامسه للوصول لحاله التعادل . وكل تفاعل انزيمى يظل فى حالة شغل حتى يصل لحاله التعادل ويعتبر هذا احد القواعد الاساسية فى علم الانزيمات . والامكانية الوحيدة للتفاعل لكى يستمر بعد حالة التعادل تظهر فى التفاعلات المتلازمة أو المتقابلة Coupled reactions حيث الناتج من التفاعل الأول يلامس مباشرة بواسطة انزيم ثان للحصول على ناتج آخر وهكذا .

ولهذا فلا يمكن لاي كائن أن ينغلق على نفسه فى مرحلة التوازن أو التعادل الكيمياوى لأن أى نظام فى حالة التعادل لا يستطيع عمل أى شغل . وهذه الاستمرارية تجاه حالة التعادل تشبه حالة الثبات steady state حيث لا بد من تغذية مستمرة بمادة التفاعل ويخرج

من الناحية الاخرى نواتج التفاعل . وحيث ان الكائنات تمثل نظاما مفتوحا فإن حالة الثبات تؤدي لتكوين تركيزات ثابتة stationary conc. والتي تختلف عن القواعد الترموديناميكية للتعاادل الكيمياوى وهذا هو السبب الرئيسى ان التفاعلات الحيوية تظل فى حالة شغل فى اتجاه حالة التعاادل وعادة يحصل الكائن على طاقته من هذه التفاعلات .

وكل الانزيمات التى تُوصَل إلى تركيبها الكيمياوى حتى الآن هى بروتينات والطرق المستعملة لفصل وتنقية الانزيمات هى نفسها المستعملة لفصل وتنقية البروتين .

جزئيات الانزيمات لها عمر محدد داخل الخلية كما أنها سريعة الدنتره Denaturation وتفقد خواصها اللمسية عند حرارة 50°C أو أعلى أو بواسطة أيونات المعادن الثقيلة وتتأثر كثيرا بدرجة الحموضة (pH) .

تختلف الانزيمات عن العوامل اللمسية الغير عضوية مثل البلاتينوم فى صفات منها انها أكثر تخصصا وأقل ثباتا .

تتكون اغلب الانزيمات من جزء بروتينى Apoenzyme ومرافق انزيمى Prosthetic group or coenzyme والجزء البروتينى يختص بتحديد مادة التفاعل التى يلامسها واتجاه التفاعل ولهذا يمكن للمرافق الانزيمى ان يلامس تفاعلات مختلفة حسب ما يسمح به apoenzyme .

وعندما يلامس انزيم تفاعل معين فإنه يتحد مؤقتا مع مادة التفاعل مكونا معقد انزيمى مع مادة التفاعل enzyme substrate complex ويكون الاتحاد عند المركز النشط active site وتتحول مادة التفاعل إلى نواتج معينة بينما يعود الانزيم إلى حالته الاولى ويتحد مع جزئ آخر ويكرر ذلك .

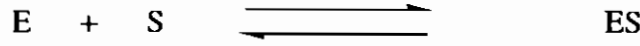
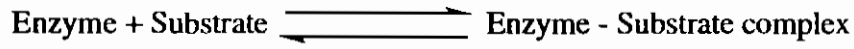
يمكن تثبيط معظم الانزيمات بواسطة المواد السامة المتخصصة وهى تشبه لحد ما فى بنائها مادة تفاعله . وهذه المثبطات هامة فى تحليل ومعرفة التفاعلات التى يلامسها الانزيم فى الخلية .

عندما تتفاعل مجموعة من الانزيمات فى سلسلة متعاقبه بحيث أن الناتج من تفاعل انزيمى معين يصبح مادة تفاعل لانزيم آخر وهكذا فإن هذا النظام يعرف multi - enzyme system وتعرف سلسلة التفاعلات بالدورة الايضية metabolic pathway .

درجة تخصص بعض الانزيمات عالية جدا فمثلا انزيم جليسرلدهيد ٣ فوسفات ديهيدروجينز تتفاعل فقط مع D-isomer من المركب ولا يتفاعل مع L-isomer .
يرجع الاختلاف بين الانزيمات وبعضها إلى عدة اسباب منها نوع ونسب الاحماض الامينية الداخلة فيها ، كيفية تتابع الاحماض الامينية داخل السلسلة الببتيدية ، نوعية الروابط الثانوية ، طبيعة المراكز النشطة الخاصة بكل انزيم .

٢٠٢ سرعة التفاعلات الانزيمية : Velocity of enzymatic reactions

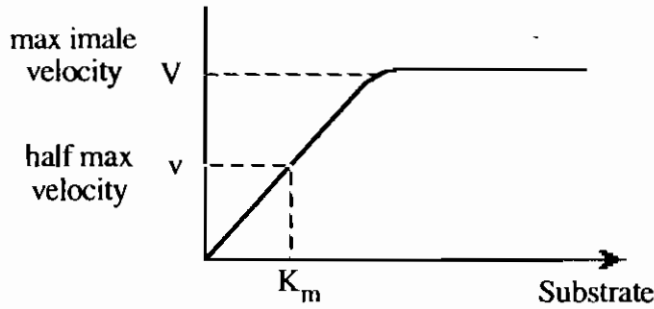
تعتبر مادة التفاعل من أهم العوامل التي تحدد سرعة التفاعل الانزيمي . فالانزيم يُكون اولا معقدا مع مادة تفاعله ثم ينكسر هذا المعقد معطيا الانزيم الحر وناتج التفاعل كالتالي :



ويمكن حساب ثابت التثبع (التوازن) لمادة التفاعل كالتالي :

$$K_{eq} = \frac{[E] \times [S]}{[ES]}$$

ويمكن تمثيل العلاقة بين سرعة velocity أى تفاعل انزيمي مع مادة التفاعل بالرسم التالي :



شكل (٢-١) : العلاقة بين سرعة التفاعل الانزيمي ومادة التفاعل

وعند v يكون نصف الانزيم الداخلة في التفاعل في صورة معقد (ES) واما النصف الآخر فيكون حراً أو بمعنى آخر فإن تركيز مادة التفاعل عند v يصل لما يعادل Michaelis - Menten Constant ويسمى هذا الثابت K_m ويعرف بأن تركيز مادة التفاعل عند نصف السرعة القصوى للانزيم أو عند نصف تشبع الانزيم بمادة التفاعل .

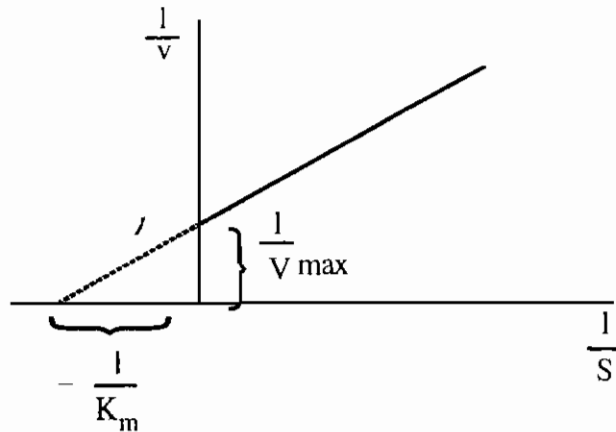
$$K_m = [S] \text{ at half maximal velocity}$$

وعندما تكون قيمة K_m عالية فإنه يعنى الاحتياج لتركيز عالى من مادة التفاعل أو أن الانزيم يملك حساسية قليلة لمادة التفاعل وهذا الثابت يتراوح عادة بين $10^{-2} - 10^{-5} \text{ mole/l.}$

ويمكن حساب K_m معملياً بسهولة . ففي الرسم السابق فإن السرعة القصوى V_{max} يصل إليها عندما يشبع الانزيم بمادة التفاعل أى كل الانزيم يتحول إلى معقد ES وعندئذ تصبح المعادلة الرياضية .

$$v = V \left(\frac{S}{K_m + S} \right)$$

وإذا رسمت العلاقة بين المتغيرين $\frac{1}{v}$ ، $\frac{1}{S}$ فإنه يمكن بسهولة تقدير K_m ، V_{max} كما بالرسم التالى :



شكل (٢-٢) : تقدير V_{max} ، K_m (السرعة القصوى ، ثابت ميخائيل) من

Lineweaver - Burk plot

اما معدل التفاعل الانزيمي reaction rate فيستخدم لتقدير وحدة الانزيم enzyme unit (U) والتي تعرف بالكمية التي تلامس تحويل $1 \mu \text{mole}$ من مادة التفاعل / دقيقة تحت ظروف ثابتة من حرارة (المثلى 30°C) ، pH ، تركيز كاف من مادة التفاعل لتشبع الانزيم (zero order kinetic) كما أوصى بذلك الاتحاد الدولي للكيمياء الحيوية (IUB) . International Union of Biochemists

ويقدر Molecular activity بالوحدة لكل ميكرومول من الانزيم عند تركيز مادة التفاعل الامثل أى عدد جزئيات مادة التفاعل المتحولة / دقيقة / جزئ الانزيم وعندما يحتوى الانزيم على مجموعة مرافقة prosthetic group فإن قوة التلامس catalytic power يمكن التعبير عنها بعدد الجزئيات المتحولة / دقيقة / عامل التلامس وتركيز الانزيم فى المحلول بقدر بالوحدات / مللى لتر (units / ml) .

العوامل التى تؤثر على سرعة التفاعل الانزيمى :

١ - تركيز الانزيم عند ثبات تركيز مادة التفاعل فإن سرعة التفاعل تتناسب طرديا مع تركيز الانزيم .

٢ - تركيز مادة التفاعل كما ذكر سابقا تزداد سرعة التفاعل بزيادة تركيز المادة المتفاعلة حتى نقطة معينة بعدها لا تجدى أى زيادة فى التركيز على سرعة التفاعل حيث يتحول كل الانزيم من الصورة الحرة (E) إلى الصورة المرتبطة (ES) .

٣ - درجة الحرارة علاقة طردية حيث تزداد سرعة التفاعل بارتفاع درجة الحرارة حتى نقطة معينة (المثلى) بعدها تقل سرعة التفاعل ويفقد الانزيم نشاطه تدريجيا ويرجع السبب فى ذلك إلى تأثير الحرارة على طبيعة تركيب البروتين (كسر بعض الروابط الثانوية أو الضعيفة) .

٤ - الاسر الايدروجينى pH حيث لكل انزيم درجة pH مثلى يبلغ عندها سرعة التفاعل اقصى ما يمكن ولو زادت أو قلت عن ذلك تقل نشاط الانزيم والسبب فى ذلك يرجع لاحتواء مراكز النشاط بالانزيم على مجاميع متأينه وأى تغير فى pH يؤدي إلى تغيير طبيعة تأين هذه المجاميع .

٥ - المنشطات الايونية مثل Ca^{++} , Mg^{++} , Cl^- , K^+ , Fe^{3+} والتي تعمل كهمزة

وصل chelate بين الانزيم ومادة التفاعل أو كناقلة للالكترونات فى تفاعلات الاكسدة والاختزال مثل Fe^{3+} فى السيتركروم وقد يكون تأثيرها ضار (مثبط) فى بعض الانزيمات الاخرى مثل Cl^- منشط لانزيمات التحلل المائى للبروتينات ومثبط لانزيم zymase الخاص بتحويل الجلوكوز إلى ايثانول وخليك . كما أن التركيزات العالية من هذه المنشطات الايونية لها فعل عكسى (مثبط) لعمل الانزيم .

٦ - المثبطات وهى مواد عضوية أو أيونية تقلل سرعة التفاعل الانزيمى أو توقفه مثل ايونات الفضة Ag^{++} ، الرصاص Pb^{2+} ، الزئبقوز Hg^{+1} ومركبات السلف حيث يعمل على تغير التركيب الطبيعى لبروتين الانزيم وترسيبه أو تلف مراكز النشاط على الانزيم بالاتحاد معها .

٣٠٢ تقسيم الانزيمات : Enzyme Classification

بناء على القواعد الموضوعه من قبل IUB فإن الانزيمات المعروفة من زمن طويل تأخذ اسماءها الأولى مثل pepsin , trypsin اما الاسماء الاحدث فتأخذ المقطع "ase" وهذا المقطع يلحق باسماء التفاعلات الانزيمية - فمثلا dehydrogenases , Transferases . . . الخ - حيث تقسم الانزيمات إلى مجاميع على اساس نوع التفاعل الذى يلامسه وذلك مسبقا باسم مادة التفاعل .

وفى حالة استخدام مرافق انزيمى لتلامس انتقال الالكترتون من المعطى إلى المستقبل مثل البيوتين أو البيريدوكسين فإن اسم prosthetic group لا يدخل فى اسم الانزيم .

وكجزء من هذا التقسيم يعطى كل انزيم رقم حيث يحتوى رقم كل انزيم على ٤ عناصر مفصولة بنقط وبدل العنصر الاول على القسم الذى يتبعه الانزيم حيث يوجد ستة اقسام رئيسية للانزيمات هى :

- | | |
|-------------------------------|-------------------|
| ١ - انزيمات الاكسدة والاختزال | oxidoreductases . |
| ٢ - انزيمات نقل المجاميع | traneferases . |
| ٣ - انزيمات التحلل المائى | Hydrolases . |
| ٤ - انزيمات النزاع أو الاضافة | lyases . |
| ٥ - انزيمات التشابة | Isomerases . |

6 - انزيمات التخليق (Ligases (Synthetases)

والعنصر الثاني يدل على subclass رقم وصفات المجموعة الداخلة في التفاعل .
والعنصر الثالث يدل على subclass مع تفصيل أكثر تخصصا لنوع المعطى أو المجموعة الداخلة في التفاعل .
والعنصر الرابع يدل على الرقم المسلسل للانزيم في subclass الخاص به .
وبهذا النظام يمكن ادخال اي انزيم جديد عند نهاية subclass الخاص به بدون الاخلال بأى أرقام اخرى وفي حالة الضرورة لانشاء أى subclass , subclass يمكن اضافتها بدون تعديل المجاميع السابقة وهذا هو هدف IUB عند مراجعة الانزيمات الموجودة أو اضافة أى انزيم جديد فلا يحتاج الامر لاعادة ترقيمها . ويتم ذلك بواسطة هيئات معتمدة وليس بواسطة الافراد .

ولتفادي الصعوبات الناتجة عن طول الاسماء فإن IUB وضع نوعين من الأسماء :

١ - الاسم التخليقي للانزيم طبقا لما سبق ذكره من قواعد .

٢ - الاسم التجارى Commercial name وهو قصير وكافى للاستعمال العام ولكن ليس محددًا أو منظما مثل السابق . والقواعد المنظمة لهذه التسمية التجارية موجودة فى كتاب Dixan and webb سنة ١٩٦٤ .

ولفهم نظام التسمية هذا نضرب المثال التالى بانزيم فركتوز ١,٦ داي فوسفور الدوليز فالتسمية التخليقية له

Fructose 1.6 - diphosphate D-glyceraldehyde -3- phosphalte lyase

ورقمه الكودى EC 4.1.2.13 وهذا يعنى

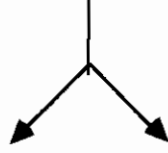
4 يتبع قسم انزيمات الازالة أو الاضافة lyase enzymes للمجاميع الاستبدالية من مادة تفاعلها (ليس بواسطة التحليل المائى) مكونا رابطة زوجية أو مضيفا لمجموعة للرابطة الزوجية .

4.1 الانزيم Carbon - Carbon lyase .

4.1.2 الانزيم aldehyde lyase مع رقم مسلسل 13 .

والتفاعل الخاص بهذا الانزيم هو :

Fructose 1.6 - diphosphate



dihydroxyacetone + D-glyceraldehyde
phosphate 3- phosphate

اما الاسم التجارى فهو فركتوز داى فوسفات الدوليز .

٤٠٢ المرافقات الانزيمية : Coenzymes

لكى تؤدى الانزيمات وظيفتها فإن كثير منها يحتاج لمواد عضوية أو غير عضوية معينة كمرافقات انزيمية والتي تتفاعل كمستقبل أو معطى لمجاميع من الايونات التى تنفصل من أو تنضم إلى مادة التفاعل وقدما كان يطلق مصطلح Prosthetic group, Coenzyme كمرادفين لبعضهما ولكن اخيرا تعارف على تسمية المجاميع ذات الرابطة القوية مع مادة التفاعل (والصعب فصلها ب dialysis مثلا) ب Prosthetic group أما التى يسهل فصلها فتعرف Coenzyme . والمجموعة الثالثة من المرافقات هى المنشطات activators وهى ذات طبيعة بسيطة مثل الايونات المعدنية .

وحيث انه لا يوجد للأن تقسيم محدد للمرافقات الانزيمية فإنها تعامل بطريقة ايسر من المستعملة فى تقسيم الانزيمات طبقا للتفاعلات التى تلامسها ومعظم المرافقات أما نيوكليدات حقيقية أولها بعض الخواص البنائية المشابهة للنيوكليدات ومعظمها تحتوى قاعدة نيتروجينية فى أحد نهايتى الجزئ ومجموعة فوسفات فى النهاية الأخرى مع أو بدون تركيب كربوهيدراتى بينهما أو يرتبط تركيبين بنائين معا لتكوين نيوكليدات ثنائية وعلاقتها الوطيدة مع الفيتامينات هامة جدا حيث الفيتامينات ضرورية لبعض الوظائف الحيوية ولا يمكن استبدالها بمواد اخرى كما أن عدد كبير من الفيتامينات ذو وظيفة لمسية حيوية biocatalytic functions وللمعرفة الجيدة بالمرافقات الانزيمية لابد أن تتضمن الدراسة معلومات مفصلة عن التفاعل الذى يلامسه .

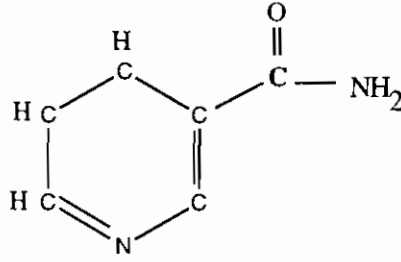
Coenzymes ^a			
Coenzymes	Usual abbreviation	Group transferred	Corresponding vitamins
1. Hydrogen-transferring co-enzymes			
Nicotinamide-adenine dinucleotide	NAD ⁺	Hydrogen	Nicotinamide
Nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate	NADP ⁺	Hydrogen	Nicotinamide
Nicotinamide mononucleotide	—	Hydrogen	Nicotinamide
Flavin mononucleotide (riboflavin phosphate)	FMN	Hydrogen	Riboflavin
Flavin-adenine dinucleotide	FAD	Hydrogen	Riboflavin
Lipoic acid	Lip(S ₂)	Hydrogen and acyl	—
Glutathione	GSH	Hydrogen	—
Ascorbate	—	—	—
Coenzyme Q	Q	Hydrogen	—
Cytochromes	cyt.	Electrons	—
2. Group-transferring enzymes			
Adenosine triphosphate	ATP	Phosphate	—
Phosphoadenyl sulfate	PAPS	Sulfate	—
Uridine diphosphate	UDP	Sugar, uronic acid	—
Cytidine diphosphate	CDP	Phosphoryl choline	—
Pyridoxal phosphate	PALP	Amino	Pyridoxine
Adenosyl methionine	—	Methyl	(Methionine)
Tetrahydrofolic acid	THF	Formyl	Pantothenic acid
Biotin	—	Carboxyl (CO ₂)	Biotin
Coenzyme A	CoA	Acetyl	Pantothenic acid
Thiamine pyrophosphate	TPP	C ₂ -Aldehyde	Thiamine
3. Coenzymes of isomerases and lyases			
Uridine diphosphate	UDP	Sugar isomerization	—
Pyridoxal phosphate	PALP	Decarboxylation	Pyridoxine
Thiamine pyrophosphate	TPP	Decarboxylation	Thiamine
B ₁₂ coenzyme	—	Carboxyl displacement	Cobalamin

جدول (١-٢) : المرافقات الانزيمية والمجاميع التي تنقلها (عن Karlson, 1970)

١٠٤٠٢ المرافقات الانزيمية الناقلة للايدروجين : Hydrogen transferring Coenzymes

(١) نيوكليوتيدات النيكوتين اميد : Nicotinamide nucleotide coenzymes

تستعمل الانزيمات الناقلة للايدروجين في تفاعلات التخمر والتنفس وغيرها المرافق الانزيمي داي نيوكليوتيدات نيكوتين اميد وهو احد مشتقات البيريدين Pyridine .



التركيب البنائي للبيريدين .

وتسمية هذا المرافق ذات جدل كبير حيث يوجد شائعا فى المراجع اسم (DPN or TPN) di or triphospho pyridine nucleotide

, Coenzyme II (CoII), Coenzyme I (Co I) مثل اخرى اسما اخرى مثل Co dehydrogenase I & II وايضا Cozymase ,

ولللخروج من هذا الخلاف المصطلحى لنيوكليوتيدات البيريدين فان IUB وضع التوصيات التالية :

١ - تسمى باسماءها الكيمياوية :

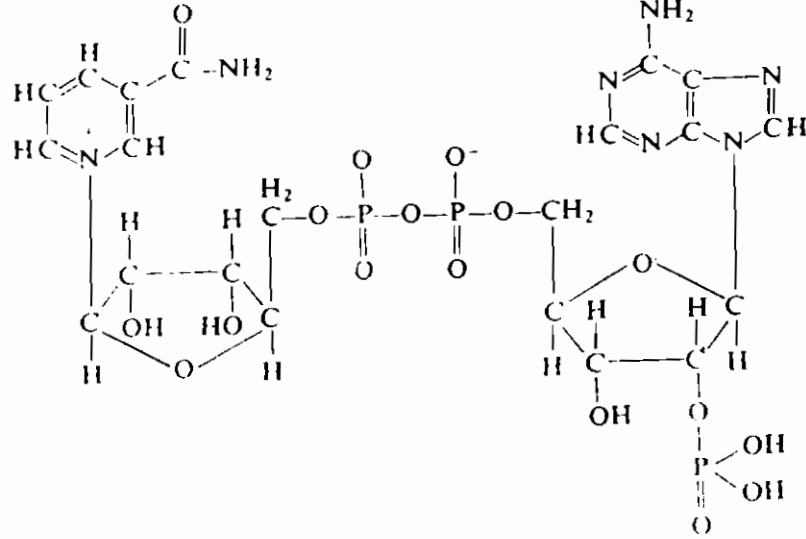
(NAD) nicotinamide - adinine dinucleotide

(NADP) nicotinamide - adinine dinucleotide phosphate

ولا تستعمل الاسماء الأخرى .

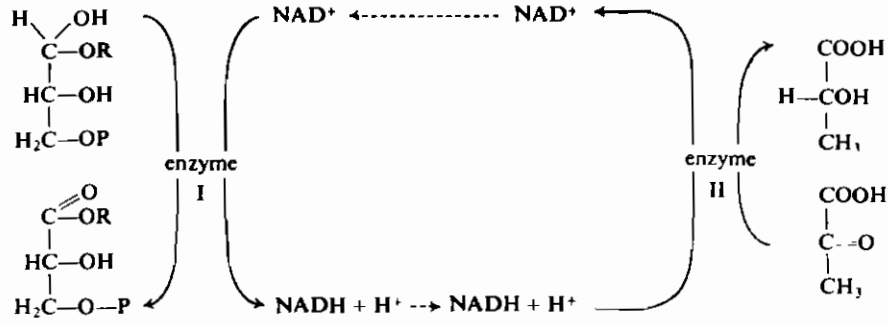
٢ - يسمح للصورة المختزلة من NAD (P) باستخدام احد البديلين reduced NAD (P) أو $NAD(P)H + H^+$ وعندئذ تسمى الصورة المؤكسدة $NAD(P)^+$ ولا يسمح بكتابة التفاعل على الصورة $NAD(p) \rightarrow NAD(p)H_2$.

وحلقة البيريدين تتصل برابطة جليكوزيدية بالسكر الخماسي الريبوز بينما يربط حمض البيروفوسفوريك بين جزئي nicotinamide riboside , adenosine ويزيد فى المركب NADP مجموعة فوسفات فى الوضع "2" للسكر الخماسى « الريبوز » كما بالرسم .



شكل (٢-٣) التركيب البنائى لمركبى NAD^+ , $NADP^+$

والمرافق الانزيمى NAD^+ يمكنه ان يكون معقداً مع انزيم ما (E_I) وهذا المعقد يتفاعل مع مادة التفاعل ويؤكسدها بينما يختزل هو إلى $NADH \cdot H^+$ وهذه الصورة المختزلة لا يمكنها تكوين معقد مع E_I وينفصل عنه وفى مرحلة تالية عن دورة التفاعل يمكن $NADH \cdot H^+$ تكوين معقد مع انزيم ثان (E_{II}) وبهذا المعقد يمكنه اختزال مادة اخرى بينما يتأكسد هو إلى NAD^+ وينفصل مرة أخرى وبهذا فإن NAD^+ يكون حلقة وصل بين الانزيمين كما فى الرسم التالى .



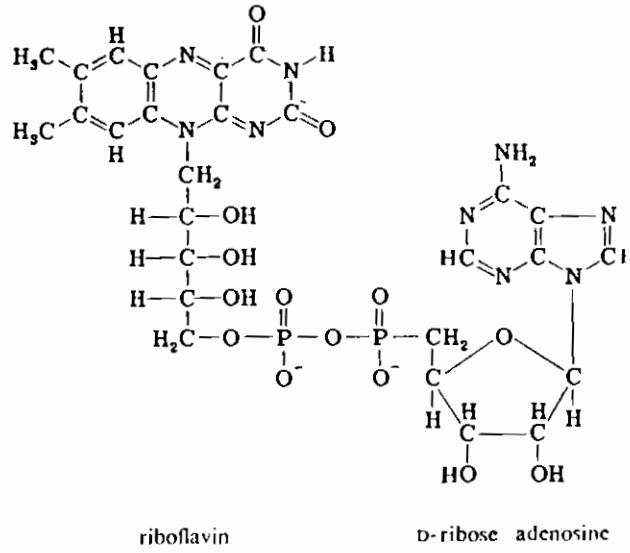
شكل (٢-٤) دور $NAD^+ / NADH.H^+$ في التلامس الانزيمي

وتكوين $NADH.H^+$ المختزل اثناء التفاعل يمكن قياسه بواسطة جهاز الاسبكتروفوتومتر بظهور منحنى بارز عند 340 nm أما NAD^+ (المؤكسد) فيمكن تحديده ضوئيا عن طريق اختفاء منحنى قياسه عند 340 nm .

ويعمل هذا المرافق الانزيمي في عمليات نزع الايدروچين dehydrogenation لمجاميع الكحولات الاولية والثانوية ويشارك اساسا في معظم انزيمات dehydrogenases . ويلاحظ $NAD(P)$ في كل الخلايا والدورات مرتبطة دائما بـ ATP حيث ATP حامل للروابط الفوسفاتية الغنية بالطاقة بينما NAD حامل للالكترونات في الخلايا .

(ب) نيوكليوتيدات الفلافين : Flavine nucleotides :

الفلافوريتينات نوع من انزيمات الاكسدة المحتوية على مستقبل الالكترون يسمى FAD (Flavine - adinine dinucleotide) الذي ينقل الالكترون بطريقة مماثلة للمركب NAD وهذا المركب يعتبر حجر البناء في فيتامين الريبوفلافين (فيتامين B₂) .



شكل (٢-٥) : التركيب البنائي للمركب Flavine - adenine dinucleotide

FAD

NAD

الفرق بين

- احد مشتقات اليريدين - احد مشتقات isoalloxazine

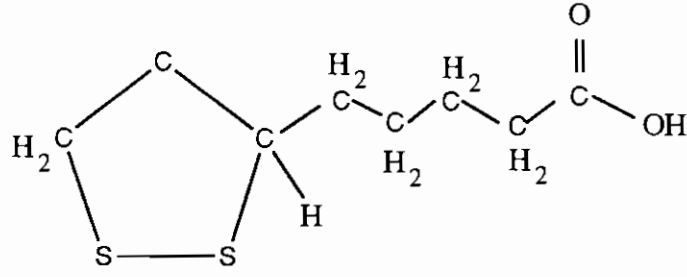
- السلسلة الجانبية سكر - السلسلة الجانبية سكر خماسي بولي

- خماسي حلقي D-Ribose . - هيدروكسي من مشتقات Ribitol .

والفلافينات لها القدرة على التفاعل مباشرة مع جزئى الاكسجين (عملية اعادة الاكسدة) حيث يختزل الاكسجين إلى H_2O_2 . مثال ذلك lactate oxidase (EC 1.1.3.2) ، و EC1.2.3.3 pyruvate oxidase وتشير الدلائل انه عند اختزال الريبوفلافينات تأخذ الكترون واحد فقط وليس زوج من الالكترونات مثل NAD .

(ج) حمض الليبويك : Lipoic acial :

أول من اطلق هذه التسمية هو Read وآخرون سنة ١٩٥٧ على حمض عضوى معزول من مستخلص كبد البقر وهو نشط جدا فى احلال الاستبات فى بكتريا حمض اللاكتيك acetate replacing factor وتركيبه الكيماوى هو 1.2 - dithiolane 3- valeric acid



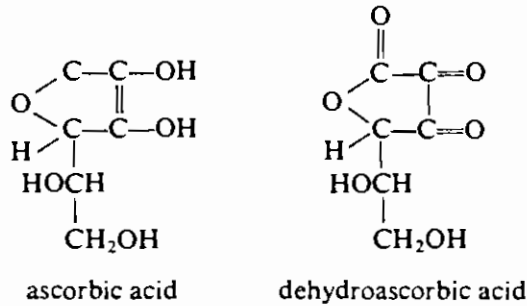
وتعتمد كفاءته البيولوجية على الرابطة ثنائية السلفيد disulfide الموجودة في حلقة dithiolane ويمكن قياس حمض الليبوتيك ضوئيا بواسطة جهاز الاسبكتروفوتومتر عند 330 nm . وهو شائع الانتشار في الكائنات الدقيقة والنباتات والحيوانات وهو يعمل ك Prosthetic group في المعقدات الانزيمية ذات الاغراض المتعددة (Ginsburg & statman, 1970) والتي تلامس عمليات الاكسدة المصحوبة بنزع ك أم من البيروفات ، الفاكتوجلوتارات إلى استيل كوانزيم A ، سكسينيل كوانزيم A على الترتيب .

(د) الجلوتاثيون : Glutathione :

وهو بيتيد محتوى على الكبريت شائع الاستعمال والانتشار والمجموعة الفعاله فيه هي thiol وهي تؤكسد بجزئى الاكسجين عند الظروف المناسبة (فى وجود آثار من المواد المعدنية) وايضا بواسطة سيتوكروم C . ولاعادة اختزال صورت المؤكسدة إلى الثيول أما بعوامل مختزلة قوية او بواسطة انزيم glutathione reductase (EC 1.6. 4.0) فى وجود $NAD(P)^+$. وكما انزيم من انزيمات الاكسدة والاختزال فإنه يعمل كحامل بيولوجى للايدروجين وخاصة فى البكتريا الكيمواتوتروفية .

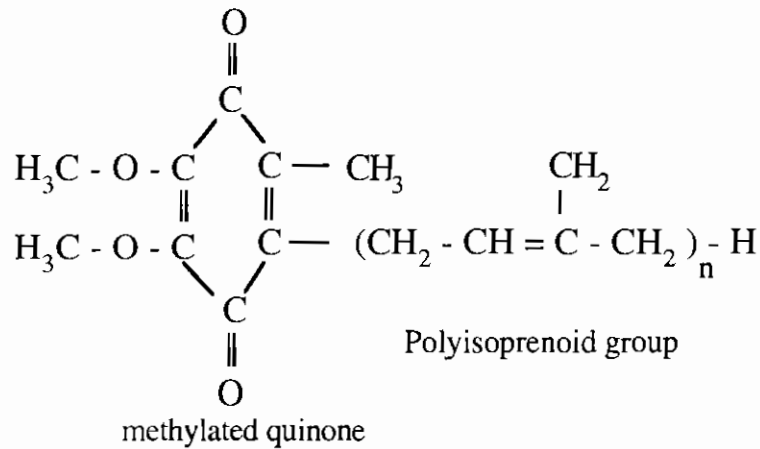
(هـ) حمض الاسكوربيك : Ascorbic acid :

فيتامين C او حمض الاسكوربيك هو عامل مختزل قوى مفيد فى زراعة البكتريا اللاهوائية . وبرغم انه يدخل فى تفاعلات الاكسدة والاختزال فإن اسم الاسكوربيك يطلق على الصورة المختزلة فقط اما الصورة المؤكسدة فتسمى حمض ديهيدرواسكوربيك وترجع أهميته إلى انه يلعب دورا فى حفظ نشاط الانزيمات المحتوية على SH - مثل الجلوتاثيون .



(و) الكينونات : Quinones :

وهي شائعة الوجود في الخلايا الحية وبعضها خاصة - methylated quinones
 المرتبطة بسلسلة جانبية من البولي ايزوبرينويد polyisoprenoid - تلعب دورا هاما كحوامل
 وسطية للايدروجين في السلسلة التنفسية .

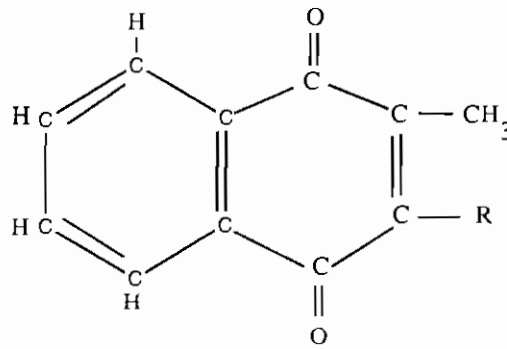


التركيب البنائي لـ ubiquinones

ويوجد قسمان هامان فى الكينونات :

الاول : مجموعة ubiquinones (كما بالرسم السابق) وهى الاسبق اكتشافا بواسطة Morton, 1953 وكانت تعرف بـ Co Q , Q₂₇₅ , SA , إلا أن IUB أوصت باستخدام ubiquinone . والصورة المختزلة منه (ubiquinol) تتأكسد من خلال نظام السيوكروم (سيوكروم C ، سيوكروم اوكسيديز) .

الثانى : مجموعة فيتامين K والمحتوية على Vit. K₁ , Vit. K₂ , menadione , وتدخل فى عمليات انتقال الالكترن فى النفسرة الضوئية فى البكتريا ويمكن للفرودوكسين Ferredoxin ان يحل محله فى هذا الدور .



شكل (٢-٦) التركيب البنائى لفيتامين K

وهذا الفيتامين هو المسئول عن تجلط الدم وقد عزل K₁ من البرسم ، K₂ من السمك .

٢٠٤٠٢ المرافقات الانزيمية الناقلة للالكترونات : Electron transferring coenzymes

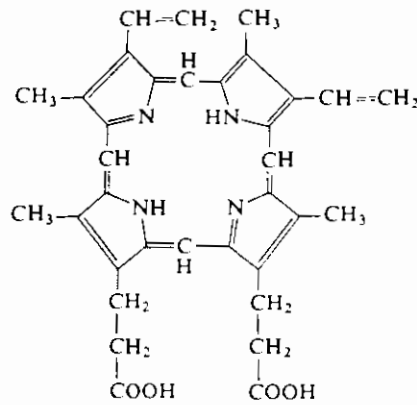
(I) السيوكروومات : Cytochromes

يطلق مصطلح السيوكروومات على كل البروتينات المحتوية على حديد Heme proteins داخل الخلايا (ما عدا الهيموجلوبين ، مايوجلوبين ، البيروكسيديز ، الكاتاليز) وهذه المجموعة تحتوى على مواد ذات وظائف مختلفة ولكن كلها تتفاعل من خلال اكسدة واختزال الحديد .

وترجع صعوبة تسمية السيتوكروومات لعزلها من مصادر مختلفة ولكن لها نفس الخواص ولقد قسمت إلى اربع مجاميع رئيسية من السيتوكروومات هي :

١ - سيتوكروم a : يحتوى على heme a ك prosthetic groups وهو ذو سلسلة جانبية ومرتبطة مع apoprotein لا تكافؤيا (non covalently) ولهذا يمكن فصله عنه بالاستخلاص بواسطة الاستيون الحمضى والصورة المختزلة منه يمكن قياسها ضوئيا عند nm ٥٨٠ - ٥٩٠ .

٢ - سيتوكروم b : يحتوى على protoheme ك prosthetic groups وهو ذو رابطة غير تكافؤية مع apoprotein ويمكن قياس صورته المختزلة عند nm ٥٥٨ - ٥٥٦ .



شكل (٧-٢) : التركيب البنائى لسيتوكروم b

٣ - سيتوكروم C : وهى السيتوكروومات ذات heme prosthetic groups المرتبطة تكافؤيا Covalently مثل الثيواستر thioester والصورة المختزلة يمكن قياسها عند ٥٤٩ - nm ٥٥١ .

٤ - سيتوكروم d : تشبه سيتوكروم a ولكن تقاس صورته المختزلة عند nm ٦٢٠ - ٦٠٠ . ولذ يسمى سيتوكروم a₂ وهى تتأكسد تلقائيا autoxidizable وترتبط مع CN , CO . وتوجد بعض الاختلافات البسيطة بين السيتوكروم العادى والسيتوكروم البكتيرى فى المجاميع الاستبداليه ومنحنيات القياس كالتالى :

* السيتوكروم البكتيري a : يمكن تقسيمه لتحت مجموعتين .

أ - سيتوكروم a : ويظهر α - bands عند 600 - 605 nm اما band γ - عند 440 nm - 445 nm ويطلق عليه سيتوكروم $a + a_3$ أو aa_3 حسب تأثيره بوجود CO , CN .

ب - سيتوكروم a_1 : ومنحنى امتصاصه α - band بين 585 - 595 nm بينما band γ - عند 435 - 445 nm .

* السيتوكروم البكتيري b : ويتراوح منحنى امتصاصه α - band بين 562 - 565 nm (نوع b) ، بين 557 - 560 nm (نوع b_1) كما يوجد نوع (o) وله القدرة على الارتباط مع CO مثل سيتوكرومات d , a_3 , a وهو يظهر كمعقد O - CO وله ثلاث Bands γ , β , α عند 557 - 567 ، 532 - 537 ، 415 - 420 nm على الترتيب .

* السيتوكروم البكتيري C : برغم انه لم يحصل عليه بصورة نقيه بعد الا أن الدراسات المقارنة تدل على وجود 6 أنواع منه وقد استخدم فى هذه الدراسات : منحنيات الامتصاص ، القدرة على تكوين معقدات مع بعض المواد مثل CO ، حجم الجزيئ ، isoelectric pH ، جهد الاكسدة والاختزال القياسى ، تسلسل الاحماض الأمية فى السلاسل البينية والانواع الستة كمايلى :

أ - سيتوكروم C_2 : المعزول من *Rhodospirillum rubrum* وهو ذاتى فى الماء وذو وزن جزيئى 12,000 - 14,000 وجهد الاكسدة والاختزال اكبر من +0.28V ، ويحتوى على هيم واحد ذو reduced band α - عند 550 - 552 nm .

ب - سيتوكروم C_3 : ولقد عزل اولاً من البكتريا اللاهوائية الختمية *Desulfouibrio desulfuricans* وهو ذو جهد اكسدة واختزال قوى جدا (-0.25V) ولذا فهو ذاتى التأكسد autoxidizable ووزن الجزيئ حوالى 13,000 وهو يشارك فى عمليات اختزال السلفيت والسلفات وانطلاق غاز الايدروجين بواسطة hydroginase ويدخل فى phosphoroclastic reactions .

وسيتوكروم C - 552 المعزول من *E. coli* بشبه سيتوكروم C_3 بسبب قوة جهد اكسدته (-0.2V) .

ج - سيتوكروم C_5, C_4 : وقد عزلا من *Azotobacter vinelandii* وهما يظهر α - band مختزل عند ٥٥١ ، ٥٥٤ nm على الترتيب وزنهما الجزئي متشابه ١٢,٠٠٠ وجهد اكسدة واختزال لكليهما $+ 0.3V$, $0.32V$ على الترتيب .

د - سيتوكروم C^-, CC^- ويحتوي مجموعة أو مجموعتين هيم (على الترتيب) مرتبطة تكافليا بالجزئ .

وجه المقارنة	mono heme cyt. C'	diheme cyt. CC'
الوزن الجزئي	١٣,٠٠٠ - ٢٩,٠٠٠	٢٧,٠٠٠ - ٣٠,٠٠٠
Eh	0 - 0.1	0 - 0.1
bands - ٨	420 - 435 nm	390 - 400 nm
مكان وجوده	<i>Rhodospirillum palustris</i> <i>Rhodosp. molischianum</i>	<i>Rhodospirillum rubrum</i> <i>Ps. denitirificans</i>

(II) الفيرودوكسين Ferredoxin

- تم اكتشاف حامل الكترولونات جديد خلال العقدين الاخيرين يعمل على hydrogen side لكل من NAD^+ , $NADP^+$ المؤكسد بعكس السيتوكروم الذى يعمل كمستقبل للالكترولونات لـ $NADH \cdot H^+$, $NADP \cdot H^+$ المختزل . وعند نقل الفيرودوكسين للالكترولون إلى $NAD(P)^+$ فإن جهد الاكسدة والاختزال يصل إلى $- 0.40V$ (عند pH 7) والذى يقع بين جزئ الايدروجين ونظام $NAD^+ / NADH \cdot H^+$.

- ومعطى الالكترولون اما غاز الايدروجين أو تفاعل قوى فوتوكيمياوى الذى يحرر الالكترولونات مع تكوين قوة اختزالية مساوية على الاقل لجزئ الايدروجين .

- ويوجد الفيرودوكسين أساسا فى البكتريا اللاهوائية والكلوروبلاست وأول عزله كان من *Clostridium pasterianum* والاسم الحقيقى اطلق عليها تقريبا سنة ١٩٦٢ وهى بروتينات غير محتوية على الحديد .

- تلعب دورا رئيسيا فى عملية التمثيل الضوئى والتخمير وتثبيت النتروجين هوائيا وهو يعمل اساسا كحامل للالكترتون ولكن تركيبة الكيمياوي يختلف حسب التفاعل .
 - وللان هناك ٤ أنواع من الفيرووكسين هم :
 - ١ - Ferredoxin a المعزول من الميكروب السابق ويلاحظ عموما فى كل البكتيريا اللاهوائية الخضراء المخمرة والتي لا تقوم بعملية التمثيل الضوئى ويشاهد منحني قياسه عند ٣٨٥ - ٣٩٠ nm وايضا فى منطقة UV عند ٢٨٠ nm ووزن الجزئى ٦٠٠٠ وهو يحتوى اكثر من مجموعة حديد وكبريت .
 - ٢ - Ferredoxin a₁ وهو معزول من *chromatium sp.* ويلاحظ فى كل بكتريا الكبريت الارجوانية المثلثة للضوء ووزن الجزئى ١٠,٠٠٠ وهو اكثر سالبية للالكترتون (- 0.49V) عند pH المتعادل ومنحنى قياسه مثل السابق ولكن يحتوى على ٧ إلى ٨ مجاميع حديد وسلفيد للجزئى .
 - ٣ - Ferredoxin b وقد اكتشف باسبانيا ووزنه الجزئى ١٢,٠٠٠ وشائع الوجود فى النباتات والطحالب ومنحنى امتصاصه عند ٤٦٥ ، ٤٢٥ ، ٣٢٥ ، ٢٨٥ nm ويحتوى على مجموعتين حديد ومجموعتين سلفيد حرتين .
 - ٤ - Ferredoxin c ويلاحظ فى بكتريا تثبيت النتروجين هوائيا وعزل من *Azotobacter vinelandii* ووزن الجزئى ٢٠,٠٠٠ ولذا فهو اكثرهم وزنا حتى الآن . ويقاس عند ٤٠٠ nm ويحتوى ٦ مجاميع حديد وسلفيد .
- ويرى كثير من الباحثين ان الفيرووكسين يتوسط فى نقل الكترتون واحد فقط ولهذا يقوم الفيرووكسين البكتيرى بعمليتين نقل للجزئى بينما فى النبات يقوم بعملية نقل واحدة .

Rubredoxin

بعكس الفيرووكسين فإن روبردوكسين يحتوى فقط على ذره حديد واحدة للجزئى ولا يحتوى سلفيد غير عضوى ويعمل كحامل الكترتون (وحيد) فى تفاعل الاكسدة والاختزال وله جهد اكسدة واختزال اقوى كثيرا من الفيرووكسين البكتيرى (- 0.57V) ويلاحظ منحني قياسه عند ٤٩٠ ، ٣٨٠ ، ٢٨٠ nm ووزنه الجزئى ٦٠٠٠ ويدخل فى كثير من التفاعلات البيولوجية التى يشارك فيها الفيرووكسين .

(III) الفلافودوكسين Flavodoxin

إذا نمت الميكروبات على بيئة محتوية على كمية غير كافية من الحديد لتشجيع تكوين ferredoxin فإن الفلافودوكسين يمكن ان يحل محله .

وهذا المرافق خالى من المعادن أو السلفيد وذو وزن جزئى مرتفع ١٥,٠٠٠ ويحتوى ما يوازى امول من FMN وفرق جهد الاكسدة والاختزال بين flavodoxin semiquinone , reduced flavodoxin حوالى 0.37V - وهو يقارب فرق جهد الفيروودوكسين ولذا يمكنه ان يحل محله . وقد عزل من *Azotobacter vinelandii* , *Disulfovibrio gigas* , وأيضا *Clostridium pasterianum* .

Diaphorases

وهى فلافويربروتينات قادرة على ملامسه اكسدة نيوكليدات البريدين المختزلة بواسطة مواد عضوية مثل ازرق الميثيلين او الاندوفينول ومركبات غير عضوية مثل فيروسيانيد ولكن لا يستطيع التفاعل مباشرة مع جزئى الاكسجين ومعظم هذه الانزيمات يحتوى FAD , FMN , كـ prosthetic group ووزنها الجزئى ٥٠,٠٠٠ - ٧٠,٠٠٠ .

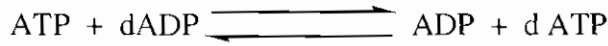
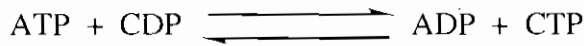
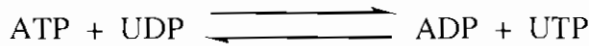
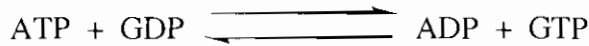
٣٠٤٠٢ المرافقات الانزيمية الناقلة للمجاميع : Group-transferring coenzymes

(I) الناقلة للفوسفات phosphate carrier :

- اهم نوعين من تفاعلات النقل هما نقل الالكترولون ونقل الفوسفات والنوع الأول يتعلق بانتاج الطاقة بينما النوع الثانى يتعلق بنقلها من عملية لآخرى وتخزينها .
- والحامل البيولوجى للفوسفات هو ادينوسين ثلاثى وثنائى الفوسفات ATP , ADP الذى يتفاعل كعامل مساعد فى عمليات نقل الفوسفات Transphosphorylation والانزيمات التى تلامس تفاعلات الانتقال من أو إلى حوامل الفوسفات هى مجموعة الكينيز (4 - EC 2.7.1) Kinases .
- وليس واضحا تماما إلى أى مدى نستطيع نيوكليوسيدات الفوسفات الاخرى مثل inosine diphosphate (IDP), guanosine diphosphate (GDP),

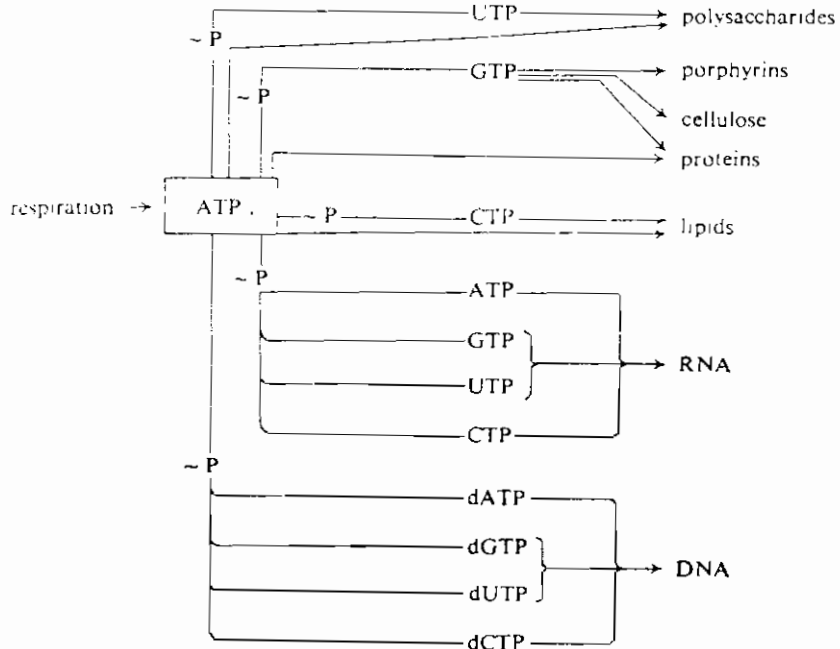
cytidine diphosphate (CDP), uridine diphosphate (UDP) التفاعل كحوامل فوسفاتية .

- وقد ذكرت سابقا ميكانيكية تكوين ATP كمركب غنى بالطاقة حيث يحتوى رابطتين غنيتين بالطاقة وله مقدرة عالية على نقل المجموعة الفوسفاتية . ويمكن لمركب ATP القيام بالآتى :
- نقل مجموعة الفوسفات الطرفية وانطلاق ADP .
- نقل مجموعة البيروفوسفات وانطلاق AMP .
- نقل AMP وانطلاق البيروفوسفات .
- نقل الادنيوسيل وانطلاق الارثو فوسفات والبيروفوسفات .
- وقد سبق وصف انتقال مجموعة الفوسفات الطرفية إلى ATP وفى حالة انتقال البيروفوسفات بالرغم من ان هذا النوع من الانتقال لم يلاحظ بعد - الا ان الخلية تستخدمه لترسيب الفوسفات فى ADP اثناء الفسفرة المؤكسدة أو التخمر حيث لا بد من تحليله مائيا اولاً إلى الارثوفوسفات فى وجود انزيم pyrophosphatase (EC 3.6 .1.1) مع انتاج طاقة حرة ضخمة .
- ويعتقد أن ATP هو الاساس فى انتقال الطاقة المرتبطة بينما كل النيوكليوسيدات تراه فوسفات تعمل كقنوات لنقل طاقة ATP إلى مختلف الدورات الحيوية . ومثل هذه القنوات سهلة الحدوث لان مجموعة الفوسفات الطرفية لمركب ATP يمكن ان تنقل انزيميا إلى النيوكليوسيدات داي فوسفات الاخرى وذلك بواسطة انزيمات nucleoside diphosphate kinases (EC 2.7 4.6) كمايلى :



حيث d ADP هو دى أوكسى ادينين داي فوسفات .

وتتميز كل نواقل الفوسفات بأن لها نفس الطاقة الحرة للتحلل المائي لمجموعة الفوسفات الطرفية مثل ATP علما بأن ADP فقط هو الذي يستقبل مجموعة الفوسفات اثناء الفسفرة المؤكسدة . لهذا فإن نظام ADP / ATP ضروري لفسفرة UDP , GDP . الخ . وللماء القنوتات بمجاميع الفوسفات الغنية بالطاقة كما في الرسم التالي :



شكل (٢ - ٨) : توزيع الطاقة من ATP للتخليق الحيوي لمكونات الخلية نقلا عن Lehninger, 1965

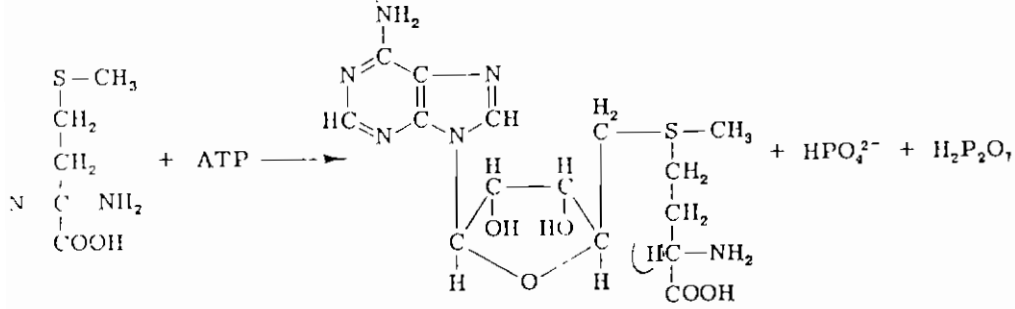
(II) الناقلة لمجموعة ذات ذرة كربون واحدة One carbon group carrier :

- تماما مثلما تستطيع ATP حمل ونقل مجاميع الفوسفات فإنه يوجد مرافقات انزيمية تستطيع نقل مجموعة كربونية ذات ذرة كربون واحدة مثل :
- مجموعة الميثايل (CH_3^-) من الميثانول CH_3OH .
 - مجموعة هيدروكسي ميثيل (CH_2OH) من السيرين $\text{HOH}_2\text{C} - \text{NH}_2 - \text{COOH}$.
 - مجموعة الفورميل (CHO) من حمض الفورميك ($\text{H} \cdot \text{COOH}$) .
 - مجموعة الكربوكسيل (COOH) من حمض الكربونيك ($\text{HO} - \text{COOH}$) .

ومن أشهر هذه المرافقات الانزيمية الناقلة :

★ **adenosyl methionine (أو الميثونين المنشط) :**

ويقوم بنقل مجموعة الميثيل وحيث ان رابطة الثيواستر thioester المرتبطة بمجموعة الميثيل ليس لها جهد عالى فإن ATP ضرورى لعملية التنشيط لتكوين Sulfonium فى شكل ادينوسيل ميثونين كالتالى :



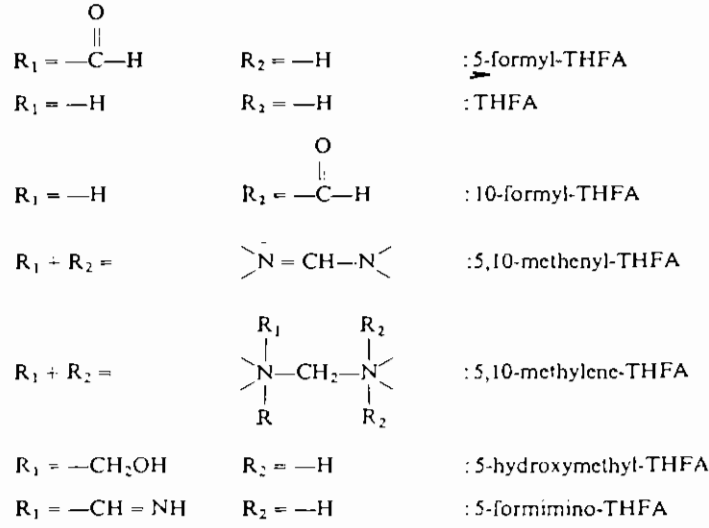
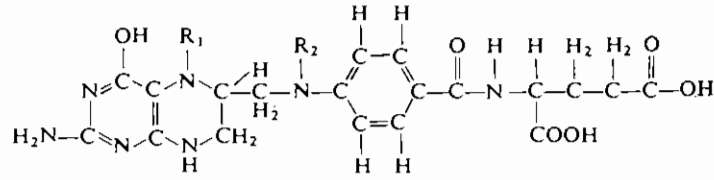
شكل (٢ - ٩) : ميكاتيكية عمل المرافق الانزيمى الميثونين

★ **(THFA) Tetrahydrofolic acid :**

فهو المرافق الانزيمى المستول عن نقل مجاميع هيدروكسى الميثيل ، فورميل ، formimino . والناقل النشط ليس حمض الفوليك كما اعتقد لبعض الوقت ولكن THFA . وفى تفاعلات البكتيريا فإن مشتق البولى جلوتامات polyglutamate لحمض الفوليك يشجع نمو بعض السلالات .

ومركب THFA سريع الاكسدة الذاتية autooxidizable وسريع التحول إلى dihydrofolate بواسطة الاكسجين كما يتأكسد انزيميا بواسطة NADP⁺ . ويختزل مركب folate إلى داي او تتراهيدروفولات بواسطة NADPH.H⁺ وبمساعدة انزيم DHFA dehydrogenase (EC 1.5.1.4) .

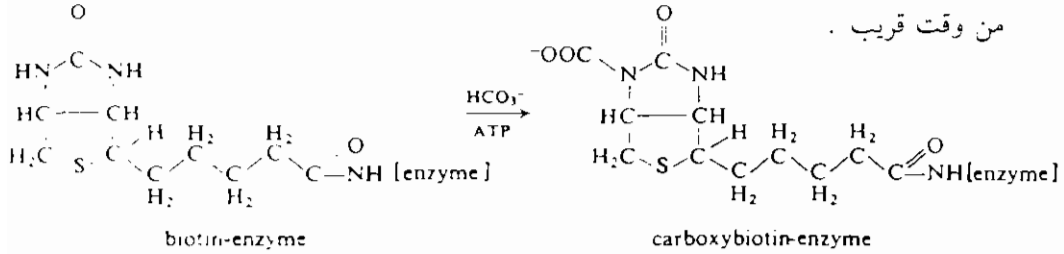
ويختلف THFA عن النواقل الاخرى بأن المجموعة المنقولة يمكن أن تتغير أو تتحول بينما مازالت مرتبطة بالناقل أى أن المجموعة المعطاة للمستقبل ليس شرط ان تكون مطابقة للتي تفصل عنه .



شكل (٢ - ١٠) : مركب حمض تتراهيدروفوليك ومشتقاته

★ البيوتين Biotin :

وهو فيتامين معروف وهو مشتق حلقى من اليوريا مع حلقة thiophan مرتبطة به كما بالرسم ووظيفته كعامل مساعد للتفاعلات الانزيمية المتضمنة ادخال أو نقل CO_2 وقد اكتشف من وقت قريب .



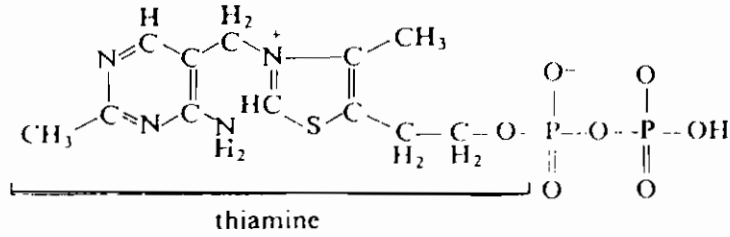
شكل (٢ - ١١) : دور البيوتين في تفاعلات تثبيت ك C_4

ويرتبط البيوتين مع بروتين الانزيم بواسطة رابطة ببتيديه مع مجموعة الامين في Lysyl . وعملية تحميل البيوتين بـ ك C_4 تحتاج لطاقة أى ATP ويرتبط ك C_4 مع ذرة التروجين للبيوتين ويعتبر عندئذ فى صورته منشطة التى تشارك فى العديد من تفاعلات Carboxylation مثل تكوين malonyl - CoA من acetyl - CoA .

(III) الناقلة لمجموعة ذات ذرتين كربون Two carbon group carrier :

★ بيروفوسفات الثيمين (TPP) Thiamine Pyrophosphate :

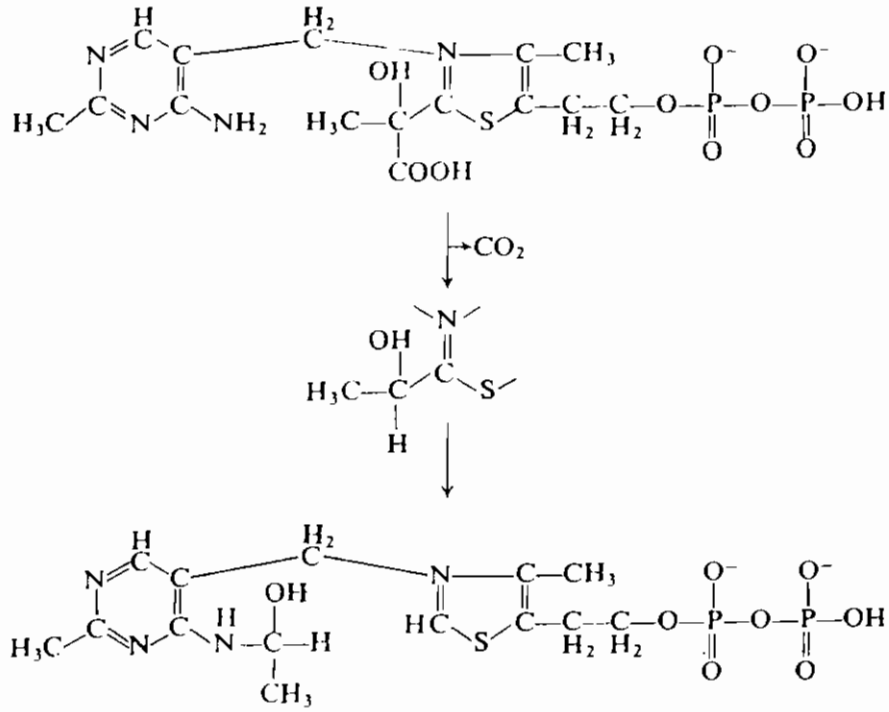
وهو المرافق الانزيمي الذي ينقل الاستيالددهيد والجليكولدهيد ويعرف ايضا محتواه من الكبريت حيث يحتوى التكوين البنائى له على حلقتين : واحدة بيريميدين والاخري ثيازول thiazol ولذا يحمل شحنة موجبة دائما .



شكل (٢-١٢) : التركيب البنائى للبيروفوسفات ثيمين (TPP)

ويعمل كـ prosthetic group لانه يرتبط بروتين الانزيم فى كل التفاعلات المحتوية على احماض الفاكيتونية مثل البيروفات حيث ترتبط ذرة الكربون الثانية C₂ حلقة الثيازول مع مجموعة الفاكيتو فى صورته القطبية polarized وبالتالي يلامس نزع ك أم ويتكون الاستيالددهيد فى صورة منشطة على ذرة C₂ حلقة الثيازول والذي ينتقل إلى مجموعة الامينو المجاورة ويصبح الآن حر الانطلاق أو ينتقل إلى مستقبل آخر كما فى شكل ١٣٠٢ .

والمركب الوسطى يسمى α - هيدروكسى ايثيل ثيمين فوسفات ونواتجه النهائية تتوقف على أى انزيم سيشارك فى التفاعل التالى . ومن أهم التفاعلات التى يشارك فيها TPP هى نزع ك أم بالاكسدة oxidative decarboxylation للأحماض الالفاكيتونية حيث ينقل الاستيالددهيد المتبقى إلى حمض الليبوثيك الذى يعمل كعامل مؤكسد وفى تفاعل transketolase يعمل TPP كمرافق انزيمي فى نقل الجليكولدهيد .

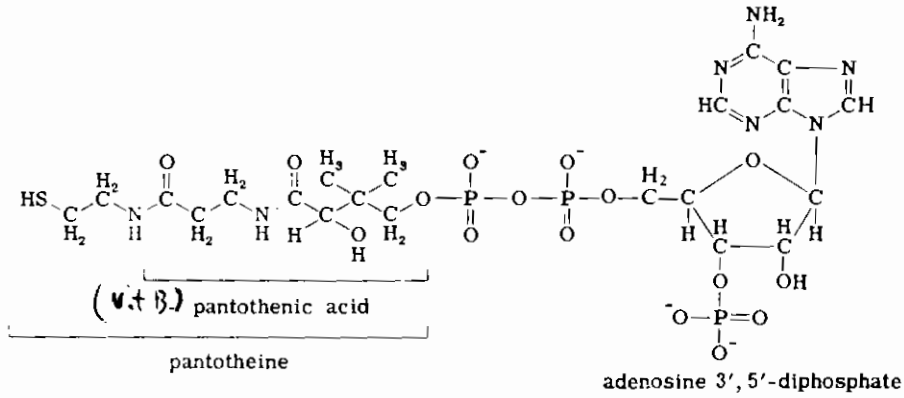


شكل (٢ - ١٣) : كيفية انطلاقه ك أ_٢ وانتقال الاستالدهيد بملامسة TPP

★★ Coenzyme A (Co A) :

تعطى الدراسات الحديثة فى التفاعلات الايضية للكربوهيدرات انتباها لعملية نقل مجموعة الاسيل acyl group خاصة بواسطة النواقل المحتوية على مجاميع الثيول thiol مكونة استرات الثيول thioesters لان هذه المركبات الغنية بالطاقة تشارك مع مركبات الفوسفات الغنية بالطاقة فى وظيفة نقل الطاقة الحيوية الهامة .

وقد اكتشف CoA بواسطة lipman , 1947 والحرف "A" مشتق من acylation ورابطة الاحماض مع المركب CoA لها قدرة عالية على نقل مجموعة الاستيل المنشط ويعرف باسم Acetyl - CoA . وقد اكتشف مؤخرًا ان acyl - CoA يمكن ان يتفاعل اكثر من ٦٠ انزيم على مركباته . والتحلل المائى لـ acyl - CoA ينتج طاقة حوالى 8000 cal / mole .



شكل (٢ - ١٤) : التركيب البنائي للمركب Coenzyme A

وهو يعتبر أكثر تعقيدا من السيتوكروم أو NAD . ومركب pantotheine هو عامل نمو للعديد من الكائنات الدقيقة ويتكون من pantoic acid ، β - alanine ، mercaptoethylamine . والمركب الناتج من اتحاد pantoic acid ، β - alanine يعرف pantothenic acid (المعروف بفيتامين B) .

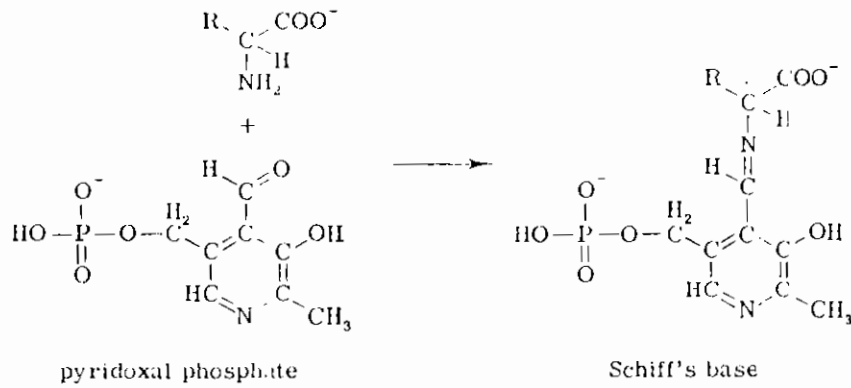
- وكما ذكرنا فإن acetyl - CoA أهم مركبات CoA حيث ترتبط مجموعة الاستيل $\text{CH}_3 - \text{CO}-$ مع مجموعة SH - الحرة مكونة ثيواستر ولرابط الاستيات أو أى حمض كربوكسيلي آخر مع هذا المركب فإن يحتاج لطاقة وهي غالبا تشتق من تفاعلات منتجة للطاقة مثل oxidative decarboxylation أو من انشقاق ATP .

- مركب CoA مادة غير ملونة يمكن قراءتها عند 257 nm بواسطة الاسبكتروفوتومتر بسبب احتوائها على adenine . ويقع كل acid - thiol - ligases في تحت المجموعة الانزيمية (ES 6.2.1) حيث تلامس تكوين CoA thioesters من الاحماض الحرة مستخدما الطاقة من ATP ، GTP بينما كل acyl transferases (EC 2.3.1) تنقل مجموعة الاستيل إلى أو من CoA . ويدخل ايضا استيل كوانزيم A في التفاعلات التي يلامسها انزيمات lyases . وتضاف مجموعة الاستيل إلى أى جزئ مستقبل ذو رابطة زوجية سواء بواسطة أو بدون التحلل المائي لرابطة الثيواستر وهو اساس البدء لدوره حمض الستريك (TCA) ، هدم الاحماض الدهنية بالاكسدة وللعديد من العمليات التخليقية الاخرى .

(IV) المرافقات الانزيمية الناقلة لجاميع اخرى :

★ بيريدوكسال الفوسفات (PALP) pyridoxal phosphate :

وهو المرافق الانزيمى لتحويلات الاحماض الامينية مثل نقل مجموعة الامينو-transamination . وهذا المرافق يعتبر مثال ممتاز للمرافقات الانزيمية المفردة القادرة على ملامسه التفاعلات المتعددة المتلفة بالكامل فهو يدخل ايضا فى انزيمات نزع ك أ⁺ decarboxylases ومختلف انزيمات الازالة والاضافة lyases والتخليق synthetases وميكانيكة عمله يعتقد انها تكوين azomethine باتحاد مجموعة الالدهيد مع مجموعة الامينو فى مادة التفاعل ويتوقف نواتج التفاعل على طبيعة البروتين الانزيمى Apoenzyme المرتبط به هذا المرافق (PALP) وعلى مجموعة R .



شكل (٢ - ١٥) : تكوين schiff's base من مادة التفاعل والمرافق

بيريدوكسال فوسفات

★★ فيتامين ب₁₂ (Cobalamine) :

وهو سرائق انزيمى فى مجال isomerization ويعمل كناقل لمجاميع الميثيل

٥-٢ القوى المحركة للنمو البكتيري : Bacterial Growth kinetics

١-٥-٢ المزارع ذات الدفعة الواحدة : Batch Cultures

عند تلقيح الخلايا الميكروبية في مرق مغذى وتحضيرها على درجة حرارة مناسبة فإنه تحدث سلسلة من التغيرات التي يمكن متابعتها بطرق مختلفة بعد فترة التأقلم lag period حيث تزداد الكائنات في الكتلة وتنقسم مسببا زيادة في كمية المادة الحية وهو ما تطلق عليه النمو . وعند توافر الظروف المناسبة للنمو والتضاعف فإن كمية المادة الحية تزداد - ليس في تناسب مباشر مع الزمن - ولكن طبقا لمتوالية هندسة كالتالي :

$$2^0 \longrightarrow 2^1 \longrightarrow 2^2 \longrightarrow 2^3 \longrightarrow 2^4 \dots\dots\dots 2^n$$

فيإذا كان عدد الخلايا في اللقاح هو N_0 فإن عدد الخلايا N بعد عدد من الانقسامات هو :

$$N = N_0 \times 2^n \dots\dots\dots (1)$$

$$\therefore \log N = \log N_0 + n \log 2 \dots\dots\dots (2)$$

وبالتالي يمكن حساب عدد الاجيال أو انقسامات الخلية بين N, N_0

$$n = \frac{\log N - \log N_0}{\log 2} \quad (3) \quad (\text{عدد الاجيال})$$

$$\therefore \log 2 = 0.301$$

$$\therefore n = 3.32 (\log N - \log N_0) \quad (4)$$

وإذا دخل تحت هذه الظروف المثالية - عامل الزمن - فإنه يمكن الوصول إلى معدل التضاعف (r) للمزرعة .

$$r = \frac{n}{t_1 - t_0} = \frac{3.32 (\log N - \log N_0)}{t_1 - t_0} \quad (5)$$

ويتم هذا النمو في مرحلة الطور اللوغاريتمي اما لو اخذنا في الاعتبار التغيرات الحادثة في بيئة النمو حيث يستهلك عناصر غذائية وتفرض نواتج جديدة مما يسبب تغير pH ويقلل

تركيز الاكسجين في حالة الميكروبات الهوائية مثلا ولهذا فعملية النمو تؤدي إلى وسط نهائي قد لا يناسب مزيد من النمو وعندئذ تدخل المزرعة في مرحلة الثبات stationary state أى أن تعاقب التغيرات بسبب دورة النمو الميكروبي وما يحدث فيها من تداخلات وتفاعلات مع البيئة يؤدي لعدم وجود ظروف مثالية في معظم الاحوال .

وحيث ان الظروف المثالية ليست موجودة عادة في "batch culture" فإنه يستعمل اصطلاح g أى « زمن الجيل أو زمن التضاعف » بدلا من عدد الأجيال (n) .

$$g = \frac{t}{n} \quad (6)$$

ومن معادلة (5) .

$$g = \frac{1}{r} \quad (7)$$

$$n = \frac{t}{g} = t \times r \quad (8)$$

وليس سهلا قياس زمن التضاعف في المزرعة الميكروبية نظرا لصعوبة تقدير عدد الخلايا عند N, N_0 ولذا تستخدم تعبير كتلة البكتريا النامية (x) بدلا من عدد الخلايا .

وبالرجوع إلى معادلة (1)

$$N = N_0 \times 2^n$$

وبالتعويض عن n من معادلة (8)

$$\therefore N = N_0 \times 2^{\frac{t}{g}}$$

وبالتعويض عن عدد الخلايا بكتلة الميكروبات (X) فإن

$$X = X_0 \cdot 2^{\frac{t}{g}}$$

وبتحويلها إلى الصورة اللوغاريتمية

$$\ln x = \ln x_0 + \frac{t}{g} \ln 2 \quad (9)$$

وبالنظر إلى عنصر الزمن وعلى اعتبار أن $X_0 = 1$ فإن المعادلة تتحول إلى

$$\frac{d(\ln x)}{dt} = 0 + \frac{\ln 2}{g} \quad (10)$$

وبالرجوع إلى معادلة (9) فإن

$$\begin{aligned} \ln x - \ln x_0 &= \frac{t}{g} \ln 2 \\ x &= x_0 e^{\frac{\ln 2 t}{g}} \\ \frac{dx}{dt} &= \frac{\ln 2}{g} \cdot x \\ \therefore \frac{1}{x} \frac{dx}{dt} &= \frac{\ln 2}{g} \end{aligned} \quad (11)$$

ومن معادلة (10) , (11) .

$$\frac{1}{x} \frac{dx}{dt} = \frac{\ln 2}{g} = \frac{d(\ln x)}{dt} = \mu \quad (12)$$

حيث تمثل μ معدل النمو المتخصص specific growth rate .

ولشرح الفرق بين growth rate , specific growth rate .

يمكن تحديد الآتي :

١ - المعدل الحقيقي لزيادة تركيز الكائن $\frac{dx}{dt}$ يعرف growth rate .

٢ - معدل الزيادة بالنسبة لوحدة تركيز الكائن $\frac{1}{x} \frac{dx}{dt}$ يعرف specific growth rate .

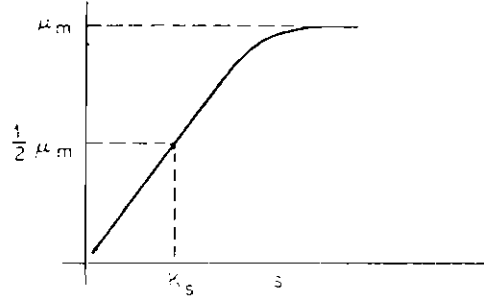
وباحلال $\frac{\ln 2}{g}$ في معادلة (9) بقيمة μ تصبح

$$\ln x = \ln x_0 + \mu t \quad (13)$$

وبرسم t على المحور الافقى ، $\ln x$ على المحور الرأسى فإننا نحصل على خط مستقيم

ذو انحدار يعتمد على معدل النمو وتدرج هذا الخط هو μ الذى يقاس بالعلاقة

$$\mu = \tan \alpha = \frac{BB'}{AB} = \frac{CC'}{AC}$$



شكل (٢ - ١٦) : تقدير specific growth rate (μ) من المنحنى القياسى

أو يمكن حساب μ مباشرة بالمعادلة (13) حيث

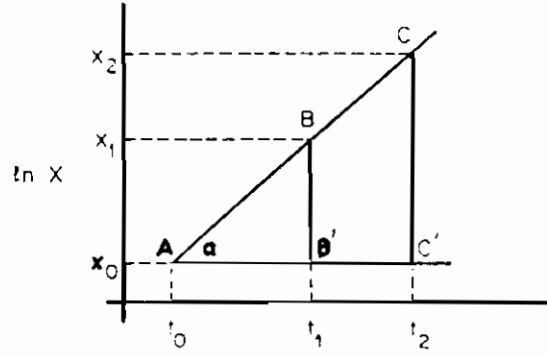
$$\mu = \frac{\ln x - \ln x_0}{t} \quad (14)$$

وبالرجوع إلى معادلة (12) حيث $g = \frac{\ln 2}{\mu}$

وبالتعويض من معادلة (14) السابقة يمكن حساب زمن الجيل

$$\begin{aligned} \therefore g &= \frac{t \ln 2}{\ln x - \ln x_0} \\ &= \frac{0.69 t}{\ln x - \ln x_0} \end{aligned} \quad (15)$$

وواضح من كل العلاقات الرياضية السابقة امكانية استنتاج ان batch cultures تتأثر بوضوح بالبيئة وخاصة تركيز المغذيات الاساسية (مادة التفاعل) . فإذا وضع μ على المحور الرأسى وتركيز مادة التفاعل (S) على المحور الافقى فإنه تنتج علامة تشبه قياس سرعة الانزيم أى يزداد معدل النمو المتخصص بزيادة تركيز مادة التفاعل حتى نقطة معينة (μ_{max}) لا يجدى بعدها أى زيادة فى تركيز (S) ويثبت معدل النمو المتخصص كما بالرسم التالى .



شكل (٢ - ١٧) : العلاقة بين معدل النمو المتخصص للبكتيريا (μ) وتركيز مادة التفاعل (S) ومنه يمكن تحديد ثابت تشبع مادة التفاعل (K_s)

وقد وضع Monod, 1942 هذه العلاقة في صورة رياضية

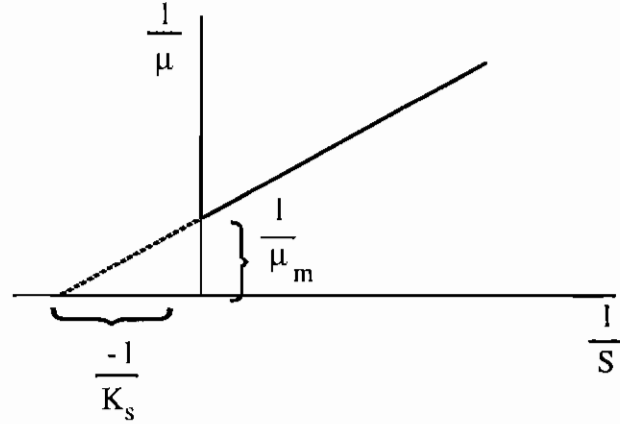
$$\mu = \mu_m \left(\frac{S}{K_s + S} \right) \quad (16)$$

حيث μ_m = القيمة العظمى لمعدل النمو المتخصص (μ) (عندما لا تكون مادة التفاعل هي العامل المحدد)

$$K_s = \frac{1}{2} \mu_m \text{ عند ثابت التشبع لمادة التفاعل عند } \mu_m$$

وحيث انه في batch cultures كل المواد الغذائية موجودة ابتداءً وفي تركيزات كافية حتى لا تكون عاملاً محدداً لمعدل النمو المتخصص (μ) لذا فإن μ يكون مساوياً μ_m اثناء مرحلة النمو اللوغاريتمي اما ثابت مادة التفاعل K_s فإنه عادة أكبر من zero ولذا فإن قيمة المعادلة عامة اصغر من ١ .

وتتشابه المعادلة (16) مع معادلة Michaelis - Menten مما يصف ضرورة اخذ القوى المحركة للنظام الانزيمي في الاعتبار . وهذا التشابه يظهر ان كلا المعادلتين يتحكم فيهما قيمة التشبع لاحد مكونات النظام ولذا يمكن استخدام طريقة Lineweaver and Burk لتقدير قيمة K_s , μ_m .



شكل (١٨-٢) : تقدير μ_m , K_s باستعمال lineweaver - Burk plots

ويمكن استعمال المعادلة التالية لتقديرها

$$\frac{1}{\mu} = \frac{K_s + S}{\mu_m S} = \frac{1}{S} \frac{K_s}{\mu_m} + \frac{1}{\mu_m} \quad (17)$$

ويرسم $\frac{1}{\mu}$ على المحور الرأسى ، $\frac{1}{S}$ على المحور الافقى فتحصل على خط مستقيم

يحدد $\frac{1}{\mu_m}$ ، $\frac{1}{K_s}$. كما فى الرسم السابق .

ولقد وجد Monod, 1942 علاقة رياضية بين نمو المزرعة واستهلاك مادة التفاعل

$$\frac{dx}{dt} = -y \frac{ds}{dt}$$

حيث y هى yield factor ويحسب كالتالى

$$y = \frac{\text{وزن البكتريا المتكونة}}{\text{وزن مادة التفاعل المستهلكة}}$$

وهناك العديد من المراجع الممتازة لمزيد من التفاصيل مثل , stouthamer, 1969

. Rose, 1965

٢٠٥٠٢ المزارع المستمرة : Continuous Culture :

تبدأ كل المزارع المستمرة مثل المزارع ذات الدفعة الواحدة حيث تحضن البيئة الموجودة في روارق التنمية مع الكائن المطلوب تنميته فإذا اضيف مزيد من البيئة اثناء طور النمو اللوغاريتمى للمزرعة بمعدل كافى ليحتفظ بكثافة ميكروبات المزرعة ثابتة ، فإن النمو الميكروبي لا يهبط كما فى المزرعة المتقطعة ولكن يستمر كما هو .

ويزداد معدل اضافة البيئة وحجم المزرعة اسيا بزيادة الكتلة الحيوية ولذا يزود النظام بوسيلة للتخلص من الزائد من المزرعة بمعدل يساوى معدل الاضافة أى ثبات حجم النظام حيث المواد الداخلة (input) بنفس معدل الخارج (output) (overflow) منه .
والتغير فى الطاقة يكون ثابتا ($\Delta F = \text{constant}$) .

ومن الأجهزة المستخدمة فى المزارع المستمرة ما يعرف بـ "chemostat" حيث ينمو الكائن عند معدل نمو متخصص يشبه μ_m . ولهذا الغرض فإن المزرعة تكون ذات حجم ثابت (V) ويضاف إليها البيئة عند معدل ثابت (F) وهذه البيئة تحتوى على كل المواد التى يحتاجها الكائن للنمو ماعد (واحد) يوجد فى المزرعة بتركيز يتعدى احتياجات النمو . وهذا الواحد يسمى المحدد للنمو . وعند فصل هذه المادة المحددة للنمو من بقية مكونات البيئة و اضافتها منفصلة لدورق النمو فإننا نحصل على نمو أفضل وهذا النوع من النظام المفتوح ذو الخطوة الواحدة single step open system يتحدد معالنه بواسطة البيئة الجديدة الداخلة in-flow لدورق المزرعة والخارج overflow منه عند نفس المعدل ولكنه بما يحتويه من نواتج نشاط الكائن الايضى .

وتعرف نسبة الكمية المضافة من البيئة فى الساعة إلى حجم المزرعة بمعدل التخفيف (D) .

$$D = \frac{F}{V}$$

وفى هذا النظام التجريبي فإن معدل نمو الكائن لن يعتمد على معدل اضافة البيئة inflow ولكن على معدل التخفيف . فإذا احتفظ بمعدل التخفيف ثابتا فإن تركيز ما يسمى المحددة للنمو growth limiting substrate يعطى قيمة مساوية لمعدل النمو المتخصص μ ولهذا

$$\mu = D$$

ونصل لمرحلة الثبات steady state للمزرعة والتي يمكن الاحتفاظ بها لمدة طويلة بدون تغيير معدل الاضافة او تركيز مادة التفاعل .

وتركيز مادة التفاعل المؤثر يمكن التعبير عنه .

$$S_x = S_0 - S_1$$

حيث S_0 = تركيز المادة الاساسى فى البيئة الداخلة

S_1 = تركيز المادة الاساسى فى دورق التفاعل

وعندما تكون $S_x = 0$ فإن مادة التفاعل لا تستخدم ولا يحدث نمو للكائن اما إذا زادت الكتلة الحيوية biomass فلا بد ان تكون S_x موجب أى $S_1 < S_0$. وفى حالة زيادة تركيز S_x فإن معدل النمو μ سيتغير قيمته القصوى μ_m أى أن μ ستكون function لتركيز مادة التفاعل .

ولتحديد القوى المحركة للنمو البكتيرى فى المزارع المستمرة فى chemostat فلا بد من فهم العلاقة بين معدل التخفيف ، معدل النمو ، تركيز مادة التفاعل ولو أمكن التحكم جيدا فى ظروف التجربة مثل تجانس المزرعة وثبات خواص المزرعة عند التركيز العالى لمادة التفاعل المحددة للنمو ووجود بقية المغذيات الاخرى بوفرة فإن معدل μ يمكن أن يفترض انه اقتراب من حدة الاقصى μ_m .

ومن معادلة (14) فإن

$$x = x_0 e^{\mu t} \quad (18)$$

وبأخذ الزمن فى الاعتبار

$$\left(\frac{dx}{dt} = \mu x \right) \quad (19)$$

وإذا عوض عن μx بواسطة انسياب الكتلة الحيوية مع البيئة $D x$ فإن التغير الحقيقي في تركيز الكتلة الحيوية مع الوقت يمكن تقديره بالعلاقة

$$\text{increase} = \text{growth} - \text{outflow}$$

$$\frac{dx}{dt} = \mu x - D x$$

$$\frac{dx}{dt} = x (\mu - D) \quad (20)$$

أى عندما يكون $\mu > D$ فإن $\frac{dx}{dt}$ يكون موجبا وتركيز الكائن في المزرعة سيزداد مع

الوقت اما إذا كان العكس $\mu < D$ فإن $\frac{dx}{dt}$ ستكون سالبة القيمة وسيقل تركيز الخلايا مع الوقت ولن تستهلك مادة التفاعل .

اما إذا كان $\mu = D$ فإن $\frac{dx}{dt} = 0$ وسيظل تركيز الخلايا في المزرعة ثابتا مع الوقت

وهذه مرحلة المزرعة المنتظمة الثبات steady state culture ومن معادلتى (12) , (16) فإن

$$D = \mu = \mu_m \left(\frac{S}{K_s + S} \right) = \frac{\ln 2}{g} \quad (21)$$

وليس صعبا الوصول إلى هذه المرحلة لان معدل النمو للكائن فى المزرعة - المحدد بواسطة معدل اضافة مادة التفاعل المحددة للنمو - يجب ان يناسب معدل التخفيف . فإذا كان معدل التخفيف سيظل ثابتا فإن النظام سيتوازن ذاتيا .

وحيث ان معدل النمو المتخصص μ لا يمكن ان يتجاوز μ_m ولهذا لا يمكن ان نصل لحالة ثبات المزرعة عند معدل تخفيف أعلى من الحد الحرج Critical value (D_c) والتي تساوى تقريبا μ_m . اما إذا زاد معدل التخفيف عن D_c فإن المزرعة ستغسل (تنتهى) من المخمر .

ولقد ذكر سابقا أن النمو البكتيرى يعتمد أيضا على تركيز مادة التفاعل ولهذا فإنه ضروريا أن نضع فى الاعتبار ليس فقط تأثير معدل التخفيف D على معدل النمو μ ولكن

تأثير معدل التخفيف على تركيز مادة التفاعل المحددة للنمو (S) والكتلة الحيوية (x) في المزرعة .

فالمادة الداخلة في دورق النمو عند تركيز S_0 تستهلك بالكائن وتخرج مع outflow عند تركيز S ولهذا فإن التغير الصافي في تركيز مادة التفاعل .

Change of substrate = input - outflow - consumption.

$$\frac{dS}{dt} = DS_0 - DS - (\mu x / y)$$

بإحلال μ من معادلة (16)

$$\frac{dS}{dt} = D(S_0 - S) - \frac{\mu_m x}{y} \left(\frac{S}{K_s + S} \right) \quad (22)$$

وبإحلال μ في معادلة (20)

$$\frac{dx}{dt} = x \mu_m \left(\frac{S}{K_s + S} \right) - Dx \quad (23)$$

والمعادلات الثلاثة الأخيرة 21 , 22 , 23 .

١) تحدد كيميا سلوك المزرعة في Chemostat .

٢) تظهر ان المزرعة المستمرة (بصرف النظر عن مرحلة بدء نموها) لا بد أن تكون منتظمة الثبات دائما .

٣) تعبر عن قدرة التنظيم الذاتية للنظام المستمر .

ونظرا لان المعادلتين 22 , 23 تكون قيمتها صفرا عند مرحلة الثبات $\left(\frac{dx}{dt} = 0 \right)$

فإن قيم S , X يمكن حسابهما في ظروف هذه المرحلة .

* حساب الكتلة الحيوية (x) من معادلة 22

$$D (S_0 - S) = \frac{x}{y} \mu_m \left(\frac{S}{K_s + S} \right)$$

وفي حالة steady state فإن $D = \mu$ لذا يمكن اختصار المعادلة السابقة إلى

$$\therefore x = y (S_0 - S) \quad (24)$$

** حساب تركيز مادة التفاعل S من معادلة 23 .

$$D = \mu_m \left(\frac{S}{K_s + S} \right)$$

$$\therefore S = K_s \left(\frac{D}{\mu_m + D} \right) \quad (25)$$

وبإحلال S من معادلة (25) في معادلة (24) .

$$X = y \left[S_0 - K_s \left(\frac{D}{\mu_m + D} \right) \right] \quad (26)$$

وحيث ان القيم K_s , μ_m , y تم قياسها معمليا في batch culture وهكذا اصبحت ثابتة فى المزارع المستمرة فإنه يمكن تصميم السعة التنظيمية الذاتية self - regulating capacity للمزرعة المستمرة . وبتغيير S_0 , D معمليا فإن عدد كبير من حالات الثبات يمكن الوصول إليها مرتبطة فقط بتركيز S الموجود عند مستوى معين هو العامل المحدد لنحو المزرعة البكتيرية .

اسئلة لمراجعة الباب الثاني

- ١ - ما هو الانزيم وما هي وظيفته ؟
- ٢ - ما هو Michaelis - Menten Constant (K_m) وكيف يمكن حسابه ؟
- ٣ - ماهي أهمية lineweaver - Burk plot ؟
- ٤ - ما هو الفرق بين prosthetic group & Coenzyme ؟
- ٥ - اشرح الفرق بين NAD^+ , FAD^+ ، الكينونات .
- ٦ - ماهي مجاميع السيتوكروم الاربع وكيف يمكن التفريق بينهم ؟
- ٧ - ما هو الفرق بين السيتوكروم والفيروودوكسين والفلافودوكسين ؟
- ٨ - ناقش الدور الذي يلعبه كل من THFA , TPP .
- ٩ - يعتبر ATP , acetyl - CoA من أهم المركبات الغنية بالطاقة . ناقش ذلك .
- ١٠ - اذكر المعادلة الرياضية لتقدير معدل النمو المتخصص ، زمن الجيل ، معدل التضاعف ، عدد الاجيال في المزارع ذات الدفعة الواحدة .
- ١١ - ناقش العلاقة بين kinetics للنظام الانزيمي والنمو البكتيري .
- ١٢ - ما المقصود بالسعة التنظيمية الذاتية في المزارع المستمرة ؟

المراجع

1. Dixon, M. and Webb, F.C. (1964). Enzymes. 2nd Ed. Longmans, Green, New York.
2. Ginsburg, A. and Stadtman, E.R. (1970) Multienzyme systems. Annu. Rev. Biochem. 39; 429.
3. Karlson, P. (1970). Kurzes Lehrbuch der Biochemie. 7th Ed. Thieme-stuttgart.
4. Lehninger, A.L. (1965). Bioenergetics. Benjamin, New York.
5. International Union of Biochemistry Commission (1972). "Enzyme Nomenclature : Recommendations of the IUB on Nomenclature and Classification of Enzymes, together with their units and the symbols of enzyme kinetics" Elsevier, Amsterdam.
6. Málck, I. and Fenel, Z. (1966). Theoretical and methodological basis of continuous culture of microorganisms. Academic Press, New York.
7. Reed, L., de Busk, B., Gunsalus, I. and Hornberger, C. (1957). Crystalline α -lipoic acid. A catalytic agent associated with pyruvate dehydrogenase. Science, 114: 93.
8. Rose, A.H. (1969). Chemical Microbiology 3rd Ed., Butterworth, London.
9. Sokatch, J.R. (1969). Bacterial physiology and metabolism. Academic press. New York.
10. Stouthamer, A.H. (1969). Determination and significance of molar growth yields. In : Methods of Microbiology (J.R. Norris and D.W. Ribbons, eds) Vol. 1, p: 629. Academic Press, New York.

الباب الثالث
البكتيريا الممثلة للضوء
Photosynthetic bacteria
والتحولات الأيضية فى وجود الضوء
Photo metabolisms

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الباب الثالث

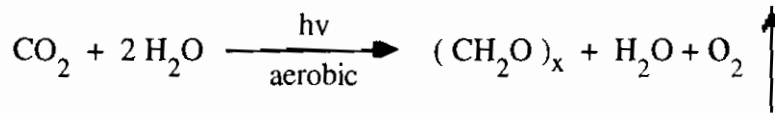
البكتيريا الممثلة للضوء photosynthetic bacteria والتحولات الايضية في وجود الضوء photo metabolisms

١٠٣ نبذة تاريخية عن التحولات الفوتوتروفية :

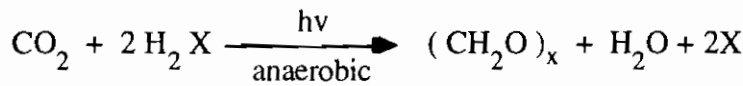
تسمى عملية تحويل طاقة الضوء المستخدمة في التمثيل الضوئي إلى طاقة بيوكيميائية في صورة ATP أو قوة اختزالية H_2 (P) NAD داخل الخلايا البكتيرية الممثلة للضوء بعملية الفسفرة الضوئية photosynthesis phosphorylation وهي تشبه لحد ما التصورات الموضوعية لهذه العملية في النباتات الراقية مع بعض الاختلافات .

فبعد ان اكتشف winogradsky سنة ١٨٨٨ قدرة بعض البكتيريا على انتاج مواد عضوية من تمثيل ك أ ه في وجود الضوء . ووصف Engelmann سنة ٨٣ - ١٨٨٨ بكتريا الكبريت الارجوانية وقسم Buder سنة ١٩١٩ البكتريا الارجوانية إلى كبريتية وغير كبريتية تمثل ك أ ه في وجود الضوء . وقد أوضح Blachman سنة ١٩٠٥ ان عملية التمثيل الضوئي تنقسم إلى خطوتين الأولى تفاعل ضوئي كيميائي والثانية تفاعل ظلام ثم جاءت النقلة الكبرى بابحاث Hill سنة ١٩٣٠ الذي فسّر كيفية تفاعل الضوء ومن بعده Van Niel سنة ١٩٤١ الذي وضع المعادلتين التاليتين .

- oxygenic photosynthesis in plants, cyanobacteria



- anoxygenic photosynthesis in purple and green bacteria



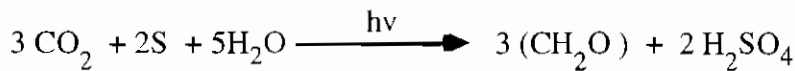
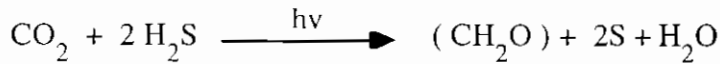
ثم جاءت ابحاث كالفن سنة ١٩٦٢ عن تفاعل الظلام ووضع تصور « دوره كالفن » عن ميكانيكية تثبيت ك أم اوتوتروفيا واثبت أن تثبيت ك أم ليس مرتبطا بتفاعل الضوء فقط والدليل على ذلك تفاعل الظلام حيث يثبت ك أم اذا توافر ATP اللازم أى أن عمليتي تكوين الطاقة وتثبيت ك أم منفصلتين عن بعضهما . واكمل ارنون ومساعدوه سنة ١٩٦٥ ابحاث كالفن عن الفسفرة الضوئية وميكانيكية انتقال الالكترون .

٢٠٣ تقسيم البكتيريا المثلثة للضوء :

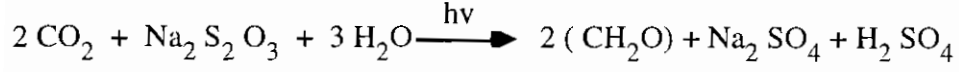
توجد ٣ عائلات رئيسية من البكتيريا المثلثة للضوء تقسم على اساس طبيعة الصبغة وطبيعة مادة التفاعل المستخدمة .

١٠٢٠٤ بكتريا الكبريت الخضراء : Chlorobacteriaceae :

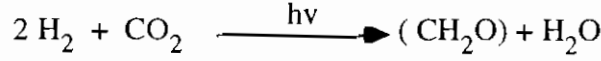
- وتتضمن اجناس *Pelodictyon, Chlorobium, Chlorochromatium, Prosthecochloris, Cylindrogloea* وأهم هذه الاجناس واكثرهم دراسة *Chlorobium sp.*
- تحتوى كل هذه البكتيريا على كلوروفيل بكتيرى ذو منحني أد مصاص عند ٧٥٠ nm اما الكلوروفيل البكتيرى a (590 nm) يوجد بكميات قليلة .
- جنس *Chlorobium* يمكنه استعمال ٤ أنواع من معطيات الايدروجين غير العضوية حسب peck سنة ١٩٦٠ وهم :
(أ) السلفيد sulfide حيث تتأكسد إلى سلفات



- ووجد ان معدل تمثيل ك أم يقل كثيرا عندما يتحول كل السلفيد (الكبريتيد) إلى كبريت وبدء تكوين الكبريتات التى تتراكم خارج الخلايا .
- (ب) الثيوسلفات thiosulfate حيث تتأكسد إلى سلفات



ج) الأيدروجين

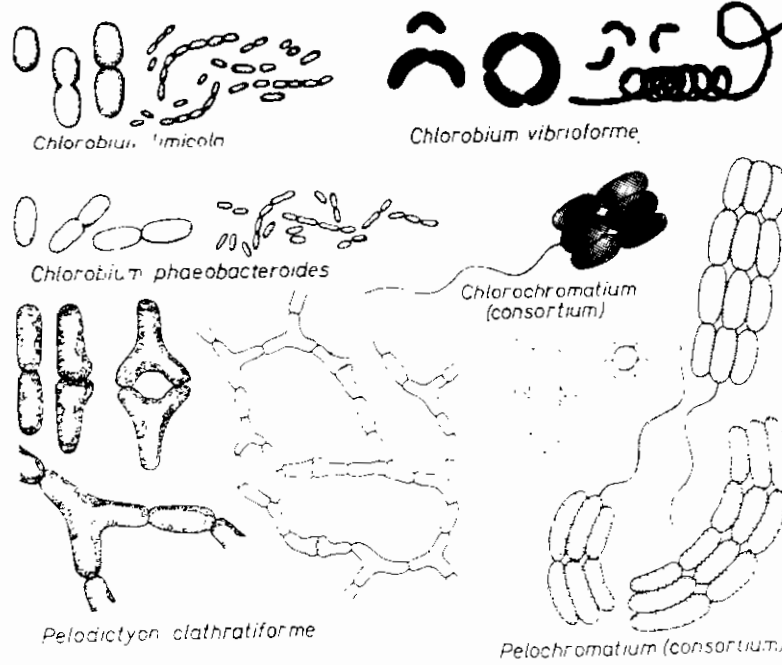


د) المواد العضوية حيث يستطيع استخدامها تحت ظروف معينة كمعطي للأيدروجين .

- الشكل المورفولوجي : ذات اشكال مختلفة مثل الشكل الشبكي (*Pelodictyon sp*) والشكل النجمي (*Prosthecochloris sp*) والشكل العصى مثل *Pelochromatium sp* .

كما انها تحتوى على سلالات ذات صبغات مختلفة منها الخضراء مثل *C. vibrioforme* , *Chlorobium limicola* والبنية مثل *C. phaeobaeteroides* .

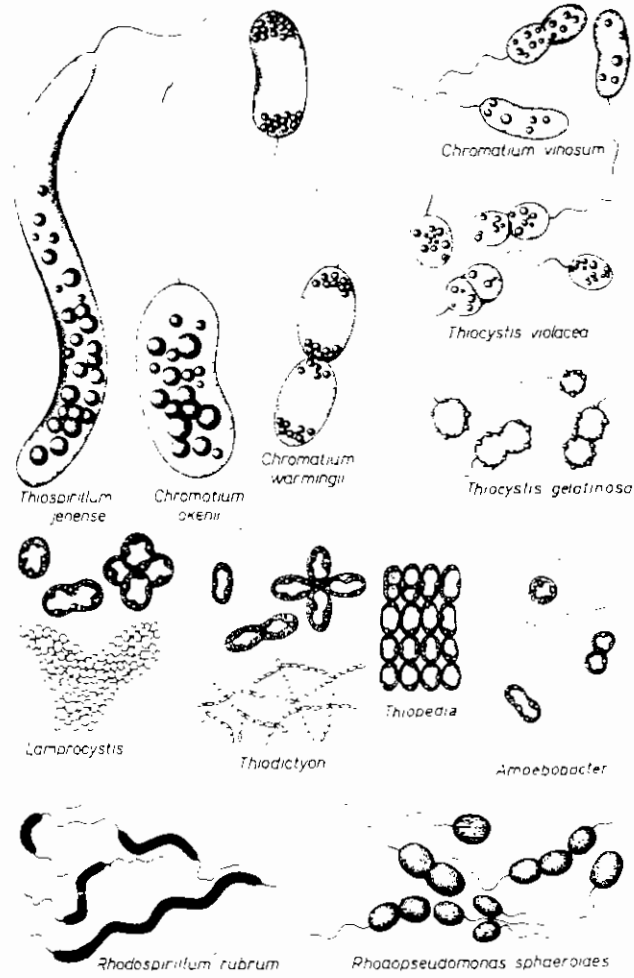
كما ان منها البكتيريا الزاحفة الخيطية مثل *Chloroflexus aurantiacus* وهو ميكروب واسع الانتشار ويمثل المكون الرئيسى لمعظم الكائنات الخضراء الموجودة فى قاع الترع والينابيع الساخنة . نسبة G + C فى حمض DNA تتراوح بين ٤٨,٥ - ٥٨,١ % .



شكل (٣-١) : الشكل المورفولوجي لبكتيريا الكبريت الخضراء نقلا عن شليجل (١٩٨٦)

٢٠٢٠٣ بكتيريا الكبريت الازجوانية : Thiorhodaceae :

- تستخدم المركبات الغير عضوية كمعطي للايدروجين مثل البكتيريا الخضراء .
- اهم اجناسها , *Chromatium* , *Thiospirillum* .
- نسبة G + C فى حمض DNA ٦١ - ٦٣ % .
- تحتوى اساسا الكلوروفيل البكتيرى a , b , ومستوى ادمصاصهما عند ٨٠٠ - ٨٥٠ ، ٨٩٠ nm على الترتيب فى مجال infrared . وتحتوى كمية كبيرة من الكاروتينات ذات منحنى ادمصاص عند ٤٠٠ - ٦٠٠ nm .
- اغلبها اوتوتروفي وبعضها ينمو فى بيئة خالية من H_2S ولكن بها مصدر كربونى عضوى .
- الشكل المورفولوجى : سهل التعرف عليها من خلال ترسيبات حبيبات الكبريت داخل خلاياها وهناك أنواع عصوية مثل *Chromatium okenii* (قطره $5 \mu m$ x طوله $20 \mu m$) والنوع الخيطى مثل *Thiospirillum jenense* وبعضها كروية متحركة (*lamprocystis sp*) أو كروية غير متحركة (*Amoebobacter*) اما *Thiopedia* فهى مخروطية elliptical غير متحركة .



شكل (٣-٢) : الشكل المورفولوجي لبكتيريا الكبريت الارجوانية والارجوانية الغير كبريتية (شليجل ١٩٨٦)

٣٠٢٠٣ البكتيريا الارجوانية الغير كبريتية : Athiorhodaceae :

- أهم اجناسها , *Rhodospirillum* , *Rhodomicrobium* , *Rhodopseudomonas* , *Vanniella* ,
- تحتوي كلوروفيل بكتري a , b .
- تنمو لا هوائيا في وجود الضوء وايضا هوائيا في الظلام .

- نسبة G + C فى DNA تتفاوت حسب الجنس والنوع فمثلا .

1.64 - 62 *Rhodomicrobium* sp.

1.70 - 67 *Rhodopseudomonas* sp.

- الشكل المورفولوجى : اشكالها مختلفة اما عسوية *Rhodopseudomonas* أو خيطية *Rhodospirillum* أو متبرعمة *Rhodomicrobium vannielii* ويظل البرعم متصلا بالخلية الام بواسطة سيقان تشبه الهيفات وعندما ينفصل عند الام يتحرك بفلاجيلات متشرة على الخلية . وهناك الخلايا شبه المستديرة مثل *Rhodocyclus purpureus* .

- وتتميز بعدم ترسيب الكبريت داخل خلاياها حيث تؤكسد H_2S مباشرة إلى سلفات بدون S كمركب وسطى .

ويمكن تلخيص اهم الفروق بين العائلات الرئيسية الثلاث فى الجدول التالى :

وجه المقارنة	الخضراء Chlorobiaceae	الكبريتية الارجوانية Thiorhodaceae	الارجوانية الغير كبريتية Athiorhodaceae
- النمو اللاهوائى (فى الضوء)	+	+	+
- النمو الهوائى (فى الظلام)	-	-	(+)
-- اكدة H_2S	+	+	(+)
- تخزين الكبريت	خارج الخلايا	داخل الخلايا	(مباشرة إلى SO_4) خارج الخلايا
- الصبغات	كلوروفيل بكتيرى a, c, d, c	B.chl. a, (b)	B.chl. a, (b)
- جهاز التمثيل	Chlorosomes على الغشاء السيتوبلازمى	Thylakoids ذات فجوات تملأ الخلية	Thylakoids بجميع اشكالها من فجوات وأنايب وطبقات
- تثبيت ك أم بدوره كالفن	-	+	+

جدول (3-1) : مقارنة بين العائلات الرئيسية الثلاث للبكتيريا الفوتوتروفية

٣٠٣ الصبغات البكتيرية :

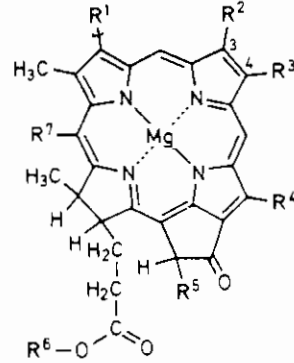
تحتوى البكتيريا المثلة للضوء على الصبغات البكتيرية ولذا تظهر بالوان مختلفة خضراء أو خضراء مزرقة أو ارجوانية أو حمراء أو بنية فى معلقاتها وهذا الإختلاف يرجع إلى طبيعة التركيب الكمى والنوعى لها ويمكن فصل مكونات الصبغات بواسطة absorption spectra حيث يفصل الكلوروفيل عند اللون الازرق (أقل من ٤٥٠ nm) ، الاحمر وتحت الاحمر (٦٥٠ - ١١٠٠ nm) بينما الكاروتينات عند (٤٠٠ - ٥٥٠ nm) .

١٠٣٣ الكلوروفيل البكتيرى :

- يرجع الفرق بين انواع الكوروفيل فى الكائنات المثلة للضوء اساسا إلى وجود أو غياب الرابطة المزدوجة بين ذرات الكربون رقم ٣ ، ٤ ، وإلى اختلاف المجاميع الاستبدالية على prophyrin كما يوضح ذلك الرسم التالى والجدول المرفق به (شكل ٣-٣) .

- وهذه الفروق هى المسئولة عن اختلاف درجة الادمصاص بواسطة الاسبيكتروفوتومتر من كلوروفيل لآخر بل داخل الكلوروفيل الواحد . فمثلا كلوروفيل A فى الطحالب الخضراء والسيانوبكتريا يمكن فصله عند ٦٨٠ - ٦٨٥ nm اما الكلوروفيل البكتيرى c, d, e فى بكتيريا الكبريت الخضراء ، *Chloroflexus* يفصل عند ٧٠٠ - ٧١٠ nm والكلوروفيل البكتيرى A فى معظم البكتيريا الارجوانية ما بين ٨٥٠ - ٨٩٠ nm اما الكلوروفيل البكتيرى b الموجود فى *Rhodospseudomenas* فيدمص عند ١٠٢٠ - ١٠٣٥ nm .

اما داخل الكلوروفيل البكتيرى a (B. chl.a) فى البكتريا الارجوانية فيلاحظ منحنى امتصاصه عند ٤ مراحل (spectralforms) هى 890 - 870 B , 850 B , 820 B , 800 B . وترجع هذه الفروق فى الامتصاص بسبب نوع الرابطة ومكان جزئى الكلوروفيل البكتيرى فى معقد البروتين والصبغة .



Pigment	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶	R ⁷
Chlorophyll a	-CH=CH ₂	-CH ₃	-CH ₂ -CH ₃	-CH ₃	O=C(OCH ₃)	Phytol	-H
Bacteriochlorophyll a	O=C(CH ₃)	-CH ₃ *	-CH ₂ -CH ₃ *	-CH ₃	O=C(OCH ₃)	Phytol or Geranyl-geraniol	-H
Bacteriochlorophyll b	O=C(CH ₃)	-CH ₃ *	O=C(CH ₃)	-CH ₃	O=C(OCH ₃)	Phytol	-H
Bacteriochlorophyll c	-CH-CH ₃ OH	-CH ₃	-C ₂ H ₅ -C ₃ H ₇ -i-C ₄ H ₉	-C ₂ H ₅ -CH ₃	-H	Farnesol	-CH ₃
Bacteriochlorophyll d	-CH-CH ₃ OH	-CH ₃	-C ₂ H ₅ -C ₃ H ₇ -i-C ₄ H ₉	-C ₂ H ₅ -CH ₃	-H	Farnesol	-H
Bacteriochlorophyll e	-CH-CH ₃ OH	-CHO	-C ₂ H ₅ -C ₃ H ₇ -i-C ₄ H ₉	-C ₂ H ₅	-H	Farnesol	-CH ₃

* Saturated bond between C-3 and C-4

شكل (3-3) : الفرق بين الكلوروفيل a ، الكلوروفيل البكتيري a, b, c, d, e
(نقلا عن schlegel سنة ١٩٨٦)

٢٠٣٠٣ الكاروتينات :

- ويطلق عليها الصبغات المساعدة في عملية التمثيل الضوئي وتدمص عند ٤٥٠ - ٥٥٠ nm وهي غالب مركبات لينثائية (C₄₀) مع مجاميع هيدروكسي اوميثوكسي .
- واهمية الكاروتينات ترجع إلى :

- ١ - تدخل فى Antenne Pigment وهى قنوات توصيل الطاقة إلى الكلوروفيل .
- ٢- تقوم بحماية الكلوروفيل من الاكسدة الضوئية ولذا الطفرات الخالية من الكاروتينات فى البكتريا الارجوانية تنمو فى الضوء الضعيف جدا بينما الاضاءة الكثيفة تقتلها حيث تقوم الكاروتينات بالتخلص من الطاقة الزائدة وتحولها إلى حرارة .

٢٠٣٠٣ اماكن وجود الصبغات :

توجد الصبغات فى البكتريا الارجوانية فى اوعية او حوامل مرتبطة على الغشاء السيتوبلازمى الداخلى (Thylakoids) وهى على شكل كريات صغيرة أو اشكال انبوبية ولذا يأخذ الغشاء اشكالا مختلفة مثل lamellar stacks , Tubules , Vesicles ويطلق على هذه الاوعية والى يمكن الحصول عليها بتكسير الخلايا بواسطة الطرد المركزى اسم chro-matophors اما فى البكتيريا الخضراء فإن الصبغات توجد مرتبطة بنوعين منفصلين من نسيجة الخلية .

١ - Antenne pigments على الكروموسومات .

٢ - Reaction center pigment على الغشاء السيتوبلازمى

اما فى النبات فيوجد الكلوروفيل فى البلاستيدات

٤٠٣٠٣ تنظيم وتخليق الصبغات وحواملها :

يتوقف ذلك على ظروف النمو المختلفة واهمها :

- ١ - قوة الاضاءة : يزداد محتوى الصبغات فى الخلية بتقليل شدة الاضاءة اثناء النمو .
 - ٢ - وجود الاكسجين (للانواع الاختيارية) : حيث وجد ان الاضاءة القوية ووجود الاكسجين يقلل تخليق الكلوروفيل والبكتيريا والكاروتينات ويؤثر ايضا على الانزيمات الداخلة فى عملية تخليقهم .
 - ٣ - عدد Vesicles , Tubules ليس له تأثير على محتوى الصبغات سواء بالزيادة أو بالنقص لان تركيز الصبغة ثابت .
- وانسب الظروف لعملية تخليق الصبغات أو حواملها هو الاضاءة الضعيفة مع ظروف لا هوائية .

٤٠٣ اساس عملية الفسفرة الضوئية :

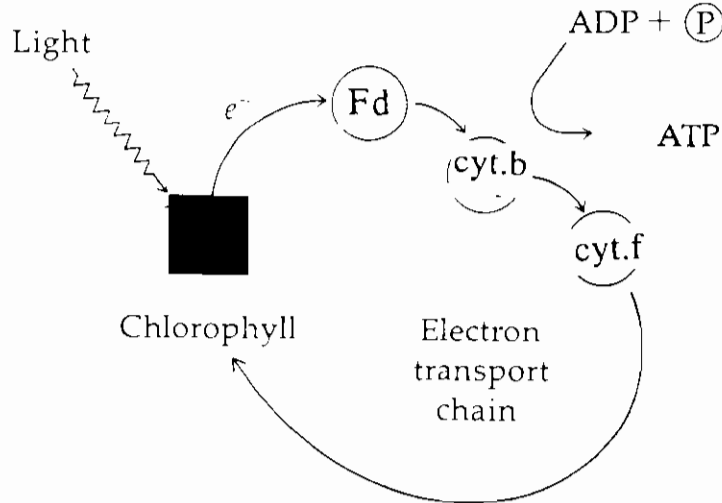
أولاً : انتاج الطاقة (تكوين ATP) بمساعدة الضوء light quanta وهو ما يعرف بعملية photo phosphorylation .

ثانياً : وجود العامل المختزل reductent القادر على اختزال المركبات الغنية بالطاقة إلى مكونات داخل الخلية .

ولقد توصلت ابحاث ارنون ومساعدة في السبعينات إلى نوعين مختلفين من الفسفرة الضوئية هما الفسفرة الحلقية والفسفرة الغير حلقية .

١٠٤٠٣ الفسفرة الضوئية الحلقية : Cyclic photophosphorylation :

ويسود هذا النوع في النباتات وقليل من البكتيريا حيث يتم تخليق ATP ومصدره الالكترونات هنا ذاتى ويتم على مرحلة واحدة هى electron translocation . وتعرف ذلك cyclic chain , cyclic flow كما بالرسم .



شكل (٤-٣) : الانسياب الحلقى وعملية الفسفرة الحلقية في النباتات

- والفرق الاساسى بين الفسفرة الحلقية والتنفس هو ان الالكترونات المتكونة فى الاول لا تتردد ولا تخرج من الدورة وانما تدخل فى الكلوروفيل فتحدث له عملية اثاره بواسطة كوانتم الضوء ثم ينتقل مرة اخرى إلى الفيروودكسين اما فى التنفس فتتردد وتستقبل فى

النهاية بواسطة مستقبل الالكترون (الاكسجين أو بدائله) والفيروكسين كما سبق وصفه (راجع بند ٢-٤-٢) بروتين يحتوى على حديد ذو جهد اكسدة واختزال غير عادى ($-0.342V$) وهو يماثل جهد الكترود الايدروجين عند $pH 7.0$ ($H_2 / H^+ - 0.42V$) يرحل عنه زوج من الالكترونات ويدخلا سلسلة تفاعلات الاكسدة والاختزال (سيتوكروم f, b) قبل ان يعود إلى الكلوروفيل مرة اخرى فى النهاية .

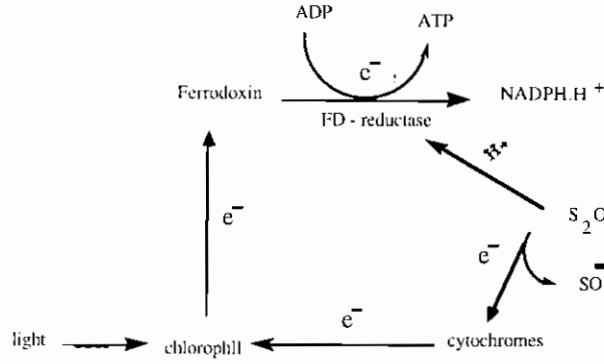
- وقد امكن معمليا اثبات تخليق ٢ جزئى من ATP خلال هذا التفاعل وحيث ان دورة كالفن تحتاج لـ $NADH.H^+$ لهذا فإن الاعتماد الاكبر يكون على الفسفرة الغير حلقية .

٢٠٤٠٣ الفسفرة الضوئية الغير حلقية : Non cyclic photophosphorylation :

يعتقد Van Niel سنة ١٩٣١ ان التحليل الضوئى photolysis للماء شائع فى كل الكائنات الممثلة للضوء وعلى رأسها النبات وأن $[OH]^-$ المنفرد يتحول انزيميا إلى جزئى اكسجين فى النبات أو يختزل إلى الماء فى البكتيريا بواسطة أى معطى الكترون خارجى .

العالم Losada وآخرون سنة ١٩٦١ لاحظ ان التحليل الضوئى للماء موجود فى النباتات ولا يلاحظ فى البكتيريا وافترض ان الايدروجين الموجود يختزل المرافق NAD^+ . اما العالم Ogata وآخرون سنة ١٩٥٩ فأقترح ان اختزال NAD^+ الغير مرتبط بوجود الضوء فى البكتيريا يتأثر بوجود معطى الكترون خارجى .

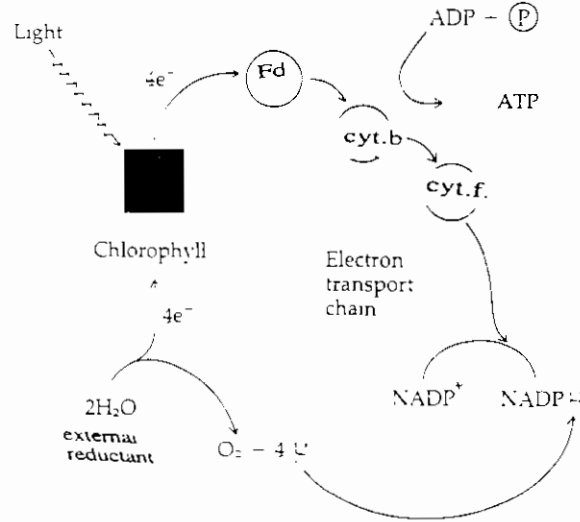
وطبقا لهذه الابحاث فإن الالكترونات الناتجة من الكلوروفيل المنشط بكونتم الضوء فى عملية التمثيل الضوئى فى النبات يحتاج اليه فى ا (انتاج ATP ب) اختزال NAD^+ والبروتون اللازم للاخير ينتج من التحليل الضوئى photolysis للماء اما فى البكتيريا فالالكترونات المنبعثة من الكلوروفيل تدخل ايضا فى تكوين ATP واختزال NAD^+ ولكن البروتون اللازم للاخير يأتى من عامل مختزل خارجى (H_2S مثلا) كما يلاحظ فى الشكل التالى .



شكل (٣-٥) : اختزال $NADP^+$ في بكتريا الكبريت بواسطة معطى ايدروجين خارجي

ويلاحظ ان الانزيم الذي يلامس التفاعل هو ferredoxin - $NADP^+$ reductase (EC 1.6.99.4) ويحل محله في بعض الميكروبات NAD- cyt. C_{552} reductase (EC 1.6.2.4) or pyridine nucleotide transhydrogenase (EC 1.6.1.1)

كما يلاحظ ان الانسياب الحلقي للالكترونات لا يحدث اطلاقاً تحت الظروف المختزلة القوية وفي وجود معطى الكترولون خارجي بعكس الفسفرة الغير حلقيه والتي يطلق عليها ب open e - transport chain والهامة في تكوين القوة المختزلة $NAD(P)H.H^+$ اللازمة لتثبيت ك أ من خلال دورة كالفن .



شكل (٣-٦) : الفسفرة الغير حلقيه وتكوين القوة المختزلة في بكتريا الكبريت اللاهوائية

ويوضح الرسم السابق الآتى

- ١) تكوين جزئ واحد ATP عند cyclic side .
 - ٢) اعتماد تكوين القوة المختزلة على الانسياب الغير حلقى (المفتوح) للالكترون حيث يعمل NAD (P) كمستقبل نهائى له والبروتون يأتى من المعطى الخارجى .
- ولقد اظهرت الدراسات الحاجة إلى وجود نظامين مختلفين للصبغات الماصة للضوء (system I , system II) أحدهما ينشط الالكترونات القادمة من التحلل الضوئى للماء والآخر يمتص وينشط الالكترونات القادمة من العامل المختزل الخارجى .

Pigment system I	Pigment system II	وجه المقارنة
طويل أكبر من nm ٧٣٠	قصير أقل من nm ٧٠٠	طول الموجه
Chla _I (P 700)	Chla _{II} (P 680)	معطى الالكترون
X (Fe - S protein)	X 320	مستقبل الالكترون

٥٠٣ عملية التمثيل الضوئى تحت ظروف هوائية :

Oxygenic Photosynthesis

وتلاحظ فى النباتات وجميع الطحالب ماعدا الخضراء المزرقه وتتم فى حوامل الصبغات التى توجد فى الكلوروبلاست فى النباتات الراقية والطحالب الخضراء أو على الغشاء السيتوبلازمى فى الطحالب الخضراء المزرقه (Cyanobacteria) وحوامل الصبغات فجوات محكمة الغلق رقيقة الجدار تحتوى كلوروفيل a , b , c , d والكاروتينات وكذا حوامل الالكترونات والانزيمات واغلب جزئيات الكلوروفيل (٧٩٩,٥) والصبغات المساعدة

مع تحيات د. سلام حسين عويد الهلالي

<https://scholar.google.com/citations?>

[user=t1aAacgAAAAJ&hl=en](https://scholar.google.com/citations?user=t1aAacgAAAAJ&hl=en)

salamalhelali@yahoo.com

<https://www.facebook.com/salam.alhelali>

[https://www.facebook.com/groups/
/Biothesis](https://www.facebook.com/groups/Biothesis)

[https://www.researchgate.net/profile/
/Salam_Ewaid](https://www.researchgate.net/profile/Salam_Ewaid)

07807137614



(الكاروتين ، phycobiliprotein) تستخدم لامتصاص الضوء وتوجيه الطاقة ولذا يعبر عنها او تعرف Antenne pigment system فقط جزء صغير جدا من كلوروفيل A تعمل كمركز تفاعل reaction center والذي يحتمل ان تحدث عليه تفاعل الاكسدة والاختزال الكيموضوئى photochemical redox reaction وهو يستقبل الطاقة الموجهة اليه من Antenne pigment . والكاروتينات لها وظيفة حماية الكلوروفيل .

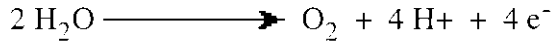
وعملية التمثيل الضوئى تحت الظروف الهوائية تحتوى على نظامى الصبغات المذكورين آنفا وهذا يسبب تفاعلين ضوئيين احدهما حلقى والاخر مفتوح .

التفاعل الاول :

حيث تنشط chl.a_I (P 700) بواسطة طاقة الضوء الممتصة مما يسبب اكسدته وتحوله إلى chl.a_I⁺ وذلك على حساب اختزال المستقبل [X] وهو عادة بروتين يحتوى على الحديد والكبريت ذو جهد اختزالى ما بين - 420 to - 530 mV - والذي ينقل البروتون بدوره إلى الفيرووكسين ومنه إلى NADP⁺ أو أى مستقبلات اخرى اما الالكترون فينقل من [X] عبر البلاستوكينون ، السيتركروم ، البلاستوسيانين إلى chl.a_I⁺ فيما يعرف بالدورة الحلقية .

التفاعل الثانى :

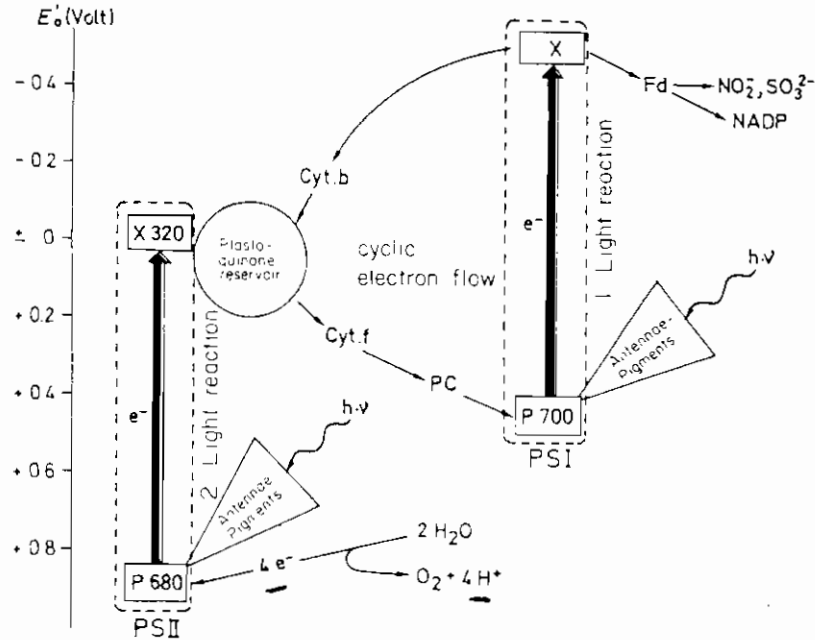
فإن chl.a_{II} (p 680) الخاص بـ pigment sys. II يثار بواسطة الطاقة الضوئية الممتصة . وهذا التنشيط او الاثارة يؤدى لفقد الكترونات تستقبل بواسطة (X320) والقوة الاختزالية المتكونة ضعيفة (E₀ ~ 0mV) لا تكفى لتكوين NADPH₂ ويتم تعويض الالكترونات التى تفقد من chl.a_{II} بواسطة مصدر خارجى (الناتجة من انفصال جزئى الماء)



ولهذا فاننتقال الالكترون ذو نظام مفتوح .

ويتم ربط التفاعلين ببعضهما من خلال سلسلة انتقال الالكترونات فى وجود البلاستوكينون كمخزن لالكترونات التى يأخذها من X 320 من التفاعل الثانى ليختزل بها chl.a_I من التفاعل الاول والرسم التالى والمعروف باسم Zizack Scheme يوضح كيفية حدوث التفاعل وانتقال الالكترون وهو محصلة تجارب واختبارات عديدة باستخدام light flash spectrophotometry وبواسطة معطيات ومستقبلات الكترونية صناعية ومثبطات

متخصصة آخذاً في الاعتبار جهد الاكسدة والاختزال للصبغات منفردة وكذا حوامل نقل الالكترن والتتابع الزمني لعمليات الاكسدة والاختزال بالرغم من انه لا يعطى معلومات عن اماكن وجود هذه المواد على الغشاء .



P 700, Chl a_1 (electron donor of pigment system I (PSI));
P680, Chl a_{II} (electron donor of pigment system II (PSII));
X320, electron acceptor of PSII;
X, electron acceptor of PSI, an iron-sulphur protein;

Fd, ferredoxin;
PC, plastocyanine;
Cyt, cytochrome. The photochemical reaction centres are ringed by broken line. See text for explanations.

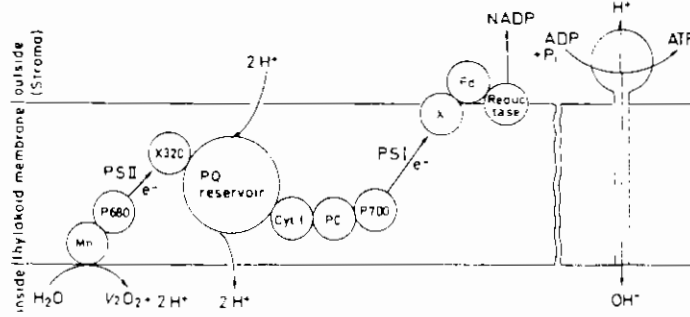
شكل (٣-٧) : عملية التمثيل الضوئي تحت ظروف هوائية (Z - Scheme)

(نقلا عن schlegel سنة ١٩٨٦)

اماكن وجود حوامل الالكترونات على الغشاء وحدوث تدرج البروتون

امكن باستخدام المضادات الحيوية وانظمة الاكسدة والاختزال الصناعية تحديد بعضها مثل FD - NADP reductase , ferredoxin , على غشاء thylakoids من الناحية الخارجية والرسم التالي يضع تصورا لعملية انتقال الالكترونات e - transport system في أغشية التمثيل الضوئي وكيفية حدوث تدرج البروتون proton gradient وتكوين ATP والقوة

المختزلة NADP ويجب ان نفرق بينه وبين الرسم السابق الخاص بـ redox potential . diagram



The components are arranged in the membrane so as to produce a vectorial electron flow through the membrane.
Mn, manganese complex;
PC, plastocyanine;

PQ, plastoquinone;
Cyt. f, cytochrome f;
Fd, ferredoxin;
X, iron-sulphur protein.
See Fig. 12.14 for further explanations.

شكل (٣-٨) : نظام انتقال الالكترتون عبر اغشية thylakoid في البكتريا الفوتوتروفية

ايات حدوث تدرج البروتون :

امكن بواسطة تعريض معلق من الكلوروبلاست او thylakoid المحطمة إلى شدة اضاءة معينة ملاحظة أن pH تزداد في البيئة الخارجية يعقبها عند ابعاد الاضاءة انخفاض pH أى أن الاضاءة تسبب انتقال البروتون إلى Thylakoid وبمعنى آخر أن طاقة الضوء تستخدم لخلق تدرج البروتون عبر غشاء thylakoid . وقد لوحظ قديما انه يمكن تخليق ATP في معلقات thylakoid فى السظلام إذا زاد pH البيئة من ٤ إلى ٨ مما أكد التصور الـ Chemiosmotic لتحويلات الطاقة .

وعلى ضوء ذلك - وكما يتضح من الرسم السابق - افترض ان انتقال الكترتون واحد في تفاعلين ضوئيين يؤدي لانتقال ٢ بروتون من الماء خلال غشاء thylakoid إلى NADP⁺ على الناحية الخارجية مما يؤدي لاختزال الاخير وتكوين شحنة على الغشاء وهذا يسبب جهد تدرج البروتون الذى يسبب تخليق ATP في وجود ATP synthase .

٦٠٣ التمثيل الضوئى تحت ظروف لا هوائية :

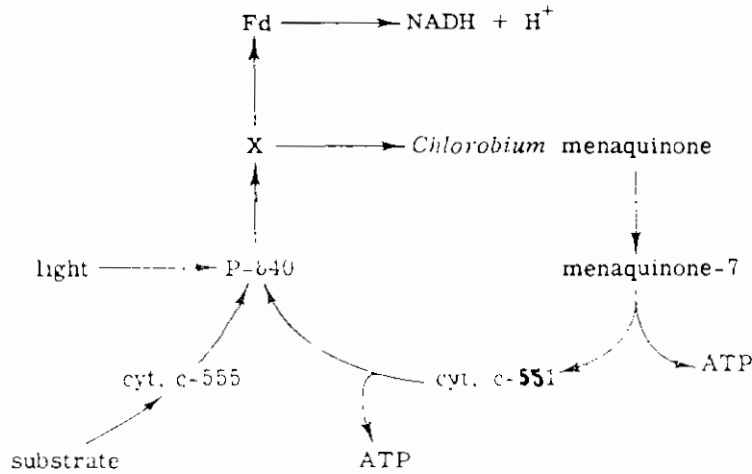
Anoxygenic photosynthesis

يختلف فى بعض النقاط عما سبق مناقشته فى مثيله الهوائى فيما يلى :

- ١) يوجد تفاعل ضوئى واحد ينتج عنه انتقال الكترون حلقى cyclic e-transport .
- ٢) الالكترونات اللازمة لاختزال NAD^+ لا تأتى من انفصال جزئى الماء وهذا يعتمد على وجود مواد خارجية فى البيئة (e - donar) .
- ٣) عدم انطلاق اكسجين .
- ٤) لا يوجد open chain فى انتقال الالكترونات من المعطى إلى NAD^+ فى بكتريا الكبريت الخضراء .
- ٥) $NADH.H^+$ تتكون بوضوح فى تفاعل الظلام فى خطوة اشتقاق الطاقة العكسى لانتقال الالكترون .

١٠٦٠٣ التمثيل الضوئى اللاهوائى فى بكتريا الكبريت الخضراء : Chlorobacteriaceae

- يحتوى على كلوروفيل يكتيرى يميز لهذه العائلة يسمى chlorobium chlorophyll وهو يعتبر معطى الالكترون لمركز التفاعل الفوتوكيميائى (X = p 840) .
- يحتوى الفيروودكسين ويشبه سد كبير مثيله الموجود فى البكتريا اللاهوائية الغير ممثلة للضوء ودورة هو اختزال NAD^+ للحصول على القوة الاختزالية اللازمة لتثبيت CO_2 من خلال دوره كالفن .
- يحتوى quinone وقد عزل ٣ انواع منه , polar menaquinone, 7, mena quinone chlorobium quinone .
- يوجد ٣ أنواع من سيتوكروم C هم C_{551} ، C_{553} ، C_{555} ولا يوجد بروتوهم فى الخلايا ولذا لا يوجد cyt.b . يشبه C_{555} cyt. تماماً فى الطحالب المعروف بـ (cyt.f) ولكن يميز عن cyt.c فى البكتريا الارجوانية غير الكبريتية . أما C_{553} cyt يبدو أنه يتفاعل كـ sulfide - cyt.c - reductase اما بالنسبة لـ C_{551} cyt. يتفاعل كـ Thiosulfate - cyt.c reductase .

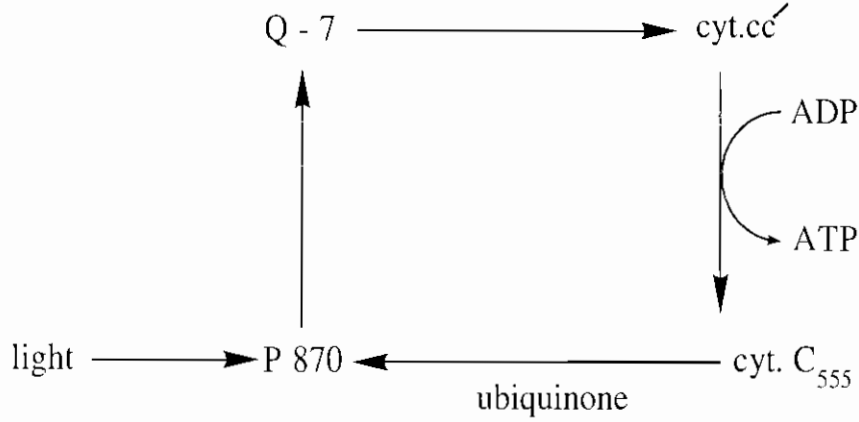


شكل (٣-٩) : ميكانيكية انتقال الالكترونات في عملية التمثيل الضوئي في بكتريا الكبريت الخضراء ومنه يظهر الدور الذي تلعبه السيتركرومات والكينونات في التفاعل

- ولكن تظل مشكلة مستقبل الالكترونات غير واضحة المعالم حيث لم يعرف بعد إذا كان [X] هو الفيرووكسين أو أى مركب وسطي آخر غير معلوم .
- كمية الطاقة الناتجة مساوية للمتحصل عليها من التفاعل الاول في cyanobacteria السابق شرحه ولهذا تعتبر عملية التمثيل الضوئي في البكتريا الخضراء حالة وسط بين النباتات الراقية والسيانوبكتريا من ناحية والبكتريا الارجوانية من ناحية اخرى .

٢٠٦٠٣ التمثيل الضوئي في بكتريا الكبريت الارجوانية : Thiorhodaccae

- مركز التفاعل النشط للكوروفيل البكتيري عند P 870 ، أو P 890 في (*Chromatium*) .
- عُزل سيتوكروم C₅₅₃ وهو يشبه في خواصه cyt.f المعزول من الطحالب وايضا C₅₅₅ يشبه المعزول من البكتريا الخضراء (*Chlorobium sP*) ويرتبط مع P 890 الذي يتأكسد على حساب اختزال المرافق الانزيمي Q - 7 كما عزل ايضا سيتوكروم CC الذي يكون معقد مع مركز التفاعل P870 ومسببا flow system التالي .



حيث تمثل الكينونات (Q - 7) المستقبل الاول للالكترونات من مركز التفاعل الفوتوكيميائى P 870 وهذه الخطوة هامة فى مقارنتها مع بكتريا الكبريت السابقة حيث مستقبل الالكترونات الاول فيها menaquinone ووجود ubiquinone فى *Chromatium* يمثل ارتباط او تقارب مع Athiorhodaceae (الكبريتية غير الارجوانية) .

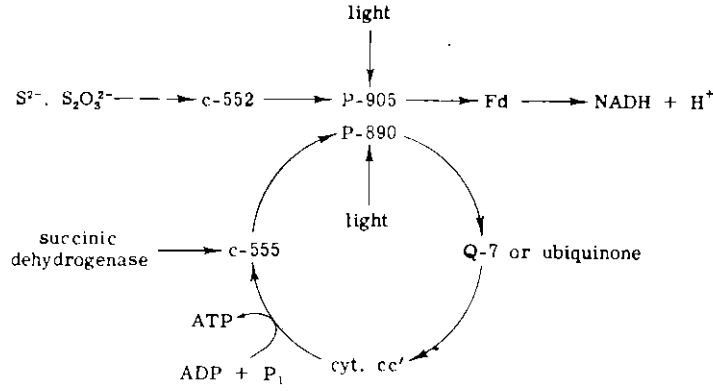
- اقترح Cusanovich & Komen سنة ١٩٦٨ وجود ٣ انظمة لانسياب الالكترونات حسب جهد الأكسدة والاختزال redox potential :

أ) النظام الحلقى وذلك فى الظروف المؤكسدة القوية مع كثافة ضوئية ضعيفة ويستخدم P 890 كمركز تفاعل فوتوكيميائى .

ب) النظام المفتوح فى الظروف المختزلة القوية مع كثافة ضوئية عالية ويستخدم cyt. c₅₅₂ مع P 905 كمركز تفاعل . ويلاحظ تحت الظروف اللاهوائية فقط . ويمكن استبدال نظام الفسفرة المفتوح أو الغير حلقى تدريجيا بالفسفرة المؤكسدة عندما تسود الظروف الهوائية وتصبح O₂ هو مستقبل الالكترونات النهائى .

ج) تتضمن كلا النظامين وذلك فى المرحلة الانتقالية transition region لجهد الاكسدة والاختزال (ما بين الظروف المؤكسدة والمختزلة) .

وافضل فسفرة ضوئية يمكن التحصل عليها عند 50 - 100 mV .



شكل (٣-١٠) : نظامى انتقال الالكترون فى Thiorhodaceae (الحلقى والمفتوح) طبقاً لتصوير Cusanovich & Komen سنة ١٩٦٨

- ايضا ظروف نمو الكائن تلعب دورا فى تحديد نظام الفسفرة : ففى حالة النمو اوتوتروفيا (مصدر الالكترون S₂ O₃ , S , H₂S) فإن القوة المختزلة NADH.H⁺ اللازمة لتثبيت CO₂ يتكون من دورة « P 905 المفتوح » اما عند تنمية الخلايا هيتروتروفيا (مع السكسينات) وعدم الاحتياج لقوة اختزالية كبيرة فالدورة الغالبة هى « P 890 الحلقية » .

عموما فإن نظام انتقال الالكترون فى thiorhodaceae مازال به الكثير من النقده مثل وجود مركزى تفاعل وهل فعلا الفيروكسين ، ubiquinone هما مستقبلات الالكترون الاولى فى النظامين الغير حلقى والحلقى على الترتيب .

٣٠٦٠٣ التمثيل الضوئى اللاهوائى فى البكتريا الارجوانية الغير كبريتية:

Athiorhodaceae

- بعكس العائلتين السابقتين فإن افرادها يمكنها النمو بوضوح لاهوائيا فى الضوء (photosynthesis) أو هوائيا فى الظلام (Oxidative respiration) ولهذا يستطيع الكائن التحول switch من الفسفرة الضوئية إلى الفسفرة المؤكسدة . ولهذا فمن المتوقع وجود كلا نظامى انتقال الالكترون (الحلقى والمفتوح) فى كائنات هذه العائلة .

- مركز التفاعل الكيمووضوئى هو P - 890 فى *Rhodospirillum rubrum* او P - 870 *Rhodopseudomonas spheroides* .
- يحتوى جميع افرادها على ubiquinone وليس menaquinone والسائد هو U Q - 10 او ما يسمى rhodoquinone .
- يفترض وجود مستقبل الكترولونات غير معلوم [X] الذى يختزل بواسطة P - 870 وهو غالبا بروتين يحتوى الحديد والكبريت .
- بالاضافة إلى U Q يوجد ferredoxin وعدد من السيتركرومات من النوع C (C₅₅₀ ، C₅₅₃ ، C₅₅₈) وايضا النوع b . والنوع C₅₅₃ يتأكسد اساسا عند اضاءة منخفضة بينما النوعين الآخرين يتأكسدان غالبا عند اضاءة عالية .
- فى حالة الفسفرة الضوئية الحلقية لوحظ اختزال NAD⁺ فقط فى وجود السكسينات أو الفورمات كمصدر خارجى للالكترولونات ولهذا يعتقد انهما تتدخلان فى نقل الالكترولون من photoreducing site إلى photooxidizing site للكروماتوفور chromatophore .
- وجود cyt. C₂ يعتبر كنقطة تفرع له القدرة على التفاعل مع كل من نظام التمثيل الضوئى (لا هوائى - ضوء) ونظام التنفس (هوائى - ظلام) .
- وقد يطلق عليه NADPH - cyt.c reductase ويعتبر NADH oxidase جزء منه فى الخلايا النامية فى الضوء أو الظلام .
- دور الاكسجين : فى غياب معطى الكترولون خارجى مثل السكسينات فإن الفسفرة الحلقية تثبط بشدة بالاكسجين فإذا حدث التغير من الظروف الهوائية إلى اللاهوائية سريعا فإن NAD⁺ يختزل اما العكس من اللاهوائية إلى الهوائية يتأكسد NADH.H⁺ .

٧٠٣ التحويلات الايضية بواسطة البكتريا الممثلة للضوء : photometabolisms

- عملية التحول الايضى للمواد الغير عضوية أو العضوية بواسطة البكتريا الممثلة للضوء مليئة بعلامات الاستفهام فبعضها يثبت ك أ_٢ عن طريق دوره كالفن والبعض الآخر يمكن لاهوائيا وفى الظلام بواسطة التخمر لبعض المسواد المخزنة كمصدر H₂ الحصول على الطاقة اللازمة لمعيشتها ولكنها غير كافية لحد ما .

- البكتيريا الفوتوتروفية تعتمد على معطى ايدروجين خارجى مثل جزئى الايدروجين نفسه أو كبريتيد الايدروجين أو الكبريت المعدنى أو الثيوسلفات أو الاحماض العضوية والكحولات والسكريات و احيانا بعض المركبات الحلقية وستعرض فى الجزء القادم من هذا الباب لدراسة التحويلات المختلفة لهذه المواد بواسطة البكتيريا المثلة للضوء .

١٠٧٠٣ تحولات الايدروجين والكبريت الغير عضوى :

Hydrogen and Inorganic sulfur photometabolism

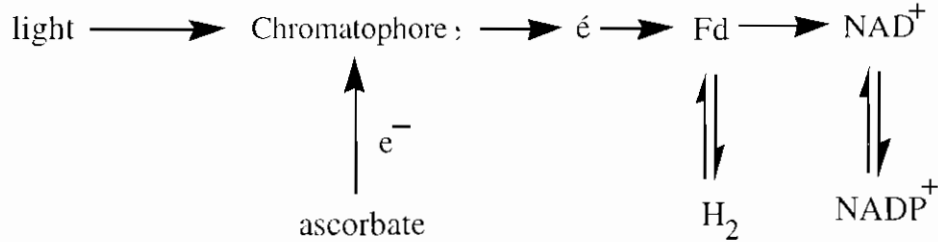
يوجد تفاعلان محددان فى البكتيريا المثلة للضوء .

(١) اختزال H_2 ضوئيا . (٢) اختزال ك A_p

وكلا التفاعلين يحدثان فى *Rhodobacterium* ، *Chromatium* ، *Chlorobium* .

اختزال H_2

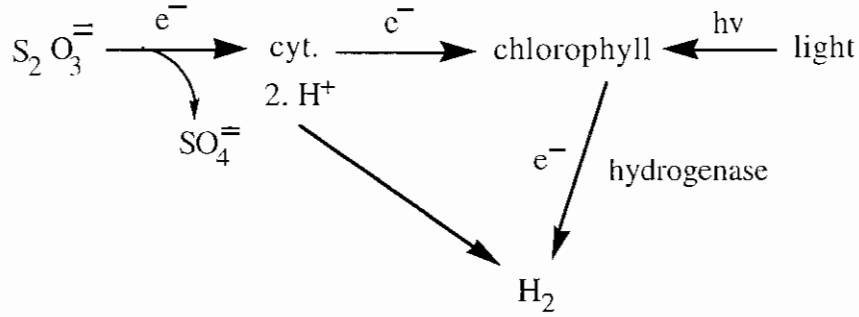
فى حالة عمل جزئى الايدروجين كمعطى للالكترون فإنه يستعمل كعامل مختزل لـ NAD^+ . وتُظهر مستخلصات الميكروبات السابقة أن اختزال NAD^+ مرتبط بالفيروكسين Fd والانزيم المسئول عن هذه الخطوة هو Fd - NAD reductase . ومعدل اختزال NAD^+ يعادل ٣ أو ٤ مرات اختزال $NADP^+$ مما يدل على أن NAD^+ هو الاساس - ولكن ليس الوحيد - كمستقبل للالكترون .



شكل (٣ - ١١) : نظام انسياب الالكترن المؤدى لاختزال نيوكليوتيد البيريدين فى البكتيريا المثلة للضوء (Hoare and Hoare, 1969)

ويحتاج اختزال H_2 ضوئيا لمعطى الكترن غير عضوى مثل H_2S أو الثيوسلفات . وثبت ان السيتركروم فى *Chromatium sp.* يختزل بواسطة الثيوسلفات وبالتالي يعمل

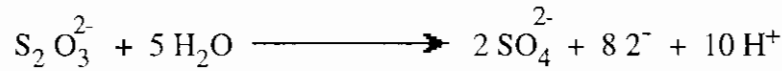
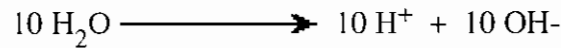
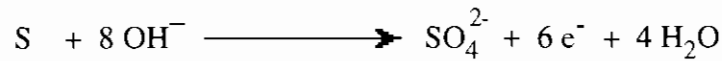
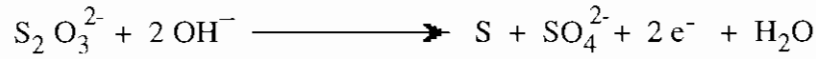
كمنفذ دخول للالكترولونات وبمساعدة الضوء وانزيم hydrogenase يختزل الايدروجين بالاضافة إلى اكسده الثيوسلفات إلى سلفات كما بالشكل التالي (٣ - ١٢) .



شكل (٣ - ١٢) : ميكانيكية انتقال الالكترولون للاختزال الضوئي للايدروجين في وجود الثيوسلفات

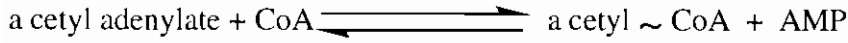
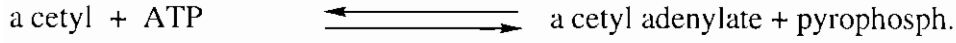
اختزال ك أم :

- لا يعتمد اختزال ك أم بجزئ الايدروجين (كمعطي للالكترولون) على الضوء . فعند كثافة ضوئية منخفضة يكون معدل الاختزال في وجود H_2 أو الثيوسلفات متعادلا وكلما زادت كثافة الضوء كلما قل تثبيث ك أم بجزئ الايدروجين .
- ويشبط انطلاق الايدروجين بواسطة غاز النتروجين أو ايون الامونيا وايضا معطيات الالكترولون العضوية بينما لا يشبط تثبيث (اختزال) ك أم بهم طالما ان الثيوسلفات هي معطي الالكترولون مما يدل على ان انساب الالكترولون إلى H_2 هو الذي يشبط وليس انساب الالكترولون إلى اختزال ك أم عبر NAD (P) ويمكن التعبير عن تسلسل التفاعل كالتالي :

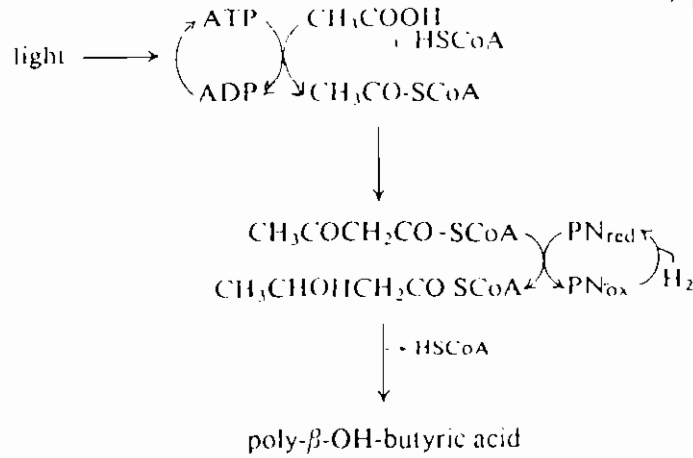


٢٠٧٠٣ تحولات الاسيتات : Acetate photometabolism

يستطيع ميكروب *Rhodospirillum rubrum* تمثيل الاسيتات مباشرة في غياب ك أ_٢ حيث تتحول الاسيتات إلى استيل كوانزيم A بواسطة انزيم منشط وفي وجود استيل ادينيلات كمركب وسطي كما في التفاعل التالي :



وباتحاد جزئين من الاستيل كوانزيم A يتكون اكسا لواسيتيل - كوانزيم A ومنه إلى المركب الرئيسي للتفاعل وهو بيتا هيدروكس بيوتيرات poly β - hydroxybutrate ولان هذا التفاعل اختزالي فإن بعض الاسيتات لا بد أن تتأكسد لتكوين القوة الاختزالية المطلوبة . ولهذا فإن تحول الاسيتات إلى البولمر يتنافس مع تثبيت ك أ_٢ على القوة المختزلة المسيرة المحدودة . وفي غياب ك أ_٢ فإن البولي هيدروكس بيوتيرات تتكون كمركب احتياطي reserve product كما بالرسم .



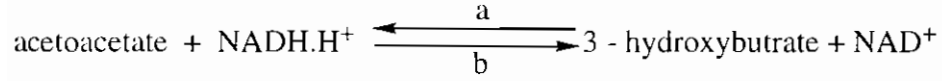
شكل (٣ - ١٣) : ميكانيكية تحول الاسيتات إلى البولي هيدروكس بيوتيرات بواسطة *Rhodospirillum rubrum*

وأهمية تكوين البولمر ترجع لعدم قدره الخلية البكتيرية على تكوين الاحماض الدهنية بدون احداث بعض الاضرار damage لها وهذه الاحماض متعادلة وتقوم بعمل

ضغظ اسموزى داخلى وتساعد الخلية فى تكوين قسوة اختزالية احتياطية تستخدم فى تثبيت ك أ .

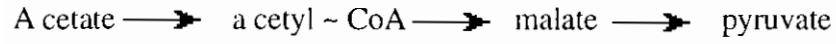
والانزيمان الئيسان لتكوين وتحلل البولمر تم عزلهما وتعريفهما :

(أ) ٣ - هيدروكسى بيوترات ديهيدروجينيز (EC 1.1.1.30) وهو يلامس التفاعل a :



(ب) ٣ - هيدروكسى اسيد ديهيدروجينيز الذى يلامس التفاعل العكسى (b) من البولمر إلى الاستيواستيات

تحت الظروف اللاهوائية وفى وجود الضوء يستطيع ميكروب *Rhodospseudomonas spheroides* تحويل الاستيات عبر المالات الى بيروفات

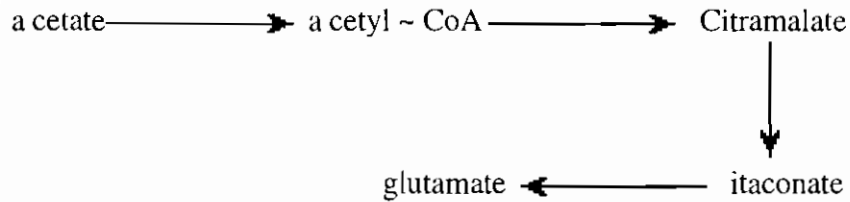


والانزيم المستخدم فى تخليق المالات هو (EC 4.1.3.2) malate synthase

وهذه الميكانيكية تسمح للكائن ان يتجنب استعمال انزيم citrate synthase (EC 4.1.3.7)

الذى يلعب دورا تنظيميا فى ميكروب *Rhodosp. Capsulate*

- هناك طرق اخرى لتحويلات الاستيات بواسطة البكتريا المثلة للضوء مثل *Chromatum* ، *Rhodosp. rubrum* مع تكوين Citramalate ، وربما الجلوتامات كنتاج نهائى .



٣٠٧٠٣ تحولات البيروفات : Pyruvate photometabolism

- البيروفات يمكن ان تتحول ايضاً بواسطة البكتريا المثلة للضوء في عدة محاور فمثلاً :
- ميكروب *Rhodospirillum rubrum* بجانب تحويله للبيروفات فإنه يستخدمها لتخليق مكونات الخلية فقد وجود طاقة ضوء كافية ومادة التفاعل حيث يكون مواد مخزنه مثل البولى هيدروكس بيوترات والبولى سكريدات . والمركب الأول يفضل ظروف لاهوائية ضوئية مع جزئ الايدروجين بينما الثانى يفضل الظروف اللاهوائية مع جزئ التروجين لتكوينه ويلعب انزيم pyruvate kinase (EC 2.7.1.40) دوراً تنظيمياً فى عملية التخليق .
 - عزل انزيم pyruvate carboxylase المرتبط بـ Co - A (EC 6.4.1.1) من ميكروب *Rhodopseudomonas spheroides* يشير إلى إمكانية نزع ك أم من البيروفات لتكوين استيل كواتريم A والاستيات .
 - اثناء النمو اللاهوائى وفى الظلام يستطيع *Rhodospirillum rubrum* تخليق الهيدروكسى بيوترات من تخمير البيروفات بمساعدة انزيم pyruvate ferredoxin - oxidoreductase (EC 1.2.7.1) أو انزيم pyruvate formate lyase وهذه الانزيمات هى المسئولة عن الناتج النهائى استيات ، H_2 ، CO_2 او البولى هيدروكسى بيوترات . ولهذا تكوين H_2 لا يعتمد على الضوء فى وجود الظلام والظروف اللاهوائية .
 - كما وجد أن البيروفات يمكن ان تتحول فى وجود الضوء إلى البروبيونات والنورمات والايديروجين .

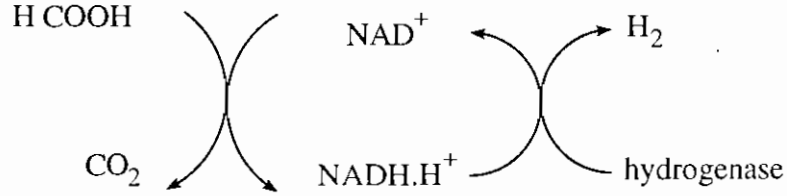
٤٠٧٠٣ تحولات الفورمات : Formate photometabolism

- يستطيع ميكروب *Rhodopseudomonas palustris* استخدام النورمات كمصدر كربون عضوى واكثر من ٩٦٪ من كربون الفورمات يتخلق فى وجود الضوء photo assimilation من تثبيت ك أم اوتوتروفا .
- يحتوى الكائن على نظام انزيمى يطلق عليه formic hydrogenlyase الذى يحتوى على انزيمين

a - soluble formic hydrogenase

b - particulate hydrogenase

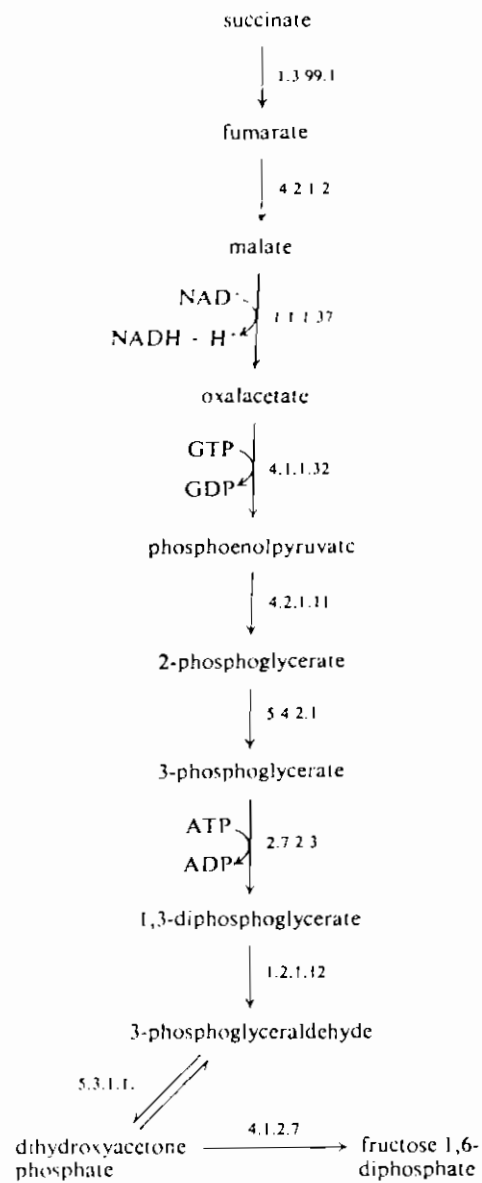
وحامل الالكترون بين الانزيمين هو NAD^+ وجهد الاكسدة والاختزال بين $HCOOH / CO_2$ حوالي 400 mV - ولهذا لا يحتاج هذا التفاعل لطاقة الضوء .



ولا يوجد Ferredoxin ولهذا فإن تحولات الفورمات تشبه تماما ما يحدث في *Pseudomonas oxalaticus* .

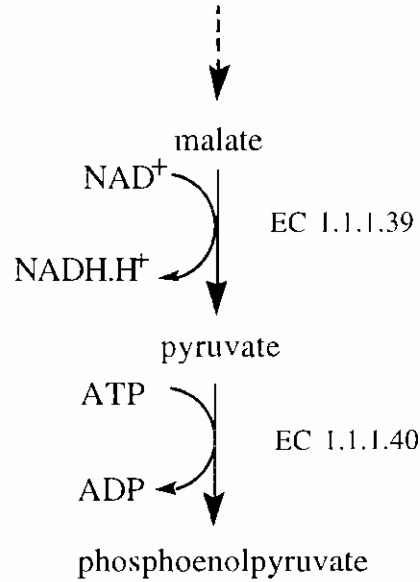
٥٠٧٠٣ تحولات السكسينات : Succinate photometabolism

- التحويلات الحيوية للسكسينات في وجود الضوء أكثر تعقيدا من الاستيات أو البيروفات أو البيوترات .
- السكسينات كمعطي للايدروچين ينقل الالكترونات عند جهد اقل من جهد NAD^+ / $NADH.H^+$ ولهذا لا تستطيع الالكترونات اختزال NAD^+ مباشرة ومن هنا جاءت أهمية الصبغات البكتيرية القادرة على اختزال NAD^+ في وجود الضوء لتغطي هذه المشكلة . وهذا الاختزال يقابل باكسدة السكسينات أو (FMN) المختزل ليعطي ناتجا نهائيا هو البولى سكريدات عبر تكوين الفيومارات والاوكسالواستيات ويستمر عكس دورة EMP كما بالرسم التالي (شكل ٣ - ١٤) .



شكل (٣-١٤) : التحويلات الايضية للسكسينات بواسطة *Rhodospirillum rubrum*

وبمقارنة هذه الدورة بتحويلات الاستيات ودوره الكربوهيدرات في *Chromatium sp* نرى تشابها بين النظامين . فالتجارب السابقة عن تخمر البروبيونات في ميكروب *R. rubrum* تبين ان البيروفات هو المركب الوسطى بدلا من الاكسالواستيات والفرق بين تحولات السكسينات والبروبيونات هي خطوة اضافة ك A^+ Carboxylation - الاضافية - التي تحول البروبيونات إلى سكسينات حيث $\text{CoA} \sim \text{propionyl}$ هو المادة التي يضاف إليها ك A^+ اما $\text{CoA} - \text{methy malonyl}$ هو ناتج التفاعل ويمكن توضيح هذا التحور في الرسم السابق كالتالي :



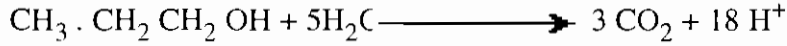
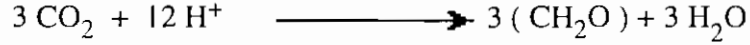
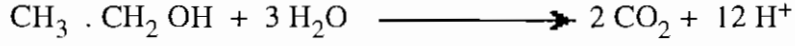
وحيث ان البيروفات هو المركب الوسطى - بدلا من الاكسالواستيات - فلا بد للتفاعل ان يتغير في جزء منه حيث تتحول المالات إلى البيروفات بملازمة انزيم malate dehydrogenase كما ان الفوسفواينول تتكون بمساعدة pyruvate kinase .

- لذا يمكن افتراض ان المواد المتحولة إلى وحدات acetyl بدون تكوين البيروفات مثل الاستيات والبيوترات تنتج غالبا البولي هيدروكسي بيوترات بينما المواد التي تتحول إلى بيروفات مصحوبة بتخليق قوة اختزالية مثل السكسينات والمالات والبروبيونات تنتج غالبا بولي سكريدات بطريقة مشابهة لتثبيت ك A^+ عبر دورة كالفن .

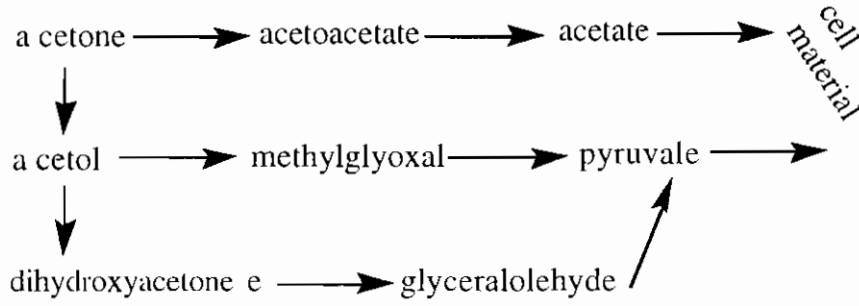
٦٠٧٠٣ تحولات الاستون والكحولات :

Acetone and Alcohol photometabolism

يستطيع عدد من البكتريا الارجوانية غير الكبريتية استعمال الكحولات المختلفة لاختزال (او تثبيت) ك أم ضوئيا وبعض الأنواع متخصص فى الكحولات الأولية والبعض الآخر فى الكحولات الثانوية . والتفاعل العام كمايلى :



كما ان الاستون يتحول بواسطة *Rhodopseudomonas gelatinosa* لتكوين مركبات لا تدخل فى تكوين الخلية ولا تتراكم كمواد وسطية حيث يتكثف الاستون مع CO_2 لتكوين الاستيواسيتات أو يتحول الاستون إلى مشتقاته الكحولية أو الالدهيدية كما بالرسم .



ويبدو ان عملية الفسفرة الضوئية تثبط بقوة بواسطة هذه الكحولات الاليفاتية المنخفضة .

٧٠٧٠٣ تحولات الميثان : methane photometabolism :

قدم Wertlieb & Vishniac, 1967 اول دليل على أن سلالة *Rhodopseudomonas gelatinosa* تستطيع استخدام الميثان كمصدر وحيد لالالكترون ويمكنه ادخال كربون الميثان إلى مادة الخلية وكذا اكسدة الميثان إلى ك أم وإن كانت المعلومات عن هذه الدورة غير كافية حتى الآن .

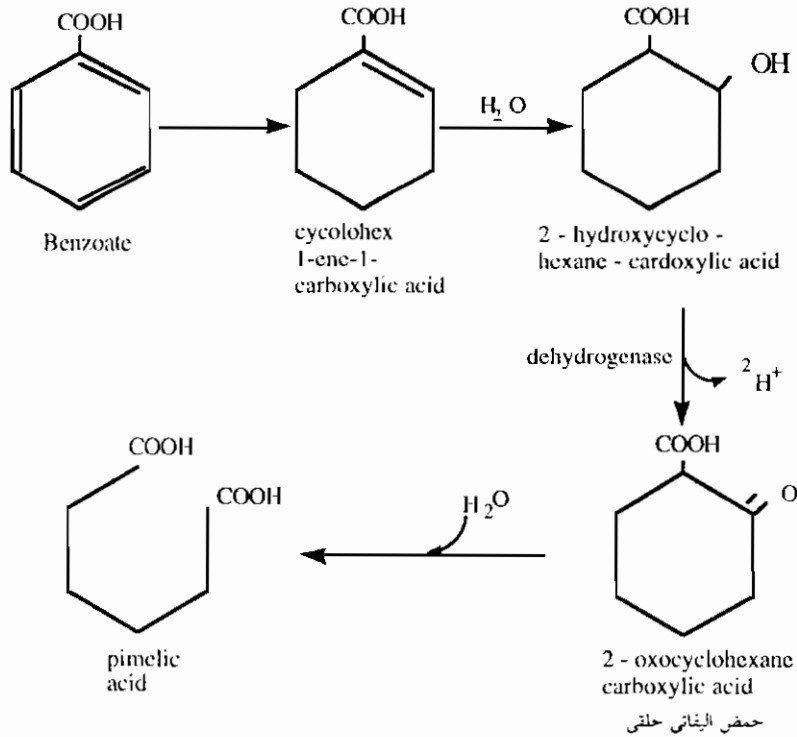
٣-٧-٨ تحولات المركبات الحلقية :

Aromatic Compounds photometabolism

تشير ابحاث Duttan & Evans 1969 على ميكروب *Rhodospseudomonas palustris* انه يستطيع تمثيل المركبات الحلقية هوائيا ولا هوائيا . فمثلا البنزوات يمكن تحويلها تحت الظروف اللاهوائية مع الضوء ولكن ليس هوائيا في الظلام بينما الهيدروكسي بنزوات يمكن تحويلها تحت كلا الطرفين .

ويسلك الميكروب السابق في الظروف الهوائية والظلام نفس طريق pseudomanads حيث يتحول الهيدروكسي بنزوات إلى بروتوكاتيكوات protocatechuate الذي يتحول في النهاية إلى α - hydroxy - muconic semialdehyde - carboxy - لا ووجود الاكسجين ضرورى لهذا التفاعل .

والفرق الرئيسي بين الطريق الهوائى واللاهوائى هو اختزال المركب الاروماتى إلى حمض اليفاتى حلقى أولا قبل تكسير الحلقة تحت الظروف اللاهوائية كما بالرسم التالى .



٨٠٣ دوره حمض الستريك لاهوائيا وتثبيت ك أ، اختزاليا :

Anaerobic TCA cycle and reductive CO₂ fixation

إن التحولات الايضية بمصاحبة الضوء للمواد العضوية المذكورة سابقا تشير إلى أن دور ATP ذو اتجاهين :

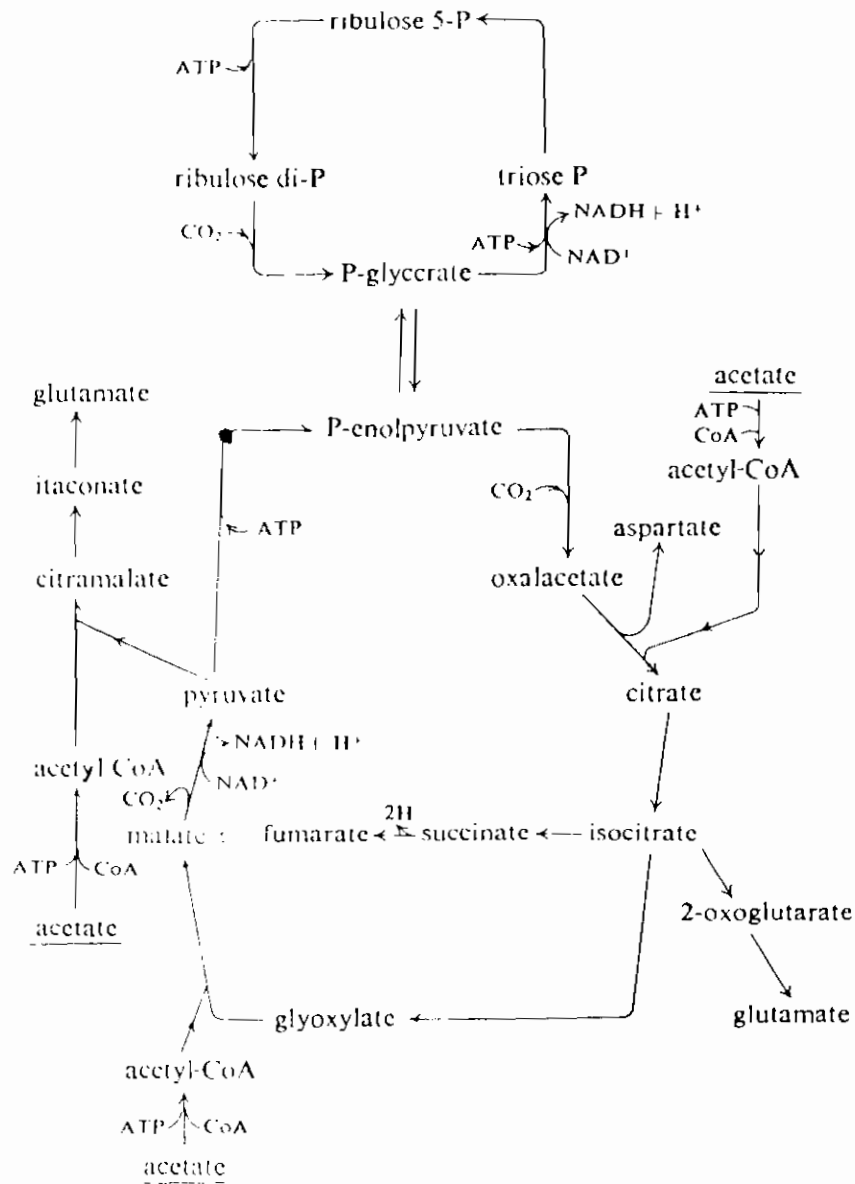
- تنشيط مادة التفاعل substrate activation لتثبيت ك أ، خلال دوره كالفن .
- تكوين مصدر كربوني نشط مثل acetyl~ CoA للدخول في الدورات المختلفة .

وكما ذكر سابقا ان التحولات الايضية للاحماض الرباعية الكربون مثل المالات والسكسينات تكون كمية كافية من ك أ، ، H₂ . وحيث ان معظم الانزيمات المشاركة في دورة TCA قد درست في مستخلصات الخلايا واصبحت معروفة فإنه يعتقد أن البكتيريا المثلة للضوء تستعمل لعمليات البناء بها جزء من دورة TCA وهي glyoxylate cycle (كما يوضح ذلك شكل ٣ - ١٥ التالي) .

وفي ميكروب *Rhodospirillum palustris* تم تحديد احد الدورات بدءا من الفا - ايسوجلوتارات عبر السكسينات ، الفورمات ، المالات ، البيروفات ، وحتى مادة الخلية (الرسم التالي) وهذه التحولات تحدث لا هوائيا في الضوء أو هوائيا في الظلام ولكن مع وجود فوارق كبيرة في معدل استهلاك الاكسجين ويمكن تلخيص كمية الاكسجين المستهلك بالمولر لكل مول من مادة التفاعل في الجدول التالي :

substrate	light	dark
2-oxoglutarate	1.13	1.51
succinate	0.73	1.42
malate	0.42	0.92

ومعدل الاستهلاك العالي للاكسجين في تفاعل الظلام يؤدي إلى معدل عالي لتكوين ك أ، .

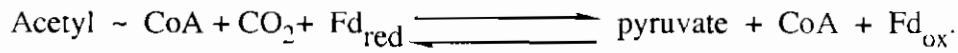


شكل (٣-١٥) : التحويلات الايضية فى وجود بكتيريا *Rhodospirillum rubrum, Chromatium sp.* ، للاسيتات والاحماض ثنائية الكربوكسيل

واكسدة الستريك ، الايزوستريك ، اكسوجلوتارات ، لانشاهد فى الخلايا الحية ولكن فى الخلايا الجافة أو المستخلص الخالى من الخلايا . ويعتقد ان صعوبة التنفيذ هى السبب فى ذلك أكثر من فقد الانزيم .

- كما يبدو ان تحولات الاحماض العضوية تحت الظروف اللاهوائية خلال دوره حمض الستريك افضل فى الظلام اما الظروف (ضوء - لاهوائية) فيبدو انها تشوش نوعا ما على نشاط دورة TCA ولكن هذا التأثير (السلبى) قد يكون غير مباشر بواسطة تحفيز انشقاق استرات الذى يزيد مستوى ATP . NADH.H⁺ فى الخلية .

- وحديثا اكتشف انزيم يستطيع استخدام ferredoxin مباشرة كحامل مختزل فى تمثيل ك أ_٢ وهو pyruvate Synthase (EC 1.2.7.1) حيث يلامس التخليق المختزل للبيروفات من CO₂ , a cetyl - CoA , وينفس الاسلوب يمكن تمثيل السكسينات ، ك أ_٢



- البكتريا الارجوانية النامية فوتوهيتروتوفيا تحوى مستوى عالى من انزيم الريبولوز 1-5 دى فوسفات كربوكسيليز (EC 4.1.139) ribulose 1.5 biphosphale corboxylase وهو يعتبر الانزيم الاهم (key) لتثبيت ك أ_٢ فى دوره كالفن - كما سيرد ذلك بالتفصيل فى الباب السابع - وبالتالي يمكنها تثبيت ك أ_٢ اوتوتروفيا .

* والخلاصة ان البكتريا المثلة للضوء تعتمد على مادة التفاعل فى عملية تثبيت ك أ_٢ فمثلا lithotrophic photobacteria يستطيع استخدام دوره البتوز بينما organotrophic photobacteria تفضل دوره الاحماض الكربوكسيلية المختزلة .

٩٠٣ تثبيت N₂ ضوئيا : Photochemical N₂- fixation

تستطيع البكتريا الارجوانية والخضراء تثبيت النتروجين تحت ظروف لاهوائية فى وجود الضوء نتيجة حركة الالكترتون بطريقة غير حلقية non cyclic حيث يمر الالكترتون من مادة التفاعل عبر السيتوكروم إلى الكلوروفيل (كما وصف فى انطلاق H₂ سابقا) . والدليل على ذلك امكن الحصول عليه بالخلايا المعلمة illuminated cells وباستخدام الثيوسلفات أو السكسينات كمادة تفاعل ومعطى للالكترتون . ويزداد تمثيل النتروجين بقوة باضافة ATP

ووجود Fd المختزل ضرورى كعامل مختزل وسطى ولكن يمكن ابداله
بمركب dithionate أو H_2 فى وجود عامل لمسى methyl - or benzylviologen .

ونظام النيتروجينيز لميكروب *Chromatium* يبدو مشابها فى جميع خواصه لمثيله فى
Azotobacter مثلا حيث يختزل النتروجين إلى امونيا والاسيتلين إلى ايثيلين . كما أن
الطاقة اللازمة لتثبيت النتروجين مشابهة نوعيا لمثيلتها اللازمة لتمثيل ك_أ مما يؤكد ان نشاط
النيتروجينيز يتلازم (يتقابل) مع تخليق ATP فوتوكيمياويا .

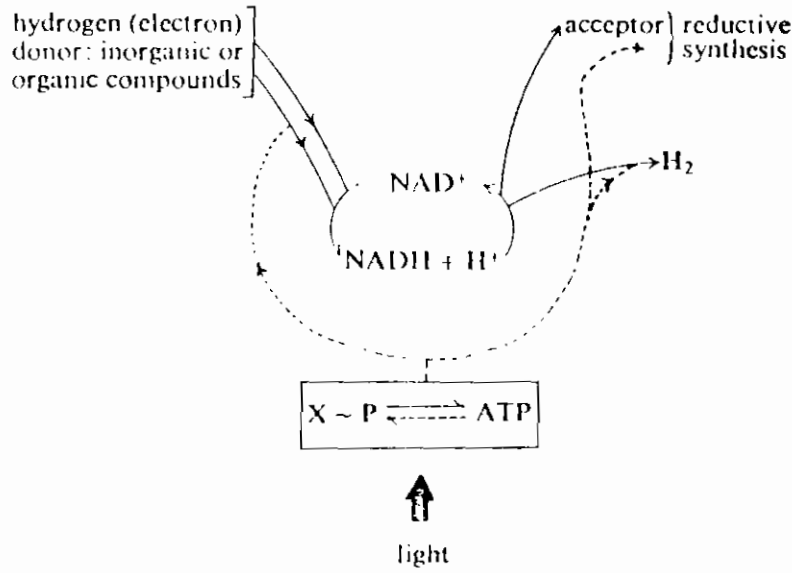
وتشير القياسات الكمية للنتروجين المثبت فى ميكروب *Rhodospirillum rubrum*
إلى أن حوالى 6 مول من المالات ، الفورمات ، السكسينات أو 10 مول من البيروفات
تستهلك لتثبيت مول من جزى النتروجين ويثبط التفاعل بوجود الامونيا .

ويعتبر تثبيت النتروجين هو طريق آخر لاستخدام الالكترونات المنبعثة من الكلوروفيل
والمثارة بواسطة الضوء وهذا التداخل بين الاختزال الضوئي للايدروجين وتثبيت النتروجين
ضوئيا لا يبدو مقتصرًا على البكتريا الفوتوتروفية وعلى سبيل المثال الطحالب الخضراء المزرقه
ذات القدرة على تثبيت النتروجين يمكن أقلمتها على تكوين الايدروجين .

٣-١٠ مستقبل الالكترون فى البكتريا الأرجوانية :

Electron acceptor in purple bacteria

تم التركيز على تكوين ATP ومعطيات الايدروجين ولم يذكر الشئ الكثير
عن مستقبلات الايدروجين (او الالكترون) ولقد ذكر سابقا وجود دلائل على العلاقة
بين تركيز ك_أ وانطلاق H_2 وكذا عن التنافس بين انطلاق H_2 وتثبيت N_2 ويمكن
تصور طريقة انسياب الايدروجين (الالكترون) من المعطى إلى المستقبل كما بالرسم
التالى .



شكل (٣-١٦) : ميكانيكية انتقال الالكترونات من المعطى إلى المستقبل وتكوين القوة المختزلة

وتستخدم القوة الاختزالية $NADH.H^+$ فى عدد كبير من عمليات التخليق المختزلة مثل تمثيل ك أ هـ إلى مكونات الخلية أو نقل مركبات C_2 , C_3 إلى مواد مخزنة وايضا اختزال الامونيا لتكوين الاحماض الامينية وبالتالي إلى تخليق البروتين وفى حالة وجود فائض من ATP , $NADH_2$ عن حاجة العمليات الحيوية فإن $NADH_2$ يعاد اكسدته بانطلاق جزئى الايدروجين وهذه العملية نوع من التوجيه التنظيمى ليحفظ ATP , $NADH_2$ عند مستوى يتناسب مع الاحتياج الكلى للنشاط الحيوى .

وفى النباتات والبكتريا الخضراء وبعض البكتريا الارجوانية الكبريتية يذهب الجزء الاكبر من ATP إلى اختزال ك أ هـ لتخليق مادة الخلية اما البكتريا الكبريتية غير الارجوانية وبعض الارجوانية الكبريتية فإنها تكون مادة الخلية من مواد عضوية خارجية هيتروتوفيا أى أن استعمال ك أ هـ كمصدر وحيد للكربون فى عملية التمثيل الضوئى ليس صفة مميزة (أو منفردة) لها ولكن يقتصر على الكائنات المعروفة بـ autotrophs .

اسئلة لمراجعة الباب الثالث

- ١ - اشرح معادلة فان نيل للتمثيل الضوئى .
- ٢ - اشرح الفروق الرئيسية بين الفسفرة الضوئية الحلقية والغير حلقية .
- ٣ - اذكر اسم ٣ عائلات رئيسية للبكتيريا الممثلة للضوء مع ذكر الصفات المميزة لكل منها .
- ٤ - ناقش كيفية انتقال الالكترون فى عملية التمثيل الضوئى هوائيا مع ذكر الفروق الرئيسية عنها فى العائلات الثلاث للبكتيريا الممثلة للضوء .
- ٥ - « افراد عائلة Athiorhedaceae يمكنها النمو اما لا هوائيا فى وجود الضوء (تمثيل ضوئى) أو هوائيا فى الظلام (التنفس) أى يستطيع الكائن التحول من الفسفرة الضوئية إلى الفسفرة المؤكسدة » ناقش هذه العبارة موضحا
- تأثير الضوء على الفسفرة المؤكسدة .
- تأثير الاكسجين على الفسفرة الضوئية .
- ٦ - « تستطيع *Chromatium* انتاج الايدروجين او استعمال الايدروجين كمعطى للالكترون اثناء التحويلات الايضية بمصاحبة الضوء » ناقش هذه العبارة .
- ٧ - وضح كيفية تكوين البولسى هيدروكسى بيوترات اثناء تحولات الاستيات بواسطة *Rhodospirillum rubrum* .
- ٨ - اشرح اهمية دورة TCA لاهوائيا وتثبيت ك أم اختزاليا بالنسبة للبكتيريا photoorganotrophs .
- ٩ - حدد العلاقة بين تمثيل النتروجين وانطلاق الايدروجين فى البكتيريا الممثلة للضوء .
- ١٠ - اشرح كيفية تحول المركبات الاروماتية بواسطة البكتيريا الممثلة للضوء .

المراجع

1. Arnon, D.I. (1959). Conversion of light into chemical energy in photosynthesis. *Nature* (London), 184 : 10.
2. Arnon, D.I., Tsujimoto, H.Y. and McSwain, B.D. (1965), photosynthetic phosphorylation and electron transport. *Nature* (London) 207 : 1367.
3. Buchanan, B.B. (1969). Role of ferredoxin in the synthesis of α -ketobutyrate from propionyl Coenzyme A and CO_2 by enzyme from photosynthetic and nonphotosynthetic bacteria. *J. Biol. Chem.* 244 : 4218.
4. Calvin, M. and Andrees, G.M. (1962). Primary quantum conversion in photosynthesis. *Sci.* 138 : 867.
5. Case, G.S. and Parson, W.W. (1971). Thermodynamics of the primary and secondary photochemical reactions in *Chromatium*. *Biochem. Biophys. Acta.* 253 : 187.
6. Cohen-Bazine, G., Pfennig, N and Kunisawa, R. (1964). The fine structure of green bacteria. *J. Cell Biol.* 22 : 207.
7. Cusanovich, M.A., and Komen, M.D. (1968). Light-induced electron transfer in *Chromatium* Strain D. III. Photophosphorylation by *Chromatium* chromatophores.. *Biochem. Biophys. Acta* 153 : 418.
8. Dutton, P.L. and Evans, W.C. (1969). The metabolism of aromatic compounds by *Rhodospseudomonas palustris*. A new reductive method of aromatic ring fission. *Biochem. J.* 113 : 525.
9. Fogg, G.E. (1968). "Photosynthesis" English Univ. Press, London.
10. Gest, H., Pietro, A.S. and Vernon, L.P. (1963). "Bacterial photosynthesis". Antioch Press, Yellow Springs, Ohio.

11. Gibbs, M. (1970). The inhibition of photosynthesis by oxygen. *Amer. Sci.* 58 : 634.
12. Hoare, D.S. and Hoare, S.L. (1969). Hydrogen metabolism by *Rhodospirillum rubrum*. *J. Bacteriol.* 100 : 1124.
13. Lees, H. (1955). "The photosynthetic bacteria" in : "Biochemistry of autotrophic bacteria" (H. Lees, ed) p. 61. Butterworth, London).
14. Losada, M., Whatley, F.R. and Arnon, D.I. (1961). Separation of two light reactions in non cyclic photophosphorylation of green plants *Nature* (London), 190 : 606.
15. Sohôn, C. and Biedermann, M. (1967). Growth and adaptive hydrogen production of *Rhodospirillum rubrum* (F1) in anaerobic dark cultures. *Biochem. Biophys. Acta*, 304 : 65.
16. Schlegel, H.G. (1986). *General Microbiology*. 6th Ed., Cambridge Univ. Press, London.
17. Uffen, R.L. (1973). Growth properties of *Rhodospirillum rubrum* mutants and fermentation of pyruvate in anaerobic, dark conditions. *J. Bacteriol.* 116 : 874.
18. Van Niel, C.B. (1941). The bacterial photosynthesis and their importance for the general problem of photosynthesis. *Advan. Enzymol.* 1 : 263.
19. Vernon, L.P. (1968). Photochemical and electron transport reactions of bacterial photosynthesis. *Bacteriol. Rev.* 32 : 243.
20. Wertlieb, D. and Vishniac, W. (1967). Methane utilisation by *Rhodospirillum rubrum*. *J. Bacteriol.* 93 : 1722.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الباب الرابع
التنفس اللاهوائى

Anaerobic Respiration

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الباب الرابع التنفس اللاهوائى

Anaerobic Respiration

● كما ذكر فى الباب السابق فإن البكتريا المثلثة للضوء photosynthetic bacteria تحصل على طاقتها من الضوء وتنقلها عبر السيتوكروم وأخيراً تخزنها فى صورة ATP ويأتى أيدروجين القوة الاختزالية $NAD(P)H_2$ من مادة التفاعل وهو مصدر (معطى) خارجى .

«ولكن أغلب الميكروبات تحصل على طاقتها من التفاعلات الكيماوية ولذا تعرف « Chemosynthetic bacteria .

● نظام الحصول على الطاقة فى كلا النوعين من البكتريا متشابه والفرق الأساسى أن الضوء كمصدر لإثارة الالكترونات يحل محله عدد كبير من المركبات الكيماوية كمصدر للطاقة . وبناء عليه يمكن تقسيم الميكروبات الغير ضوئية إلى :

١ - Chemolithotrophs

وهو الميكروبات التى تحصل على طاقتها من أكسدة المواد الغير عضوية .

٢ - Chemoorganotrophs

وهى الميكروبات التى تحصل على طاقتها من أكسدة المواد العضوية .

● توجد ٣ عمليات أساسية فى الأكسدة البيولوجية عموماً :

- نزع الأيدروجين (أو الالكترون) من مادة التفاعل ويتبعه نقله إلى مستقبل مناسب .
- حفظ الطاقة الناتجة من التفاعل السابق .
- التحولات المختلفة لمادة التفاعل المؤكسدة .

- المستقبل النهائى للالكترولن إما يكون الأكسجين فى حالة التنفس الهوائى aerobic respiration أو مركب غير عضوى (خلاف الأكسجين) فى حالة التنفس اللاهوائى anaerobic respiration أو مركب عضوى فى حالة التخمر Fermentation .
- عملية انتقال الالكترولن عبر سلسلة متدرجة الجهد من تفاعلات الأكسدة والاختزال تعرف بسلسلة انتقال الالكترولن (راجع شكل ٢ فى الباب الأول) .
- التنفس اللاهوائى anaerobic or anoxybiontic هى عملية لاهوائية - تتم فى غياب الأكسجين - ولكن باستخدام بدائله حيث أن الميكروبات التى تقوم به تمتلك نظام السيتوكروم وهى لاهوائية اختيارية أو حتمية أحياناً .
- توجد ٤ مجاميع رئيسية من البكتريا التى تستخدم المركبات الغير عضوية كمستقبل نهائى للالكترولن هم :
 - أ (Sulfate reducing bacteria وتستخدم $SO_4^{=}$.
 - ب (Denitrifying bacteria وتستخدم NO_3 .
 - ج (Methanobacterium وتستخدم CO_2 .
 - د (Fe^{3+} reducing bacteria وتستخدم Fe^{3+} .

١.٤ البكتريا المختزلة للكبريتات او Sulfate respiration

- عدد الميكروبات التى تستخدم الكبريتات كمستقبل نهائى للالكترون صغير ويطلق عليها Desulfuricants ويمكن تقسيمها كالتالى :

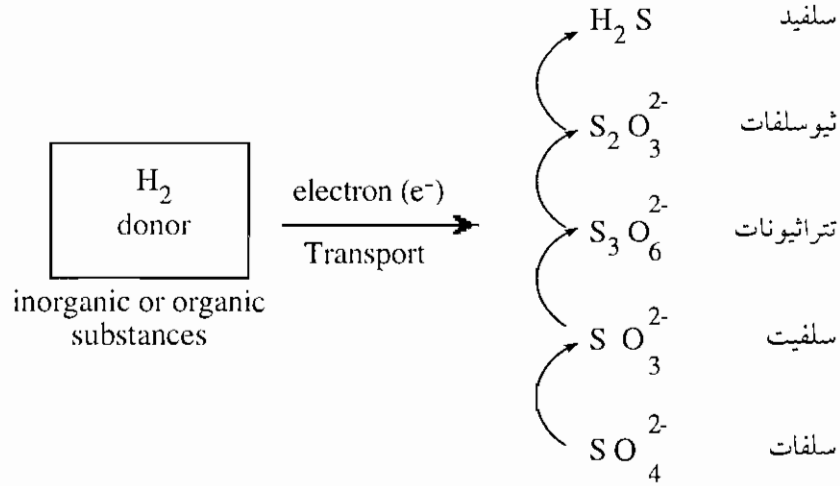
١ - لا تكون جراثيم وتشمل :

- *Desulfovibrio desulfuricans*.
- *Desulfovibrio gigas*.
- *Desulfovibrio vulgaris*.

٢ - تكون جراثيم وتشمل :

- *Desulfotomaculum nigrificans*.
- *Desulfotomaculum orienties*.
- *Desulfotomaculum ruminis*.

وهذه الميكروبات لاهوائية حتمية - تختزل الكبريتات فى وجود معطى للالكترون (أيدروجين - ثيوسلفات - بيوسلفات - مستخلص خميرة - أيدروجين عضوى - ك أ).



- إضافة مستخلص الخميرة يحفز النمو ويحتاج الاسيتات ، ك أ₂ لتخليق مادة الخلية ولهذا تصنف هذه البكتريا المختزلة للكبريتات ك Facultative autotrophs or Chemolithotrophic heterotrophs .

- يمكن تقسيم *Desulfovibrio sp.* حسب % G + C لحمض DNA إلى ٣ مجاميع :

الأولى يحتوى على ٦٠ - ٦٢ % (G + C)

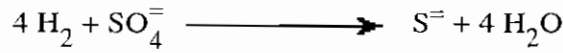
الثانية تحتوى على ٥٤ - ٥٦ %

الثالثة تحتوى على ٤٦ - ٤٧ %

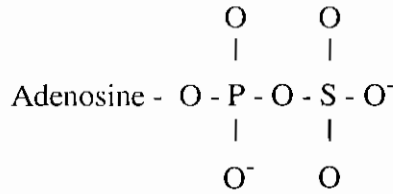
أما *Desulfotomaculum* يحتوى على ٤٢-٤٦ % G + C

١.١.٤ اختزال الكبريتات باستخدام الأيدروجين كمعطى للإلكترون

تستطيع بكتريا *D. desulfuricans* اختزال الكبريتات سريعاً فى وجود الأيدروجين والمعادلة العامة هى :

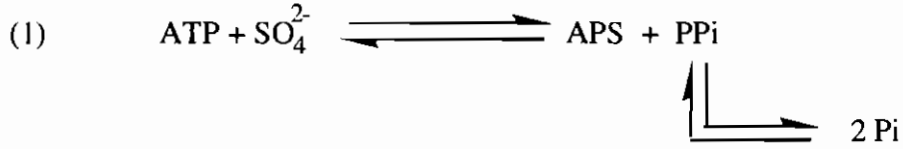


ودراسات الديناميكا الحرارية على الخلايا أو مستخلاصاتها تؤكد أن الاختزال يتم فى عدة خطوات مستخدماً الكبريت العضوى (APS) Adenosine 5-phosphosulfate كمركب وسطى ويظهر الرسم التالى التركيب البنائى له :



التركيب البنائى لمركب ادينوسين فوسفوسلفات (APS)

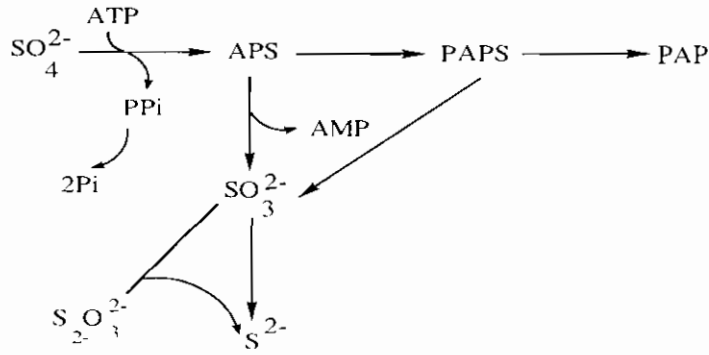
وتكون مثل هذه المركبات الغنية بالطاقة تعنى أن الكبريت يحتاج لنوع من طاقة التنشيط التي تستمد من ATP :



وتعتبر هذه هي الخطوة الأولى في اختزال الكبريتات والتي تؤدي إلى غرضين :

١ - تخليق مركب غني بالطاقة (APS) .

٢ - انفصال PPi من ATP مما يؤدي لتحليل رابطتين فوسفاتيتين غنيتين بالطاقة حيث يتحول PPi سريعاً إلى فوسفات معدني Pi والإنزيم الذي يلامس هذه الخطوة هو : sulfate adenylyl - transferase (EC 2. 7. 7. 4)



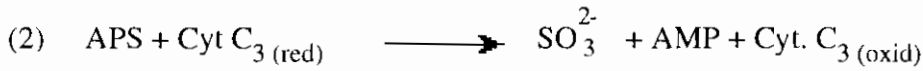
شكل (٤-١) : اختزال السلفات والثيوسلفات بواسطة *D. desulfuricans*

- أما الخطوة الثانية في اختزال الكبريتات فتتضمن أكسدة جزئ الأيدروجين بواسطة أنزيم hydrogenase قوى جداً يحتاج Fe في أغلب السلالات مما أدى لاكتشاف سيتوكروم C_3 وهذا السيتوكروم ذائب ، ذاتى الأكسدة autooxidizable ، يقاس عند 419nm ، ذو جهد أكسدة واختزال منخفض 250 mV - ، ونقطة التعادل الكهربائي (IEP) iso electric point عند pH أقل من ١٠ ، يحتوى على ٩٪ حديد ويعمل كحامل

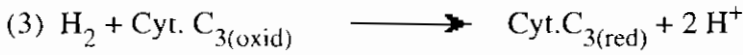
للالكترون في التفاعلات التى يكون الأوكسجين فيها هو المستقبل النهائى (يمكن اختزال أى آثار للأوكسجين فى البيئه) .



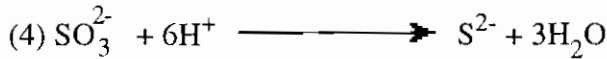
وسيتوكروم C₃ مسئول عن جهد الأوكسدة والاختزال المنخفض المطلوب لنمو Desulfocants حيث تحتاج هذه الكائنات إلى جهد اختزال لا يزيد عن 200 mV - وتوضح المعادلة التالية الخطوة الثانية التى يعمل فيها Cyt. C₃ كحامل للالكترون .



والانزيم الذى يلامس التفاعل هو (EC 1-2-99.2) adenylylsulfate reductase وبقية الخطوة الثانية هى اختزال Cyt. C₃ المؤكسد بملامسة أنزيم hydrogenase وأكسدة الأيدروجين .



- والخطوة الأخيرة هى اختزال السلفيت Sulfite إلى السلفيد Sulfide بملامسة أنزيم Sulfite reductase (EC1.8.99.1) كما يلى :



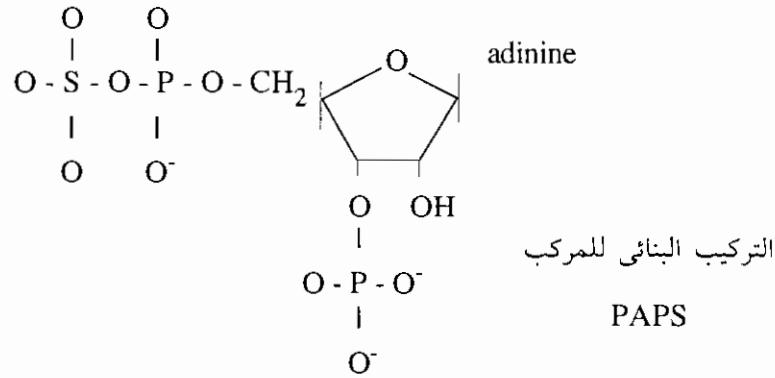
وتمثل المعادلات الأربع عملية اختزال الكبريتات إلى الكبريتيد فى وجود H₂ كمعطى للأيدروجين والتى تحتاج مصدر طاقة ATP (2P/SO₄²⁻) لتنشيط السلفات وهذا لا يتأتى من مادة التفاعل أو السلفات أو الأيدروجين والمصدر البديل الوحيد هو الفسفرة المؤكسدة oxidative phosphorylation المقابلة Coupled لأكسدة الأيدروجين .

ويظهر ميكروب *Desulfovibrio gigas* مقدرة على فسفرة ADP المواكبة لأكسدة الأيدروجين بالسلفيت أو الفيومارات كمستقبل للإلكترونين حيث يقوم 6- menaquinone بنقل الإلكترون بين Fumarate reductase , hydrogenase .

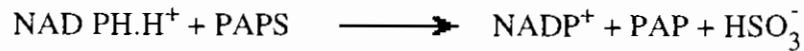
ولقد توصلت الأبحاث الحديثة باستخدام داي نيتروفينول لتشجيع تكون ATPase في الميكروب السابق لوجود هذه الفسفرة المؤكسدة في عملية اختزال الكبريتات لاهوائياً ولا صوتياً حيث يشارك ATPase في عملية الفسفرة سواء مؤكسدة أو صوتية في المستخلصات البكتيرية .

ولهذا يبدو *Desulfovibrio sp* أنه يستطيع القيام بعملية الفسفرة المؤكسدة مثل البكتريا الهوائية ولكن في وجود سبتوكروم C_3 فقط وهذا كائن فريد النظر فعلاً .

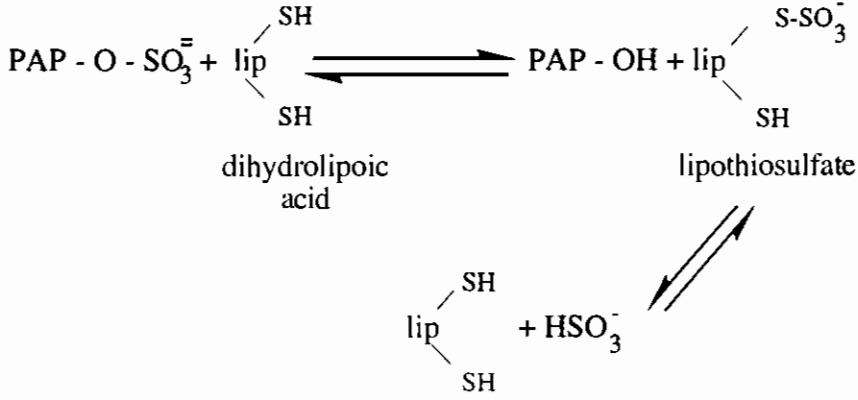
أما في الخمائر التي تقوم بنفس عملية اختزال الكبريتات فإن الفرق يكون واضحاً لاعتمادها على تكوين المركب PAPS (3- phospho adenosine 5-phospho Sulfate)



ولذا فهي تحتاج - بالإضافة إلى ATP - إلى NADP المختزل أو حمض الليبويك المختزل كمعطى للأيدروجين والأنزيم المسئول هو adenylyl sulfate kinase (EC 2.7.1.25) الذي ينقل مجموعة فوسفات ثانية إلى APS لتكوين PAPS ثم يحدث الاختزال إلى السلفيت بواسطة $NADPH.H^+$ في وجود أنزيم PAPS - reductase .



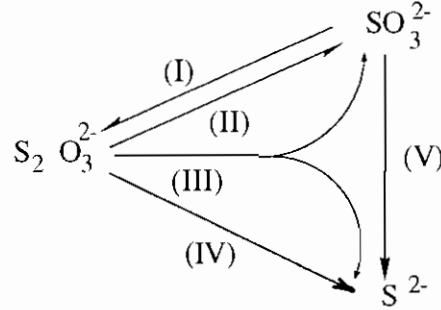
ويعتقد أن هذا الاختزال لمركب PAPS يتضمن مركب وسطى Lipothiosulfate الذى لم يعزل بعد وذلك من خلال التصور التالى :



ووجود هاتين الطريقتين (APS , PAPS) لاختزال السلفات يفرق بوضوح بين الكائنات التى تستعمل اختزال الكبريتات dissimilatory (هدم) عن الكائنات التى تستعملها assimilatory (بناء) حيث الاختزال الهدمى يتم بواسطة الكائنات التى فى حاجة كبيرة لاتمام تنفسها اللاهوائى باستخدام السلفات كمستقبل للالكترول (Desulfuricants) وكمية السلفيت الناتجة توازى كمية H₂ ، المادة العضوية المهذومة . أما الخمائر ، *E.coli* ، *Salmonella* فلها القدرة على النمو مستخدمة السلفات كمصدر وحيد للكبريت وتستعمل السلفيت أو السلفيد الناتج فى عملية بناء الأحماض الأمينية بها (اختزال بنائى-Assimilatory reduction) .

٢٠١٠٤ اختزال الثيوسلفات فى وجود الأيدروجين

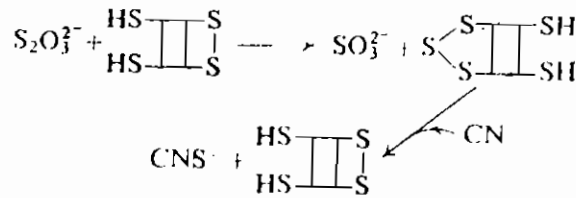
يمكن اختزالها بعدة طرق كما يلى :



شكل (٤-٢) : اختزال الثيوسلفات فى وجود الأيدروجين

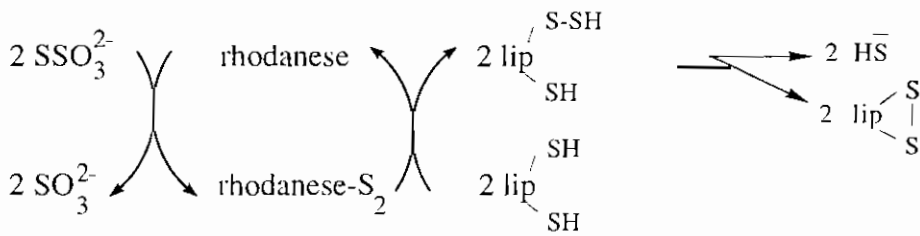
- يستطيع أنزيم Thiosulfate reductase (EC. 2.8.1. 1) اتمام خطوة (III) كما بالرسم السابق بمصاحبة سيتوكروم C_3 لاختزال الثيوسلفات إلى السلفيد (H_2S) وتكوين السلفيت (SO_3^-) حيث ذرة الكبريت الخارجية للثيوسلفات تختزل إلى H_2S وذرة الكبريت الداخلية تتراكم كسلفيت والذي يختزل بعد ذلك إلى H_2S فى وجود أنزيم Sulfite reductase (EC. 1.8.99.1) [خطوة (V)] أو يمكن إعادته مرة أخرى إلى الثيوسلفات بمساعدة انزيم bisulfite reductase [خطوة (I)] ووجود هذا النظام الانزيمى يسمح للثيوسلفات أن تكون مركب وسطى فى اختزال السلفيت ويجعل الخلية قادرة على التحكم فى مستوى السلفيت الداخلى بها ، والسلفيت نفسه ذو تأثير مثبط على انزيم thiosulfate reductase عند التركيزات المنخفضة نسبياً ويشبط Sulfite reductase عند التركيزات العالية .
- لوحظ أيضاً اختزال مباشر للثيوسلفات خطوة (IV) بواسطة جزئ الأيدروجين فى مستخلص الخلايا لميكروب *Desulfovibrio gigas* وهذا النظام مثل thiosulfate reductase السابق ذكره - يحتاج Ferredoxin ، Flavodoxin كحامل للاكترون - ولكن لم يعرف بعد إذا كان الانزيمان Thiosulfate or bisulfate reductases متشابهان أم لا .
- ميكروب *Thiobacillus denitrificans* اللاهوائى يظهر سلوكاً آخرأ فى

اختزال الثيوسلفات حيث عزل منــــه انزيم يشبه rhodanese أو thisoulfate sulfertransferase (EC. 2.8 1.1) الذى يحول الثيوسلفات إلى السلفيت فى وجود حمض الليبوثيك أو ليواميد (تفاعل II) فى الرسم السابق والذى يمكن توضيحه تفصيلا فى الرسم اللاحق .



شكل (٤-٣) : يحول الثيوسلفات لا هوائياً بواسطة lipoamide فى وجود *Thiobacillus denitrificans*

وانزيم rhodanese البكتيرى ينظر إليه كانه انزيم قائم بذاته نظراً لخواصه المتفردة ولهذا تحتل موقعاً مؤقتاً فى تحويلات الكبريت . ويمكن تلخيص ميكانيكية تفاعله كما بالرسم .



شكل رقم (٤-٤) : كيفية اختزال الثيوسلفات لاهوائياً بمصاحبة انزيم rhodanese

ومنه يتضح انتقال ذرة الكبريت الخارجية فى الثيوسلفات إلى dihydrolipoate عبر انزيم rhodanese مكوناً lipoate persulfide وهو مركب عالى النشاط وينشق مباشرة إلى HS^- و lipoate-S_2 .

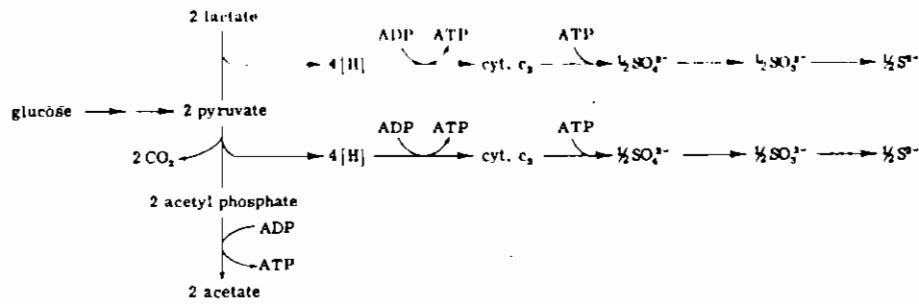
ويشير اكتشاف هذا الانزيم فى *Desulfotomaculum nigrificans* كبروتين منفصل

عن Thiosulfate reductase إلى أن التفاعل المستول عنه الانزيم موجود بجانب تفاعلات الاختزال الأخرى والأيدروجين هو معطى الإلكترون وسلسلة انتقال الإلكترونات متماثلة فى تفاعلات اختزال السلفات والثيوسلفات .

٣٠١٠٤ اختزال الكبريتات باستخدام المواد العضوية كمعطى للإلكترونات

يمكن استبدال الأيدروجين بالعديد من المركبات العضوية كمعطى للإلكترونات مثل الجلوكوز واللاكتات والبيروفات والنتائج النهائية هو الاستيات ، CO_2 ، H_2S .

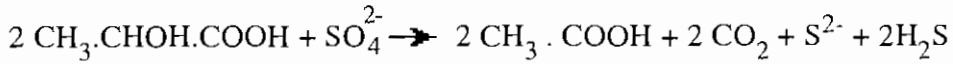
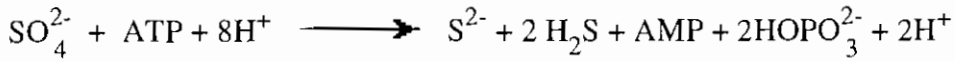
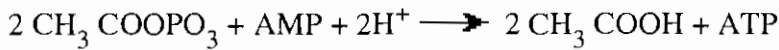
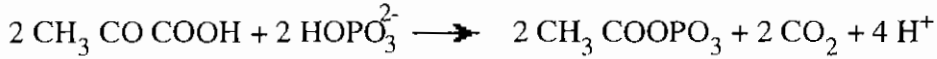
ويستطيع ميكروب *Desulfotomaculum nigrificans* المحب للحرارة العالية التكيف على استخدام الجلوكوز كمصدر للطاقة من خلال دورة EMP ويعتبر واحد من الميكروبات القليلة التى تستخدم دورة Enter-Doudoroff . وعملية هدم المركبات العضوية تنتج الإلكترونات اللازمة لاختزال السلفات ، والطاقة اللازمة للنمو . وعملية أكسدة البيروفات تقابلها اختزال الكبريتات كما يظهر من الرسم التالى :



شكل (٤-٥) : اختزال الكبريتات باستخدام المواد العضوية كمعطى للإلكترون (تحولات اللاكتات والبيروفات بواسطة البكتريا المختزلة للكبريتات)

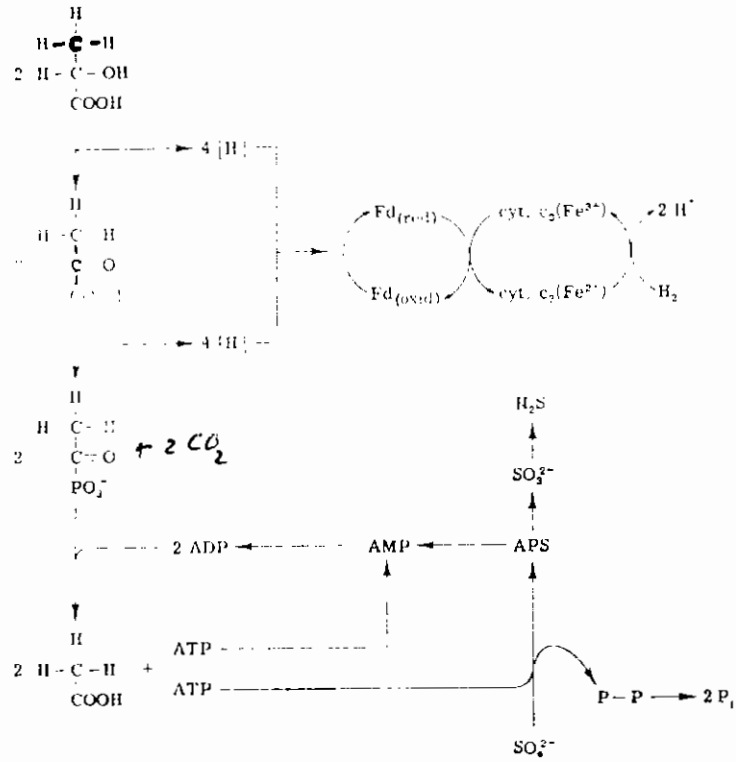
- فى معظم الميكروبات Desulfuricants يتم نزع ك أ_٤ من البيروفات وتتحول إلى اسيتيل الفوسفات ، CO_2 ، H_2 ويحتاج هذا التفاعل إلى الفوسفات المعدنى ، Co A وهو يشبه ما يحدث فى تفاعل الفسفرة فى Clostridia كما سيأتى ذكره فى الباب التاسع ويعتقد أيضاً أن Thiamine diphosphate مطلوب أيضاً .

- أما ATP المطلوب لتنشيط السلفات أثناء اختزالها فيأتي من تحول اسيتيل الفوسفات إلى الاسيتات ، ATP . وانزيم acetokinase المشارك في هذا التفاعل متخصص للاسيتات وغير نشط مع الفورمات أو البروبيونات أو البيوتيرات أو السكسينات ويمكن شرح التفاعل بالتفصيل كالتالي والذي يعرف بعملية نزع ك أ_٢ المفسفرة phosphoclastic decarboxylation .



- الفيرودكسن ضروري لعملية نزع ك أ_٢ المصحوبة بعملية فسفرة وأيضاً ضروري لتنشيط اختزال الكبريتات .

- يمكن تصور تحول اللاكتات عبر البيروفات كما في الرسم التالي (شكل ٤-٦) ومنه يظهر أن الأيدروجين الناتج يستعمل في اختزال السلفات كمعطي للأيدروجين بنفس الميكانيكية السابقة الموضحة بالمعادلات السابقة .



شكل (٤-٦) : تحويلات اللاكتات واختزال السلفات بواسطة بكتريا اختزال الكبريتات

- أما سبب التأثير المشجع لـ ATP على تكسير البيروفات فيرجع لتكوين ADP (كما بالرسم) الذي يعجل بالتخلص من استييل الفوسفات وإكمال بقية خطوات التفاعل .
- المحصلة النهائية لـ ATP المتكون مشابهة لما يحدث في اختزال الكبريتات بواسطة H_2 كمعطي للأيدروجين . حيث ان ٤ أزواج الالكترونات الناتجة من أكسدة ٢ جزئ استييل فوسفات تستخدم في تحويل جزئ سلفات إلى سلفيد . وحيث لا يوجد إنتاج حقيقى لـ ATP من فسفرة مادة التفاعل فإن الكائن يحصل على طاقته للنمو من استرة الفوسفات أى الفسفرة المؤكسدة المصاحبة لانتقال الالكترون من اللاكتات أو البيروفات إلى السلفات .
- والسؤال الهام هو كيف يستطيع ميكروب *Desulfovibrio* استبدال اختزاله للسلفات

باستخدام تفاعل الفسفرة phosphoroclastic reaction التقليدى كما فى *E. coli* (راجع الباب التاسع) ؟

هذه الميكانيكية التقليدية تنتج فورمات بالإضافة إلى اسيتيل فوسفات ولكن الفورمات لم تعزل بعد كمركب وسطى فى تحولات البيروفات بواسطة هذا الميكروب ويحتمل أن تحول الفورمات يتم - عبر $Cyt.C_3$ - إلى H_2 ، CO_2 الذى يتبادل بعد ذلك مع البيروفات . وقد عزز اكتشاف انزيم الفورمات ديهيدروجينيز المرتبط على الغشاء الستيوبلازمى فى ميكروب *D. vulgaris* الدليل على وجود تفاعل فسفرة تقليدى مع Formate hydrogenlyase System . وبرغم أن معظم الفورمات ديهيدروجينيز مرتبطة بـ NAD^+ ، $NADP^+$ ، Ferredoxin ، Ubiquinone ، إلا أنه ميكروب *D. Vulgaris* يرتبط مع $Cyt. C_{553}$. ومن المعروف أن تحول الاسيتيل فوسفات إلى الاسيتات هى خطوة إنتاج الطاقة الوحيدة المتاحة . فإذا كان *D. desulfuricans* تستعمل البيروفات بدون اختزال السلفات فلا بد أن هذا الكائن يستعمل ميكانيكية فسفرة مؤكسدة إضافية للحصول على الطاقة اللازمة لنموه والتي تحدث عند مستوى Fumarase . وقد ثبت مثلاً أن ميكروب *D. gigas* يملك بالفعل انزيمات Fumarase ، التى تلامس هدرجه الفيومارات إلى المالات ونزع ك⁺ أ⁺ المؤكسدة من المالات إلى البيروفات ، ويشير وجود malate dismutation وتحول المالات إلى السكسينات والفيومارات والاسيتات وكذلك وجود Succinate Dehydrogenase إلى أن عدد من *Desulfoviderio* قادر على استخدام جزء من دورة TCA اللاهوائية .

= الخلاصة =

تدل المعلومات المتوافرة عن تفاعلات بكتريا اختزال الكبريت على أنها متعددة القدرات حيث يمكن استبدال اختزال الكبريتات بالأيدروجين بالعديد من المركبات العضوية والأخيرة تنتج ATP كافي لتحفيز اختزال الكبريتات أو تعمل كمعطى للأيدروجين فى عملية الاختزال وتستطيع هذه الكائنات النمو على البيروفات بدون الكبريتات وعندئذ تستبدل الفسفرة المؤكسدة لمركب APS جزئياً بدورة TCA اللاهوائية .

كما أن قدرة الميكروبات المختزلة للكبريتات على أكسدة البيروفات وإتمام تفاعل phosphoroclastic reaction من النوع Clostridial Type يعتبر فريداً من نوعه اما فى غياب الكبريتات فإن Coli-Type من التفاعل السابق هو السائد .

٢٠٤ البكتريا المختزلة للنترات أو Nitrate respiration

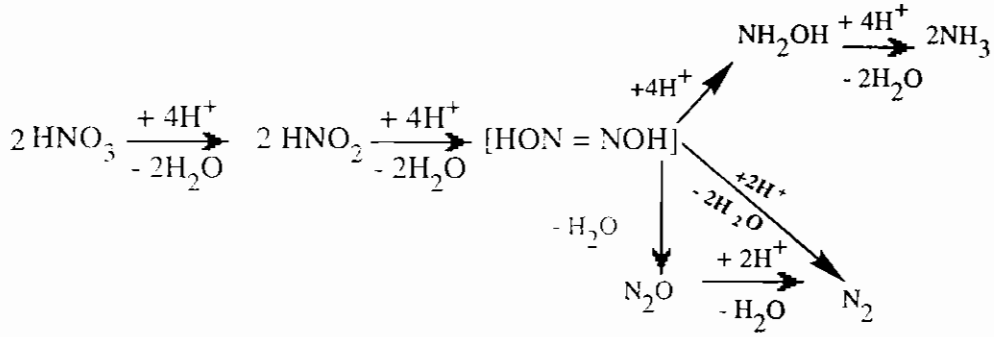
- يستطيع عدد كبير من البكتريا اختزال النترات (كمستقبل للالكترون) مستعملاً الأيدروجين (كمعطى للالكترون) . والمعادلة العامة كما يلى :



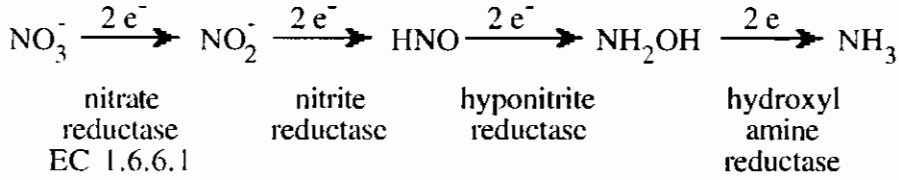
والنتاج النهائى لاختزال النترات هو النتروجين ولكن هناك نواتج وسطية ذات أثر كبير فى تلوث البيئة مثل أكسيد النيتروز (N_2O) ، أكسيد النيتريك (NO) من ناحية التأثير على طبقة الأوزون أو ظاهرة البيوتات الزجاجية (ارتفاع درجة حرارة الكون) .

- أغلب البكتريا المختزلة للنترات Chemoorganotrophs .
 - يوجد نوعين من الانزيمات الميكروبية التى تختزل النترات إلى نيتريت .
- (١) assimilatory enzymes التى تحتوى الفلافين والمولبيدنىم ويستخدم عادة NAD (P) H.H^+ كمعطى للأيدروجين والنتاج هو الأمونيا أو مشتقاتها حيث تدخل فى تكوين مواد الخلية النتروجينية مثل الأحماض الأمينية والبروتين .
- (٢) dissimilatory enzymes التى تحتوى على حديد إضافى وتستخدم النترات كبديل للأكسجين والنتاج هو النتروجين أو أكاسيد النتروجين التى تتطلب للجو وهو ما يعرف بالتنفس التراتى اللاهوائى وهو ما سنتناوله بالتفصيل .
- ويعرف التنفس اللاهوائى الذى ينتج عنه تحول النترات إلى النتروجين أو أكاسيد النتروجين أو خليط منهم بعملية الدنترة Denitrification والميكروبات التى يقوم بها Denitrifying bacteria وهى ميكروبات هوائية أو لاهوائية اختيارية تمتلك سلسلة الستيوكروم وتستخدم النترات كبديل للأكسجين .

● شرح المعادلة العامة لاختزال النترات .

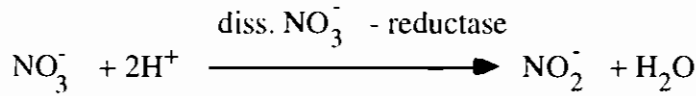


● اختزال النترات إلى أمونيا يحدث به تغيير الكترونى من الحالة المؤكسدة للنترات (5⁺) إلى الحالة المختزلة للامونيا (3⁻) أى زحزحة عدد ٨ الكترونات ولكن لا تنتج عنه أى طاقة أو طاقة ضعيفة والانزيمات المسئولة عن استقبال هذه الالكترونات هى كما بالرسم .

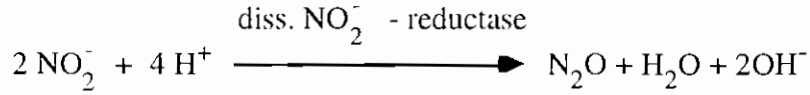


وأكثرهم أهمية وشيوعاً ass. nitrate reductase وهو موجود على السيتوبلازم ويحتوى على المولبيدزم أما انزيم nitrite reductase فيحتوى على Fe-S center ، iron haem (Sirohaem) .

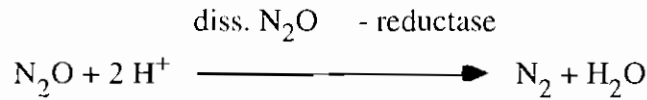
● اما نظام انتقال الالكترونات فى بكتريا الدنترة denitrifiers فأكثر تعقيداً . والخطوة الأولى فى عملية الدنترة هى إضافة عدد ٢ الكترون للنترات لاختزالها إلى النيتريت .



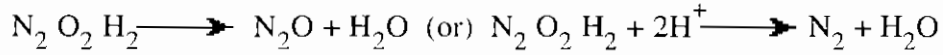
ثم الخطوة الثانية بإضافة ٢ إلكترون آخرين لكل ذرة نيتروجين لتكوين أكسيد النيتروز (N₂O).



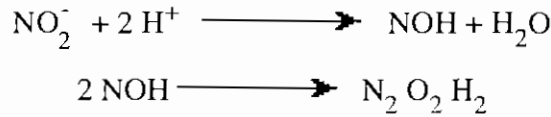
والذى تختزل بواسطة بكتريا الدنترة إلى جزئى النتروجين فى وجود ٢ إلكترون اضافيين



أى أن بكتريا الدنترة يمكنها تكوين N₂O ، N₂ مباشرة من النتريت لهذا يمكن تصور وجود مركب وسطى هو N₂ O₂ H₂ :



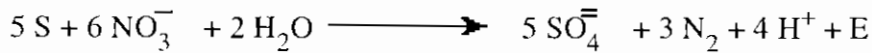
وهذا المركب يتكون من النتريت بسهولة كالتالى :



١٠٢٠٤ اختزال النترات تحت الظروف الاتوتروفية

Chemolithotrophic reduction of nitrate

ويقوم بها ميكروب *Thiobacillus denitrificans* حيث يتحول الكبريت المعدنى أو الثيوسلفات إلى الكبريتات بينما تختزل النترات وتتكون الطاقة ولهذا فهو ميكروب Sulfer-oxidizing autotroph والمعادلة التالية توضح هذا التفاعل .

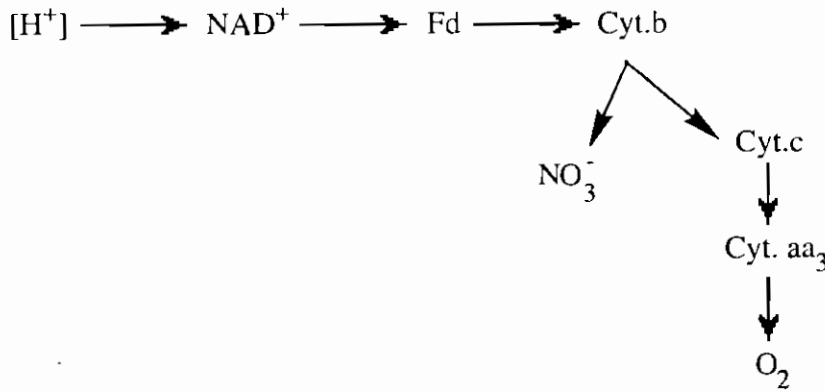


٢٠٢٠٤ اختزال النترات تحت الظروف الميترتروفية

Chemoorganotrophic reduction of nitrate

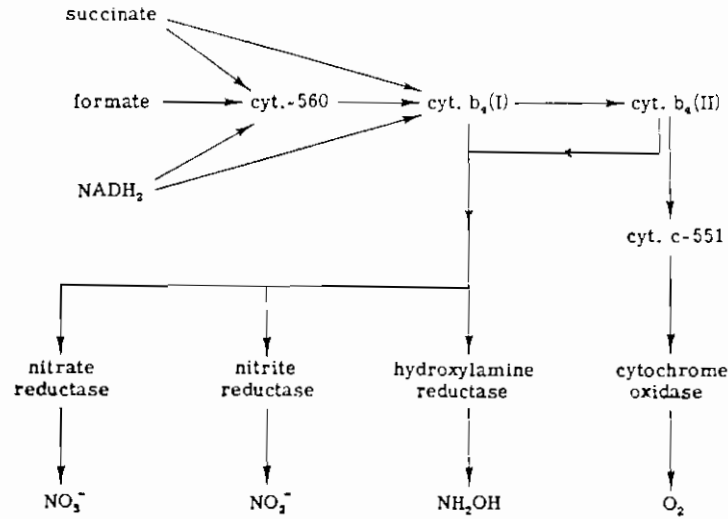
تنمو ميكروبات الدنترة هوائياً أو لا هوائياً اختياراً مستخدمة المواد العضوية أو الأيدروجين كمعطي للإلكترون وتستخدم الأكسجين أو النترات (سواء في غيابه أو وجوده كما ثبت حديثاً) كمستقبل للإلكترون وهي تملك نظام سلسلة انتقال الإلكترونات وتقوم بعملية الفسفرة المؤكسدة لتكوين الطاقة اللازمة لنمو الميكروب في صورة ATP ولكن مازال طول سلسلة انتقال الإلكترونات وأماكن الفسفرة المؤكسدة محل خلاف ، فقد وجد في بعض denitrifiers أنها تملك $Cyt.a+a_3$ ، $Cyt.O$ ، $Cyt.C$ والمعروف أنه تحت الظروف اللاهوائية الكاملة لا توجد فسفرة في $Cyt.C$ باتجاه O_2 وتحديث الفسفرة لمادة التفاعل المنشطة بـ $NADH.H^+$ في وجود النترات أو النيتريت .

وقد وجد Hohn & Whatly سنة ١٩٧٠ في مستخلص الخلايا أن نسبة $P : NO_3^- = 1$ في وجود $NADH.H^+$ (كمعطي للأيدروجين) أما في وجود السكسينات فقلت إلى $P : NO_3^- = 0.4$ وقد أثبتنا أيضاً أن انزيم nitrate reductase يتفاعل مع السلسلة التنفسية في منطقة $Cyt.b$ وأن $Cyt.C$ لا يشارك في اختزال النترات أى أن طول سلسلة انتقال الإلكترون للخلايا النامية هوائياً مع الأكسجين تختلف عن النامية مع النترات كمستقبل للإلكترون وتظهر كما يلي :



ولكن الأبحاث بعد ذلك أشارت إلى أن دخول الإلكترونات يمكن أن يتم عند مستوى كل من $Cyt. c$ ، $Cyt. b$ ، وقد عزل حتى الآن خمس كروموبروتينات هي $Cyt. b_4 (I)$ ،

الأوتائل تعمل فى الخلايا النامية هوائياً ولا هوائياً بينما يعمل Cyt. C₅₅₁ دوراً مماثلاً لـ Cyt. C فى الثدييات أما البروتين البنى فيعمل كمعطى الكترول مباشر لانزيم nitrate reductase وهناك دلائل تشير إلى أنه فى الحقيقة صبغة سيتوكرومية تحتوى على heme c ، ويعمل انزيم NO₃- reductase (a₂) like heme كما بالرسم التالى :

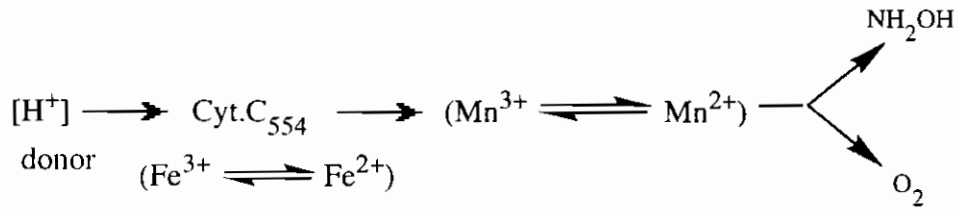


شكل (٤-٧) : سلسلة انتقال الالكترولونات فى التنفس الهوائى واللاهوائى (التترانى) بواسطة ميكروبي *Micrococcus denitrificans*, *Pseudomonas aeruginosa* نقلاً عن Hori (1961)

وتشير الأبحاث الحديثة إلى تفضيل Cyt. C₅₆₀ بدلاً من Cyt. b₄ كمنفذ لدخول الالكترولونات حيث وجد أن nitrite reductase يتكون من اثنين من الهيموسيتوكروم يحتويان على C-type ، heme (d) - like ، وهذان السيتوكرومان يظهران فقط فى الخلايا النامية لاهوائياً مع النترات والتيريت كمستقبل للالكترولون . وقد وجد عند تنقية انزيم NO₂⁻ reductase أنه يحتوى نشاط Cyt.c oxidase ولهذا استنتج أن Cyt.c ، and a₂ يشاركان فى عملية الاختزال كما أن انزيم NO₃⁻ reductase ، NO₂⁻ reductase يتفاعلان منفصلين وغير مرتبطين ببعضهما .

● أما الانزيم الثالث فى تفاعل الدنترة Denitrification فهو hydroxylamine

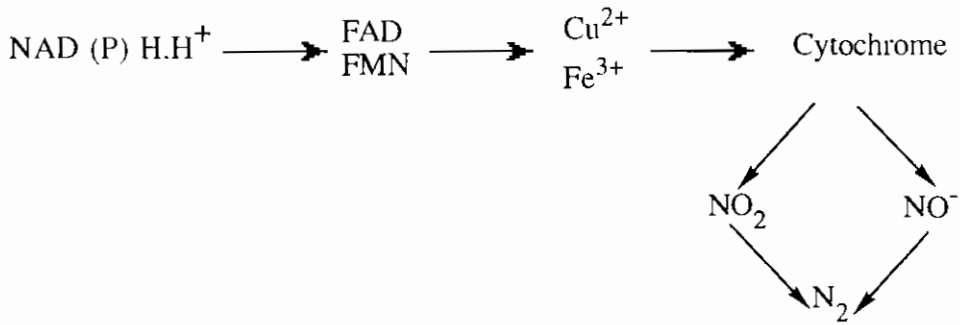
reductase وله القدرة على التفاعل مع الأكسجين ويمكن تصور دورة في انتقال الالكترولون كما يلي :



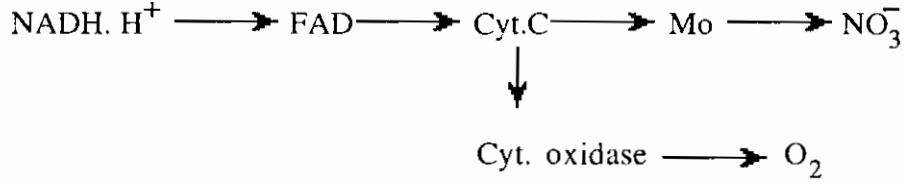
● والملاحظة الجديرة بالذكر أن نقطة التفرع في nitrate reductase هو Cyt.b بينما في كل من nitrite & hydroxylamine reductases تحتاج إلى Cyt.c والتنافس بين النترات والاكسجين يبدو أن سببه سحب الالكترولونات عند مستوى Cyt.b لاختزال النترات .

● كما يبدو أن هناك اختلافاً جذرياً في نظام اختزال النترات والنيتريت بين أفراد بكتريا الدنترة *Pseudomonas denitrificans* يختلف عن *Micrococcus denitrificans* حيث لم تشاهد عملية الفسفرة مع النيتريت كمستقبل نهائى للالكترولون مع الميكروب الأول بينما تشاهد في الثاني .

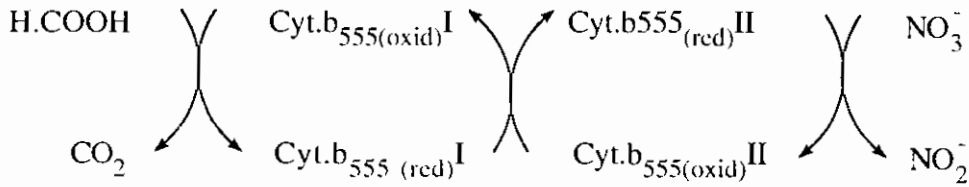
أما ميكروب *Pseudomonas Stutzeri* فيستخدم NAD (P) المختزل كمعطى للأيدروجين في وجود FAD ، FMN اللذان ينشطان التفاعل ويمكن تصور سلسلة انتقال الالكترولون بهذا الميكروب كالتالى :



بينما يختلف نظام انتقال الالكترون فى جنس *Achromobacter* وكذا فى *Ps. aeruginosa* فى حامل الالكترون قبل الانزيم وفى الاحتياج إلى عنصر الموليبدنم كالتالى .



أما عائلة *Enterobacteriaceae* فالمعروف أنها ميكروبات لاهوائية اختيارية تستطيع القيام بالتنفس اللاهوائى والتخمير وأيضا بالتنفس الهوائى عند توفر الظروف المناسبة وحسب مستقبل الالكترون المتوافر حيث يمكنها تكوين *nitrate-reductases* وايضا *Tetrathiosulfate-* ، *Thiosulfate-* ، *Chlorate-reductases* ، التترات فإن أنسب معطيات الالكترون هى الفورمات ، السلاكتات ، البيروفات ، *NAD(P)* المختزل كالتالى :



والخلاصة ان ميكروبات الدنترة *Denitrifying bacteria* تختلف فيما بينها فى طول سلسلة انتقال الالكترونات وحوامل الالكترونات و منافذ دخول الالكترونات مما يعطى خصوصية *Kind of Specifity* لهذه الميكروبات مما ينعكس على التركيب النوعى للغازات الناتجة عن العملية فبعضها يكون نيتروجين فقط والبعض أكاسيد نيتروجين والبعض خليط منهم جميعاً .

● تأثير الأكسجين :

أعتقد لفترة أن الأكسجين يثبط تكوين انزيمات الاختزال من منابعها البروتينية وظلت مشكلة هل انزيمات الاختزال Constitutive or adaptive ؟ مشار للخلاف حيث تختلف باختلاف الميكروبات إلا أن الأبحاث أشارت إلى أن تأثير الأكسجين لا ينصب على انزيمات reductases ولكن على تكوين السيتوكومات التي تحمل الالكترونات للانزيم المختزل . وأظهر مستخلص خلايا *Micrococcus denitrificans* محتوى سيتوكرومى عالى لنوعى b ، c إذا نمت الميكروب لا هوائياً على التترات عن الخلايا النامية هوائياً . وعلى العكس بعض *Staphylococcus* تنتج التريت عند تنميتها هوائياً بينما تفشل فى ذلك أثناء التنمية اللاهوائية مع أن nitrate reductase موجود ولكن يظل بدون عمل أى أن دور الأكسجين فى الأنظمة التنفسية لهذه الميكروبات الاختيارية غير محدد . وربما يلعب وجود heme من عدمه دوراً فى تحويل التفاعل لاتجاه السيتوكروم الخاص باختزال التترات . وعموماً يمكن القول أن كل البكتريا التى تختزل التترات تحت الظروف الهوائية assimilatory تفرز NO₃⁻-reductase وتحتاج الأكسجين ليس كمستقبل نهائى للالكترون ولكن للتخليق الحيوى للسيتوكروم المحتوى على heme والذى يتوسط فى نظام نقل الالكترون فى عملية الاختزال .

ويعتبر Protoporphyrin IX هو المركب الأساسى (Key) فى عملية تخليق heme حيويًا حيث يتفرع لفرعين أحدهما يدخل الحديد Fe²⁺ لتكوين الهيم والآخر يدخل المغنسيوم Mg²⁺ لتكوين الكلورفيل . ويلعب الهيم دور المجموعة المرافقة Prosthetic group للهيموجلوبين كتاليز ، البيروكسيداز ، وبعض السيتوكرومات والانزيم الذى يحتاج لتدخل (لمشاركة) الأكسجين يطلق عليه Oxygenase . ودور الهيم يتلخص هنا فى اتحاد مع مكونات البروتين لسيتوكروم b لتكون Cyt.b₁ الذى يشارك فى نقل الالكترون للتترات بواسطة nitrate reductase .

وبعض البكتريا الهيتروتروفية مثل *E. Coli* يمكنها تخليق السيتوكروم عند تنميتها هوائياً أو لا هوائياً مما يبين أنه ليس كل البكتريا تحتاج الأكسجين لتخليق الهيم . وفى هذه الحالة يبدو أنه يوجد مستقبل الالكترون بديل (لم يعرف بعد) يمكن أن يحل محل الأكسجين لتحويل Co-protoporphyrin إلى protoporphyrin IX ولكن يظل السؤال كيف يتم التحويل فى غياب الأكسجين .

● أهمية عملية الدنترة Denitrification فى الطبيعة :

مميزاتها

- تلعب دوراً هاماً فى تحولات التربة والمياه حيث تحول النتروجين النتراتى ومشتقاته إلى جزئى نيتروجين ينطلق فى الجو ويكمل دوره النتروجين فى الطبيعة .
- تتخلص من النترات ومشتقاتها بيولوجياً فى مياه الصرف والمجارى المعالجة .

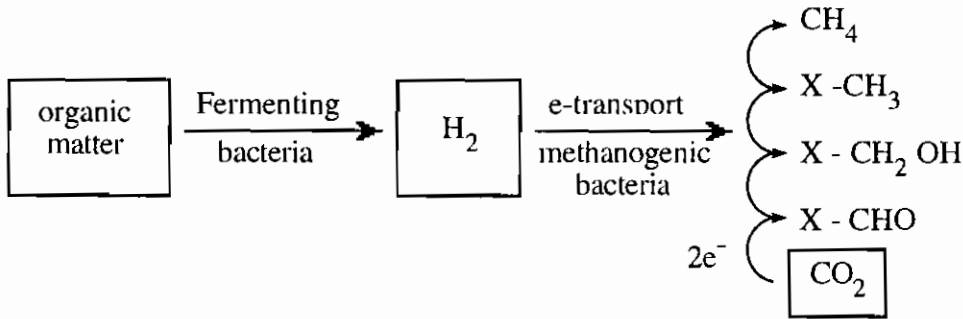
عيوبها :

- فقد الأسمدة النتراتية المضافة للتربة (خسارة اقتصادية) .
- تكوين النيتريت فى معدة الإنسان حيث تتحد مع هيموجلوبين الدم مكونة methaemoglobin الذى يعيق أكسدة حديد الدم وبالتالي حدوث ظاهرة الأطفال الرضع الزرق (خسارة صحية) .
- تكوين مادة النيتروزامين المسببة للسرطان .
- تكوين أكاسيد النتروجين التى يحتمل أنها تتحد مع طبقة الأوزون فى طبقات الجو العليا مسببة نفاذ الأشعة فوق البنفسجية بمعدلات أكبر من المطلوب مما يؤدى لسرطانات الجلد .
- تكوين أكاسيد النتروجين وتراكمها فى طبقات الجو مسببة ظاهرة البيوتات الزجاجية التى تؤدى لرفع درجة حرارة الكون عانياً وما يتبعه من ذوبان الجليد القطبى وارتفاع منسوب البحار وغرق دلتا الأنهار أو تغير خريطة توزيع الأمطار فى العالم .

٣٠٤ ك أ كمستقبل للالكترونات Carbonate respiration

١٠٣٠٤ تكوين الميثان

- يستخدم ك أ بواسطة مجموعة صغيرة من البكتريا كمستقبل نهائى للالكترون والنتاج المختزل هو الميثان وتعرف ببكتريا إنتاج الميثان methanogenic bacteria or methane producing bacteria .



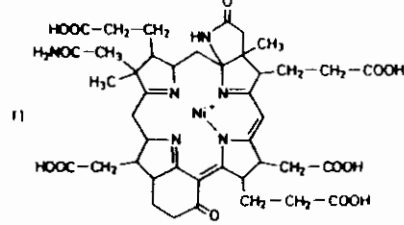
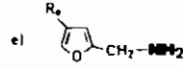
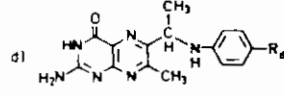
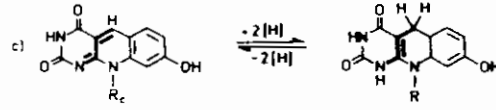
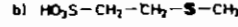
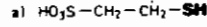
وهى تختلف عن بكتريا أكسدة الميثان الهوائية methane oxidizing bacteria التى تؤكسد الميثان إلى ك أ_٢ ، يدمأ_٢ والتى سيلي ذكرها فيما بعد .

- وبكتريا الميثان ذات شكل عصوى (*Methanobacterium*) أو كروى (*Methanococcus*) أو مكعبى (*Methanosarcina*) أو خيطيى *Methanospirillum or Methanotherix* وهى تتبع Archaeobacteria التى تختلف عن باقى البكتريا فى عدم احتواء جدرها الخلوية على peptidoglycan ولا تثبط بواسطة البنسلين وتوجد دائماً منتشرة فى مخمرات محطات معالجة مياه المجارى وهى لا هوائية حتمية بالضرورة ولا تحتوى الكاتاليز .

وعادة تعيش بالاشتراك Close association مع البكتريا المنتجة للأيدروجين حيث تستهلك الأيدروجين الذى تنتجه مباشرة والذى يسبب ارتفاع تركيزة سمية للميكروبات المنتجة له أى تبادل منفعة بالاشتراك ولذا تعرف بكتريا إنتاج الميثان بالبكتريا المؤكسدة للأيدروجين H₂-oxidizing bacteria .

- كيفية تكوين الميثان والحصول على الطاقة :

يتضمن التحول البيوكيميائى لـ H₂ ، CO₂ إلى الميثان أو للاستيات إلى الميثان ، ك أ_٢ العديد من المرافقات الانزيمية و Prosthetic groups والتى لا توجد إلا فى بكتريا إنتاج الميثان مثل methanopterin ، methanofuran ، deazariboflavin (F420) ، Co- ، enzyme M (mercaptoethane sulphonate) ، nickel-tetrapyrid (F430) كما فى شكل (٤ - ٨) التالى :

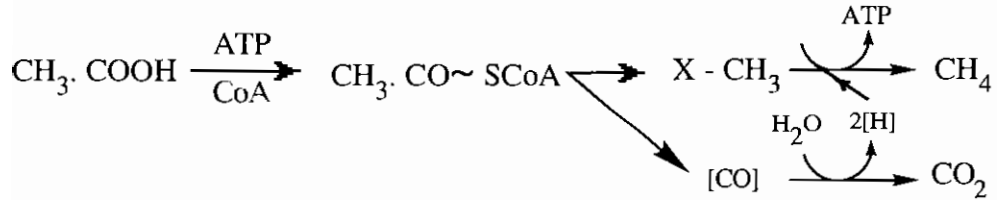


(a) Coenzyme M; (b) methyl-coenzyme M; (c) F_{420} (deazariboflavin derivative); (d) methanopterin; (e) methanofuran; (f) factor F_{430} (after dissociation of methyl-coenzyme M)

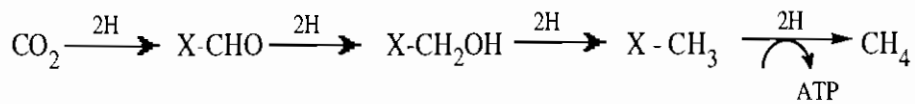
methylreductase). The reactive groups of the compounds (d) and (f) are not indicated. R_{1-6} , various side chains consisting of several components.

شكل (٤-٨) : المرافقات الانزيمية ، Prosthetic groups في بكتريا الميثان

ويتكون الميثان من الإستييات كالتالى :



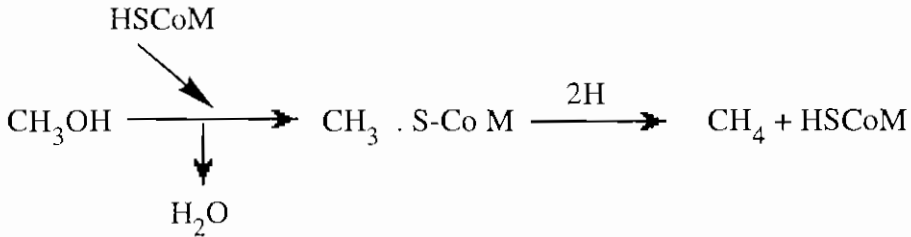
كما يتكون الميثان من ك أ ، يدم مباشرة كما بالمعادلة .



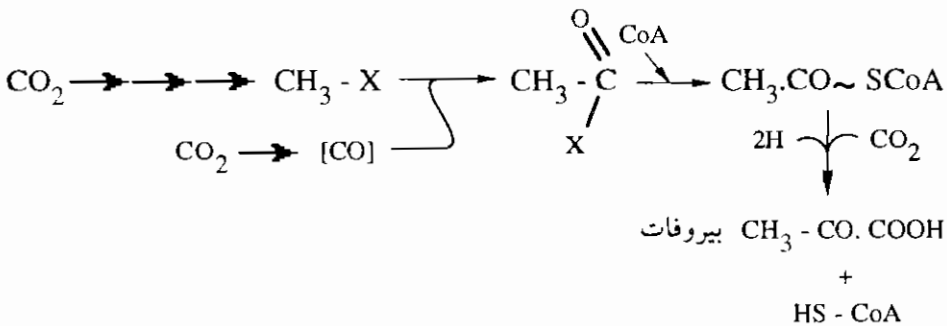
ومازالت ميكانيكية تكون ATP غير ثابتة ماعدا الخطوة الأخيرة حيث ثبت أن لها جهد ثرمو ديناميكي يكفى لتخليق ATP . وأغلب الظن أن التفاعل يصاحبه خروج بروتون من الخلية مما يخلق جهد بروتونى بين جانبي الغشاء ويكفى لحدوث عملية الفسفرة المصاحبة

لانتقال الالكترونات . e-transport phosph وتكوين ATP - وليس الفسفرة عند مستوى مادة التفاعل Substrate level phosphorylation - تحت الظروف اللاهوائية وهى صفة مميزة لبكتريا الميثان والدنترة .

وأيضاً يمكن تكوين الميثان من الميثانول والأيدروجين فى وجود انزيم methyl transferase الذى يحول الميثانول إلى ميثيل كوانزيم M والذى يختزل فى وجود انزيم mc-thyl-Co M reductase ويتكون الميثان :



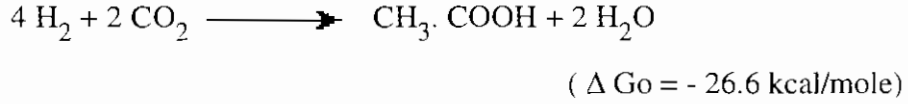
أما تمثيل ك أم اوتوتروفاً بواسطة بكتريا الميثان لا يتم بواسطة دورة الريبولوز بيوفوسفات ولكن يتم عبر استيل كوانزيم A والبيروفات .



وتفسير ذلك أن ك أم يختزل إلى مستوى الميثانول (CH₃-X) بينما جزئ آخر من ك أم يختزل إلى ك أ بواسطة الديهيدروجينز وتحديث عملية Carboxylation لمركب methyl-x الذى يتحول إلى aetyl-x ثم إلى استيل كوانزيم A ويعقب ذلك عملية reductive Carboxylation تؤدي لتكوين البيروفات ومنه يمكن تكوين مركبات الخلية بالدخول فى الدورات الأخرى المعروفة وكذا تكوين ATP اللازم .

٢٠٣٠٤ تكوين الاسيتات

وذلك بواسطة مجموعة ميكروبية أو توتروفية تعرف باسم acetogenic bacteria وتوجد فى مخمرات هضم المخلفات وبالذات تحت الظروف الحامضية وذلك باختزال ك أم وأكسدة الايدروجين كما يلى :



وهذه الميكروبات عضويات سالبة لجرام مثل :

Clostridium aceticum ، *Cl. thermoacticum*، *Acetobacterium woodii*.

وهى لاهوائية مؤكسدة للأيدروجين Chemolithotrophs ، وتعرف العملية باسم assimilatory acetate synthesis .

وهى تمثل ك أم أوتوتروفيا وتخلق مادة خلاياها من خلال استئيل كوانزيم A والبيروفات - مثل بكتريا الميثان - حيث يتم اختزال ك أم إلى methyl-FH₂ عبر الفورمات مع استخدام tetrahydrofolate كمرافق انزيمى . ثم تحدث عملية اضافة ك أم مختزلة لاسيتيل كوازيم A - كما فى الشكل السابق - ينتج عنه البيروفات الذى يدخل فى الدورات المعتادة .

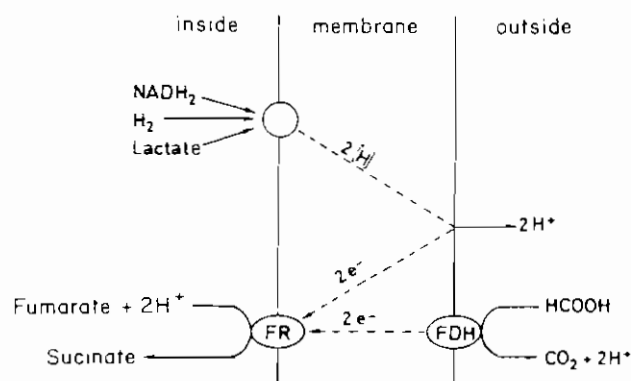
٣٠٣٠٤ تكوين السكسينات من الفيومات

تكون السكسينات عادة بواسطة عمليات التخمر ومع ذلك يمكن تكوينها لاهوائيا بمصاحبة e-transport phosphorylation وهى ناتج اختزال الفيومات كما بالمعادلة :



وفرق جهد الأكسدة والاختزال (E₀) بين فيومات / سكسينات عالى نسبياً (حوالى -30 mV) ولهذا تستقبل الالكترونات المحمولة على المرافقات الانزيمية الناقلة للأيدروجين

(NAD H/H⁺) واختزال الفيومارات يسمح بحدوث الفسفرة المصاحبة لانتقال الالكترون . ويعرف هذا التنفس اللاهوائي - باعتبار الفيومارات المستقبل النهائي للالكترونون - بتنفس الفيومارات Fumarte respiration وميكانيكته كما بالرسم .



شكل (٤-٩) : تكوين السكسينات من الفيومارات من بواسطة انزيم Fumarte reductase المرتبط بالغشاء نقلاً عن Shlegel, 1986

وواضح من الرسم حدوث جهد بروتوني على جانبي الغشاء السيتوبلازمي وبالتالي إمكانية حدوث عملية الفسفرة وتكوين الطاقة (ATP) .

وينتشر التنفس الفيوماراتي في كثير من البكتريا اللاهوائية الهيتروتروفية مثال ذلك أجناس *Escherichia* , *Klebsiella* , *Salmonella* , *Proteus* وأيضاً *Vibrio Succinogenes* , *Propionibacterium* حيث لوحظ أن إضافة الفيومارات للبيئة يسبب نمو أسرع وكمية خلايا أعلى والفيومارات يمكن إضافتها خارجياً للبيئة أو أنها تتكون داخلياً من الكربوهيدرات عبر الاكسالات والمالات .

٤٠٤ اختزال الحديدك Fe^{3+} إلى حديدوز Fe^{2+}

يمكن لبعض المزارع المختلطة من ميكروبات التربة اختزال الحديدك وذلك فى وجود النترات التى تختزل أيضا لنيترتيت ونيتروجين . ويبدو أن انزيم nitrate reductase A يقوم بنقل الالكترولون إلى الحديدك ويختزله إلى الحديدوز وحيث أن اختزال النترات يصاحبه c-transport phosphorylation فإنه يمكن حدوث ذلك عند اختزال Fe^{3+} . وجهد الأوكسدة والاختزال Fe^{3+}/Fe^{2+} حوالى $E_0 = + 770 \text{ mV}$ يجعل التفاعل ذو ديناميكية حرارية .

وبما أن الحديدك غير ذائب جزئياً ويجب أن تتحول إلى صورة ذائبة وقابلة للنفوذ خلال الخلايا فإن النمو تحت هذه الظروف يكون بطيئاً وضئيل جداً .

أسئلة للمراجعة

- ١ - ما هو التنفس اللاهوائى ؟
- ٢ - أذكر أربعة من المجاميع البكتيرية الرئيسية التى تستخدم المركبات الغير عضوية كمستقبل نهائى للإلكترون .
- ٣ - اشرح الديناميكية الحرارية لاختزال الكبريتات فى وجود الأيدروجين .
- ٤ - ما هو الفرق بين اختزال الكبريتات فى *Desulfuricans* والخمائر ؟
- ٥ - لماذا يعتبر *Desulfovibrio* ميكروب أوتوتروفى ؟
- ٦ - ما هو الفرق بين اختزال الثيوسلفات فى ميكروبى *Desulfovibrio desulfuricans* & *Thiobacillus denitrificans* ؟
- ٧ - ناقش الدور الذى يقوم به كل من *APS* , *Cyt.C₃* , *Ferredoxin* فى اختزال الكبريتات بواسطة *Desulfovibrio* .
- ٨ - اشرح كيفية حدوث الفسفرة المؤكسدة تحت الظروف اللاهوائية .
- ٩ - ماذا تعنى عملية الدنترة *Denitrification* وما الفرق بين اختزال النترات *assimilatory & dissimilatory* ؟
- ١٠ - ناقش الديناميكية الحرارية لاختزال النترات .
- ١١ - اشرح أهمية الهيم فى اختزال النترات .
- ١٢ - اذكر أربع أسماء لاجناس البكتريا المنتجة للميثان ولماذا يمكن تسميتها « بكتريا اختزال ك أم أو بكتريا أكسدة الأيدروجين » ؟
- ١٣ - اشرح كيفية حدوث اختزال ك أم وتكوين الميثان والحصول على الطاقة .
- ١٤ - اشرح كيفية حدوث التنفس الفيوماراتى وأهم الميكروبات التى تقوم به .

المراجع

1. Asano, I., Imai, K., and Sato, R. (1967). Oxidative phosphorylation in *Micrococcus denitrificans*. III. ATP supported reduction of NAD^+ by succinate. J. Biochem. (Tokyo) 62 : 210.
2. Barton, L.L., Le Gall, J. and Peck, Jr. H.D. (1972). Oxidative phosphorylation in the obligate anaerobe, *Desulfovibrio gigas*. In : Horizons of Bioenergetics (A. San Pietro and H. Gest, eds), p. 33-51. Academic Press Inc., New York.
3. Blaylock, B.A. and Stadtman, T.C. (1966). Methane biosynthesis by *Methanosarcina barkeri*. Arch. Biochem. Biophys. 116 : 138.
4. Burton, C.P. and Akagi, J.M. (1971). Observations on the rhodanese activity of *Desulfotomaculum nigrificans*. J. Bacteriol. 107 : 375.
5. Findley, J.E. and Akagi, J.M. (1970). Role of thiosulfate in bisulfite reduction as catalyzed by *Desulfovibrio vulgaris*. J. Bacteriol. 103 : 741.
6. Gray, C.T. and Gest, H. (1965). Biological function of molecular hydrogen. Science 148 : 186.
7. Hadjipetron, L.P. and Stouthamer, A.H. (1965). Energy production during nitrate respiration by *Aerobacter aerogenes*. J. Gen. Microbiol. 38 : 29.
8. Hori, K. (1961). Properties of cyt. C_{553} and brown protein. J. Biochem. (Tokyo) 50 : 481.
9. Iwasaki, H. and Shidava, S. (1969). Crystallization of cyt. C_{553} in anaerobically grown *Ps. denitrificans*. J. Biochem. (Tokyo), 66 : 775.
10. John, P. and Whatley, F.R. (1970). Oxidative phosphorylation coupled to oxygen uptake and nitrate reduction in *M. denitrificans*. Biochem. Biophys. Acta. 216 : 342.

11. Lee, J.P., LeGa, J. and Feck, Jr. H.D. (1973). Isolation of assimilatory and dissimilatory sulfite reductases from *D. vulgaris*. J. Bacteriol. 115 : 529.
12. Le Gall, J. and Postgate, J.R. (1973). The physiology of sulphate – reducing bacteria. Adv. Microbial Physiol. 10 : 82.
13. Miller, J.D.A., Neumann, P.M., Elford, L. and Wakerley, D.S. (1970). Malate dismutation by *Desulfovibrio*. Arch. Microbiol. 71 : 214.
14. Newton, J.W. and Komen, M.D. (1961). Cytochromes systems in anaerobic electron transport. In : The bacteria. (I.C. Gunsalus and R.Y. Stanier, eds). Vol. 2, p. 397. Academic press. New York.
15. Payne, W.J. (1981). Denitrification. John Wiley & Sons, New York.
16. Peck, M.D., Jr. (1968). Energy–coupling mechanisms in chemolithotrophic bacteria. Annu. Rev. Microbiol. 22 : 489.
17. Sorokin, Y.I. (1966). Role of CO₂ and acetate in biosynthesis by sulfate reducing bacteria. Nature (London), 210 : 551.
18. Schlegel, H.G. (1982). General microbiology 6th Ed. Cambridge Univ. press, London .
19. Trudinger, P.A. (1969). Assimilatory and dissimilatory metabolism of inorganic sulfur compounds by microorganisms. Advan. Microbial. Physiol. 3 : 111.
20. Wolfe, R.S. (1971). Microbial formation of methane. Advan. Microbial. Physiol. 6 : 107.
21. Yates, M.G. (1967). Stimulation of phosphoroclastic system of *Desulfovibrio* by nucleotide triphosphate. Biochem. J. 103 : 321.

الباب الخامس
تمثيل الكربوهيدرات

Carbohydrate metabolism

الباب الخامس

تمثيل الكربوهيدرات

Carbohydrate metabolism

ثبت أن حمض البيروفيك هو المركب الوسطى فى التحولات الايضية للكربوهيدرات فى البكتيريا ، حيث تتحول تقريباً كل المركبات الكربونية ذات الست أو الخمس أو الأربع ذرات كربون ابتداءً إلى البيروفات .

١٠٥ تحول الجلوكوز Glucose metabolism

يعتبر الجلوكوز المركب الكربوهيدراتى الرئيسى الذى يعمل كمصدر للكربون لخلايا البكتيريا وهو يتحول إلى البيروفات بواسطة أربع طرق رئيسية والتي سميت حسب أسماء الباحثين الذين اكتشفوها أو المركبات الرئيسة بها . وهذه الطرق هى :

- 1 - Embden-Meyerhof - Paranas (EMP) pathway.
- 2 - Warburg - Dickens - Horecker or hexose monophosphate (HMP) pathway.
- 3 - Entner - Doudoroff (ED) pathway.
- 4 - Phosphoketolase (PK) pathway.

١٠١٠٥ دورة التحلل الجليكولى EMP - Pathway

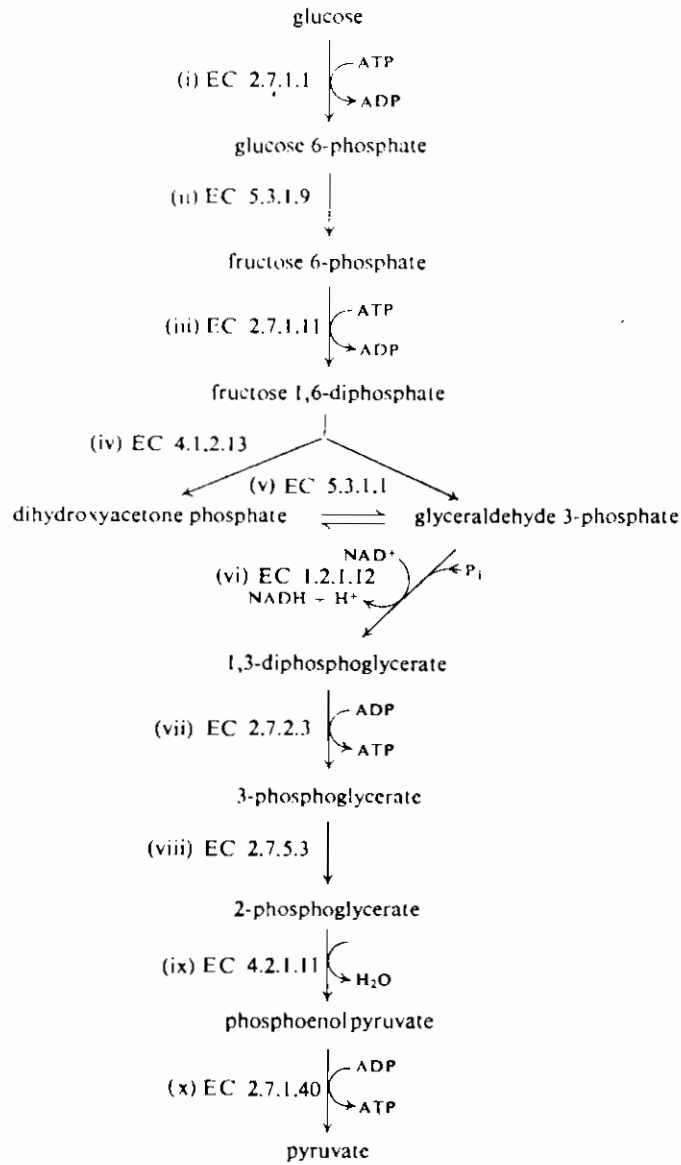
ويطلق عليها أيضاً دورة الفركتوز ٦ ا بيوفوسفات (FBP) ، glycolytic ، glycolysis ، breakdown .

وينتشر حدوثها فى معظم البكتيريا ، (Enterobacteriaceae ، Saccharolytic Clostridia , Lactobacillaceae) .

والمعادلة العامة لها :



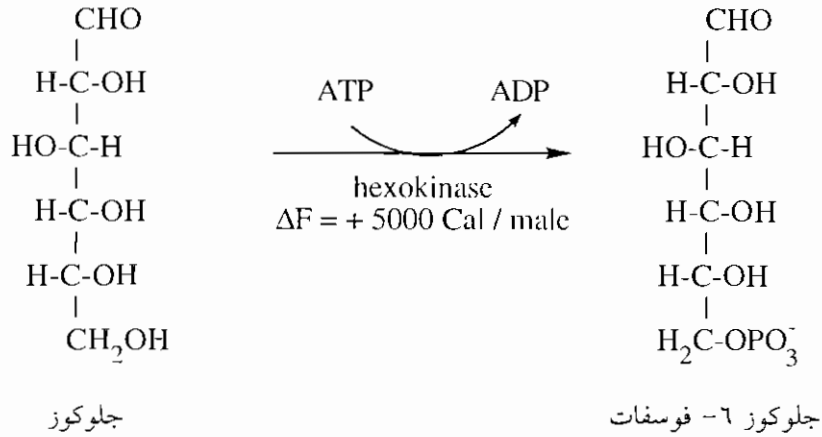
والتصور العام لها



شكل (٥-١) : دورة التحول الجليكولي أو EMP - Pathway

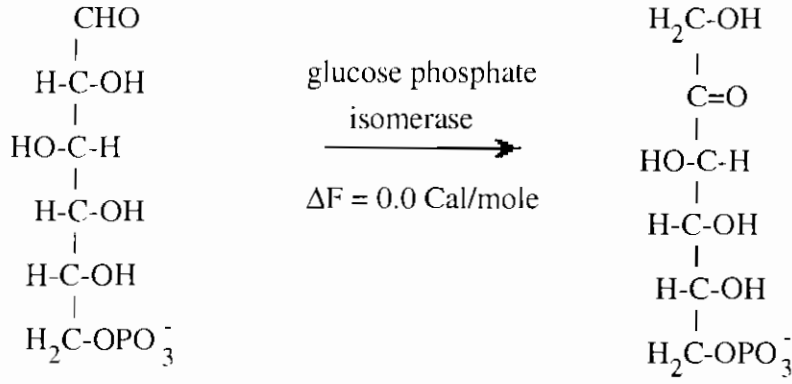
نقلًا عن Doelle سنة ١٩٧٥

- والخطوة الأولى (I) في هدم الجلوكوز هي خطوة فسفرة حيث تحتاج امول من ATP في وجود انزيم hexokinase (EC 2.7.1.1) واصطلاح Kinase يطلق على الانزيمات التي تلامس انتقال مجموعة الفوسفات الطرفية من ATP إلى أى مجموعة ايدروكسيل للسكريات السداسية والخماسية .



وتبدو انزيمات kinase ذات الأصل البكتري أنها أكثر تخصصاً لمادة التفاعل عن مثيلتها في الثدييات أو الخمائر ولذا فإن فسفرة السكريات السداسية والخماسية في البكتريا تتم بواسطة انزيم متخصص لكل سكر مثلاً الجلوكوز بواسطة glucokinase (EC 2.7.1.2) ، الفركتوز بواسطة ketohexokinase (EC 2.7.1.3) وهكذا . ومعدل استهلاك الجلوكوز في الخلايا يعتمد على خطوة hsxokinase التي تثبط بقوة بتراكم الجلوكوز ٦ - فوسفات وهذا التثبيط يتنافس مع ATP في وجود Mg^{++} إضافي حيث يعوض الفوسفات المعدني هذا التأثير المثبط .

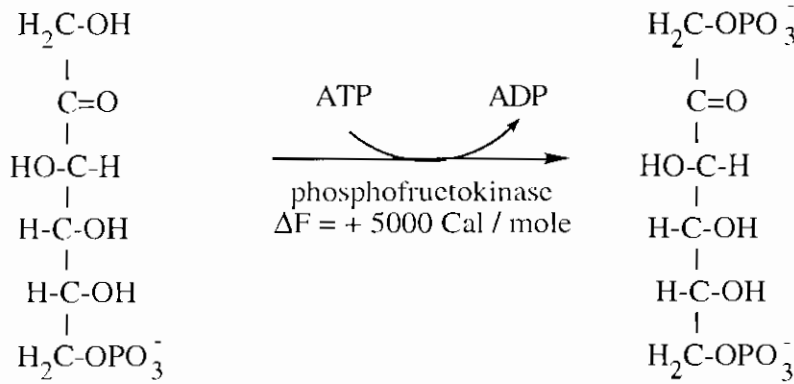
- أما الخطوة الثانية (II) فهي عملية isomerization لتحويل الجلوكوز ٦- فوسفات إلى فركتوز ٦- فوسفات بواسطة انزيم جلوكوز فوسفات ايسوميريز (EC. 5.3.1.9) .



جلوكوز ٦ - فوسفات

فركتوز ٦ - فوسفات

- الخطوة الثالثة (III) هي عملية فسفرة ثانية تحتاج لمول آخر من ATP وتلامس بواسطة انزيم هام في الدورة هو فوسفور فركتوكينيز (EC 2.7.1.11) .



فركتوز ٦ - فوسفات

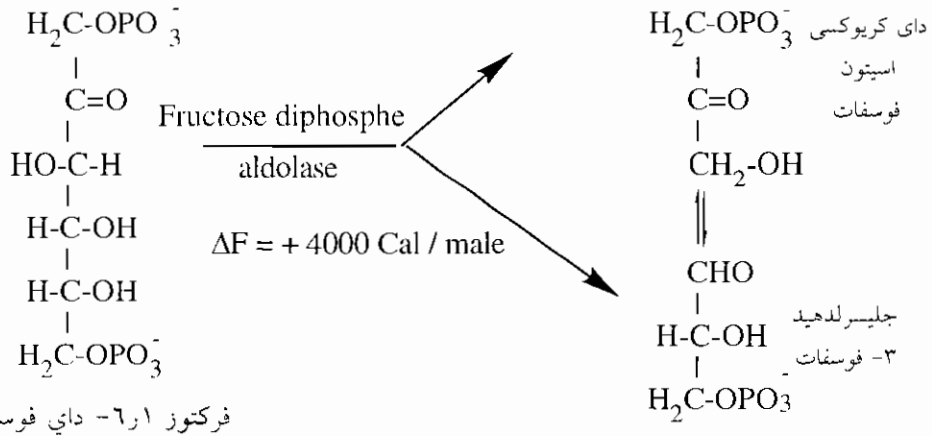
فركتوز ١٦ - داي فوسفات

وهذا الانزيم ذو تركيب طبيعي ونظام حركي معقد جداً حيث يثبط بواسطة ATP والسترات وبدرجة أقل بواسطة Mg^{++} والعكس ينشط بواسطة NH_4^+ ، K^+ ، الفوسفات المعدني (Pi) ، ADP ، AMP وأيضاً بالفركتوز ٦ - فوسفات . وهناك دلائل قوية على أن كل من هذه المنشطات يتفاعل على مكان مختلف عن الآخر على جزئ الانزيم مع الأخذ في الاعتبار أن كل من ATP ، السترات في حالة تعاون Synergism حيث يقلل كل واحد منهما التأثير المثبط للآخر .

ويلعب الانزيم دوراً هاماً في دورة EMP حيث يمثل العامل المحدد لمعدلها. وهو يمتلك العديد من الخواص التي تعطى له القدرة على التكيف تنظيمياً regulatory adaption داخل الخلية ومن هذه الخواص .

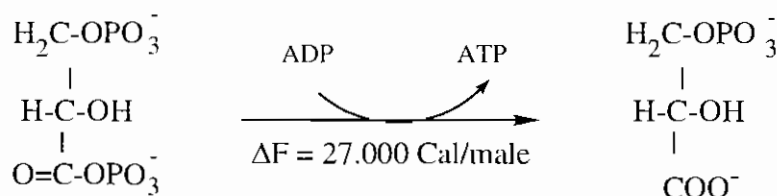
- التنقل العكسي من الحالة النشطة (∞) إلى الحالة الغير نشطة (B) .
- خواصه الكيموحركية (allostery) .
- التجمع في صورة monomer polymer في حالة التعادل .
- الخطوة الرابعة (IV) وهي انقسام الفركتوز ٦ر١ داي فوسفات إلى ٢ مول من triose phosphate (مركب فوسفاتي ثلاثي الكربون) والانزيم الداخلى في العملية هو Fructose-diphosphate aldolase (EC 4.1.2.13) وهو انزيم هام (Key) في الدورة وأكثر انتشاراً في أجناس البكتريا من الفوسفو فركتوكينيز السابق . وقد اكتشفه Meyerhof & Lohmann سنة ١٩٣٤ .

واقترحا المعادلة التالية :



وأول من عزل انزيم aldolase بصورة نقيه هما Warburg & Christian سنة ١٩٤٣ من عضلات rats وأثبتوا وجود فروق واضحة بين aldolases في الثدييات وفي الخمائر وثبت أن الالدوليز البكتري يشبط بالمركبات المخيلية (مثلاً EDTA) ويمكن تجنب هذا التثبيط بواسطة الأيونات المعدنية مثل Zn^{2+} ، Mn^{2+} ، Ca^{2+} ، Fe^{2+} بعكس الالدوليز في الثدييات فلا يشبط بالعوامل المخيلية وليس للأيونات المعدنية تأثير

- الخطوة السادسة (VII) يفقد المركب الغنى بالطاقة ٣ر١ داي فوسفوجليسيرات مجموعة فوسفاتية واحدة لتكوين امول من ATP في وجود انزيم Phosphoglycerate Kinase (EC 2.7.2.3) .

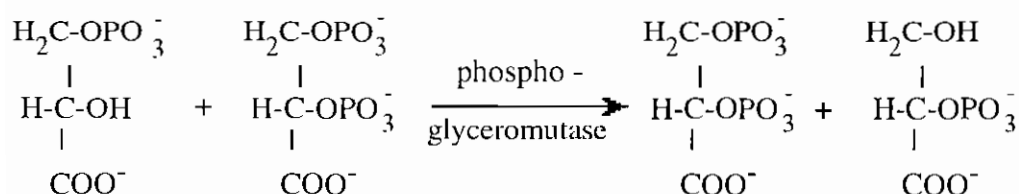


٣ر١ داي فوسفوجليسيرات

٣ - فوسفوجليسيرات

- وحيث أن ATP الغنى بالطاقة يتكون عند مستوى مادة التفاعل لذا يعتبر الفسفرة من النوع Substrate level phosphorylation .

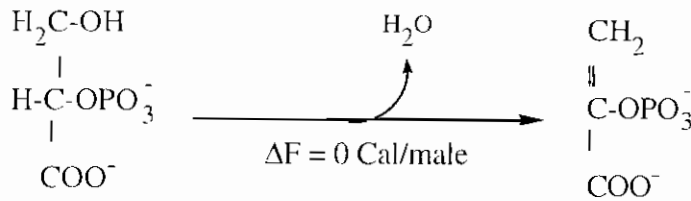
- الخطوة السابعة (VIII) تتحول فيها مجموعة الفوسفات في المركب ٣- فوسفوجليسيرات من الوضع ٣ إلى الوضع ٢ في وجود انزيم phosphoglycerate mutase (EC 2.7.2.3) وأيضاً في وجود مركب ٣ر٢ داي فوسفوجليسيرات الذي يخلق أثناء التفاعل كمركب وسطي كما يلي :



٣ - فوسفوجليسيرات

٢ - فوسفور جليسيرات

- الخطوة قبل الأخيرة (IX) هي تكوين فوسفواينول بيروفات (PEP) بتأثير انزيم (EC 4.2.1.11) enolase .

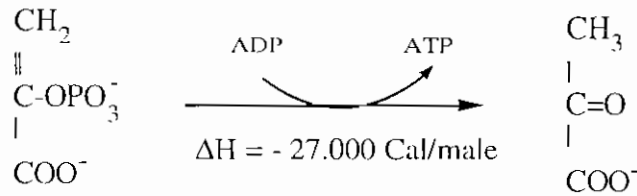


٢ - فوسفوجليسيرات

فوسفواينول بيروفات

وهذا التفاعل الاختزالي يسبب تجمع الكتروني حول ذرة الكربون رقم ٢ فى فوسفواينول بيروفات . وهذا التجمع مع تكوين الرابطة الثنائية يؤدي إلى تقارب (Closer Contact) بين مجموعة الفوسفات والكربوكسيل السالبة الشحنة وبالتالي زيادة جهد الطاقة الداخلى للجزيء . وهذا هو السبب أن البيروفات فوسفواينول بيروفات أكثر طاقة من ٣- فوسفوجليسيرات .

- الخطوة الأخيرة (X) تنتقل مجموعة الفوسفات فى فوسفواينول بيروفات إلى ADP بمساعدة انزيم Pyruvate Kinase (EC 2.7.1.40) ويتكون البيروفات وجزيء ATP آخر .



فوسفواينول بيروفات

البيروفات

ونظراً للموقع المحورى لمركب فوسفواينول بيروفات فإن انزيم البيروفات كينيز يخضع لبعض المحددات . ويحتاج الانزيم إلى Mg^{2+} ، ADP ، ويشبط بواسطة ATP وهو الانزيم الثانى فى الدورة ذو خاصية allosteric ولا يلعب أى دور فى تخليق الجلوكوز (gluconeogenesis) مثل التفاعل العكسى من البيروفات إلى فوسفواينول بيروفات .

وهكذا فإن دورة EMP تنتج ٢ مول ATP ، ٢ مول $NADH.H^+$ التي تستخدم في التخليق الحيوي وكمعطيات للأيدروجين على الترتيب في خطوات الهدم التالية للبيروفات . وتتكون الـ ٢ مول $NADH.H^+$ من إنتاج ٢ مول بيروفات من امول جلوكوز عند مستوى 1.3 diphosphoglycerate وتتم هذه الدورة في أغلب الميكروبات اللاهوائية مثل بكتيريا التخمر حيث لا ضرورة لوجود الأوكسجين .

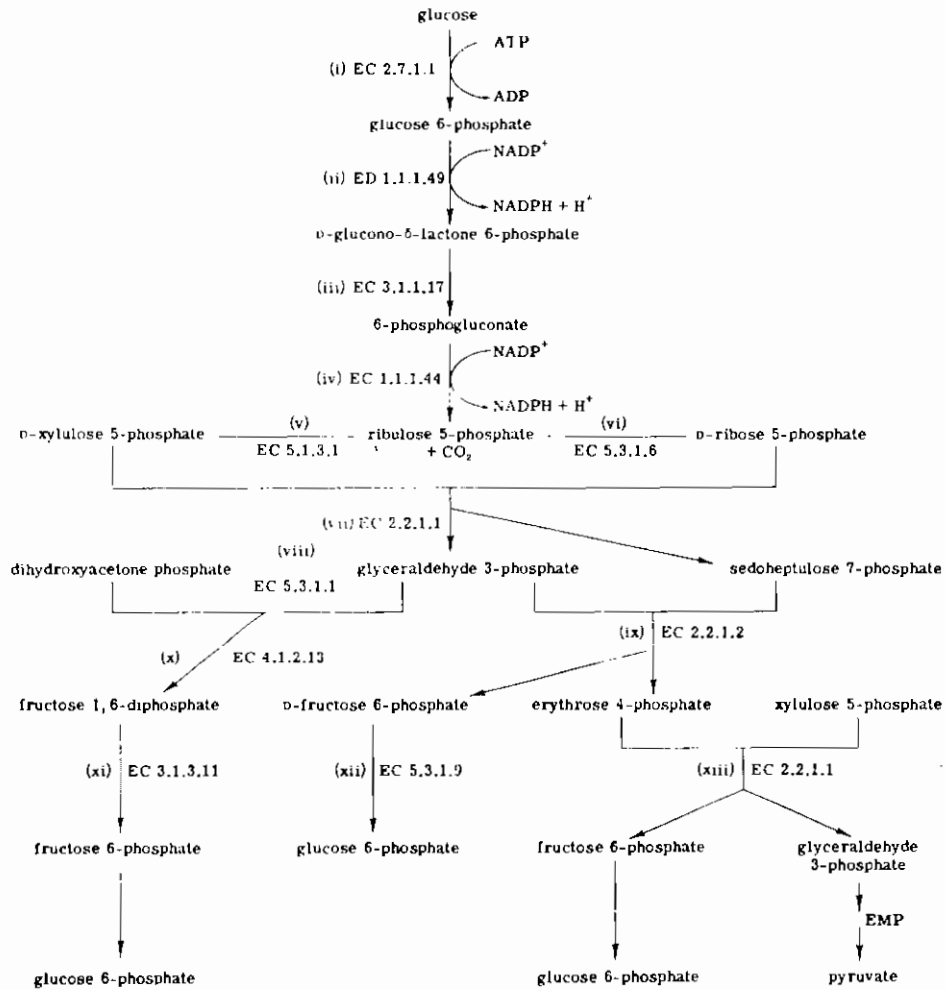
٢٠١٠٥ دورة Hexose monophosphate (HMP)

وهي تحمل عدد من الأسماء الأخرى مثل Pentose Shunt ، Warbury - Dickens- ، Oxidative pentose phosphate cycle ، Horecker Pathway .

عبارة عن سلسلة من التفاعلات الانزيمية لتحويل الجلوكوز وتتم بواسطة الكثير من الميكروبات التي تستطيع القيام بدورات EMP ، ED مثل *E. coli* الذي يستخدم دورة EMP (التحلل الجليكولي) غالباً أثناء تحولات الجلوكوز اللاهوائية ولكنه يستخدم (pantose HMP) Shunt) في تحويل ٢٠ - ٣٠ ٪ من الجلوكوز .

وأيضاً ميكروب *Agrobacterim* الذي يستخدم كلا الدورتين HMP ، ED بنسبة

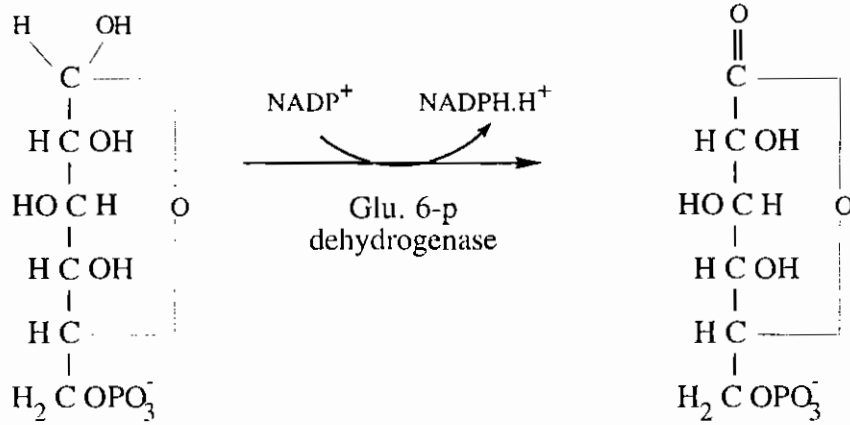
. 55:44



شكل (٥-٢) : دورة Hexose monophosphate (HMP) لتحويلات الجلوكوز

نقلًا عن Doelle سنة ١٩٧٥

- والخطوة الأولى هي تحول الجلوكوز إلى جلوكوز ٦- فوسفات تشبه تماماً مثلتها في دورة EMP وتستهلك ATP ويمكن بعد ذلك تفصل الدورتين تماماً .
- الخطوة الثانية أكسدة جلوكوز ٦- فوسفات في وجود انزيم glucose 6- phosphate dehydrogenase (EC. 1.1.1.49) المرتبط بالمرافق الانزيمي $NADP^+$ مكوناً glucono-lactone 6-phosphate .

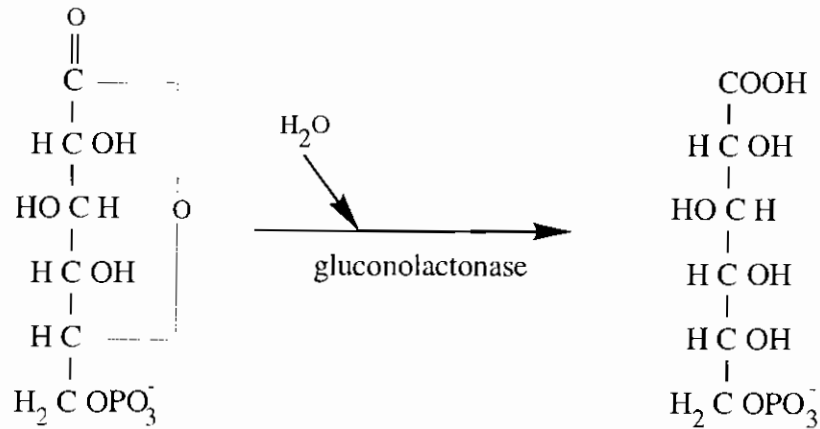


جلوكوز ٦ - فوسفات

جلوكونول لاكتون ٦- فوسفات

وانزيم الديهيدروجينير المذكور ذو دور تنظيمي هام وهو يُنَبِّط بواسطة $NADH.H^+$ في حالة *E. coli* ، وبواسطة ATP في حالة *pseudomonads* . وهو ينظم عملية تثبيت ك أ٤ أوتوتروفيا أو هيتروتروفيا بواسطة البكتريا *mixotrophic* . ويمكنه أحياناً استخدام NAD^+ كمرافق بينما في الغالب يستخدم $NADP^+$. ويتنشر في عدد كبير من الميكروبات مثل *E. coli* ، *Bacillus sp.* ، *Pseudomonas* ، *Zymomonas* ، *Louconostic* والطحالب الخضراء والخضراء المزرقة والخمراء والنباتات الراقية . وهو يوجد عادة في السائل الخلوي .

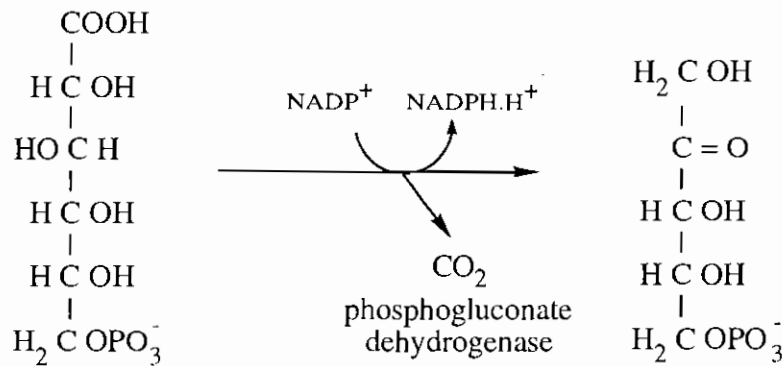
- الخطوة الثالثة : يحدث تحلل مائي Hydrolysis للمركب جسلوكونوللاكتون ٦ - فوسفات إلى ٦- فوسفو جلوكونات بواسطة انزيم gluconolactonase (EC 3.1.1.17) والمعروف عن هذا الانزيم من معلومات قليل بسبب تأثيره اللمسى السريع .



جلوكونو لاکتون ٦ فوسفات

٦ فوسفوجلوكونات

- الخطوة الرابعة : يحدث أكسدة ثانية مع نزع مجموعة الكربوكسيل فى وجود انزيم phosphogluconate dehydrogenase (EC 1.1.1.44) ويتيح مركب الريبولوز - ٥ فوسفات .



٦ فوسفوجلوكونات

ريبولوز ٥ - فوسفات

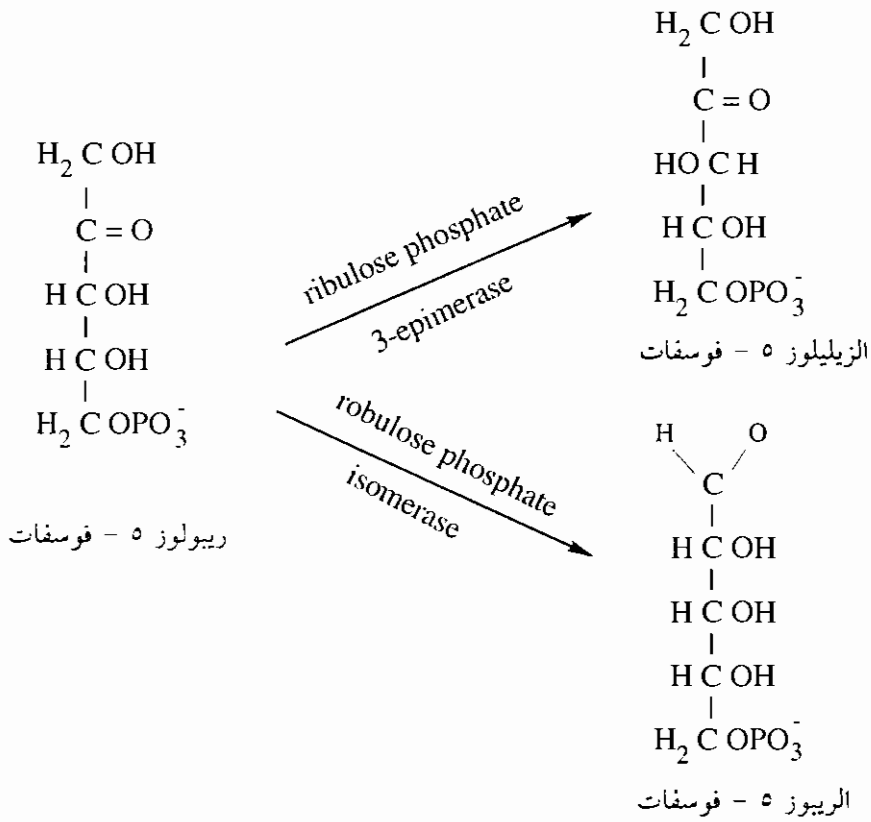
ورغم أن أكسدة ٦ - فوسفوجلوكونات تحفز نزع ك أ_١ بالأكسدة oxidative decarboxylation ، فإن التفاعل عكسى كما ثبت بالتثبيت الانزيمى للمركب ¹⁴CO₂ على ذرة الكربون رقم ١ أو بواسطة إضافة ك أ_١ بالاختزال reductive carboxylation لمركب الريبولوز ٥ - فوسفات فى وجود NADPH.H⁺ ، ك أ_١ .

ويتركز انزيم 6-phosphogluconate DH في السائل الخلوي ولكن هناك بعض الدلائل على وجوده في المكونات الفعلية في الخلية كما في ميكروب *Pseudomonas fluorescens* .

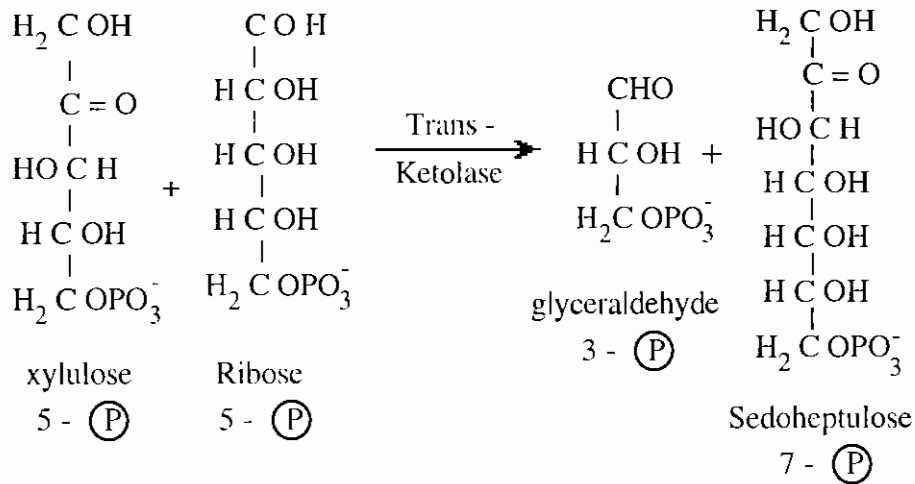
وينتشر الانزيم في كثير من أجناس البكتريا والطحالب والخمائر ويتخصص الانزيم في الثدييات والخمائر مع المرافق $NADP^+$ ولكن في *Leconostoc mesenteroides* يفضل استخدام NAD^+ ، وفي بعض أنواع *Apergillus* يمكن استخدام كل من NAD^+ ، $NADP^+$. والانزيم يلعب دوراً تنظيمياً هاماً حيث يُنشط بواسطة الفركتوز ٦ اى فوسفات ، ATP ، $NADPH.H^+$ حسب نوع الكائن ولذا يلعب دوراً هاماً في تأثير باستير Pasteur effect كما سيرد ذكره فيما بعد .

والخطوة التالية (الخامسة) خطوة مركبه حيث يرتبط الريبولوز ٥ - فوسفات جزئياً بـ *ribulose phosphate 3- epimerase* (EC 5. 1. 3.1) مختلفين أحدهما *Xylulose-5-P* (تفاعل V بالدورة) .

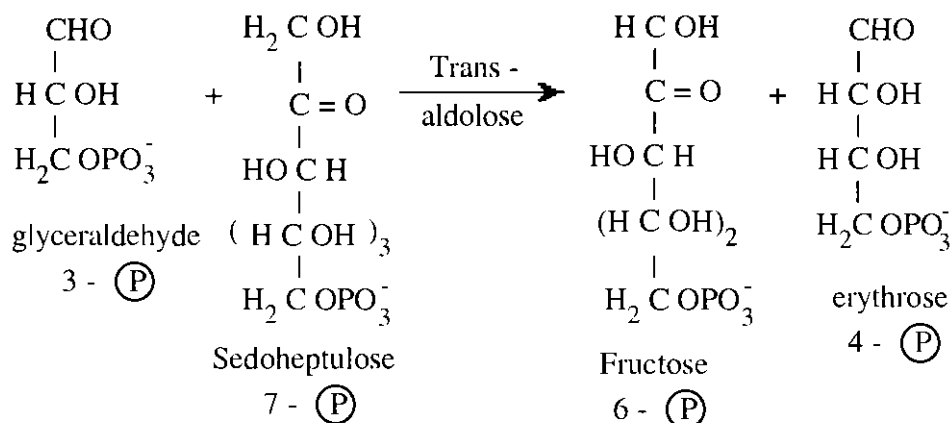
والانزيم الآخر هو *ribulose phosphate isomerase* (EC 2.3.1.6) وهو مسئول عن تكون *ribose 5-phosphate* (تفاعل VI) الذى يدخل في تكوين الأحماض النووية DNA ، RNA .



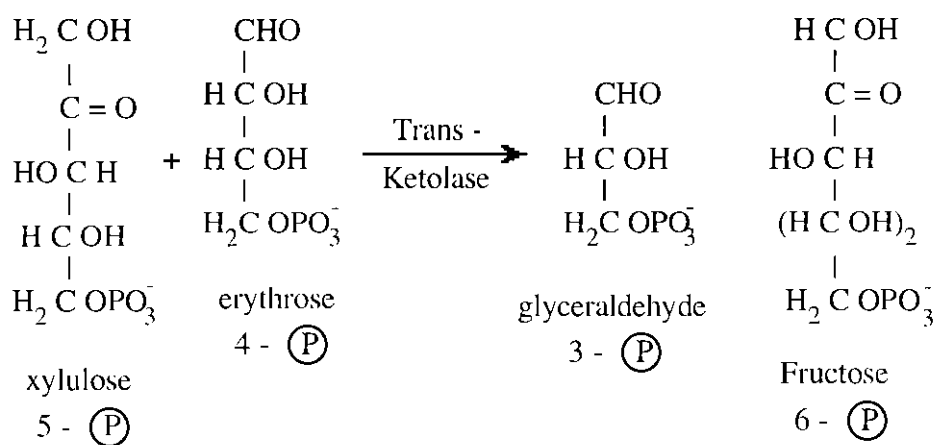
وكل من المركبين الناتجين الزيليولوز والريبوز يدخلان في تفاعل انشقاقي Cleavage reaction لتكوين جليسرلدهيد ٣ - فوسفات & Sedoheptulose 7-P, بمساعدة انزيم transketolase (EC 2.2.1.1) كما في تفاعل VII بالدورة .



والمركبان الناتجان من التفاعل السابق (الثلاثى والسباعى الكربون) يتحدان ثم ينشقا لتكوين الفركتوز ٦- فوسفات & erythrose 4-phosphate فى وجود انزيم Transaldolase (EC 2.2.1.2) كما فى تفاعل (IX) بالدورة .

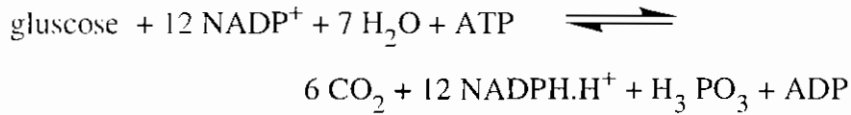


والتفاعل الانشقاقى الثالث (XIII) ينتج عن اتحاد المركبين erythrose 4-P ، xylulose S-P وانشقاقهما إلى المركبين جليسرلدهيد ٣ - فوسفات وفركتوز ٦ - فوسفات .

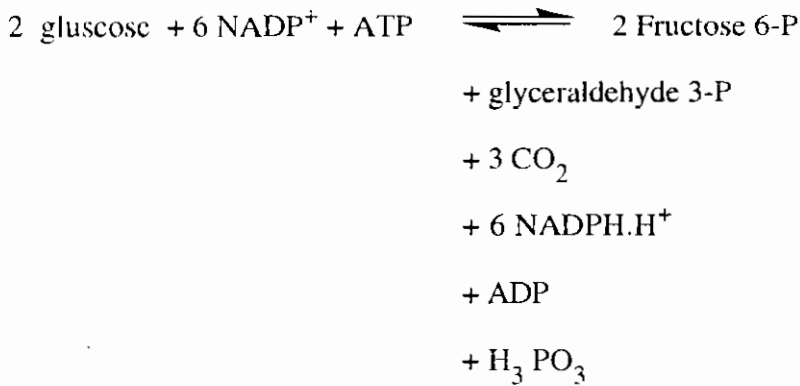


ومركب الجليسرلدهيد ٣- فوسفات يدخل في دورة EMP وينتهي بالبيروفات أما مركب الفركتوز ٦- فوسفات تتحول إلى الجلوكوز ٦- فوسفات بعملية isomerisation الذي يدخل في دورة EMP أو يدخل مرة أخرى في دورة HMP . أى أنه بهذه التفاعلات الانشاقية والمركبات الناتجة منها يمكن ربط دورة HMP بدورة EMP كما في الرسم (٥-٢) .

والمعادلة العامة للدورة الكاملة يمكن إجمالها كالتالي :



والميكروبات المؤكسدة يمكنها تكوين البيروفات من الجليسرلدهيد ٣- فوسفات مستخدماً نفس انزيمات EMP . فإذا حسبنا المعادلة العامة للدورة غير الكاملة (بفرض توقفها عن الجليسرلدهيد ٣ فوسفات) فإنها تكون كالتالي :

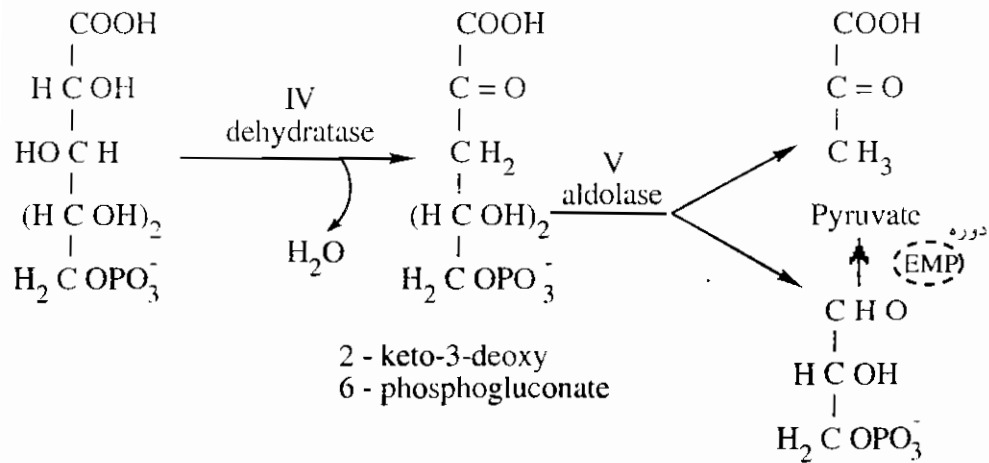


ودورة HMP هامة جداً للميكروبات الاتوتروفية (الضوئية والكيميائية) لأن كل الكربون الداخل في بناء الخلايا مشتق من تثبيت ك٤ مع الريبولوز ٥ اى فوسفات المشتق من الريبولوز ٥ - فوسفات .

Entner-Doudoroff (ED) Pathway دورة ٣٠١٠٥

اكتشفت بواسطة العالمين Entner & Doudoroff, 1952 أثناء دراسة التحولات الأيضية في *Pseudomonas saccharophila* ثم اكتشفت بعد ذلك في العديد من الميكروبات وتعرف أيضاً باسم KDPG-pathway نسبة للمركب الوسطى فيها 2Keto-3deoxy phosphogluconate .

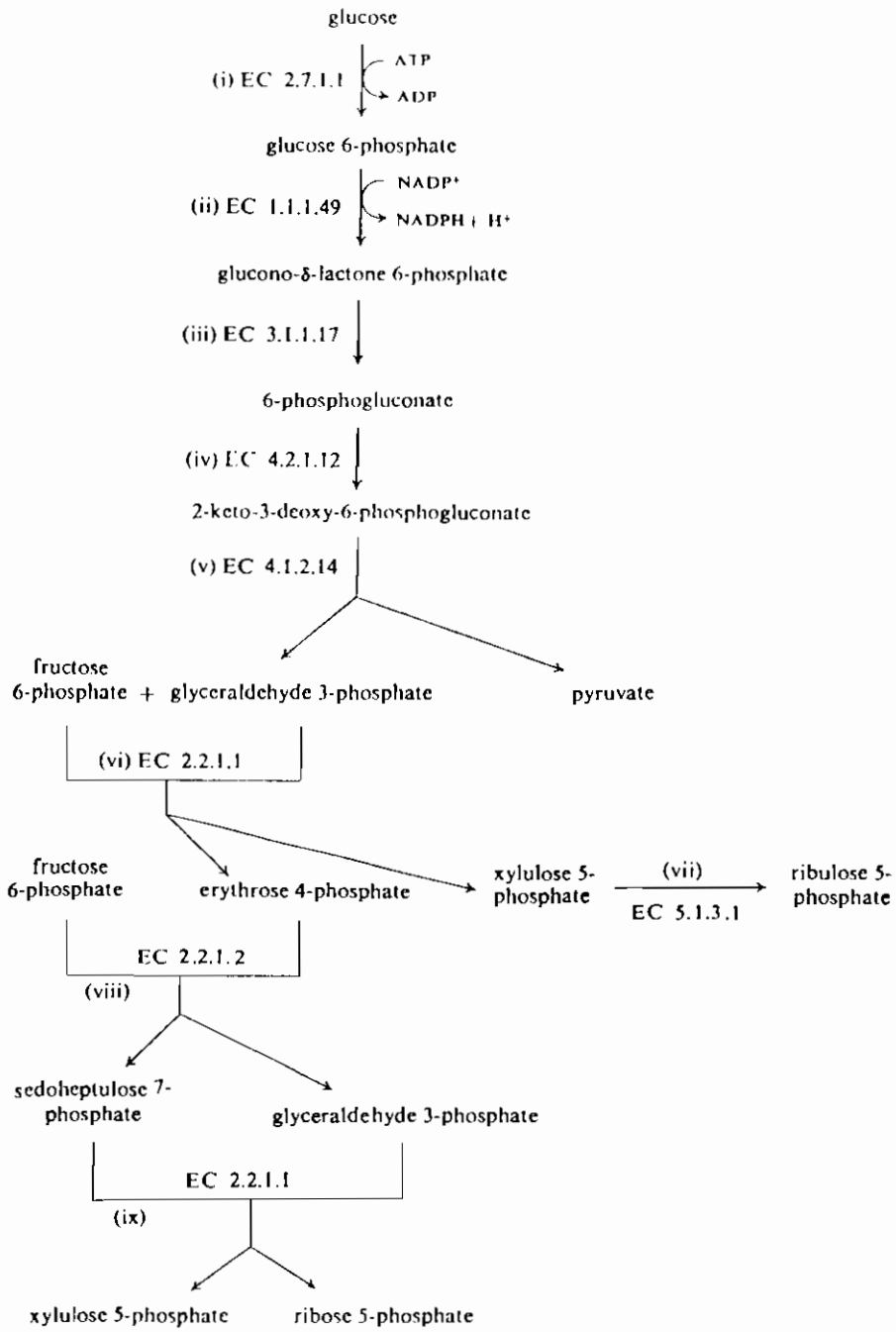
والتفاعل الأول والثاني والثالث يشبه أقرانهم في دورة HMP بالرغم من أنه لم يثبت بعد إذا كانت الانزيمات لها نفس الخواص الحركية Kinetic . والفرق الواضح المميز لهذه الدورة هو نزع جزئ ماء dehydration من المركب ٦- فوسفورجلوكونات (تفاعل IV) لتكون المركب ٢-كيتو-٣- دي اوكسي ٦- فوسفو جلوكونات (KDPG) في وجود انزيم Phosphogluconate dehydratase (EC 4.2.1.12) .



٦ - فوسفو جلوكونات

جليسرلدهيد
٣- فوسفات

ثم يحدث تفاعل انشعاقى (V) في وجود انزيم KDPG-aldolase (EC 4.1.2.14) ينتج عنه البيروفات ، الجليسرلدهيد ٣-فوسفات وهو يشبه تفاعل فركتوز ١,٦ داى فوسفات الدوليز في دورة EMP كما أن انزيم KDPG - aldolase يلامس عملية enolization للبيروفات .



شكل (٥-٣) : دورة Entner & Doudoroff لتحويلات الجلوكوز
نقلًا عنهما (١٩٥٢)

ويمكن حساب ناتج الطاقة لهذه الدورة كالتالى :

- استهلاك امول ATP إلى ADP فى الخطوة الأولى .

(جلوكوز ————— جلوكوز ٦ - فوسفات)

- انتاج امول $NADPH_2$ فى الخطوة الثانية .

(جلوكوز ٦ فوسفات ————— جلوكوز لاكتون ٦ - فوسفات)

- انتاج ٢ مول ATP ، امول $NADH_2$ فى خطوات تحول الجليسرلدهيد ٣- فوسفات إلى بيروفات كما فى دورة EMP .

فيكون الناتج النهائى للدورة هو :

امول جلوكوز ————— ٢ مول بيروفات + امول $NADPH_2$

+ امول $NADH_2$ + ١ مول ATP

والصفة الأهم لهذه الدورة هو تمكينها الميكروب من إنتاج السكر الخماسى اللازم لتخليق الأحماض النووية والامينية الخلقية كما فى التفاعلات من VI حتى IX بالدورة .

- حيث يلامس Transketolase (EC 2.2.1.1) تفاعل VI لتكوين erythrose - 4-P ، Xylulose - 5-P من الفركتوز ٦- فوسفات مع الجليسرلدهيد ٣- فوسفات .

- ويلامس انزيم Ribulose phosphate 3-epimerase (EC 5.1.3.1) تحول Xylulose 5-P إلى Ribulose 5-P (تفاعل VII) .

- أما انزيم Transaldolase (EC 2.2.1.3) فيشارك فى تكوين الجليسرلدهيد ٣ - فوسفات ، Sedoheptulose 7-P من erythrose 4-P ، الفركتوز ٦ - فوسفات (تفاعل VIII) .

- وأخيراً يتكون الريبوز ٥ - فوسفات ، Xylulose 5-P من تفاعل Transketolase الثانى (تفاعل IX) .

ويلاحظ أن الدورات الثلاث الرئيسية السابقة كل منها يخدم بعض أغراض التحول الايضى . فدورة EMP تمد الخلية بالكمية الاكبر من ATP ولكن لا تنتج السكريات الهامة (الريبوز ٥ - فوسفات ، Erythrose 4-P) اللازمة للاتحاد مع القواعد البيورينية والبيريميدينية لتكوين الأحماض النووية . وعموماً فإن الميكروبات التى تنمو على البيئات المعقدة فقط مثل البيئات المحتوية على مستخلص اللحم ومستخلص الخميرة يمكنها استخدام هذه الدورة (EMP) .

أما دورة HMP - فعلى العكس - حيث تنتج السكريات الهامة ولكن لا تنتج إلا نصف كمية ATP . وأيضاً لا تنتج البيروفات مباشرة ولذا فالكائن لا بد أن يمتلك - على الأقل - جزء من EMP ابتداء من الجليسرلدهيد ٣- فوسفات حتى البيروفات .

ولذا لا غرابة فى احتمال وجود الدوريتين فى الكائنات التى تقوم بدوره HMP . ونسبة استخدام الدوريتين EMP ، HMP تعتمد على الظروف البيئية المحيطة .

أما دورة ED فعلى الجانب الآخر من HMP حيث تكوين البيروفات المباشر يجعلها غير معتمدة على الدوريتين الاخرتين . وإنتاج ATP وكل السكريات الخماسية الضرورية يجعلها أشبه بدورة HMP وخاصة لتمائل عدد من الانزيمات فيهما . ويمكن لبعض المجاميع البكتيرية وبالسالبه لجرام ذات % G+C فى DNA بين ٥٢-٧٠ % استخدام هذه الدورة فقط .

ويشير الجدول التالى إلى نسب توزيع هذه الدورات الثلاث فى بعض الميكروبات . أما أسباب اختيار الدورات المفردة فلم تعرف بعد .

Microorganisms	EMP	HMP	ED
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	88	12	--
<i>Candida utilis</i>	66 - 81	19 -34	--
<i>Streptomyces griseus</i>	97	3	
<i>Penicillium chrysogenum</i>	77	23	
<i>Escherichia coli</i>	72	28	
<i>Sarcina lutea</i>	70	30	
<i>Bacillus subtilis</i>	74	26	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	--	29	71
<i>Acelomonas oxydans</i>	--	100	--
<i>Zymomanas mobilis</i>	--	--	100

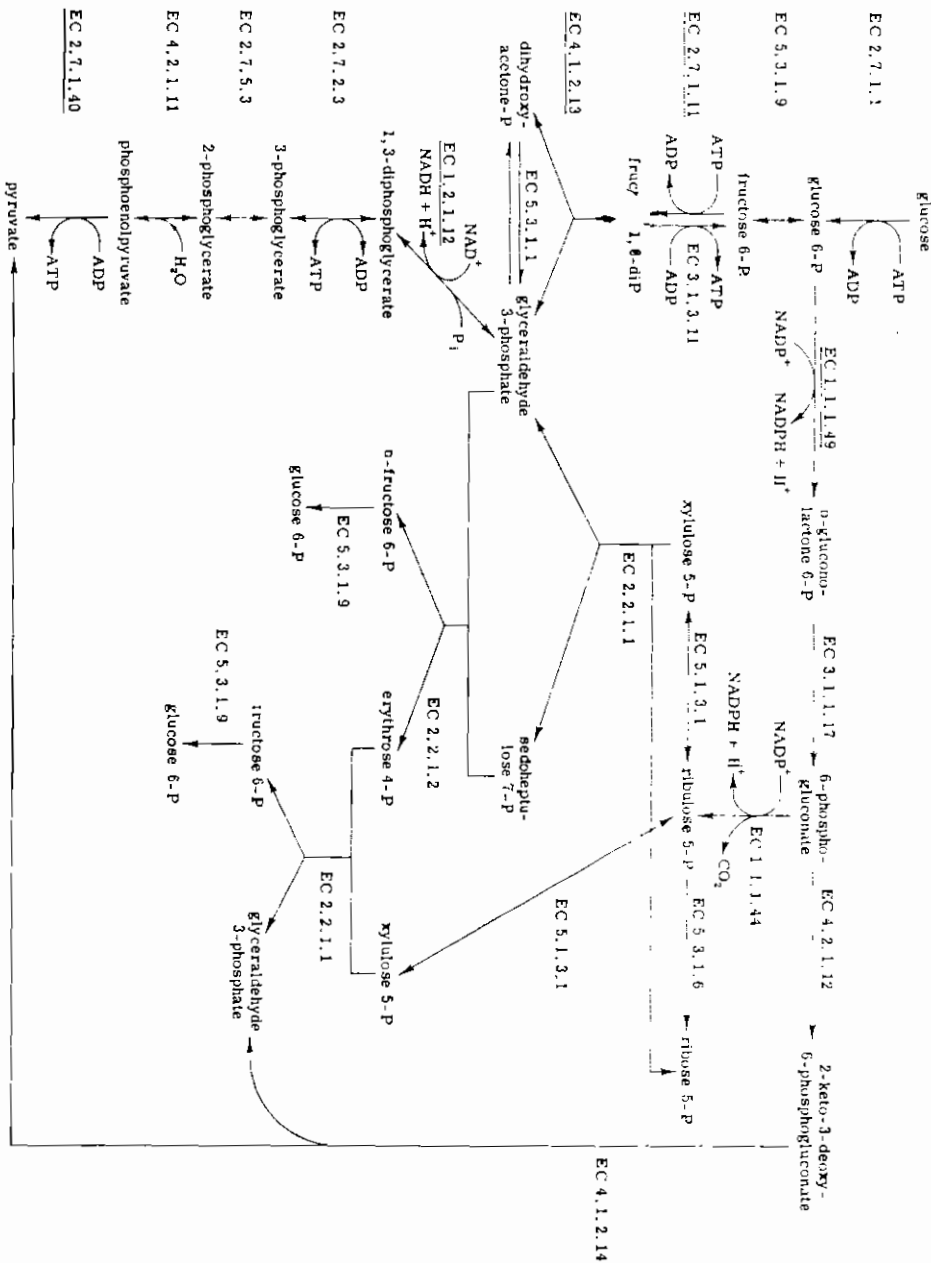
جدول (٥-١) : تقدير نسب الدورات الرئيسية لهدم الجلوكوز في بعض الميكروبات

نقلًا عن Gheldelin, 1961

ويعتقد أن الأكسجين يلعب دوراً في اختيار الدورة المستخدمة حيث أن أغلب البكتريا اللاهوائية تحتوي EMP مثل Clostridia ، Enterobacteria ، Spirochetes .

أما البكتريا الاختيارية تحتوي على خليط من EMP ، HMP مثل *E. coli* أما الهوائية الحتمية فغالباً يوجد بها دورة ED مثل *Rhizobium* ، *Pseudomonas* إلا أن قدرة بعض الميكروبات اللاهوائية مثل *Zymomonas* على استخدام ED وكذا *Lactobacillus* على استخدام EMP يجعل تأثير الأكسجين هذا محل شك .

ويعكس تعقد عملية التحول الأيضي للجلوكوز من خلال الدورات الثلاث EMP ، HMP ، ED مدى تداخل الدورات الثلاث معاً كما بالرسم التالي :



شكل (٤-٥) : التداخل بين الدورات الرئيسية الثلاث EMP ، HMP ، ED

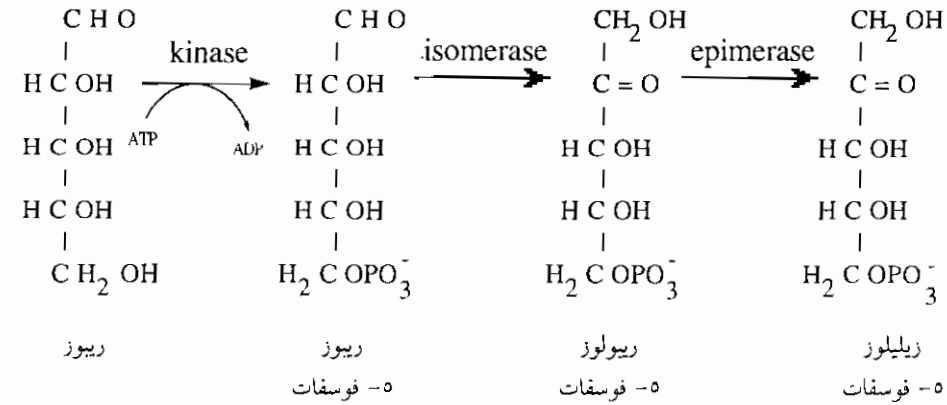
نقلا عن Doelle سنة ١٩٧٥

٤٠١٠٥ دورة (PK) Phosphoketolase

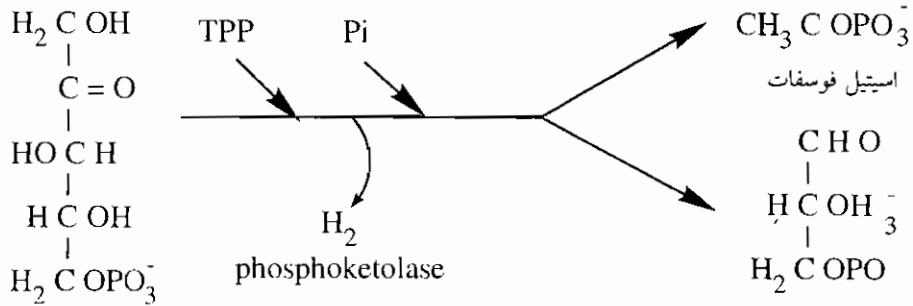
وهي توجد في عدد قليل من البكتريا وبالذات بكتريا حمض اللاكتيك hetero-Fermentative lactobacilli وينظر إليها كفرع من دورة (HMP) Pentose Shunt لأن جزء من كل منهما متطابقان وهي تقسم حسب السكر الداخلة فيها إلى :

a) Pentose phosphoketolase (PPK) pathway

حيث تعمل السكريات الخماسية (الريبوز - ٥ فوسفات ، الزيليلوز ٥ - فوسفات) المتكونة في دورة HMP كمصدر للكربون . والبكتريا التي تستعمل هذه الدورة تفتقد تكوين انزيم Transketolase (EC 2.2.1.1) فإذا زودت بسكر الريبوز فإن انزيم ribokinase (EC 2.7.1.15) يحول مجموعة فوسفات من ATP إلى الريبوز مكونة الريبوز ٥ - فوسفات . والذي يحدث له عملية isomerization إلى الريبولوز ٥ - فوسفات بواسطة (EC 5.3.1.6) ribose - phosph. isomerase ثم يقسم انزيم Ribulose phosph. 3-epimerase (EC 5.1.3.1) بتحويل السكر الأخير إلى الزيليلوز ٥ - فوسفات .



وهذا المركب (زيليلوز ٥ - فوسفات) يلعب الدور الوسطى (Key) في هذه الدورة - حيث يتحول إليه السكريات الخماسية الأخرى مثل الأرابينوز ، الزيلولوز - لأن الانزيم الرئيسي في هذه الدورة (EC 4.1.2.9) phosphoketolase يتفاعل فقط مع هذا المركب ويشطره إلى اسيتيل فوسفات والجليسرلدهيد ٣ - فوسفات في وجود ثيامين بيروفوسفات وكذا Pi المعدني كمايلي :

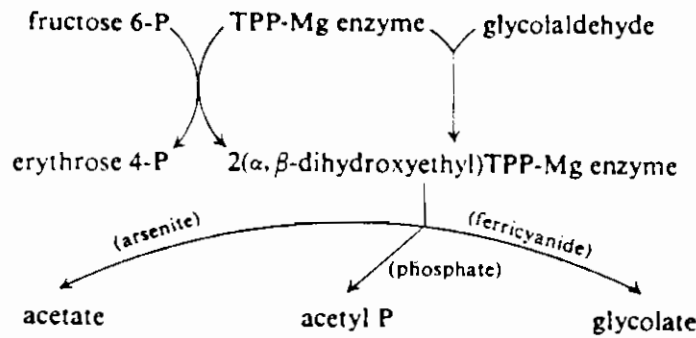


xylulose 5 - P

جليسرلدهيد ٣- فوسفات

- وقد وجد أن التفاعل الملاحظ في *lactobacillus plantarum* مطابق للموجود في *Leuconostoc mesenteroides* حيث يغيب في هذه الميكروبات الدورات المعتادة ED ، HMP ، EMP ويتكون الإنزيم Phosphoketolase بواسطة الميكروب الأول إذا نعى على الريلوز (inducable enzyme) أما في الميكروب الثاني فهو (Constitutive enzyme) والتفاعل لا يخرج عن كونه عملية فسفرة عند مستوى مادة التفاعل Substrate phosphorylation حيث أحذ ذرات الكربون لمادة التفاعل تصبح «أكثر أكسدة» بينما بقية ذرات الكربون تصبح «أكثر اختزالاً» وتحويل الطاقة يحدث عند ذرة الكربون الأكثر أكسدة .

هناك تفاعل آخر يدخل Phosphoketolase في ملامسته كما في الرسم التالي :

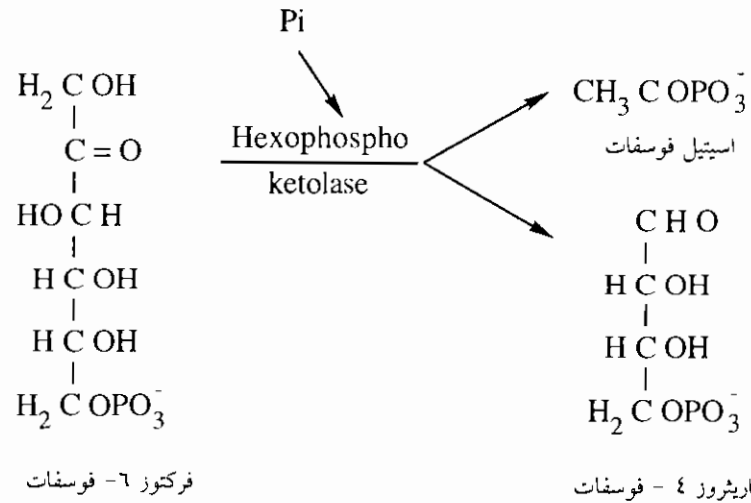


شكل (٥-٥) : دورة (PK) Phosphoketolase

والخطوة الأولى هو تكوين المركب الوسطى المسمى (α, β dihydroxyethyl) - 2 - enzyme - TPP-Mg⁺⁺ ويتبع ذلك تفاعل نشط ينتج عنه الاسيتات مع الارسينات arsenite أو اسيتيل الفوسفات في وجود Pi المعدنى أو الجليكولات في وجود الفروسيانيد .

b) Hexose Phosphoketolase Pathway

يفتقد ميكروب *Lactobacillus bifidus* القدرة على تكوين انزيم الفركتوز داى فوسفات الدوليز وكذا انزيم الجلوكوز 6- فوسفات ديهيدروجينيز . ولذا تخمر الجلوكوز عبر دورة تختلف عن الموجودة فى hemo-and Hetero-Fermentative Lactic acid bacteria وذلك يعنى عدم حدوث أى من الدورات EMP ، HMP ، ED ، PPK . والتفاعل الرئيسى (Key) لتخمر الجلوكوز بواسطة هذه المجموعة من البكتريا يبدو فى انقسام الفركتوز 6- فوسفات إلى اسيتيل فوسفات ، اريثروز - 4 فوسفات بملامسة انزيم Hexophosphoketolase .

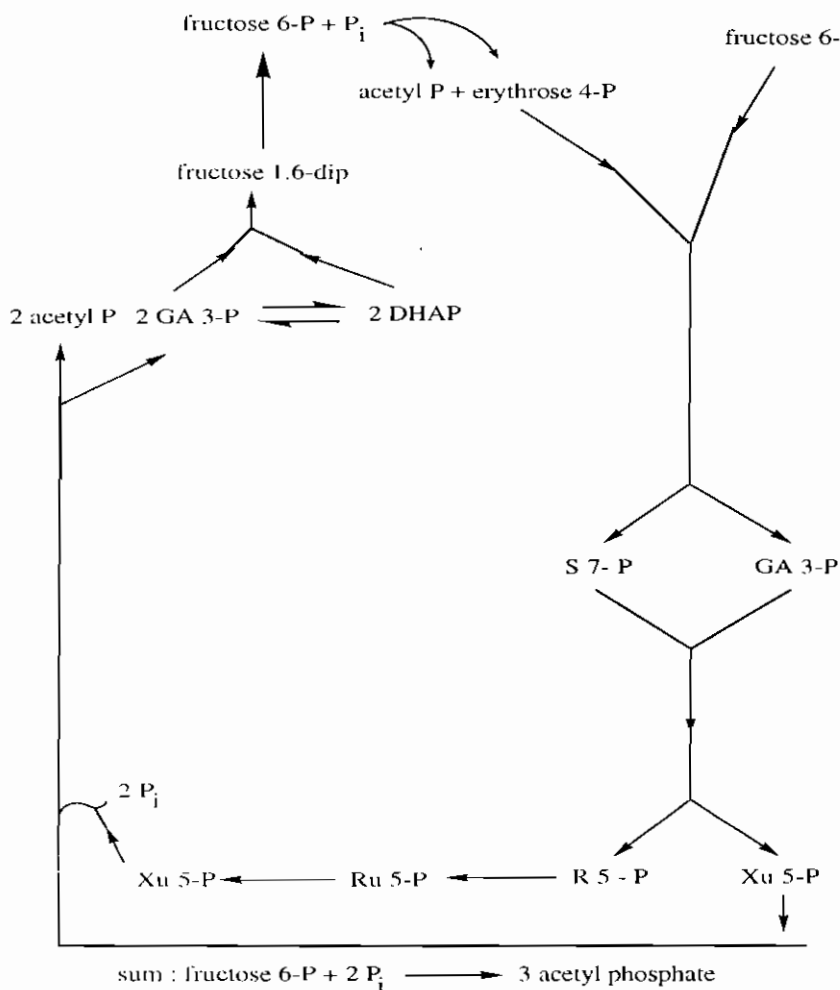


وتتكون السكريات الخماسية بتفاعل عكس دورة HMP بتأثير :

(EC 2.2.1.2) Transaldolase , (EC 2.2.1.1) Transketolase

والنتائج هو الزيليلوز 5 - فوسفات الذى ينقسم إلى اسيتيل فوسفات والجليسرلدهيد 3 - فوسفات كما سبق ذكره . ويمكن إجمالى تفاعلات هذه الدورة كما فى الرسم التالى

وحيث أن التفاعلات حلقية (بمعنى أن المركبات الناتجة تدخل مرة أخرى في الدورة) لذا يطلق عليها PK-Shunt .



شكل (٥-٦) : Phosphoketolase Shunt in *Acetobacter xylinum*

والمعلومات المتاحة حالياً لاستخدام الدورات المختلفة لا تقطع بتحديد أحدهم تحت الظروف الهوائية أو اللاهوائية إلا أن المؤكد أن أحدهم تسود تحت ظروف بيئية معينة ولذا لاستخدام الجلوكوز بأكبر كفاءة ممكنة يجب توفير هذه الظروف مع دراسة ميكانيكية انتقال الجلوكوز من البيئة المحيطة .

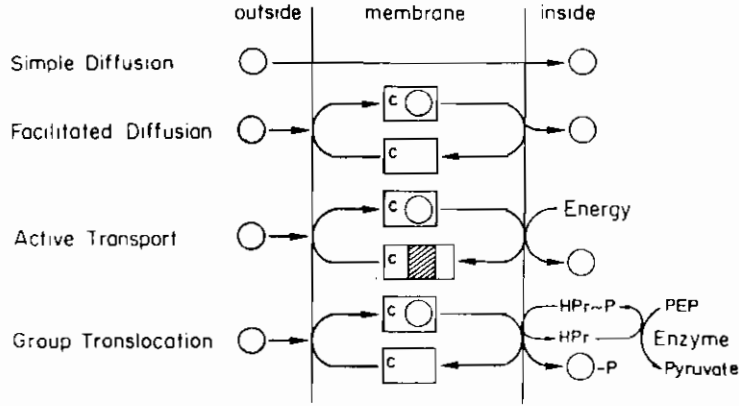
٥٠١٠٥ ميكانيكية انتقال الجلوكوز Glucose Transport mechanism

يجب أن يمر الجلوكوز المضاف للبيئة أولاً خلال غشاء الخلية ليحدث له التحولات الايضية المذكورة سابقاً . والغشاء الخلوي نفسه ذو نفاذية اختيارية للمركبات العضوية والغير عضوية . وتوجد ٤ عمليات أساسية - معروفة للآن - مسؤولة عن انتقال الجزيئات عبر الغشاء الخلوي .

(١) الانتشار البسيط Simple diffusion : يمر المحلول عبر غشاء الخلية بدون أى مساعدة Catalysis من الغشاء أو أحد مكوناته . والطاقة اللازمة لهذا الانتشار تشتق من الاهتزاز الحرارى للجزيئ thermal agitation وتعتمد العملية أساساً على وجود تدرج كهروكيميائى عبر الغشاء . وعدد المحاليل التى تستخدم فى هذه الطريقة قليل جداً مثل الماء ، الجليسرول ، اليوريا .

(٢) الانتشار الميسر Facilitated diffusion وتشابه هذه الطريقة فى عدد من الخواص مع سابقتها فهى انتقال سالب Passive transport والطاقة اللازمة تأتى من الاهتزاز الحرارى للجزيئات وتحتاج أيضاً للتدرج الكهروكيميائى عبر الغشاء والاختلاف يرجع إلى تفاعل أحد مكونات الغشاء الخلوى (C) كعامل لمسى Catalyst كما يظهر فى الرسم التالى (شكل ٥ - ٨) والذى يؤدي إلى انتقال أسرع عبر الغشاء . وهذا المكون (C) متخصص حتى مستوى Stereo-and optical isomers للمحلول . ومعدل الانتقال يتبع معادلة Mitchell - Menten للطاقة الحركية .

(٣) الانتقال النشط active transport وهو يشبه الانتشار الميسر فى وجوب تواجد حامل أو عامل لمسى Carrier ولكن مع الاحتياج لطاقة إضافية ويستطيع الجزيئات فى هذه العملية الحركة عبر الغشاء ضد تدرج التركيز . ولقد درس هذا الانتقال النشط بعناية كبيرة وبالذات مع انزيمات Permeases المتصلة بانزيم galactosidase . وقد عزل هذا الانزيم ودرست خواصه ووجد أنه يرتبط مع الريبوسوم فى *E. coli* . وحيث أن ATP أو المركبات الغنية بالطاقة يمكنها أن تتفاعل كعامل لمسى لانزيم B-galactosidase فإنه يعتقد أن Permease يمكن أن تُكوّن ATPase مرتبط بالغشاء وترجع أهمية هذا النوع من الانتقال إلى ارتباطه بنقل الكاتيونات .



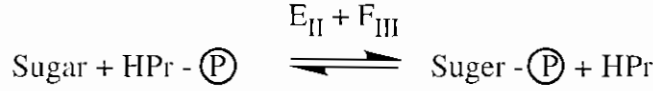
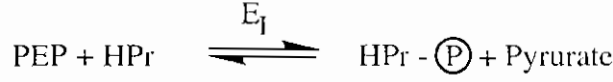
شكل (٧-٥) : ميكانيكيات انتقال الجلوكوز الأربع خلال الغشاء

O مادة التفاعل المنقولة
C (مظلل) حامل منشط بالطاقة
permease Carrier C
HPr بروتين ثابت للحرارة

(٤) group translocation وهو الميكانيكية المفضلة لنقل السكريات عبر الغشاء البكتيري .
وأساس هذه العملية هو تفاعل كيميائي عبر الغشاء يؤدي لتكوين مشتقات مثل
(الجلوكوز ← جلوكوز ٦ - فوسفات) وقد وضع هذا التصور بواسطة Mitchell, 1959
ولكنه لم يشرح الحركة داخل الغشاء . وكانت أول دراسة مكثفة على
ميكانيكية انتقال السكر في ميكروب *Staphylococcus aureus* بواسطة العالم
Hengstenberg سنة ١٩٦٨ حيث اكتشف ضرورة وجود انزيم
Phosphoenolpyruvate (PEP) dependent phosphotransferase لفسفرة
الجلوكوز وبالتالي دخول جلوكوز ٦ - فوسفات إلى الخلية . ويتكون هذا النظام من ٤
مكونات بروتينية هي :

- أ - بروتين منخفض الوزن الجزيئي يحتوى على الهستيدين وثابت للحرارة (HPr) .
- ب - انزيم بروتيني ذاتي (E_I) .
- ج - انزيم بروتيني مرتبط بالغشاء (E_{II}) وهو متخصص للسكر .
- د - مكون بروتيني إضافي يسمى Factor_{III} متخصص لفسفرة السكر .

وافترضت الميكانيكية كالتالى :



ويوجد انزيم PEP-transferase ليس فقط في البكتريا الموجبة جرام وإنما أيضاً في السالبة لجرام مثل *E. coli* والفرق بينهما أن السالبة تبدو أنها لا تحتوى Factor III وان نظامها يحتوى HPr ، E_I ، E_{II} فقط .

وقد أجريت دراسة على طفرة من *Salmonella typhimurium* لا يحتوى على (E_I) فثبت عدم قدرتها على نقل أى كربوهيدرات مما يدل على أن انزيم E_I هو المسئول عن انتقال السكر عموماً .

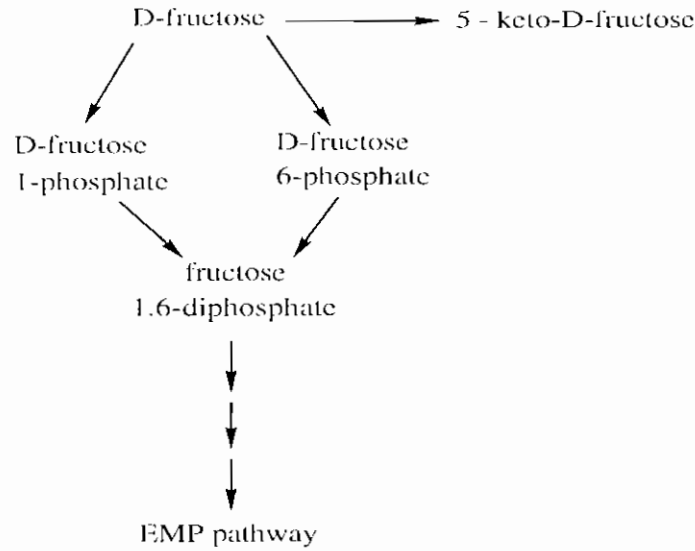
ولكن هناك تساؤل لماذا بعض البكتريا مثل *E. coli* تملك كلا النظامين Permease and PEP Phosphotransferase? والإجابة تمت بعمل حصر لتوزيع وانتشار PEP - Transferase والذي أظهر أنه يوجد أساساً في البكتريا الاختيارية اللاهوائية ولا يلعب أى دور فى انتقال السكر فى البكتريا الهوائية الحتمية حيث أن الاختيارية تستخدم كمية سكر أكبر تحت الظروف اللاهوائية لتحصل على الطاقة اللازمة للتخليق الحيوى منها تحت الظروف الهوائية (تأثير باستير) وهذا الانتقال الأسرع يتم بمساعدة PEP - Transferase وعموماً فإن وصول المواد لداخل الخلية يتضمن عمليات معقدة جداً ومازالت معلوماتنا محدودة بهذا الشأن .

٢٠٥ تحولات الفركتوز Fructose metabolism

يمثل الفركتوز بواسطة بعض الأجناس مثل : *Aerobacter* ، *Acetobacter* ، *Alcaligenes* ووجد أيضاً فى *E. coli* ، *Zymomonas mobilis* ، *Clostridium acet-* ، *Cl. thermoscellum* ، *icaum* ، وتعتمد دورة التحول على ما إذا كان السكر السداسى

سيضاف للبيئة خارجياً وكيفية مروره خلال الغشاء الخلوي أو موجود داخلياً بالفعل كنتاج وسطي لتحول الكربوهيدرات .

- والفركتوز المضاف خارجياً يمر عبر الغشاء بواسطة انزيم phosphoenolpyruvate: Fructose phosphotransferase (EC 2.7.1.3) والذي يدخل الخلية كـ فركتوز ١ - فوسفات ثم يحدث له فسفرة ثانية بواسطة Fructose 1-P Kinase إلى فركتوز ١,٦ داى فوسفات وهذا الانزيم nonallosteric وينشط بواسطة K^+ ، NH_4^+ .
- أما السكر الموجود داخلياً فسرعان ما يتحول إلى الفركتوز ٦- فوسفات بملامسة انزيم phosphofructokinase (EC 2.3.1.4) ثم تحدث له عملية فسفرة ثانية إلى فركتوز ١,٦ داى فوسفات الذى يدخل دورة EMP .
- وهناك إمكانية (طريق) ثالث يتم بواسطة ميكروب *Acetobacter Cerinus* وهو ميكروب هوائى حتمى حيث يتأكسد الفركتوز إلى ٥ - كيتوفركتوز ويلامس هذا التفاعل بواسطة dicarbonyl hexose reductase المرتبط بالمرافق $NADPH_2$ (EC 1.1.1.124) وهو متخصص جداً لمادة التفاعل ويفضل اختزال ٥-كيتوفركتوز عند التوازن .

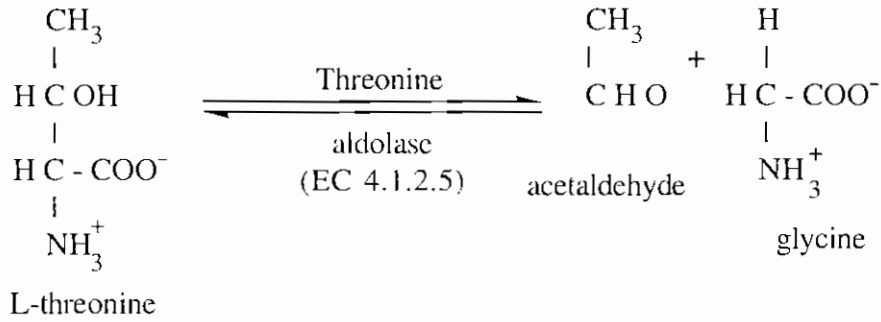


شكل (٥-٨) : الطرق المختلفة لتحويلات الفركتوز الايضية

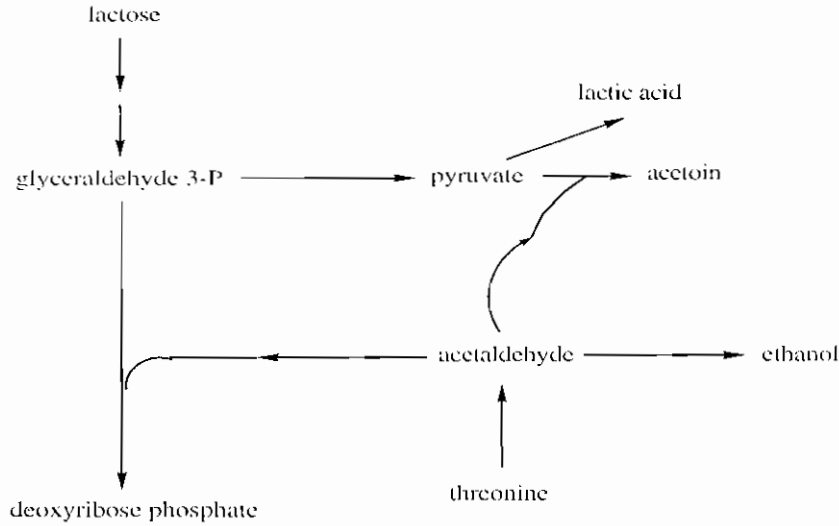
٣٠٥ تحولات اللاكتوز Lactose metabolism

يتحول اللاكتوز بواسطة Enterobacteriaceae ، Streptococci إلى الجللاكتوز ، الجلوكوز ويعتبر أحد الصفات التقسيمية الهامة لهم ثم يكمل الجلوكوز تحوله من خلال دورة EMP .

ويختلف استخدام اللاكتوز بواسطة Streptococci عنه مع Enterobacteria من حيث قدرتها على النمو على اللاكتوز والكازين المسمى وتستخدم threonine أيضاً لتكوين الاستيالدهيد والجليسين .



ويمكن إجمالاً ميكانيكات تحول اللاكتوز كما بالرسم التالي :

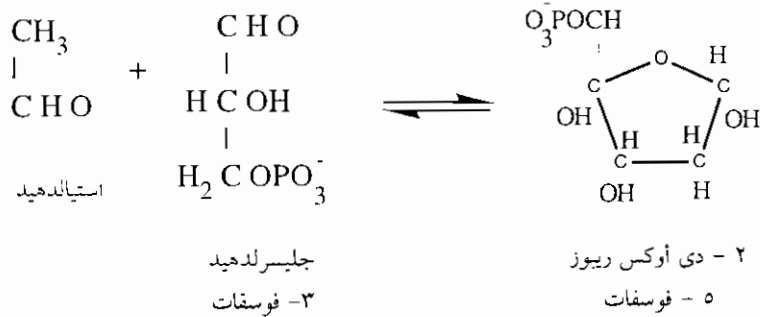


شكل (٥-٩) : تحولات اللاكتوز في Streptococci

والاستيالددهيد المتكون يمكن أن يتحول عبر ٣ طرق مختلفة تبعاً لتيسر وجود أحد ثلاث

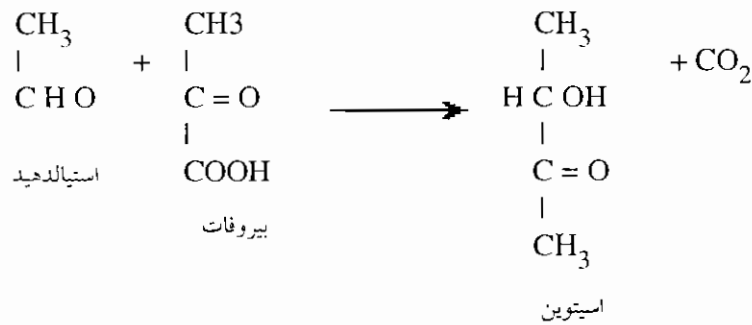
أنزيمات :

(١) انزيم (EC 4.1.2.4) deoxyribose aldolase :



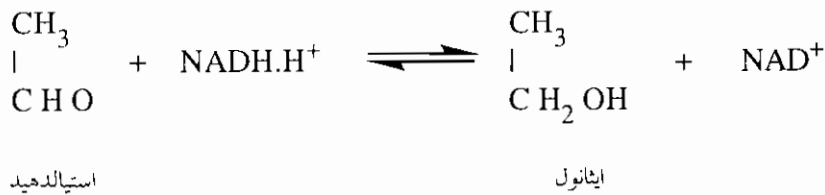
(٢) انزيم acetoin Synthetase الذي يلامس انشقاق البيروفات مع الاستيالددهيد إلى

الاسيتوين ، ك أ٢ .



(٣) انزيم alcohol dehydrogenase (EC 1.1.1.1) الذي يحول الاستيالددهيد إلى

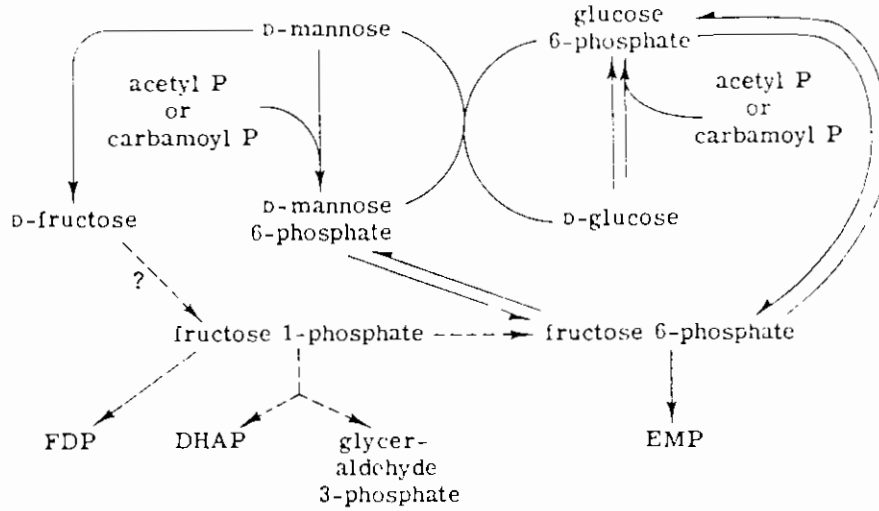
ايتانول :



وبالطبع فإن هناك بعض Streptococci التي لا تتبع هذا التحول مثل *Streptococcus cremoris* الذي يحتاج الجليسين ولا يستطيع تكوين Threonine aldolase .

٤٠٥ تحول المانوز Mannose metabolism

يتبع هدم المانوز طريقتين مختلفتين : (١) الميكانيكية الحلقية . (٢) الميكانيكية الغير حلقية .



شكل (١٠-٥) : تحولات المانوز في *Aerobacter aerogenes*

يستطيع ميكروب *Aerobacter aerogenes* فسفرة المانوز بواسطة الجلوكوز ٦- فوسفات وفى وجود انزيم phosphotransferase إلى المانوز ٦- فوسفات ونفس الانزيم يمكنه نقل مجموعة الفوسفات من acetyl-P أو Carbamyl-P إلى المانوز أو الجلوكوز ولا يوجد D-mannokinase به .

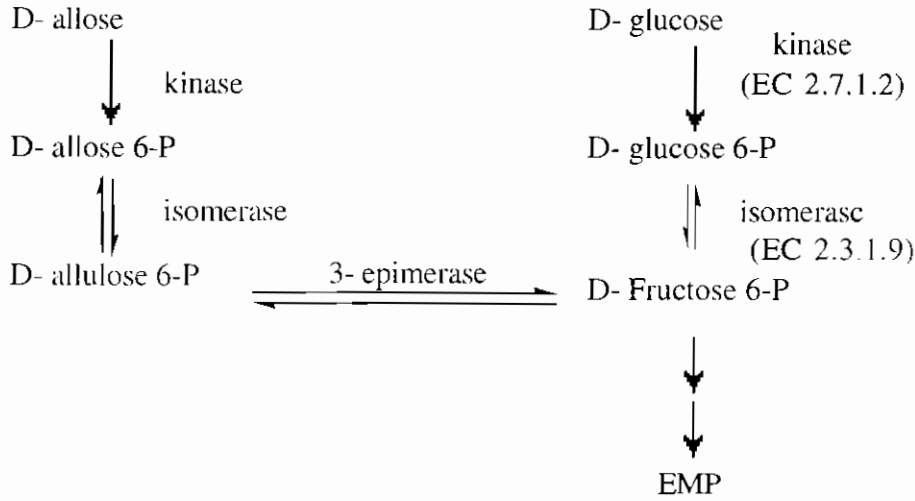
وبواسطة انزيم mannophosphate isomerase (EC 5.3.1.8) يمكن تحويل المانوز ٦- فوسفات إلى فركتوز ٦- فوسفات الذى اما يتحول إلى الجلوكوز ٦- فوسفات من جديد بواسطة Glucose-6P isomerase (EC 5.3.1.9) أو يكمل تحوله عبر دورة EMP .

وعملية epimerization للمانوز إلى جلوكوز تلاحظ عبر دورة حلقية متضمنة انزيمات المانوز ٦- فوسفات ايسوميريز ، جلوكوز ٦- فوسفات ايسوميريز ، فوسفور ١- ترانسفيريز (كما بالرسم) .

أما الدورة الغير حلقية فهي تحول المانوز إلى الفركتوز بواسطة isomerase منشط بالكوبلت ثم تحدث فسفراً عند C_١ بواسطة ATP فى وجود kinase لتكوين الفركتوز ١- فوسفات والذى ينشق إلى دى هيدروكسى اسيتون فوسفات والجليسرلدهيد ٣- فوسفات أو يتحول إلى فركتوز ٦- فوسفات ويكمل دورته عبر EMP-pathway .

٥٠٥ تحولات الألووز Allose metabolism

يتبع هدم الجلوكوز والألووز طرق منفصلة متوازية حتى يتحدا ويتصلا بدورة EMP عند مستوى الفركتوز ٦- فوسفات .



تحولات الألووز

ويقوم ميكروب *Aerobacter aerogenes* بتحويل الألووز تحت الظروف الهوائية واللاهوائية . حيث يفسفر الألووز أولاً بواسطة alloseekinase إلى الألووز ٦- فوسفات الذي يتحول في وجود Ketol - iso merase إلى allulose - 6 - P والذي يحدث له عملية cpimerization ويتحول إلى فركتوز ٦ - فوسفات والذي يكمل تحوله عبر دورة EMP .

وميكروب *A. aerogenes* يستطيع تحويل الجلوكوز أيضاً لأنه يمتلك انزيمي glucokinase (EC 7.7.1.2) ، glucose phosphate isomerase (EC 2.3.1.9) كما بالرسم السابق .

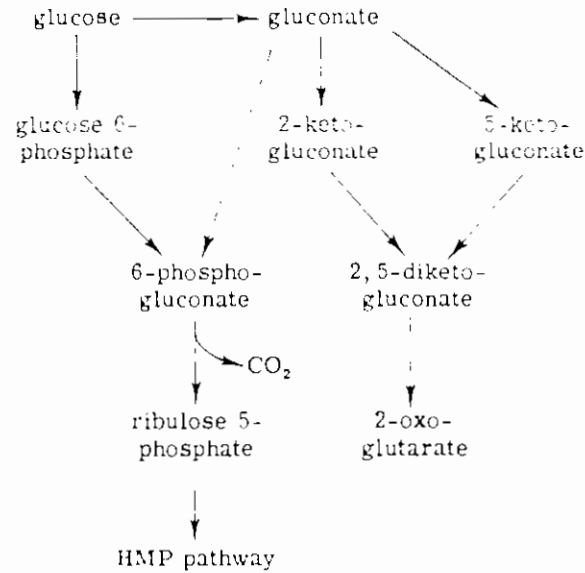
٦٠٥ تحولات الجلوكونات Gluconate metabolism

لا يستطيع عدد من الميكروبات فسفرة الجلوكوز حيث تفتقد نظام hexokinase أو نظام PEP-transferase وقد وجد في مستخلص الخلايا لميكروب

Acetomonas Suboxydans أنه يمتلك نوعين من الجلوكوز ديهيدروجينير الأول مرتبط بالداي كلورواندوفينول (DPI) وهو مطابق لانزيم الجلوكوز أو أكسيدز (EC 1.1.3.4) والثاني مرتبط بالمرافق $NADP^+$. ووجود انزيم gluconokinase (EC 2.7.1.12) مع انزيم 6- phosphogluconate DH (EC 1.1.1.44) يربط تحول الجلوكونات بدورة HMP في بكتريا حمض الخليك . كما يمتلك *Acetomonas Suboxydans* ميكانيكية ثانية لتحويل الجلوكونات في وجوده (EC 1.11. gr) 5-ketogluconate reductase وينتج ٥ - كيتوجلوكونات ودرجة الحموضة pH الأمثل هذا التفاعل 7.5 بينما القلوية الزائدة pH 9.5 يشجع التفاعل العكسي .

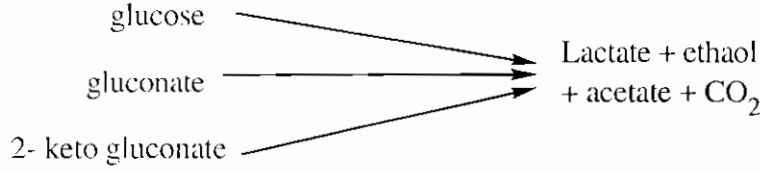
أما *Acetobacter melangogenum* برغم أنه لا يمتلك انزيم glucono kinase ولا يستطيع تكوين ٦- فوسفوجلوكونات فإنه يؤكسد ٢ - كيتوجلوكونات إلى ٢ هـ داي كيتوجلوكونات بواسطة (EC 1.1.99.4) Ketogluconate dhydrogenase وهذا المركب غير ثابت وبالذات عند pH أعلى من 4.5 ويتأكسد سريعاً عبر سلسلة من المركبات الوسيطة الغير معروفة إلى ٢ - أوكسوجلوتارات .

والتصور العام لتحول الجلوكونات بواسطة بكتريا حمض الخليك يشاهد كما بالرسم .



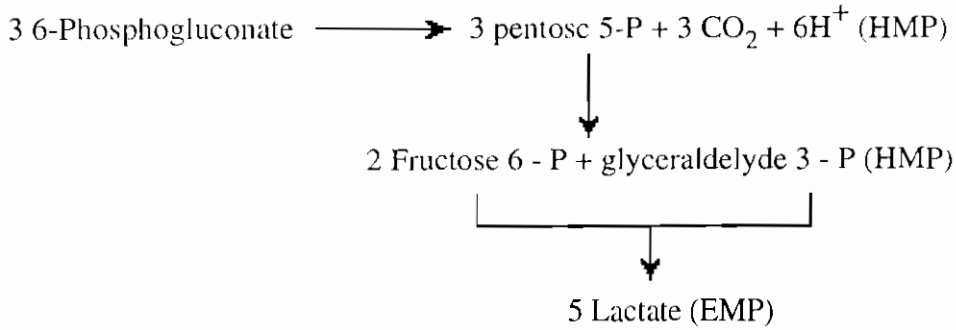
شكل (٥-١١) : تحولات الجلوكوز والجلوكونات في بكتريا حمض الخليك

أما في بكتريا حمض اللاكتيك فإن تخمر الجلوكونات تشبه تخمر الجلوكوز .

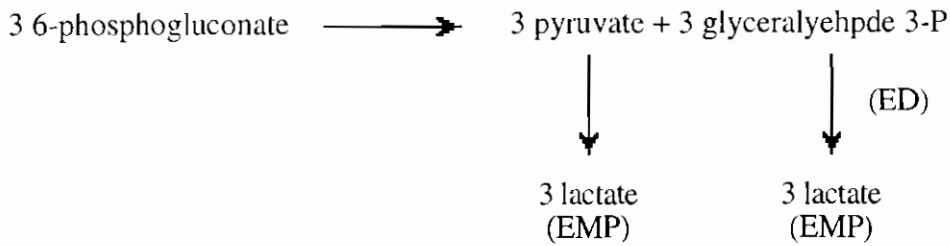


وقد لوحظ أن خلايا *Streptococcus faecalis* النامية على الجلوكونات يمكنها تخمير الثلاث مركبات (الجلوكوز ، جلوكونات ، ٢ - كيتوجلوكونات) ولكن الخلايا النامية على الجلوكوز لا تستطيع مهاجمة الجلوكونات ولهذا افترض وجود دورة multiple لتخمير الجلوكونات فبعد فسفرة الجلوكونات إلى ٦ - فوسفو جلوكونات يوجد طريقين متكافئين للهدم .

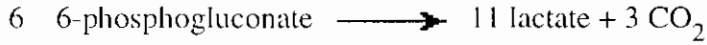
(١) أكسدة ٦ - فوسفوجلوكونات عبر HMP ، EMP .



(٢) أكسدة ٦ - فوسفو جلوكونات عبر ED ، EMP .



والمحصلة النهائية لكلا التفاعلين عند جمعها :



وهذه العملية مقصورة على *St. faecalis* والذي يعتبر ميكروب Homo fermentative أما ميكروبي *Enterobacter Cloacae* ، *Pseudomonas fluorescens* فتحدث فسفرة أولاً للمركب ٢ - كيتو جلوكونات يتبعها اختزال للمركب ٦ - فوسفو جلوكونات الذي يكمل تحولاته كما سبق أو بطريقة Heterofermentative .

وعموماً فإن التحول من استخدام الجلوكوز إلى الجلوكونات يحدث بسبب نقص glucokinase الذي يفسفر الجلوكوز أو phosphogluco isomerase الذي يحول جلوكوز ٦ - فوسفات إلى فركتوز ٦ - فوسفات وبكتريا حمض الخليك وبكتريا اللاكتيك تستخدم الجلوكونات فقط عبر دورة HMP بينما Psendomenads تفضل استخدام دورة ED .

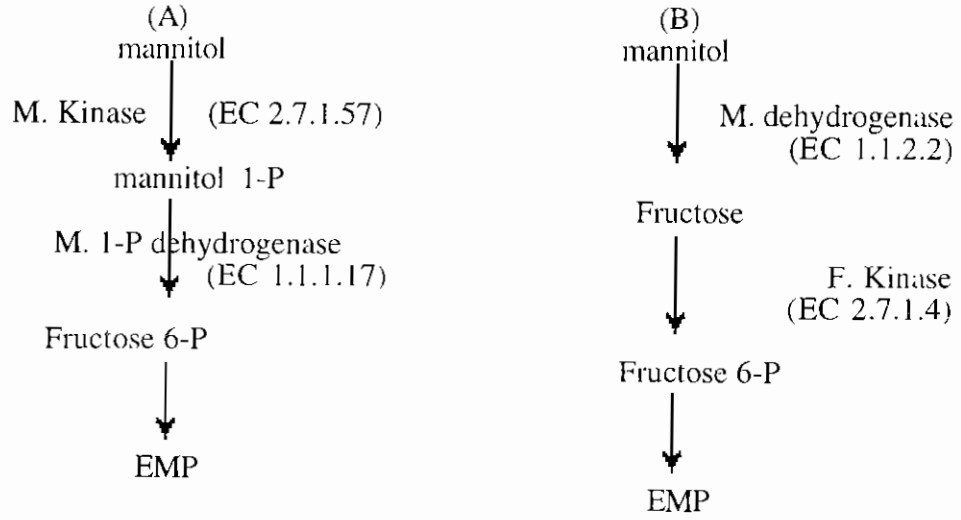
٧٠٥ تحولات المانيتول Mannitol metabolism

تقسم بعض أنواع البكتريا إلى مجموعتين حسب قدرتها على هدم المانيتول هما :

- (أ) مجموعة تبدأ عملية التحول بالفسفرة .
 - (ب) مجموعة تبدأ عملية التحول بالأكسدة dehydrogenation .
- وفى كلا الحالتين يتصل هدم المانيتول بدورة EMP عند مستوى الفركتوز ٦ - فوسفات .

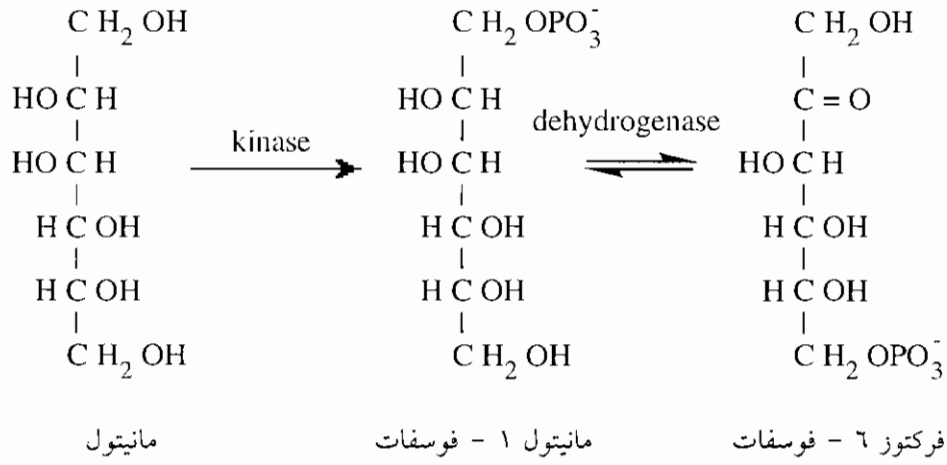
وتم التقسيم لهاتين المجموعتين على أساس قدرة الميكروبات على تكوين mannitol 1-P dehydrogenase (EC 1.1.1.17) المرتبط بالمرافق NAD^+ .

- كيفية حدوث التحول في المجموعتين يبدو كالتالي :

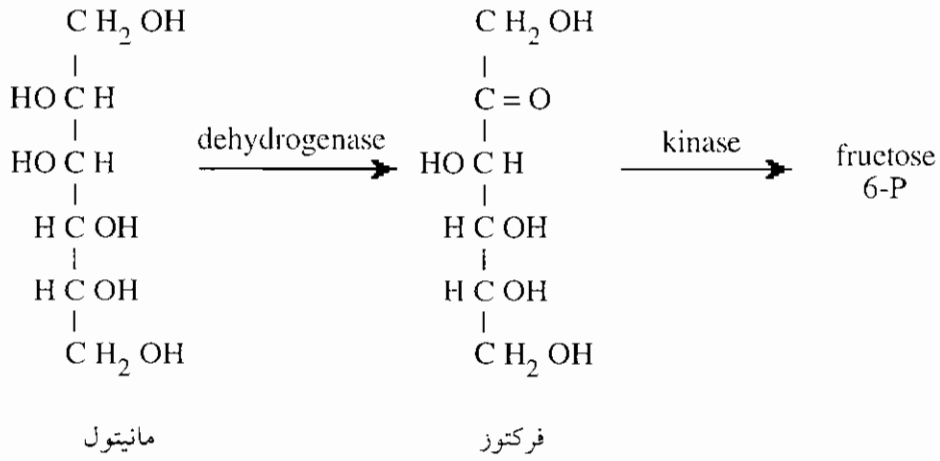


وتتبع ميكروبات *Salmonella* ، *Bacillus subtilis* ، *Aerobacter aerogenes* المجموعة الأولى (A) بينما تتبع ميكروبات *Lactob. plantarum* ، *E. coli* ، *Staph. aureus* ، *typhimurum* ، *Azobtobacter* ، *Acetobacter suboxydans* المجموعة الثانية (B) .

والخطوة الأولى في تفاعلات المجموعة (A) هي فسفرة المانيتول بواسطة Mannitol Kinase الذي يعتمد على فوسفواينون بيروفات (PEP) ثم يتحول إلى الفركتوز ٦ - فوسفات (المركب المفتاحي لدورة EMP) وذلك في وجود انزيم المانيتول ١ - فوسفات ديهيدروجينيز المرتبط بالمرافق الانزيمي NAD^+ .



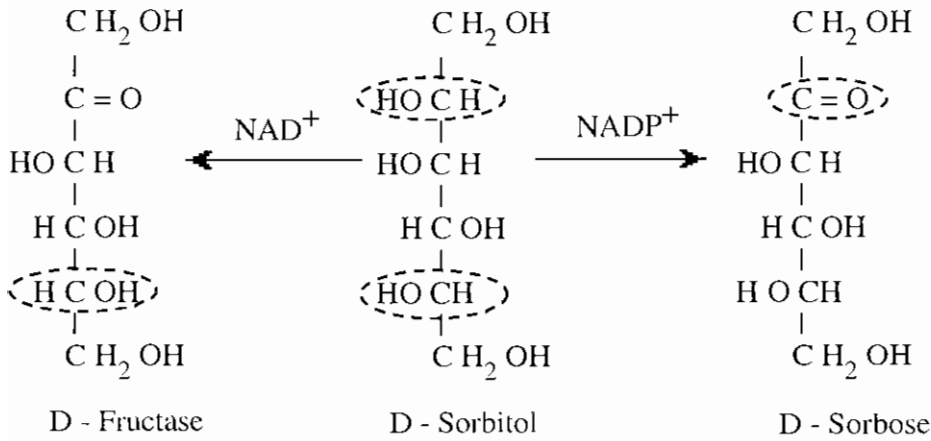
أما ميكروبات المجموعة (B) فتقوم بعملية أكسدة أولاً في وجود إنزيم مانيتول ديهيدروجيناز المرتبط بـ NAD^+ ثم عملية فسفرة في وجود kinase .



٨٠٥ تحولات السوربيتول Sorbitol metabolism

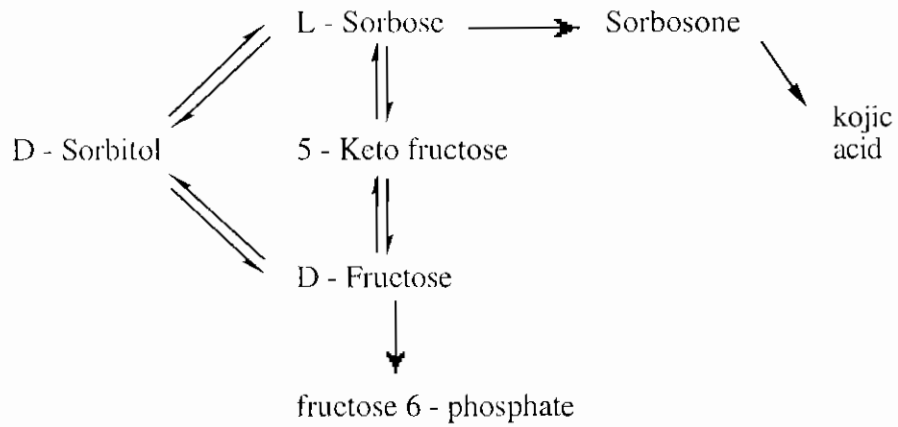
تتطابق تحولات السوربيتول تقريباً مع المانيتول والفرق الوحيد بينهما يلاحظ في عملية فسفرة السوربيتول بواسطة الكيناز إلى سوربيتول ٦- فوسفات والذي يتحول في وجود Sorbitol 6-P dehydrogenase (EC 1.1.1.140) المرتبط بـ NAD^+ إلى فركتوز ٦ - فوسفات .

وقد وجد أن انزيم Mannitol 1-P DH (EC 1.1.1.17) يختلف كلية عن انزيم Sorbitol 6-P DH (EC 1.1.1.140) حيث يبدى الأخير تخصصاً كبيراً لكل من HADH.H^+ ، NAD^+ ، سوربيتول ٦ - فوسفات ، فركتوز ٦ - فوسفات كما شوهد في ميكروب *Clostridium pasterianum* والسوربيتول ذو تأثير مشجع لتكوين المانيتول ١ - فوسفات ديهيدروجينيز في *B. subtilis* بالرغم من أن سوربيتول ٦ - فوسفات نفسه له تأثير مثبط على نفس الانزيم . أما بكتريا حمض الخليك acetogenic bacteria فتؤكسد السوربيتول إلى الفركتوز في وجود NAD^+ وأيضاً تنتج السوربيتوز في وجود NADP^+ .



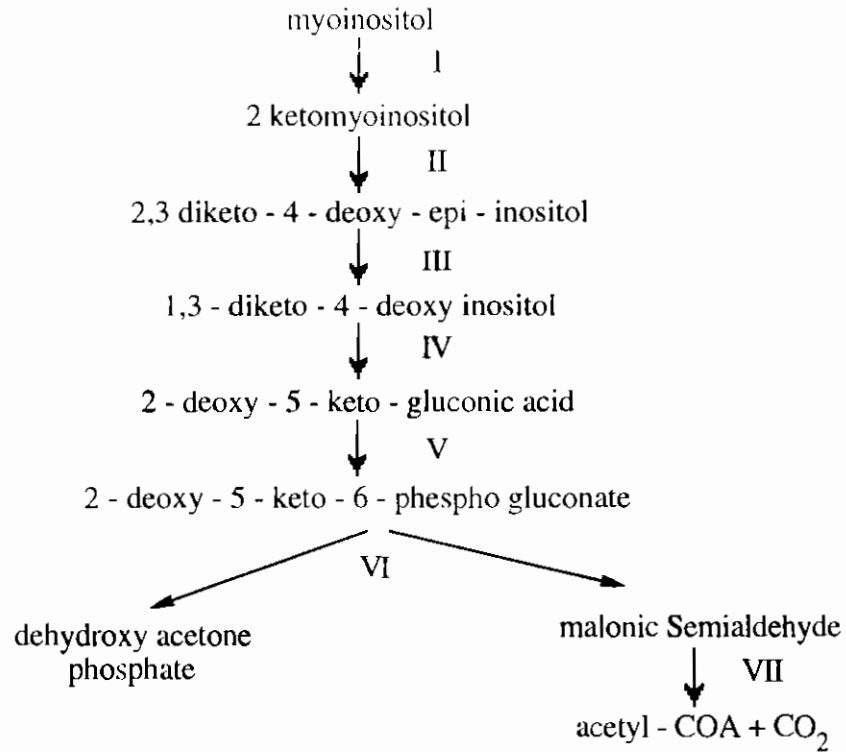
وحيث أن سوربيتول ويهيدروجينيز المرتبط بـ NADP^+ غير ثابت فيظهر تكوين الفركتوز أكثر حدوثاً ثم يحدث فسفرة للفركتوز إلى فركتوز ٦ - فوسفات ويكمل تحوله عبر دورة HMP .

وتستطيع بعض بكتريا الخليك أكسدة سوربيتوز Sorbose سريعاً منتجاً ٥ - كيتوفركتوز الذى يعتبر مركباً وسطى فى تكوين Kojic acid .



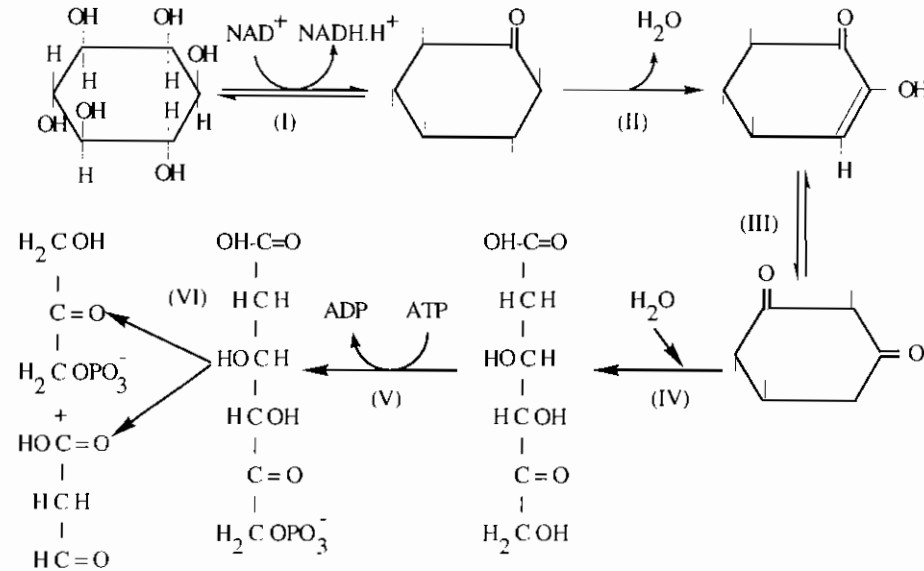
٩٠٥ تحولات الاينوسيتول Inositol metabolism

يمكن توضيح طريقة هدم myoinocitol في ميكروب *Aerobceter aerogenes* كما بالرسم كما وصفها (Anderson & Magasanik, 1971).

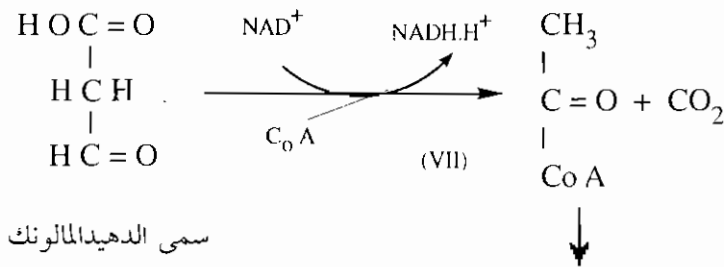


شكل (٥-١٢) : تحولات myoinositol

حيث يؤكسد الميكروب ميوانويسيتول بواسطة ديهيدروجينيز مرتبط بـ NAD^+ وتتم الأكسدة على ذرة الكربون رقم ٢ ويتكون كيتوميوانويسيتول . والخطوة الثانية عملية نزع جزئ ماء dehydration بواسطة انزيم كيتو اينوسيتول ديهيدريز ويتبعها في خطوة ثالثة epimerization ينتج عنها ٣ اى كيتو - ٤ - دى أوكسى اينوسيتول وهو مركب لم يعزل بعد . ثم خطوة رابعة hydrolytic cleavage لكسر الحلقة ويتكون ٢ - دى أوكسى - ٥ كيتو جلوكونات الذى تحدث له عملية فسفرة يتبعها عملية انشقاق الدوليزية ينتج عنها مركبين هما دى هيدروكسى اسيتون فوسفات وسمى الدهيدالمالونيك كما هو موضح بالرسم التالى :



والمركب الأخير يحدث له عملية نزع ك أم بالأكسدة oxidative decarboxylation فى وجود Coenzyme A ويتكون اسيتيل كو انزيم A .



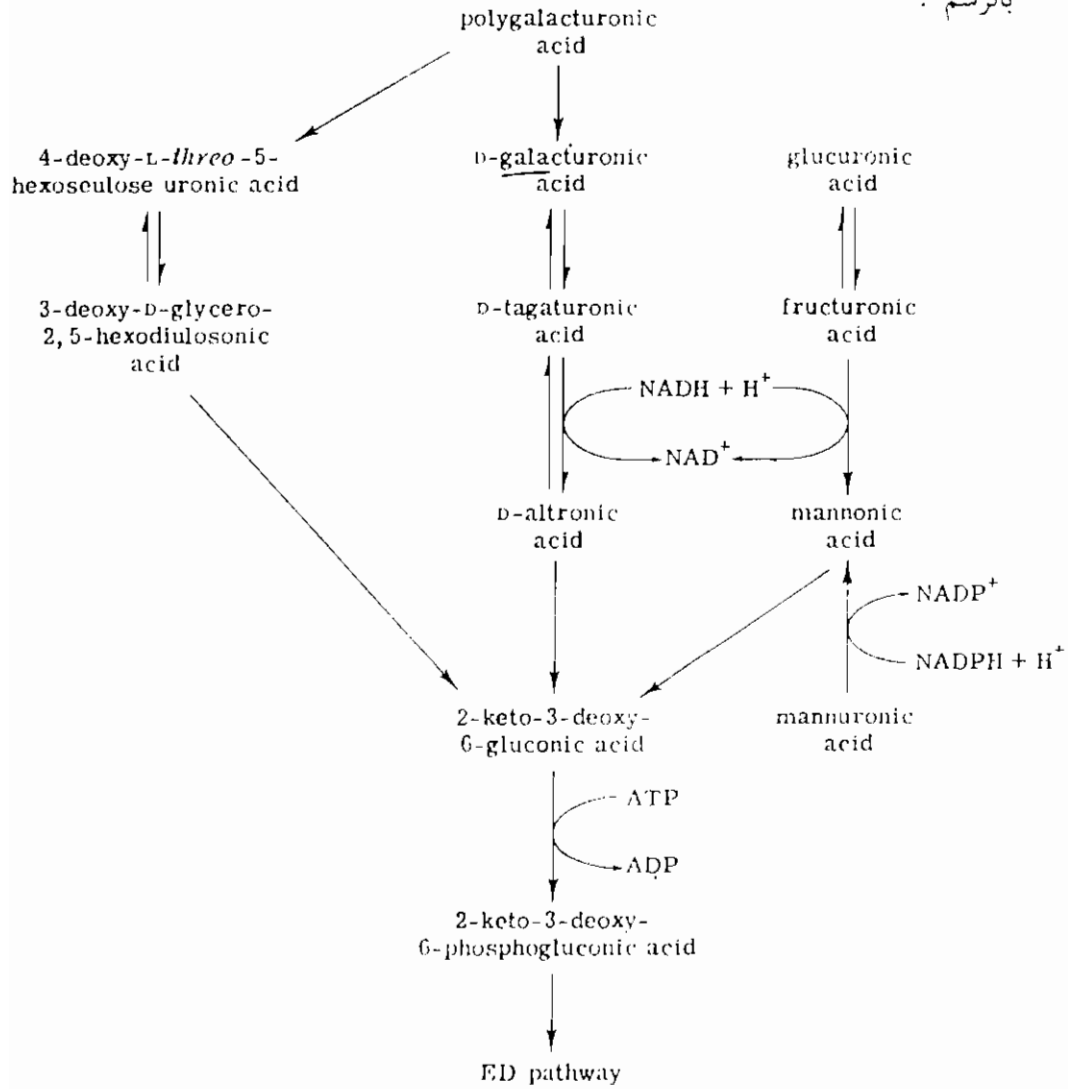
سمى الدهيدالمالونيك

يدخل دورة TCA تحت الظروف الهوائية

١٠-٥ تحولات الأحماض الهكسويورينية Hexuronic metabatism

تتحول الأحماض الهكسويورينية مثل الجلوكويورنيك ، الجالاكتويورنيك ، المانويورنيك ، البولي جالاكتورونيك بواسطة بعض الميكروبات من اجناس *Agrobacterium* ، *Aeromonas* ، *Pseudomonas* . وذلك عبر دورة ED كما

بالرسم .

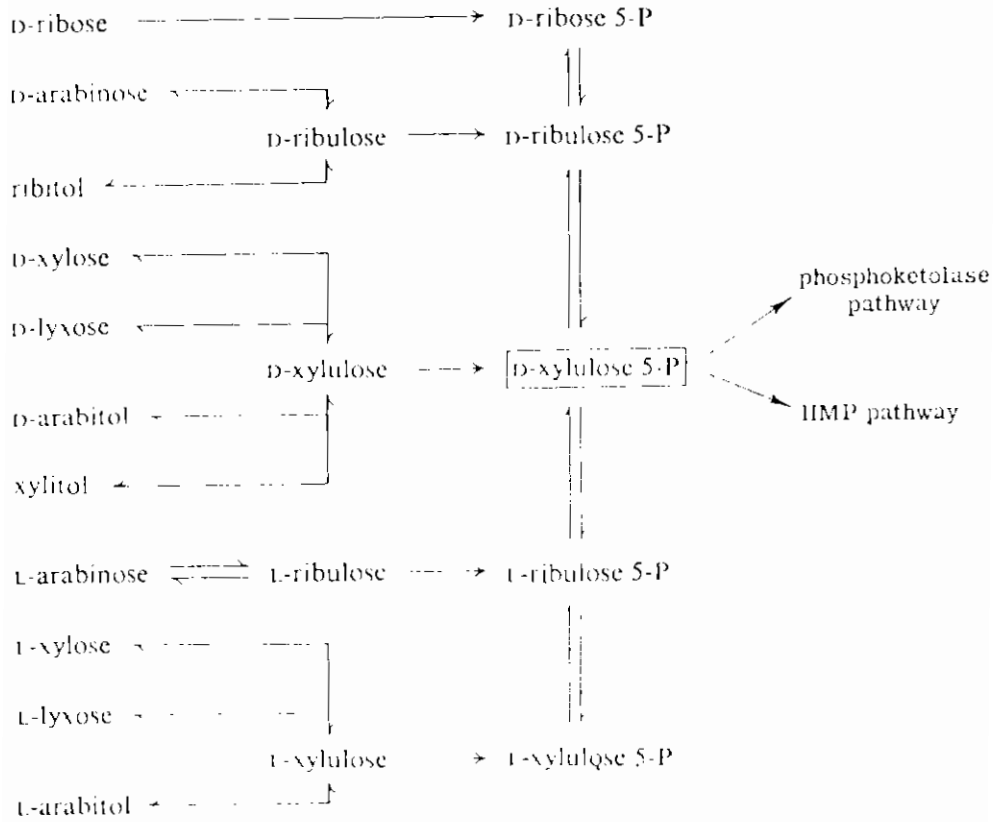


شكل (٥-١٣) : تحولات الأحماض الهكسويورينية

نقلا عن Chang & Feingold , 1969

١١٠٥ تحولات البنروز والبتيتول Pentose & pentitol metabolism

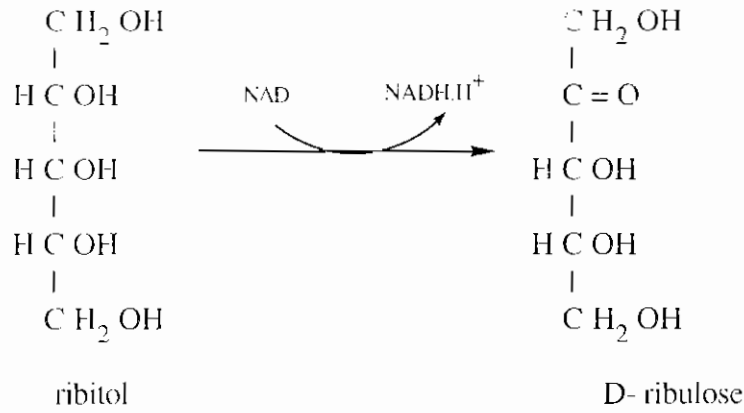
درست تحولات هذه المركبات الخماسية بعناية في عائلات *Enterobacteriaceae* و *Lactobacillaceae* والمركب الوسطى فيها هو Xylulose 5-phosphate والذي يتحول عبر دورة PK أو دورة HMP . والتصور النهائي لعملية الهدم يمكن تلخيصه كما يلي :



شكل (١٤-٥) : تصور عام لتحولات البنروز والبتيتول

ولقد سبق وصف كيفية تحولات الريبوز والريبولوز والزيلوز والزيلولوز والارابينوز والانزيمات المشاركة فيها في دورة phosphoketolase (راجع رسم رقم ٥ - ٧) .

أما مركبات البتيتول Pentitol مثل الريبنتول Ribitol فتحتاج إلى انزيم متخصص ribitol dehydrogenase (EC 1.1.1.56) الذي يحوله إلى الريبولوز D-ribose في حين يتحول الاريابنتول D-arabitol إلى D-xylulose .



وانزيمى الريبيتول ديهيدروجينيز والريبولوز كينيز يحفزان إنتاج بعضهما فى *Aerobacter aerogenes* ولكن ذلك لا يحدث فى حالة الاربيتول ديهيدروجينيز والزيلولوز كينيز .

أما تحولات Xylitol فيان D-Xylulose وليس L-Xylulose يمكن تحديده كنتاج التفاعل لانزيم NAD^+ -dehydrogenase . والمركب الوسطى لتحويلات البنتيتولات (الكحولات العضوية الخماسية) هو D-Xylulose الذى يكمل تحوله عبر دورة HMP لإنتاج الفركتوز ٦ - فوسفات .

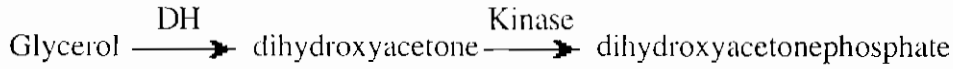
١٢٠٥ تحولات الجليسرول Glycerol metabolism

لوحظ حدوثها فى عائلات بكتيرية عديدة مثل Enterobacteriaceae ، lactobacillaceae ، acetic acid bacteria وكذا *Clostridium butyricum* .

وبكتريا Enterobacteriaceae يمكنها تحويل الجليسرول اما إلى Trimethylene glycol أو إلى الجليسرلدهيد ٣ - فوسفات وبالتالي يكمل تحولاته عبر دورة EMP . وحيث أن هذه التحويلات تخديرية فإنها ستناقش فى باب التخمرات (التاسع) .

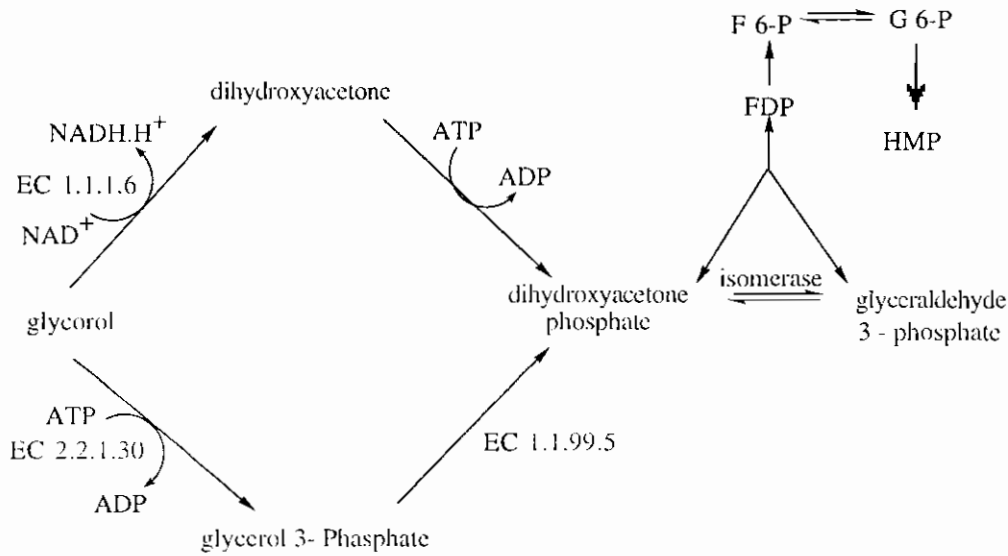
أما ميكروب *Acetomonas suboxydans* الذى لا يستطيع استخدام دورة TCA يمكنه أن ينمو مستخدماً الجليسرول وذلك عبر طريقتين :

(١) أكسدة الجليسرول إلى دى هيدروكسى اسيتون بدون الاعتماد على ATP . ويلازم هذا التفاعل بواسطة انزيم (EC 1.1.1.6) glycerol dehydrogenase . ثم تحدث فسفرة بواسطة الكينيز للمركب الأخير وهذا التفاعل يحتاج ATP وكذلك Mg^{++} .



(٢) فسفرة الجليسرول أولاً بواسطة glycerol kinase (EC 2.7.1.30) إلى جليسرول ٣ - فوسفات والذي يتحول في النهاية إلى دي هيدروكسي أسيتون فوسفات في وجود glycerol phosphate DH (EC 1.1.99.5) .

والتصور العام لتحويل الجليسرول في بكتريا حمض الخليك كما يلي :



ومركب دي هيدروكسي أسيتون فوسفات (Key) يتحول في وجود isomerase (EC 5.3.1.1) إلى الجليسرالدهيد ٣ - فوسفات وهذان المركبان يوجدان في حالة توازن مع الفركتوز ١,٦ داي فوسفات (FDP) في وجود انزيم الالدوليز (EC 4.1.2.13). وبمساعدة انزيمي hexodiphosphatase (EC 3.1.3.11) ، Glucose 6-P isomerase (EC 5.3.1.9) يتكون الجلوكوز ٦ - فوسفات (G-6P) كما بالشكل . وبأكسدته إلى ٦ - فوسفو جلوكونات ثم إلى الريبوز ٦ - فوسفات يكتمل تحول الجليسرول في بكتريا حمض الخليك عبر دورة HMP .

أما بكتريا حمض اللاكتيك (Homofermentative) فتحول الجليسرول عبر المانوز فرسفات إلى حمض البيروفيك في حين أن بكتريا *E. coli* اللاهوائية الاختيارية فتقوم بتحويل الجليسرول عبر الميكانيكية رقم (٢) المشروحة سابقاً حيث تمتلك نفس الانزيمات اللازمة لها .

وهناك طريق آخر لتحويلات الجليسرول عن طريق انزيم ذائب هو α . glycerophosphate DH المرتبط ب FAD وذلك تحت الظروف اللاهوائية وهو يشبه الموجود في *Aerobacter aerogenes* ويتبع الميكانيكية رقم (١) السابقة .

١٣٠٥ تحولات الجليكول Glycol metabolism

يعمل الجليكول كمحفز inducer لتكوين glycol dehydrogenases في الخلايا النامية أصلاً على الجلوكوز أو اللاكتات برغم احتياج الميكروبات لمصدر نيتروجين ، مصدر طاقة أيضاً في البيئة .

وأكسدة الجليكول بواسطة اجناس *Acetobacter* ، *Acetomonas* يتضمن ٣ انزيمات أساسية :

(١) Primary alcohol dehydrogenase مرتبط ب NAD^+ ولا يتفاعل مع NADP^+ ولكنه يحتاج لمجموعة $\text{CH}_2\text{OH} - \text{CH} >$ والنتاج هو الالدهيد المقابل للكحول .

(٢) Secondary alcohol dehydrogenase مرتبط ب NAD^+ ويقوم بمهاجمة الجليكول عند مجموعة (- OH) الثانوية وهو أقل تخصصاً والنتاج النهائي يبدو أنه الكينون المقابل للكحول (أو الالدهيد) . ووجود مجموعة OH - ثلاثة أو مجموعة $\text{C} = \text{O}$ ، COOH - يقلل النشاط الانزيمي له .

(٣) نظام أكسدة خاص لأكسدة الجليكول بواسطة الاكسجين وهو يشبه نظام الانتقال الالكتروني عبر السيتوكروم . وهذا النظام لا يؤكسد فقط كل الكحولات الأولية والثانوية بل ويؤكسد كثير من المركبات الأخرى مثل السكريات السداسية والخماسية والالدهيدات . ويعتمد نظام الأكسدة على المسافة (البعد) بين مجموعتي CH_2OH الطرفيتين . في السلاسل القصيرة مثل 1,2 ethanediol فقط يمكن أكسدة واحدة منهما ومجموعة الكربوكسيل الناتجة توقف أي تفاعل انزيمي آخر . أما مع السلاسل الطويلة

مع تحيات د. سلام حسين عويد الهلالي

<https://scholar.google.com/citations?>

[user=t1aAacgAAAAJ&hl=en](https://scholar.google.com/citations?user=t1aAacgAAAAJ&hl=en)

salamalhelali@yahoo.com

<https://www.facebook.com/salam.alhelali>

[https://www.facebook.com/groups/
/Biothesis](https://www.facebook.com/groups/Biothesis)

[https://www.researchgate.net/profile/
/Salam_Ewaid](https://www.researchgate.net/profile/Salam_Ewaid)

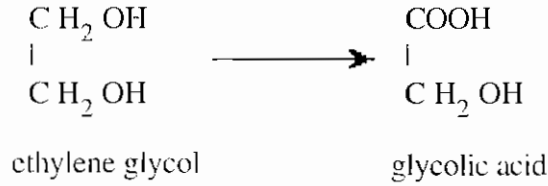
07807137614



(الجزئيات الكبيرة) فإن التأثير السلبي لمجموعة الكربوكسيل يقل . ويبدو أن سيتوكروم C₅₅₃ مرتبط بقوة بالانزيم ولا يوجد دليل على وجود المرافقات الانزيمية NAD ، NADP ، FAD ، UQ ، المعادن الثقيلة في هذا النظام .

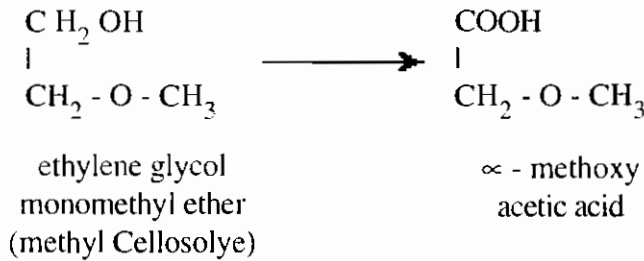
١٠١٣٠٥ أكسدة الكحولات الأولية

يستطيع *Acetobacter sp.* ، وبعض *Acetomonas sp.* أكسدة جليكول الايثيلين إلى حمض جليكوليك .

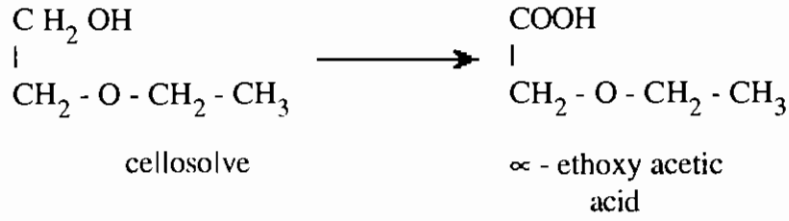


وما زالت ميكانيكية تحول هذه المادة ثنائية الكربون إلى مادة الخلية غير مفهومة .

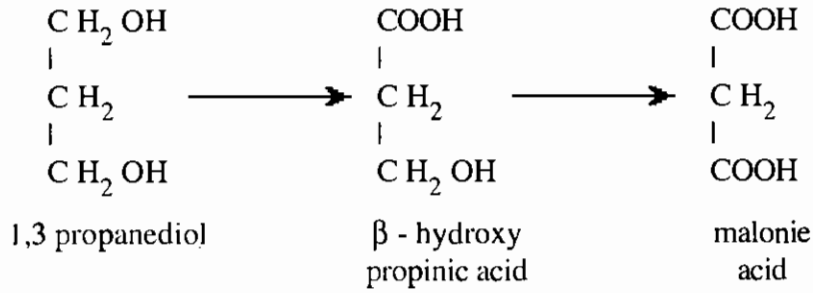
- مركب مونو ميثيل ايثر جليكول الايثيلين يتأكسد سريعاً بواسطة *Acetomonas suboxydans* مع استهلاك امول أكسجين لكل مول من مادة التفاعل مع إمكانية تكوين حمض ميثوكسي اسيتيك .



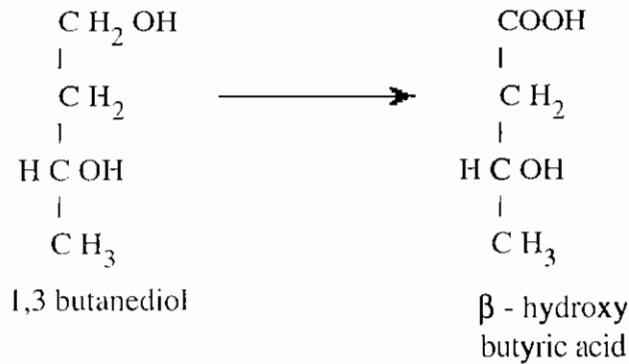
أما مركب مونوايثيل ايثر جليكول الايثيلين (Cellosolve) فيتأكسد ببطء شديد ولهذا لا تكتمل الأكسدة اطلاقاً في وجود المزرعة الميكروبية السابقة كما يتضح من المعادلة التالية :



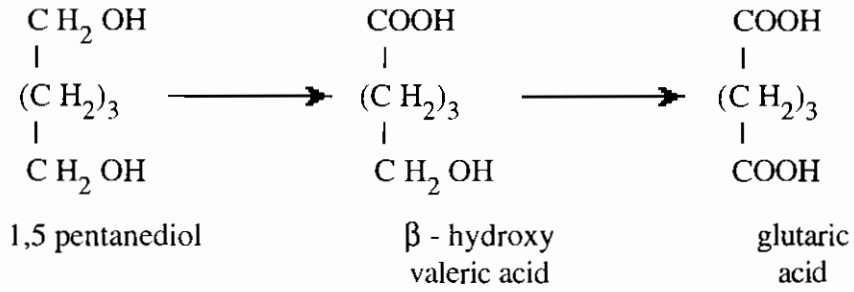
- ميكروب *Acetomonas melanogenum* ينمو سريعاً على الميثيل الثلاثي للجليكول (1,3 propanediol) ويؤكسده إلى المالونيك .



- أما 1,3-Butanediol فيبدو كمادة جيدة لكل بكتريا حمض الخليك لقدرة كل سلالاتها على أكسدته إلى هيدروكسي حمض البيوتيريك .

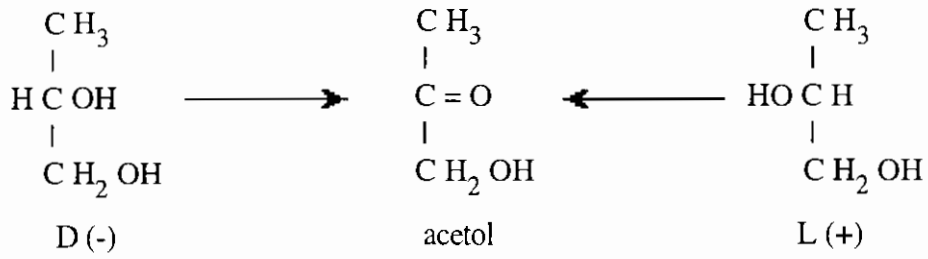


- أما 1,5 pentanediol فيتأكسد في خطوتين مكوناً الجلوناريك بواسطة *Acetomonas suboxydans* كما يتضح من المعادلة التالية :

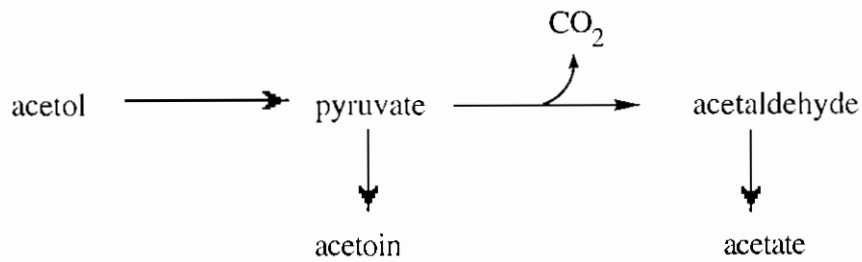


٢٠١٣٠٥) أكسدة الكحولات الثانوية

أكدت التجارب أن نوع التأثير على مجاميع الكحولات الثانوية يعتمد على المسافة بين المجاميع الأولية والثانوية في الجزيء . فعندما تكون متقاربة مثل 1,2 propanediol فإن المجاميع الثانوية هي التي تتأكسد .

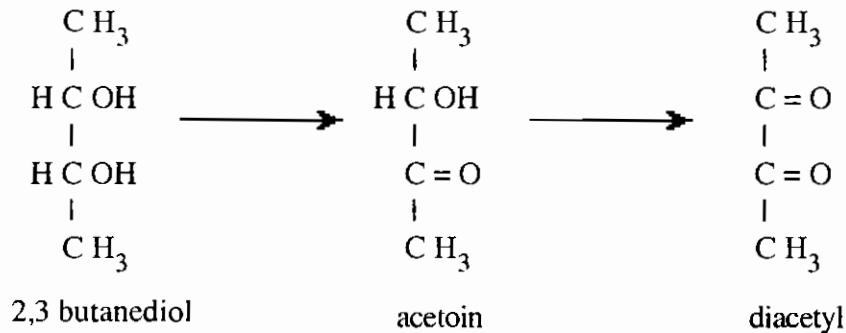


وعند تفصل المجاميع بواسطة CH_2 - كما في 1,3 butanediol فإن العكس يحدث أى تتأكسد المجاميع الأولية ومثال ذلك قدره *Acetobacter rauces* على مهاجمة وأكسدة acetol إلى الاسيتون والاسيتات .

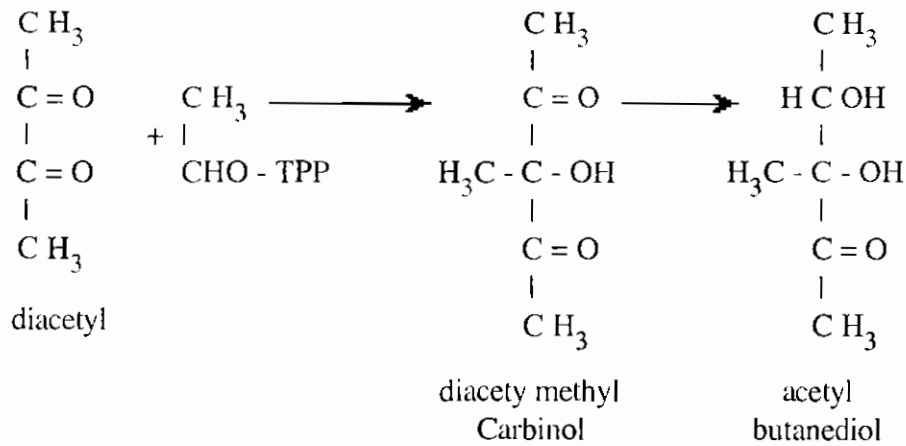


2.3 Butanediol ١٤٠٥ تحولات

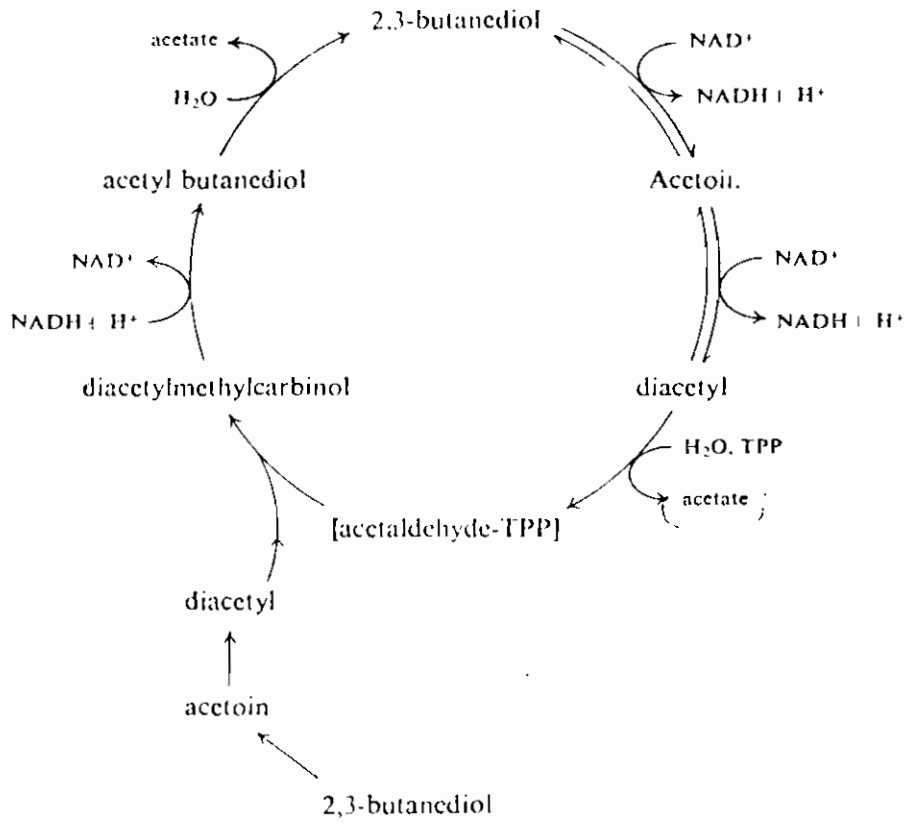
يعتبر ٣ر٢ بيوتانديول الناتج النهائي الشائع في تخمر الكربوهيدرات في اجناس *Bacillus* ، *Acetobacter* ويمكن تكسيرة هوائياً بواسطة *Pseudomonads* ولكن تقريباً كل عمليات أكسدة البيوتانديول تجرى لاهوائياً . ويلامس انزيم 2,3 butanediol dehydrogenase (EC 1.1.1.4) أكسدة البيوتانديول إلى اسيتوين ويتبع ذلك أكسدة ثانية في وجود (EC 1.1.1.5) acetoin dehydrogenase .



ويتحد مركب diacetyl مع الاستيالدهيد المرتبط على الثيمين بيروفوسفات (TPP) مكوناً داي اسيتيل ميثيل كربينول والذي يختزل في وجود انزيم diacetyl methyl Carbinol reductase وهو يشبه (EC 1.1.1.4) السابق . والمركب الناتج هو اسيتيل بيوتانديول والذي يحدث له عملية تحلل مائي ويتكون الاسيتات والبيوتانديول .



ومن هذه الدورة الحلقية فإن ٢ جزئى اسيتات يتكونان من ٢ جزئى بيوتانديول .
والاسيتات الناتج يدخل فى تخليق مادة الخلية فى عملية تتضمن دورات TCA ،
glyoxylate كما يتضح من الرسم التالى :



شكل (٥-١٥) : تحولات ٣ر٢ بيوتانديول بواسطة *Aerobacter* sp.

أسئلة للمراجعة

- ١ - أذكر المحصلة النهائية للطاقة الناتجة من دورات تحول الجلوكوز الرئيسية (EMP ، HMP ، ED ، PK) .
- ٢ - لماذا تستخدم بعض الميكروبات أكثر من دورة في تحولات الجلوكوز في نفس الوقت ؟ وما دور الظروف البيئية في ذلك ؟
- ٣ - ما هي الانزيمات التي تلعب دوراً رئيسياً في الدورات السابقة ؟
- ٤ - ناقش العمليات الأساسية الأربع انتقال الجلوكوز عبر الغشاء .
- ٥ - ما هو الفرق بين PEP - phosphotransferase ، Permease في عملية الانتقال ؟
- ٦ - اشرح الميكانيكية الحلقية والغير حلقية لتحولات المانوز بواسطة *Aerobacter aerogenes* .
- ٧ - ما هو الفرق في تحولات الجلوكونات بين بكتريا حمض الخليك ، Pseudomonads ؟
- ٨ - لماذا تقسم بعض أجناس البكتريا إلى مجموعتين حسب طريقة هدم المانيتول ؟
- ٩ - ما هي أهم الفروق بين Enterobacteriaceae & lactobacillaceae بالنسبة لتحولات البنتوز والبتيتول ؟
- ١٠ - ما أهمية تحولات ٣ر٢ بيوتاندول ؟

المراجع

1. Aiba, S., Humphrey, A.G. and Millis N.F. (1973). Biochemical engineering. 2nd Ed. Academic Press, Inc., New York.
2. Anderson, R.L. and Wood, W.A. (1969). Carbohydrate metabolism in microorganisms. Annu. Rev. microbiol. 23 : 539.
3. Anderson, W.A. and Megasanik, B. (1971). The pathway of myoinositol degradation in *Aerobacter aerogenes*. Identification of the intermediate 2-deoxy-5-ketogluconic acid. J. Biol. Chem. 246 : 5653.
4. Brown, A.T. and Wittenberger, C.L. (1971). Mechanism for regulating the distribution of glucose carbon between the Embden-Meyerhof and hexose menophosphate pathways in *Streptococcus faecalis*. J. Bacteriol. 106 : 456.
5. Chang, Y.F. and Feingold, D.S. (1969). Hexuronic acid dehydrogenase of *Agrobacterium tumefaciens*. J. Bacteriol. 99 : 667.
6. Cohen, G.N. and Menod, J. (1957). Bacterial permeases. Bacteriol. Rev. 21 : 169.
7. Dixon, M. and Webb, E.C. (1964). "Enzymes" 2nd Ed. Longmans, Green, New York.
8. Entner, N. and Dondoroff, M. (1952). Glucose and gluconic acid oxidation by *Ps. saccharophila*. J. Biol. Chem. 196 : 853.
- 8a. Goebler, O.H. (1956). Enzymes : Units of biological structure and function. Academic press, New York.
9. Goldman, M. and Blumenthal, H.T. (1964). Pathways of glucose metabolism in *Bacillus cereus*. J. Bacteriol. 87 : 377.

10. Hengstenberg, W. (1968). Carbohydrate transport in *Staphylococcus aureus*. J. Biol. Chem. 243 : 1881.
11. Kornberg, H.L. and Smith, J. (1970). Role of phosphofructokinase in the utilization of glucose by *E. coli*. Nature (London), 227 : 44.
12. Meyerhof, O. (1951). Aldolase and isomerase. In : The enzymes. Chemistry and Mechanism of action. (J.B. Sumner and K. Myrback, Eds), Vol. 2, Part I, p. 162. Academic Press, New York.
13. Mitchell, P.D. (1967). Translocation through natural membranes. Annu. Rev. Microbiol. 13 : 407.
14. Rose, A.H. (1967). "Chemical Microbiology", 2nd Ed., Butterworth, London.
15. Schindler, J. and Schlegel, H.G. (1969). Regulation der Glucose 6-phosphate DH aus verschiedenen Bakterienarten durch ATP. Arch. Microbiol. 66 : 69.
16. Thomas, A.B., Doelle, H.W., Westwood, A.W. and Gordon, G.L. (1972). The effect of O₂ on a number of enzymes involved in the aerobic and anaerobic utilization of glucose in *E. coli*. J. Bacteriol. 112 : 1099.
17. Warburg, O. and Christian, W. (1943). Isolierung und kristallisierung des Gärungs fermentes zymohexase. Biochem. Z. 314 : 144.
18. Wolff, J.B. and Kaplan, N.O. (1956). D-Mannitol-1-phosphate dehydrogenase from *E. coli*. J. Biol. Chem. 218 : 849.
19. Wood, W.A. (1966). "Methods in Enzymology". Vol. 9. Academic Press. New York.
20. Zagallo, A.C. and Wang, C.H. (1962). Comparative carbohydrate catabolism in *Arthrobacter*. J. Gen. Microbiol. 29 : 389.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الباب السادس
التنفس الهوائى

Chemolithotrophic bacteria

الباب السادس التنفس الهوائى

Chemolithotrophic bacteria

يحتوى التنفس الهوائى على عدد أكبر من العمليات الايضية عن التخمر أو التنفس اللاهوائى .

ولقد اهتمت أغلب الكتب والمراجع الخاصة بهذا الموضوع بدورة حمض الستريك (TCA) كنموذج للتنفس الهوائى . ولكن فى عالم الميكروبيولوجى توجد مجموعة من الميكروبات الغير قادرة على استعمال TCA وتعرف هذه الميكروبات "Chemolithotrophs" وهى أساساً أوتوتروفية وتشتق طاقتها من أكسدة المواد الكيماوية المعدنية فى وجود جزئى الاكسجين كمستقبل نهائى للالكترولون . وتستطيع تمثيل ك أ إلى مادة الخلية من خلال دورة كالفن .

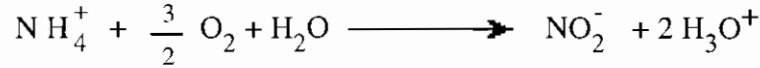
أما الأغلبية الباقية من الميكروبات الهوائية التى تعرف "Chemoorganotrophs" فهى تشتق طاقتها من أكسدة المواد العضوية «كمعطى للايدروجين» فى وجود الاكسجين «مستقبل الالكترولون» .

وستتكم فى هذا الباب بالتفصيل عن Chemolithotrophs وهى عبارة عن عدد قليل من المجاميع البكتيرية القادرة على أكسدة المواد الغير عضوية لتكوين الطاقة وهذه المجاميع هى:

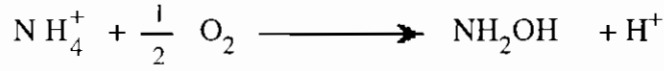
- (١) Nitroso - group التى تؤكسد الامونيا
- (٢) Nitro - group التى تؤكسد النيتريت
- (٣) Hydrogen bacteria التى تؤكسد الايدروجين
- (٤) Fe²⁺ - oxidizing b. التى تؤكسد الحديدوز
- (٥) S- oxidizing bact . التى تؤكسد الكبريت

١٠٦ بكتريا التآزت "Nitroso - group" Nitrifying bacteria

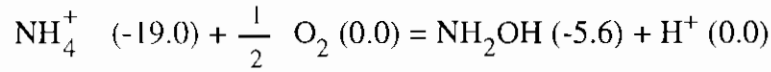
- وهى تتبع عائلة Nitrobacteriaceae وتقع فى أجناس *Nitrosomonas* ،
Nitrosospira ، *Nitrosoglea* ، *Nitrosocystis* ، *Nitrosococcus*
Nitrosolobus ، ويمكن تنميتها فى بيئات معدنية نقيه .
 - هذه الميكروبات تؤكسد الأمونيا إلى النيتريت تبعاً للمعادلة :



- وهذا التفاعل يتضمن انتقال ٦ الكترونات مسبباً تغير حالة ذرة النيتروجين من -3 إلى 3+ وحيث أن الانتقال الالكترونى العادى يتكون من ٢ الكترون فإنه تحدث سلسلة من ٣ خطوات تتكون خلالها الطاقة والقوة الاختزالية اللازمة للخلية .
 - عند تعرض الخلية إلى hydrazine فإن الامونيا لا تتأكسد إلى النيتريت ولكن يتراكم هيدروكسيل امين كمركب وسطى :

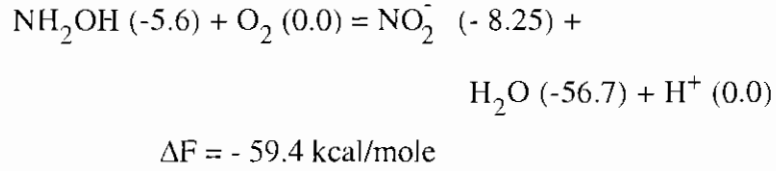


- وهذه الخطوة تحتاج لطاقة endergonic وتلامس بواسطة انزيم monooxygenase .
 وذرة الاكسجين فى NH_2OH تأتي من جزئى الاكسجين .
 والتغير فى الطاقة الحرة (ΔF) عند pH 7.0 تقدر كالتالى :



$$\Delta F = + 13.4 \text{ kcal/mole H}^+$$

- وخطوة أكسدة الهيدروكسيل امين إلى النيتريت تتم فى وجود exergenic Hydroxylamine oxidoreductase (EC 1.7.3.4) وهى تنتج طاقة كما يلى :

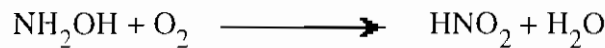
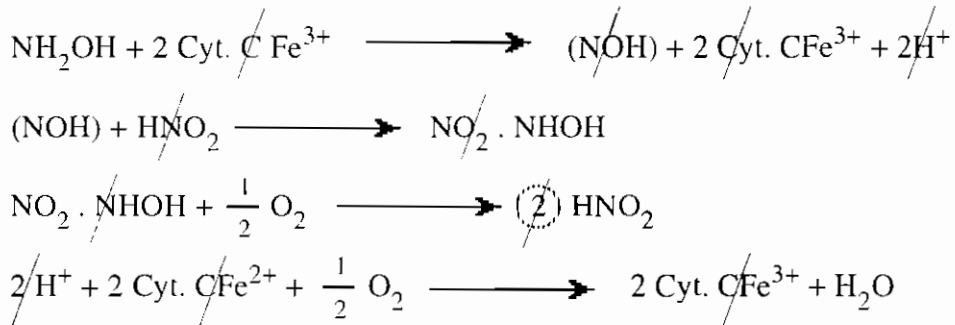


وتحتاج إلى ٤ إلكترونات ولذا لابد من وجود مركب وسطى ذو حالة أكسدة (+1) ولذا اقترح Lee سنة ١٩٥٧ المركب nitroxy (NOH) المشتق من الهيدروكسيل امين بعملية dehydrogenation (نزع الايدروجين) وبرغم أنه غير ثابت ولم يحصل عليه بعد ولكن يمكن أن يستخدم كنقطة تفرع لتكوين النيتريت تحت الظروف الهوائية أو N_2 ، N_2O تحت الظروف اللاهوائية .

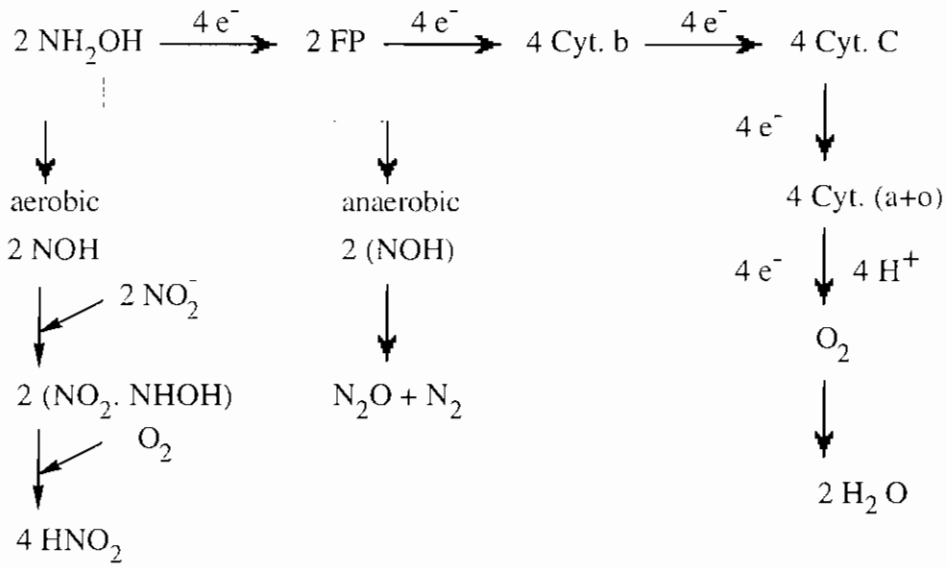
ومن ذلك نتبين أن التحول الهوائى للهيدروكسيل امين إلى النيتريت يتم فى خطوتين .

١ - نزع الأيدروجين من الهيدروكسيل وتكوين Nitroxyl .

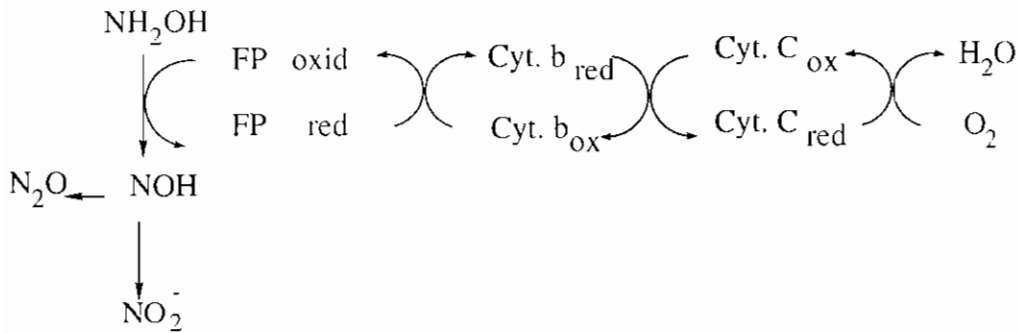
٢ - تحول Nitroxyl إلى النيتريت فى وجود انزيم يحتاج الاكسجين كما يتضح ذلك من المعادلات التالية :



وفى ضوء المعلومات السابقة فإن التفاعل المتضمن أكسدة الهيدروكسيل امين يبدو كما بالرسم التالى :



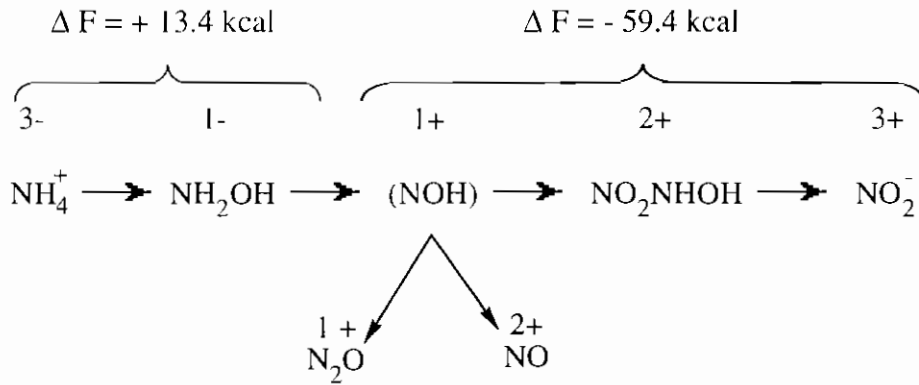
- وجدير بالذكر أن جهد الاكسدة والاختزال لنظام $\text{NO}_2^- / \text{NH}_2\text{OH}$ حوالى $+ 0.066\text{V}$ أى $(+ 66 \text{ mV})$ وهو لا يكفى لتوصيل انزيم Hydroxylamine dehydrogenase إلى مستوى $\text{NAD}^+/\text{NADH.H}^+$ فى النظام التنفسى (حوالى $- 320 \text{ mV}$) ولذا فالدخول يتم عند مستوى الفلافوبروتين ويتضمن خطوتين لحفظ الطاقة على الأقل كما بالرسم .



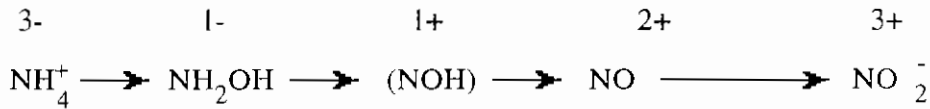
والمركبات الوسطية بين NOH ، NO₂⁻ فليس هناك تعريف محدد لها بعد مثل N₂O.NHOH المذكور سابقاً والذي يحتاج NO₂⁻ لتكوينه . اما إمكانية اعتبار N₂O كمركب وسطي فقد صرف النظر عنها لاحتتمية أن المركب الناتج لأن أن يكون عند مستوى أكسدة (2+) وهناك زعم آخر بتكوين المركب (NO) كوسط بينهما .

«وعموماً فإن التصورين المقترحين للمركبات الوسطية في أكسدة الامونيا إلى النيتريت يمكن تحديدهما كالتالي» .

الاقتراح الأول



الاقتراح الثاني

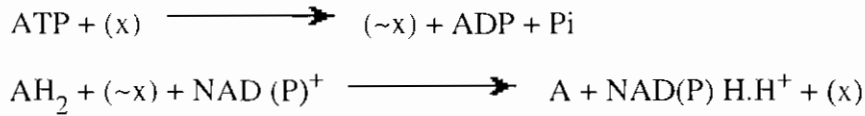


شكل (٦-١) : العلاقة بين المركبات الوسطية في أكسدة الامونيا بواسطة *Nitrosomonas*

- وتستطيع هذه الميكروبات استخدام ك أم كمصدر كربوني وحيد للنمو وتمثيله إلى مادة الخلية عبر دورة كالفن وهذه الميكانيكية عكس التنفس . وبما أن ك أم ذو حالة مؤكسدة أعلى بكثير جداً من بقية المواد العضوية فإنه يحتاج إلى قوة اختزالية في صورة NADH.H⁺ لاختزاله وتثبيته . وحيث أن جهد الأكسدة والاختزال لنظام NH₂OH / NH₄⁺ مقارنة بنظام NAD⁺ / NADH.H⁺ جداً (-320 mV) مقارنة بنظام NO₂⁻ / NH₂OH (حوالي +66 mV) . فإنه في (حوالي +394 mV) أو بنظام NO₂⁻ / NH₂OH (حوالي +66 mV) . فإنه في

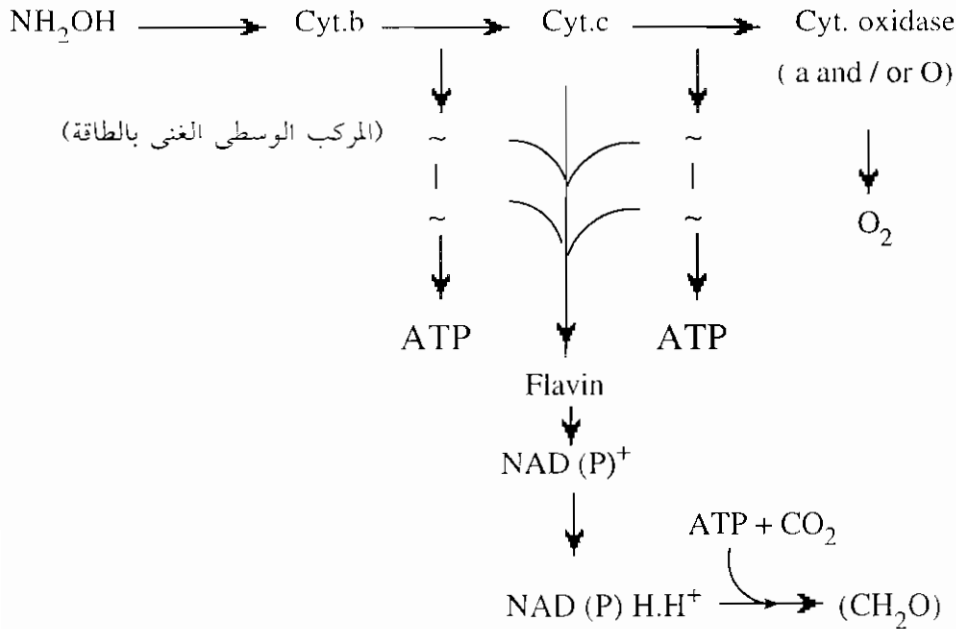
الحالتين الاخيرتين لا تستطيع الالكترونات الانتقال من أكسدة الامونيا أو الهيدروكسيل امين إلى $NAD(P)^+$. وهذه المشكلة تعتبر صفة مميزة لكل الميكروبات Chemolithotrophs .

ولهذا يعتقد أن هناك انسياب الكترونى عكسى من $Cyt. C Fe^{2+}$ إلى NAD^+ أو $NADP^+$ فى وجود الفلافوبروتين . وهذا النظام يحتاج لطاقة والتى تاتى اما باكسدة الهيدروكسيل امين أو بواسطة ATP خارجى كما بالمعادلة .



حيث أن AH_2 يمكن أن يكون هيدروكسيل امين أو سكسينات أو حتى Cyt.C مختزل . وقد لوحظ أن أكسدة ٢ مول من Cyt.C المختزل ضرورية لاختزال امول من NAD^+ باستخدام طاقة ٥ مول من ATP وتشير إلى ٤٠ ٪ من كفاءة التفاعل المرتبط بالطاقة .

ويمكن تصور سلسلة انتقال الالكترون وتكوين المواد الغنية بالطاقة والتى تستخدم فى تثبيت ك أم فى Nitroso - group كما يلى :



شكل (٦-٢) : انتقال الالكترون العكسى فى *Nitrosomonas sp.*

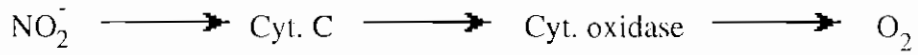
ومن الرسم يتضح أن تخليق ATP يتبع e-transport phosphorylation وأنه يحدث انسياب عكسى للالكترولون إلى NAD^+ (وليس للأكسجين) وأن ATP الناتج يستخدم فى اختزال CO_2 وتكوين مادة الخلية .

- أهمية عملية التأزت Nitrification :

- ١ - تحويل الامونيا الناتجة من معدنه المواد العضوية النيتروجينية إلى نيتريت و نترات . وهذا التحول من الصورة الكاتيونية إلى الصورة الانيونية يؤدي لزيادة حموضة التربة وبالتالي زيادة تيسير وذوبان المعادن (K ، Ca ، Mg ، P) أى تلعب دوراً هاماً فى خصوبة التربة .
- ٢ - الامونيا أكثر أو إدمصاصا على حبيبات التربة والدبال بينما النترات سهل غسلها وفقدتها بالرشح لذا تستعمل مثبتات لنمو بكتريا التأزت مثل N-Serve .
- ٣ - تشارك بكتريا التأزت بطريق غير مباشر فى الامطار الحمضية وفى تحطيم الحجارة الجيرية والأسمنت فى الطرق والمباني بسبب أكسدة الأمونيا فى الجو إلى حمض النيتريك المذيب القوى .

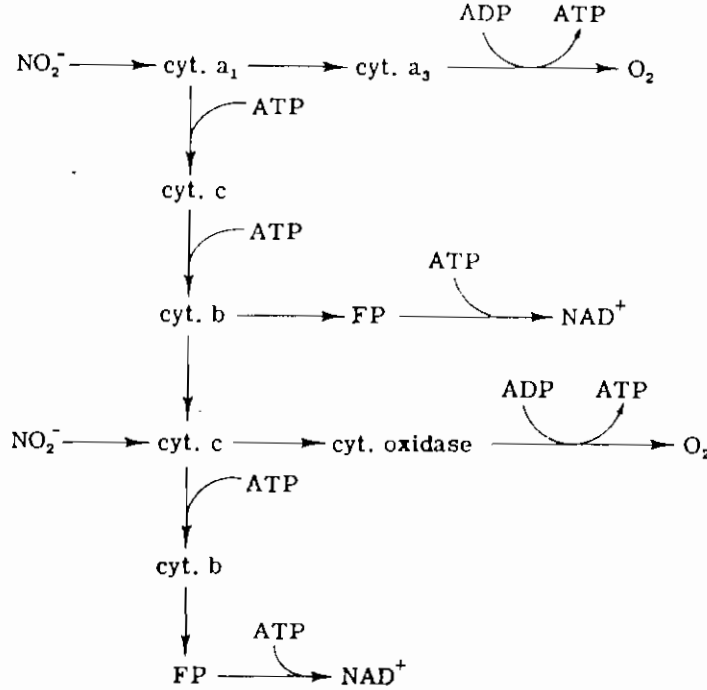
٢٠٦ بكتريا التأزت "Nitro"- group

- وتتضمن جميع أنواع البكتريا التى تستطيع أكسدة النيتريت إلى النترات مثل اجناس *Nitrobacter* ، *Nitrococcus* ، *Nitrospira* ، *Nitrocystis* .
- خطوة أكسدة النيتريت إلى النترات لا تتضمن مركبات وسطية - مثلما الحال فى أكسدة الامونيا إلى النيتريت - وفيها يتحول النيتروجين من تكافؤ +3 إلى +5 فى وجود الاكسجين كمستقبل نهائى للالكترولون .



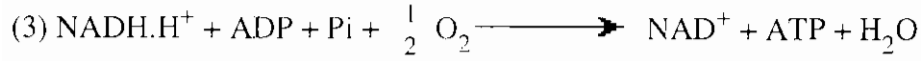
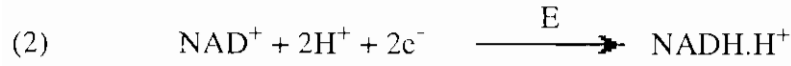
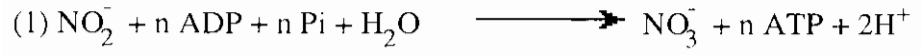
وحيث أن Cyt. C لميكروب *Nitrobacter* ذو جهد أكسدة وإختزال حوالى + 265 mV مقارنة بـ + 420 mV لنظام NO_3^- / NO_2^- ولذا لا بد من طاقة تنشيط حوالى 15 Kcal لدخول الالكترولونات عند مستوى Cyt. C . أى أن دخول

الالكترونات الناتجة من أكسدة النيتريت عند مستوى Cyt. C مشكوك فيه وإنما يتصور دخول الالكترونات عند مستوى Cyt. a₁ وعندئذ يحدث انتقال الكتروني عكسي منشط بالطاقة من Cyt. a₁ لاختزال Cyt. C ويظهر الرسم التالي كلا الاحتمالين .



شكل (٦-٣) : نظام انتقال الالكترونات العكسي في *Nitrobacter sp.*

- وقد أمكن إثبات أن الماء - وليس جزئ الأكسجين - يدخل في أكسدة NO_2^- إلى NO_3^- وأن معطى الأيدروجين لاختزال NAD^+ هو الماء أيضاً وذلك باستخدام $^{18}\text{O}_2$ والماء الثقيل H_2O^{18} . فالنيتريت يعطى الالكترونات أولاً إلى السيوكروم (سلسلة انتقال الالكترون) كما في تفاعل (١) والتي تستقبل في النهاية بواسطة جزئ الأكسجين (تفاعل ٣) ويقابل ذلك تكوين ATP كما تظهر ذلك المعادلات التالية :



جزء من الطاقة المتكونة (E) يحتاج فى تفاعل "2" حيث يختزل NAD^+ ومصدر الالكترونات فى تفاعل "2" هو المادة المختزلة مثل السيتركروم بينما مصدر البروتون هو الماء . ويبدو من نظام انتقال الالكترون فى *Nitrobacter* أن مشكلة تكوين القوة المختزلة (NADH_2) يشابه ما كان فى *Nitrosomonas* . بمعنى أن اختزال NAD^+ بواسطة النيتريت يمكن أن يحدث اما على حساب ATP المضاف خارجياً أو بواسطة الطاقة المتولدة من أكسدة عدة مولات من النيتريت . ويحتاج اختزال امول من NAD^+ بواسطة النيتريت إلى استخدام 4-5 مول ATP .

وتتركز معظم التساؤلات حول كيفية التغلب على الفجوة الثروموديناميكية thermo dynamic gap بين $\text{NO}_2^- / \text{NO}_3^-$ والسيتركروم C . والإجابة تكمن ربما فى تكون معقد من مادة التفاعل مع Cyt. C reductase النشط جداً مسبباً جهداً سالباً أعلى من مادة التفاعل ، وجزء من هذا المكون المعقد هو هدرجه النيتريت أو اشتراك مكون فوسفاتى غنى بالطاقة بما يتجاوز هذا الـ gap .

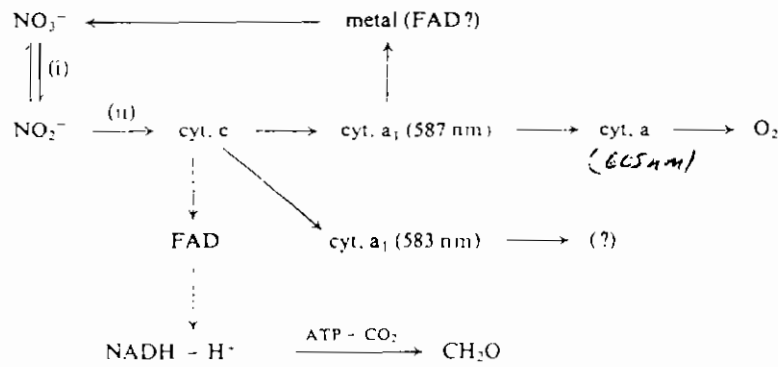
ويضرب النظر عن تصورات دخول الالكترونات إلى سلسلة الانتقال فإن *Nitrobacter* يمتلك موقعا واحداً فقط للفسفرة المؤكسدة عند مستوى Cyt. oxidase أو Cyt. a_3 . ويستخدم جزء من الطاقة المنطلقة فى اختزال ك أم وتمثيله والجزء الآخر فى تكوين NAD (P) المختزل . وثبت أن أكسدة امول من النيتريت يعطى تقريباً 17.5 Kcal طاقة ميسرة يدخل جزء منها فى تكوين ATP .

وقد اكتشف Schön سنة 1965 أن تثبيط أكسدة النيتريت عند تركيز الاكسجين العادى ليس بسبب تراكم NO_2^- وليس من تأثير الاكسجين على عملية الاكسدة ولكن من تأثير الاكسجين على تمثيل ك أم حيث وجود 95 ٪ أكسجين (حجمياً) يشبط عملية تمثيل ك أم تماماً فى ميكروب *Nitrobacter winogradsky* . وفى نفس التجربة وجد أن

انخفاض الاكسجين الذائب إلى $2 \text{ mg O}_2 / \text{L}$ (حوالى ٢٧ ٪ من التشبع) كان كافياً لنمو *Nitrobacter* بينما التركيز الأدنى لميكروب *Nitrosomonas* كان $0.9 \text{ mg O}_2 / \text{l}$. وعموماً فمن قياسات الاكسجين الذائب والتغير فى التروجين المعدنى يمكن استنتاج أن النسبة المثلى للنمو كانت 1 : 3.22 فى حالة أكسدة الامونيا إلى النيتريت بينما كانت 1 : 1.11 فى حالة أكسدة النيتريت إلى النترات .

وهذا الفصل بين تحولات الطاقة وبين تمثيل ك أ_١ يؤيد أن *Nitrobacter* يمتلك سلسلة تنفسية (Cyt. c, b, a and a_١) التى تعمل غير مرتبطة بتكوين القوة الاختزالية وبالتالي تمثيل ك أ_١ .

وتشير سلسلة انتقال الالكترونات فى الرسم التالى إلى أن الالكترونات تنتقل من السيتوكروم البكتيرى C إلى مكوئى Cyt. a_١ (درجة امتصاصهما عند 583 nm ، 587) ومن Cyt. a_١ (587 nm) تنتقل الالكترونات اما مباشرة إلى النترات فى وجود FAD أو خلال Cyt. a (605 nm) إلى الاكسجين فى وجود المولبيد نم .



شكل (٦-٤) : سلسلة انتقال الالكترونات فى *Nitrobacter Winogradaskyi*

وميكروب *Nitrobacter agilis* لا يؤكسد النيتريت فقط ولكن يملك انزيمات NO_2^- ، NO_3^- reductases ، $\text{NH}_2\text{OH}-$ تحت الظروف اللاهوائية حيث يختزل النترات إلى الامونيا وهذا لا يجعل الميكروب denitrifier حيث لا يكون جزئ N_2 ، وإنما يعتبر اختزال نترات بنائى assimilatory حيث تدخل الامونيا فى تكوين N_2O

الأحماض الامينية ومادة الخلية وهذا يختلف الطبع عن اختزال النترات الهدمى
dissimilatory فى عملية الدنتره Denitrification .

كما أن ميكروبات التآزت *Nitrobacter* ، *Nitrosomonas* تستطيع اختزال
الكبريتات assimilatory حيث تختزل الكبريتات عبر APS ، PAPS ويمتلك
انزيمات Sulfate adenylyltransferase ، adenylylsulfate kinase ،
PAPS-reductase مثلما الحال فى *E. coli* ، Yeasts .

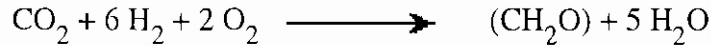
أيضاً يستطيع *Nitrobacter* تمثيل عدد كبير من المركبات العضوية وعلى سبيل المثال
الاسيتات الذى ينفذ خلال الغشاء الخلوى ويعمل كمصدر للكربون بدلاً من ك_أ .
حيث تمثل الاسيتات إلى poly-β-hydroxy butyrate وزيادة النيتريت تزيد تمثيل
الاسيتات بوضوح اما فى غياب النيتريت فالميكروب يحول الاسيتات ببطء إلى
ك_أ ، يد_أ . وكل انزيمات TCA موجودة بالكائن وأضافة النيتريت يزيد تمثيل
الاسيتات assimilation إلى مادة الخلية . ووجود الاسيتات والكازين المتسمى لا يفقد
الميكروب إطلاقاً قدرته على النمو الاوتوتروفى على النيتريت ، ك_أ . ويظل متوسط
محتواه من C+G فى DNA حوالى 61.2 ± 1% سواء نمى الميكروب اوتوتروفيا أو
هترتروفيا .

أيضاً ثبت أن ميكروب *Nitrobacter agilis* يحتوى على Formate oxidase الذى
يؤكسد الفورمات إلى ك_أ ، يد_أ . أما النمو على الفورمات كمصدر وحيد للكربون
لم يثبت معملياً جدواه .

٣٠٦ بكتريا أكسدة الايدروجين

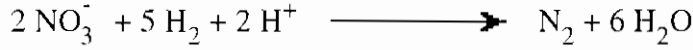
Hydrogen bacteria (Knallgas bacteria)

وهى البكتريا التى لها القدرة على أكسدة الايدروجين فى وجود الاكسجين كمستقبل
للالكترونات مع تثبيت ك_أ عن طريق دورة الريبولوز بيوفوسفات (دورة كالفن) والمعادلة
العامة لذلك .



وهى بكتريا عصوية أو كرويه موجبة أو سالبة جرام تقع فى آجناس مختلفة تقسيمياً مثل *Alcaligenes* ، *Aquaspirillum* ، *Paracoccus* ، *Pseudomonas* ، *Xanthobacter* (السالبة الجرام) ، *Nacordia* ، *Bacillus* ، *Mycobacterium* (الموجبة الجرام) وهذه البكتريا mixotroph أى لها القدرة على النمو اتوتروفيا او هيتروتروفيا ولكنها هوائية حتمية وبعضها يستخدم بدائل الاكسجين كمستقبل للالكترونات مثل النترات والكبريتات والكربونات (تنفس تحت ظروف لاهوائية) ومن أمثلة ذلك .

Paracoccus denitrificans



Desulfovibrio vulgaris



Methanobacterium sp

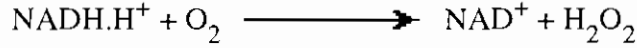


وليس هنا مجال الحديث عن التنفس اللاهوائى حيث سبق شرحه فى الباب الرابع .
ولذا فالحديث مقصور على التنفس الهوائى باستخدام الاكسجين كمستقبل للالكترونات .

- أثناء تنمية بكتريا الهيدروجين فإنها تستهلك $\text{H}_2/\text{O}_2/\text{CO}_2$ بنسبة - ١ : ٢ : ٦ لتثبيت ك أم كما بالمعادلة العامة المذكورة سابقاً وذلك فى وجود Hydrogenase لتنشيط جزئى الايدروجين . والقوة المختزلة NADH_2 وكذا ATP اللازمين لعملية تثبيت ك أم يتحصل عليهما من الفسفرة المؤكسدة e-transport phosphorylation .
- اثبتت الدراسات على مستخلص *Hydrogenomonas H16* ان نشاط انزيم hydrogenase يمكن فصله إلى جزء ذائب وآخر مرتبط والجزء الذائب يلامس اختزال NAD^+ بواسطة جزئى الايدروجين ولا يحتاج إلى Co-factors وهذا الجزء يتأثر نائراً

طفيفاً بتراكم ATP ، NADH.H⁺ ولا يتفاعل مع O₂ ، FMN ، NADP⁺ ، FAD أو أزرق الميثيلين . والانزيم الذائب يكفى لتزويد الخلية بالقوة المختزلة NADH₂ وأيضاً ATP اللازمين لاختزال ك أ₄ .

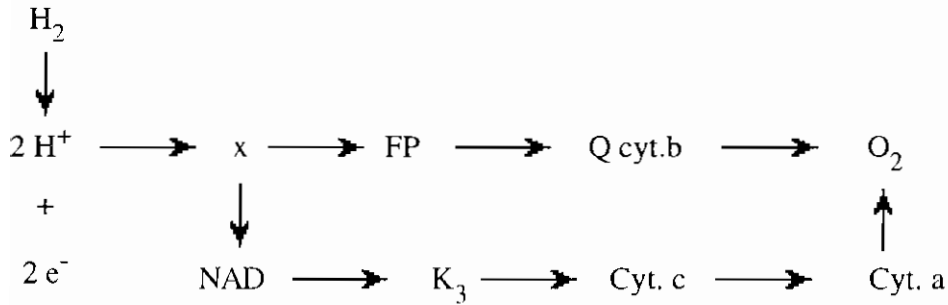
أما الجزء الثانى فمرتبط بالغشاء ويختزل أزرق الميثيلين والاكسجين كمستقبل فيسيولوجى للايدروجين . وهو يدخل فى سلسلة انتقال الالكترونات التى تلازم الفسفرة المؤكسدة وهناك بعض الدلائل على وجود NADH₂ - oxidase (EC 1.6.99.3) الذى يلامس أكسدة NADH.H⁺ .



أى أنه يمكن القول أن بكتريا أكسدة الايدروجين بها نوعين من انزيمات Hydrogenases لهما وظيفتين مختلفتين مثل البكتريا الفوتوتروفية . احدهما مرتبط (Particulate) بعملية فسفرة ADP إلى ATP والثانى (Soluble) ينقل الالكترونات إلى الاكسجين عبر NADH₂ .

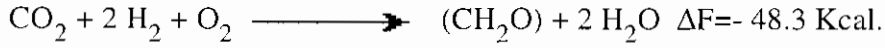
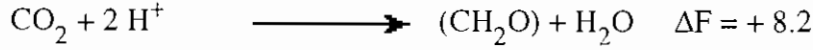
وأغلب الميكروبات تحتوى على الانزيم المرتبط بينما *Nacordia* تحتوى على الانزيم الذائب فقط فى حين اعداد قليلة نسبياً من الميكروبات تمتلك كلا الانزيمين مثل *Alkali-gins eutrophus* .

ويمكن تصور نظام انتقال الالكترونات وأكسدة NADH₂ كما بالرسم .



شكل (٦-٥) : نظام انتقال الالكترونات فى *Hydrogenomonas eutropha* النامية تحت ظروف اتوتروفية

- ويعتقد أن الفسفرة المؤكسدة للايدروجين تتحدد فى الخطوات ما بين H_2 ، Cyt. b .
وباعتبار ك ΔF كمصدر وحيد للكربون والهيدروجين كمعطى وحيد للالكترونات فإن
تفاعلات الطاقة لميكروب *Hydrogenomanas* تتبع المعادلة التالية :



ومن قياسات الطاقة يتبين أن امول H_2 ينتج ما يعادل ٢ مول ATP . ويحتاج ٥ مول
ATP لتحويل امول ك ΔF إلى مادة الخلية أى يحتاج ٥ مول H_2 لتمثيل ٢ مول
ك ΔF .

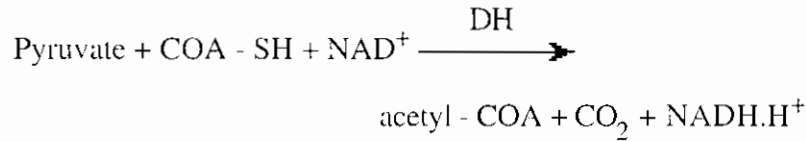
وبكتيريا الايدروجين قادرة على تخليق حامض بولى هيدروكسى بيوتيريك ليس فقط
هيتروتروفيا من البيروفات والاستيات ولكن اوتوتروفيا من ك ΔF من خلال دورة
كالفين .

ولقد افترض Schlegel سنة ١٩٦٦ التصورين التاليين :

(i) يتكون اسيتيل كوانزيم A من ٣ - فوسفو جليسرات عبر البيروقات وتفاعل
نزع ك ΔF Decarboxylation .

(ب) يتكون اسيتيل كوانزيم A من الفركتوز ٦- فوسفات أو الريليلوز ٥ - فوسفات
عبر تفاعل (PK) phosphoketolase .

وحيث أنه لا يوجد تفاعل PK فى بكتريا الايدروجين فإن الافتراض الأول هو الطريقة
الوحيدة الممكنة والانزيم الذى يلامس هذا التفاعل هو بيروفات ديهيدروجينير
(EC 1.2.4.7) .



- وتمت الظروف الهيتروتروفية فإن بكتريا الايدروجين تستخدم دورة حمض الستريك (TCA) كمصدر لتخليق ATP وسحب اسيتيل كوانزيم A من هذه الدورة لتخليق بيتاهيدروكسى بيوترات سيكون على حساب تخليق ATP حيث لن تعمل دورة TCA بطريقة مثلى .
- وعموماً اسيتيل كوانزيم A المتكون عبر النمو الاتوتروفى أو الهيتروتروفى لبكتريا الايدروجين يحدث له عملية Carboxylation إلى malonyl CoA الذى يدخل فى تكوين بولى هيدروكسى بيوترات . وتكوين المالونات يبدو كخطوة أولية لتخليق الليبيدات أو البروتينات فى وجود مصدر N . وسرعة تكوين هيدروكسى بيوترات أسرع بكثير تحت الظروف الهيتروتروفية عن الاتوتروفية .
- وتستطيع بكتريا الايدروجين استخدام بعض الكربوهيدرات كمصدر للكربون مثل الجلوكوز والفركتوز والريبوز والجلوكونات . وتتم تحولات الجلوكوز عبر دورة 6-phospho gluconate (ED) Entner & Doudoroff ، ويدل وجود انزيم dehydrogenase فى بعض بكتريا الايدروجين على حدوث نشاط عن طريق دورة HMP .
- "Hydrogen effect" وهى ظاهرة تطلق على التأثير المثبط لجزئ الايدروجين على تكوين الانزيمات لدورة ED مما يسبب نقص فى معدل النمو أو تكوين هيدروكسى بيوترات بنسبة ٨٠ ٪ . وتستطيع بكتريا الايدروجين تكوين البولى فوسفات تحت الظروف الهوائية من الارثوفوسفات ودورها يبدو لتزويد الخلية بالفوسفات (مركب تخزين) .
- وعموماً يمكن اعتبار أن تمثيل العناصر الغذائية العضوية لتكوين مادة الخلية اما الطاقة اللازمة لعمليات التخليق فتشتق من أكسدة الايدروجين .

٤٠٦ بكتريا أكسدة الحديد Iron-Oxidizing bacteria

تم تحولات الحديد الميكروبية من خلال طريقين :

- ١ - الكائنات المتخصصة التى تؤكسد أيون الحديدوز إلى الحديدك كمصدر للطاقة مثل بعض الطحالب الخضراء المزرقة وبكتريا الحديد الحقيقية مثل :

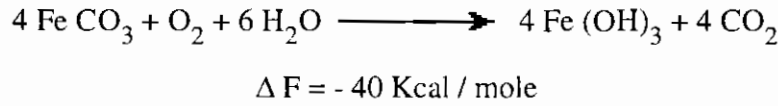
Ferrobacillus ferrooxidans , *Gallionella* , *Thiobacillus ferrooxidans*

٢ - بواسطة الميكروبات الغير متخصصة والتي تستطيع تحويل بعض المواد العضوية المحتوية على الحديدوز وينطلق الحديدك في صورة $Fe(OH)_3$ أو يخلب داخل غلاف الخلية Cell Sheaths .

وسيكون الحديث تفصيلاً عن المجموعة الأولى التي تؤكسد الحديد كمصدر للطاقة .

ميكروب *Ferrobacillus ferrooxidans*

- المعلومات المتاحة عنه محدودة ربما بسبب نقص الطرق المناسبة للحصول على نموات كافية منه . حيث يلزم لإنتاج ١-٢ جرام خلايا حوالى ١٨ لتر بيئة .
- يشتق الميكروب طاقته من التفاعل التالى :



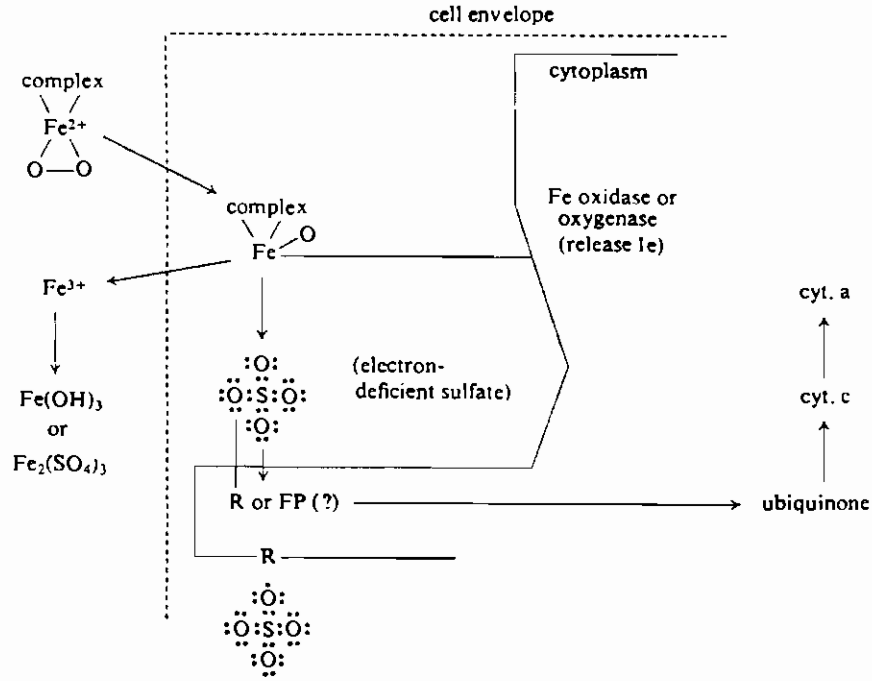
ومثل باقى Chemolithotrophs فإن مشكلة تكوين ATP والقوة المختزلة $NAD(P)H_2$ تظل قائمة . وتعلل الدراسات الأولية لـ Aleem & Lee سنة ١٩٦٣ ذلك بحدوث انتقال الكترونى من Ferro Cyt.C إلى NAD^+ فى مستخلص الخلايا . وثبت أنه يحتوى على سيتوكرومات a ، b ، c وأن :

$$Em \text{ of } Fe^{2+} / Fe^{3+} = 770 \text{ mV}$$

وهذا الجهد ينقص عندما يرتبط الحديد مع انيون مثلاً الاكسالات حيث جهد اكسالات الحديد يصل تقريباً إلى الضفر عند pH حوالى 7 . . ويمكن أن يكون التفاعل الانزيمى للسيتوكروم C مع ايون الحديدوز تفاعل منتج للطاقة كما هو الحال مع انزيم iron-Cyt.C reductase (EC 1.9.99.1) الذى له القدرة على نقل الالكترتون من ايون الحديدوز إلى سيتوكروم C .

- ويصاحب أكسدة الحديدوز إلى الحديدك تكوين حمض الذى هو عادة حمض الكبريتيك . ولذا عند وضع أى تصور لأكسدة الحديد فلا بد أن يوضع فى الاعتبار

الاحتياج إلى SO_4^{2-} وكذا دخول Fe^{2+} لداخل الخلية أو بقاءه مرتبطاً على سطحها وهذا يقودنا للتصور التالي :



شكل (٦-٦) : أكسدة الحديدوز بواسطة *Ferrobacillus Ferrooxidans* (فلافو برووتين) ويلاحظ ارتباط السلفات مع مجموعة R (فلافو برووتين)

ومن الرسم يتضح أنه يتكون أولاً معقد حديد - أكسجين والحديد في هذا المعقد oxygenated وليس oxidized حيث لم يحدث انتقال للإلكترون . وهذا المعقد يتكون إما في المحلول أو على سطح الخلية حيث يتفاعل مع $Fe - oxi - dase$ وينطلق الكترولون الذي ينتقل إلى الخلية عبر السلفات أو الفلافوبروتين (FP) ثم عبر ubiquinone إلى $Cyt. C$ ومنه لـ $Cyt. a$ وأخيراً إلى الأكسجين كمستقبل نهائي . بينما يتأكسد الحديدوز إلى الحديديك وينطلق في صورة أيروكسيد أو كبريتات الحديديك ويعتقد أن خطوة انتقال الإلكترون إلى $Cyt. C$ يقابلها خطوة فسفرة كما في اجناس *Nitrosomonas* ، *Nitrobacter* .

- وتتكون القوة المختزلة $NAD(P)H_2$ فى خطوة انسياب الكترونى عكسى لأنه لا يمكن تكون معقد حديد ذو جهد أكبر من (Em - 320 mV) لنظام $NAD^+ / NADH.H^+$. وهذا يعنى وجود نفس سلسلة انتقال الالكترن السابق شرحها فى *Nitrosomonas* (شكل ٦-٢ السابق).
- ويستطيع ميكروب *F. ferrooxidans* النمو أيضاً على الكبريت المعدنى وأكسدة النيتريت.
- وأثبتت الدراسات الحديثة ان *F. ferrooxidans* ليس اوتوتروفى حتمى ولكنه اختياري . حيث بعد فترة تأقلم على الجلوكوز يستطيع الميكروب النمو على الجلوكوز وأيضاً على المانيتول وبعض السكريات الأخرى .
- وتحولات الجلوكوز الهوائية بواسطة الميكروب تتم عبر دورة EMP - حيث لم يكشف وجود ٦- فوسفوجلوكونات ديهيدروجينيز - ثم يكمل تحوله عبر دورة TCA . ونظام الهدم هذا يعدل نظام انتقال الالكترن حيث تستطيع الالكترونات دخول السلسلة التنفسية عند مستوى $NAD^+ / NADH.H^+$. ولإعادة تكوين الأحماض ثنائية الكربوكسيل المستخدمة فى أغراض التخليق الحيوى فإنه الميكروب يمتلك أيضاً انزيم phosphoenolpyruvate Carboxylase الذى يعمل ك anaplerotic enzyme فى تكوين الاكسالواسيتات ولا تستطيع البيروفات ولا حتى البيروفات المرتبطة ب ATP ان تحمل محل فوسفو انيول بيروفات (PEP) وينشط انزيم PEP - Carboxylase بواسطة اسيتيل كوانزيم A ويثبط بواسطة الاسبارات aspartate . وتشير كل الدلائل على أن الميكروب ليس mixotroph بل ينمو اوتوتروفيا وبعد التأقلم على الجلوكوز يصبح هتيرتروفيا .

ميكروب *Thiobacillus ferrooxidans*

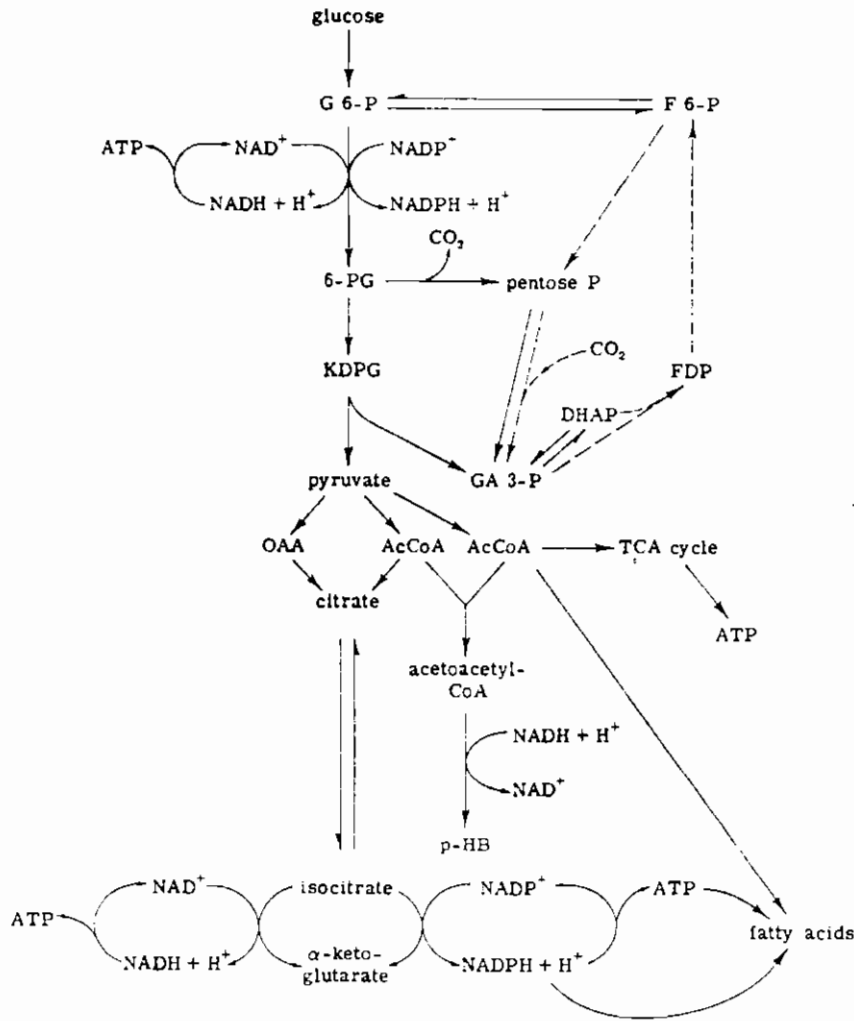
يعطى الاحتياج للكبريتات وتأثير الفوسفات ومعدل أكسدة الحديد بعض الانطباع ان التحولات الاوتوتروفية لهذا الميكروب تشابه مع سابقه *Ferrbacillus ferrooxidans* مع اختلاف هام وهو قدره الميكروب على أكسدة مركبات الكبريت المختزلة مثل H_2S بالإضافة

لأكسدة الحديدوز . ومعدل أكسدة مركبات الكبريت أقل بكثير عن معدل أكسدة الحديدوز . وبحسابات المولر فإن الميكروب يستطيع أكسدة ١٨٠ مول حديدوز تقريباً فى نفس الوقت الذى يحتاجه لأكسدة ١ مول كبريت . وهناك فرق آخر بينما تستطيع *F. ferrooxidans* استخدام الجلوكوز عبر دورة EMP ولا تستطيع النمو mixotroph فإن *Thiob. ferrooxidans* يهدم الجلوكوز عبر دورة ED مثل بكتريا الايدروجين وتستطيع النمو mixotrophically .

وفى تجربة باستخدام جلوكوز [C^{14}] وجد أن انزيمات دورة ED يزداد نشاطها إذا نمت *Thiobacillus ferrooxidans* على بيئة تحتوى الحديد والجلوكوز أو الجلوكوز فقط . والخلايا النامية تحت ظروف هيتروتروفية لها القدرة على اتمام دورة TCA كاملة بينما الخلايا النامية اوتوتروفيا تفتقد انزيمات ∞ - كيتو جلوتارات ديهيدروجينيز ، NAD_2 -oxidase . كذلك وجود نوعين من isocitrate dehydrogenases ذو أهمية حيث الانزيم المرتبط ب NAD^+ هو Constitutive ومسئول عن انتقال الالكترونات بينما الانزيم المرتبط ب $NADP^+$ هو adaptive للنمو الهيتروتروفى ويستخدم لأغراض التخليق الحيوى .

أما إعادة تكوين الأحماض ثنائية الكربوكسيل اللازمة لتخليق الأحماض الامينية أو الدهنية فيستخدم انزيم Pyruvate Carboxylate وليس PEP-Carboxylase . كما يشير المستوى المنخفض من انزيم Fructose diphosphate aldolase إلى أن دورة EMP تستخدم فقط عكسياً (gluconeogenesis) لأغراض التخليق الحيوى .

وبناء على كل الاعتبارات السابقة فإن تصورات التحولات الايضية التى يقوم بها ميكروب *Thiobacillus ferrooxidans* يمكن تلخيصها فى الرسم التالى :



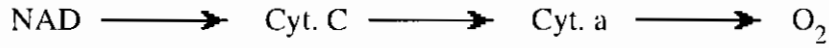
شكل (٦-٧) : النمو الاتوتروفي (---) والنمو الهيتروتروفي (—)

والتحولات الايضية فى ميكروب *Thiobacillus ferrooxidans*

نقلًا عن : Tabita & lundgren, 1971

G 6-P: glucose 6-phosphate; F 6-P: fructose 6-phosphate; 6-PG: 6-phosphogluconate; KDPG: 2-keto-3-deoxy-6-phosphogluconate; DHAP: dihydroxyacetone P; OAA: oxalacetate; p- HB: poly β -hydroxybutyric acid; GA 3-p: glyceraldehyde 3-p; FDP: fructose diphosphate.

- ومن الملاحظات الجديرة بالذكر التى يمكن استخلاصها من الرسم السابق الآتى :
- وجود تفاعل Transaldolase - Transketolase مما يشير لإمكانية حدوث دورة HMP أيضاً .
 - وجود انزيم جلوكوز 6- فوسفات ديهيدروجينيز المرتبط بالمرافقات الانزيمية NAD^+ ، $NADP^+$ ويعتبر مفتاح (key) دورتى HMP ، ED ويمكن تثبيطه بواسطة NAD المختزل وكذا ATP . ولا يشاهد تأثير allostery له بعكس بكتريا الايدروجين . . ولم يعرف بعد هل لذلك دخل فى وجود كلا الدورتين (ED , HMP) فى *Thiob. ferrooxidans* بينما دورة ED فقط فى بكتريا الايدروجين .
 - ميكانيكية تنظيم regulatory mechanism للنمو الاتوتروفى أو الهيتيرتروفى لم تكتشف بعد وربما يلعب glucose 6 - DH ، iso citrate DH دوراً هاماً فى ذلك .
 - انتقال الالكترن تحت الظروف الهيتيرتروفية بسيط جداً :



وتتكون خلاله كل ATP المطلوب .

بكتريا الحديد الغير متخصصة Other iron bacteria

يستطيع عدد من البكتريا أكسدة الحديدوز ($Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$) وأيضاً مركبات المنجنيز ($Mn^{2+} \rightarrow Mn^{4+}$) وترسيبها فى أغلفتها Cell Sheath . وهى تقع فى أجناس عديدة ووضعها التقسيمى غير مستقر للآن ومن أمثلتها :

Leptothrix discophorus

Leptothrix ochracea, Sphaerotilus natans

وهى ميكروبات تنمو فى سلاسل طويلة مرتبطة ببعضها بغلاف رقيق Sheath ولذا تبدو خيطية ولها القدرة على تكوين بولى - بيتا هيدروكسى بيوتيرات عند إضافة الجلوكوز للبيئة . ويزداد معدل تكوين البولر فى وجود ايونات المنجنيز والماغسيوم اما الكالسيوم فتحتاجه فى تكوين الغلاف .

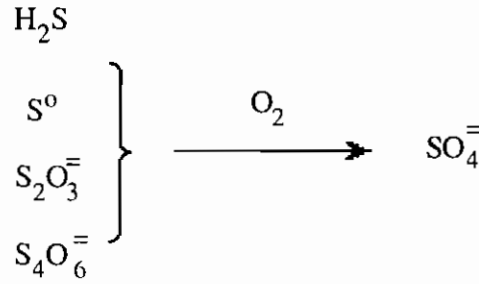
ومن الأجناس الأخرى لبكتريا أكسدة الحديد :

Siderocapsa, Siderophaera, Siderobacter, Sideromonas

ومن أهم الأجناس *Gallionella* وقد اكتشف حديثاً قدرته على تمثيل ك أم اوتوتروفيا من خلال دورة الريبيلوز بيوفوسفات وامتلاكه لانزيم Ribulose biphosphcte carboxylase ولذا وضع فى مجموعة Lithotrophic bacteria .

٥٠٦ بكتريا أكسدة الكبريت Sulfur - Oxidizing bacteria

- تحصل على الطاقة من أكسدة مركبات الكبريت المعدنية لتكوين الكبريتات كنتاج نهائى .



- وهى تقع فى عدة أجناس حسب الشكل المورفولوجى والصفات الفسيولوجية والبيئية .

1 - *Thiobacillus*

2 - *Thiospira*

3 - *Thiomicrospira*

4 - *Thiospheara*

5 - *Thiovulum*

6 - *Acidophilium*

ومنها الخيطية الشكل مثل : *Thiothrix, Thioplaca, Beggeatoa spp.*

- وينتشر وجودها فى ماء البحر والتربة ومياه المجارى والعيون الكبريتية وأغلبها هوائية حتمية ما عدا بعضها الذى يستخدم بدائل الاكسجين مثل التترات والحديديك (تنفس لاهوائى) .

- أهم أجناسها *Thiobacillus* ومعظم أنواعها Species اوتوتروفية حتمية مثل

T. thioparus ، *T. neapolitanus* ، *T. thiooxidans* وبعضها mixotrophs
مثل *T. perometabolis* ، *T. intermedius* ، *T. novellus*

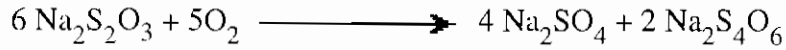
ولعمل تصور عام للتحويلات الايضية لهذه الميكروبات توجد عقبتين :

أ - نوع المركب الكبريتى الذى سيتأكسد حيث يوجد ثيوسلفات ، ثيوسلفيت ، الكبريت المعدنى ، الكبريتيد .

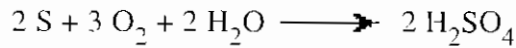
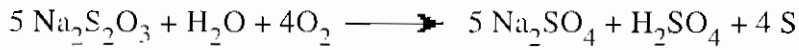
ب - مشكلة النفاذيه كما نوقشت فى بكتريا الحديد .

وبالنسبة للعقبة الأولى فقد قسمت إلى أربع طرق :

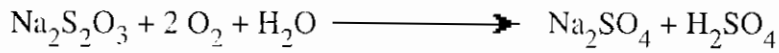
(١) أكسدة الثيوسلفات إلى التتراثيونات والستى تتأكسد إلى الكبريتات كما فى
: *T. thiooxidans*



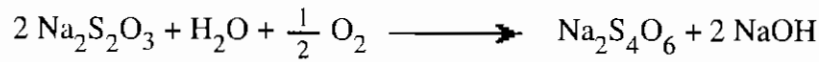
(٢) أكسدة الثيوسلفات أولاً إلى الكبريت والذى يتأكسد إلى الكبريتات ويمثلها
: *T. thioparus*



(٣) أكسدة الثيوسلفات مباشرة إلى الكبريتات ويمثلها *T. novellus* .



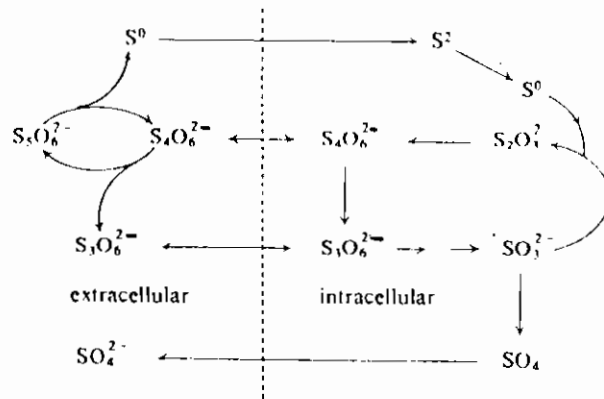
(٤) أكسدة الثيوسلفات إلى التتراثيونات والكبريتات ويصاحبه ارتفاع ملحوظ فى pH ويقوم به بعض mixotrophs :



واما بالنسبة للعقبه الثانية (مشكلة النفاذية) فقد اتضح من الدراسات التى أجريت فى وجود ميكروب *Thiobacillus sp.* ان الثيوسلفات تلعب دور المفتاح key فى تحولات الكبريت وان اختزال S^0 المعدنى إلى S^{2-} يحتاج لوجود الجلوتاثيون glytathione المختزل مظهراً إمكانية وجود permeability barrier ووظيفته غير انزيمية وهى تشبه لما حدث فى أكسدة الحديد بواسطة *Ferrobacillus sp.* التى تحتاج إلى السلفات لانتقال الالكترون إلى داخل الخلية .

وعموماً يمكن وضع تصور عام لطريقة انتقال مركبات الكبريت فى *Thiobacilli* كما

يلى :

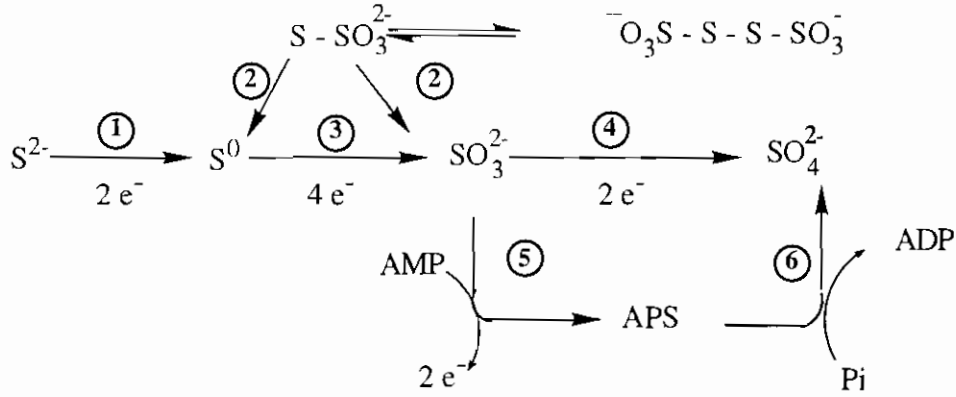


شكل (٦-٨) : انتقال وأكسدة مركبات الكبريت بواسطة *Thiobacilli*

ومنه نتبين أن S^{2-} فقط تستطيع دخول الخلية بينما بقية التفاعلات تحدث على سطح الخلية وتحتاج للحامل .

ومما يؤيد نظرية permeability barrier أنه وجد أن SO_3^{2-} يشبط أكسدة الثيوسلفات فى مستخلص الخلايا .

دورة أكسدة مركبات الكبريت وكيفية الحصول على الطاقة :



شكل (٦-٩) : ميكانيكية أكسدة مركبات الكبريت وتكوين الطاقة

وأهم الانزيمات المشاركة فى هذه التفاعلات هى :

(١) Sulfide Oxidase ويحتاج لوجود الجلوتاثيون الذى يؤكسد السلفيد إلى الكبريت المعدنى .

(٢) rhodanese reductase (EC 2.8.1.1) الذى يشق $S_2O_3^{2-}$ Cleavage الثيوسلفات إلى $SO_3^{2-} + S^0$.

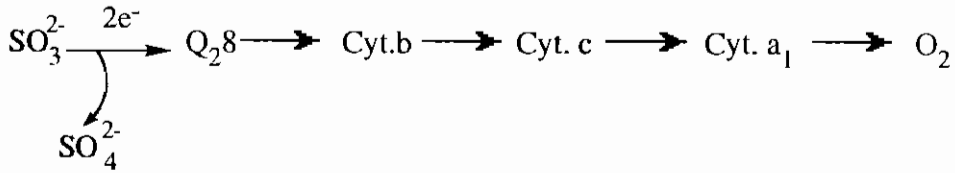
(٣) Sulphur oxidase (EC 1.13.11.18) الذى يؤكسد الكبريت المعدنى إلى ثيوسلفات وهو عبارة عن oxygenase محتوى على الحديد .

(٤) Sulphite oxidase (EC 1.8.3.1) الذى يؤكسد السلفيت إلى السلفات .

(٥) APS - reductase (adenyl sulfate reductase) (EC 1.8.99.2) ويلامس تكوين ادينوسين فوسفوسلفات .

(٦) Sulfate adenylyl transferase (EC 2.7.7.5) أو يطلق عليه ADP-Sulphurylase وهو يلامس تكوين السلفات ، ADP .

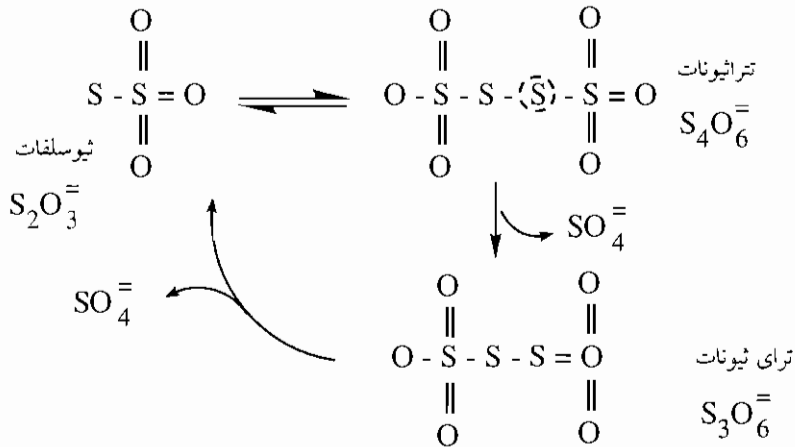
ويبدو أن الالكترونات الناتجة من أكسدة السلفيت مباشرة إلى السلفات (تفاعل ٤) تدخل السلسلة التنفسية قبل مستوى Cyt. C كما بالرسم التالى .



وتتلائم خطوة الأكسدة المباشرة هذه مع عملية فسفرة مؤكسدة حيث تدخل الإلكترونات عند مستوى الفلافين أو الكينون كما سيلي شرحه . (ص ٢٦٢)

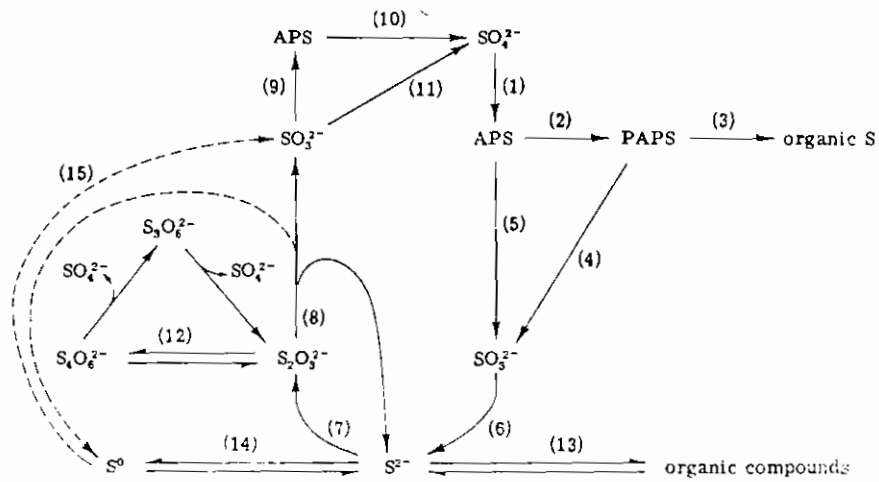
وبعض Thiobacilli مثل *T. denitrificans* ، *T. thioparans* يمكنها استخدام الطاقة الناتجة من أكسدة السلفيت إلى السلفات بطريقة الفسفرة عند مستوى مادة التفاعيل Substrate level phosphorylation (تفاعل ٥ ، ٦) بتأثير انزيم ATP : AMP phosphotransferase (EC 2.7.4.3) أو ما يعرف بـ adenylate kinase . ويتكون امول ATP لكل امول سلفات ناتج

- وهناك طريقة أخرى لأكسدة الثيوسلفات حيث يرتبط ٢ مول ثيوسلفات لتكوين التتراثيونات tetrathionate والتي تتأكسد بالتالي إلى trithionate ثم في النهاية إلى thiosulfate منتج ٢ مول سلفات أثناء الدورة الحلقية كما بالرسم التالي :



شكل (٦-١) الدورة الحلقية لأكسدة الثيوسلفات

والتتراثيونات لا تعمل كمادة تفاعل Substrate لتكوين ATP إلا فى وجود الجلوتاثيون حيث تتأكسد سريعاً بطريقة غير انزيمية إلى الثيوسلفات . وأكسدة التتراثيونات تثبط عند ١٠ ٪ أكسجين بينما تنشط تحولاتها تحت الظروف اللاهوائية . فإذا ربطنا بين كل تفاعلات دورة الكبريت فى الطبيعة متضمنا dissimilatory redcution فى (*Desulfovibrio*) ، assimilatory reduction فى (النبات ، الثدييات) ، (*Thiobacilli*) Sulfer oxidation ، فإن الدورة تبدو كما بالرسم التالى :

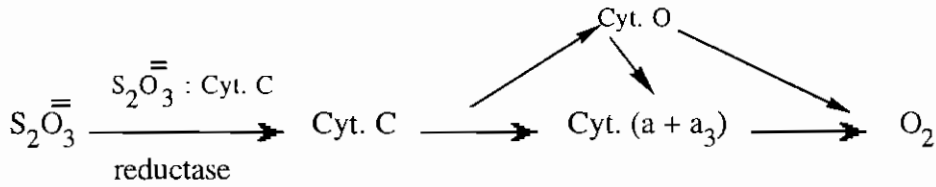


شكل (٦-١١) : تفاعلات أكسدة واختزال المركبات الكبريتية فى الطبيعة
نقلأ عن Doelle سنة ١٩٧٥

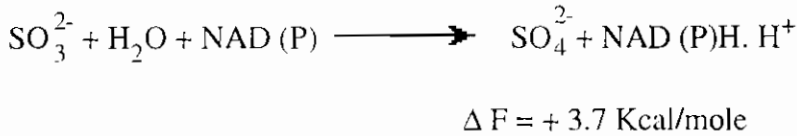
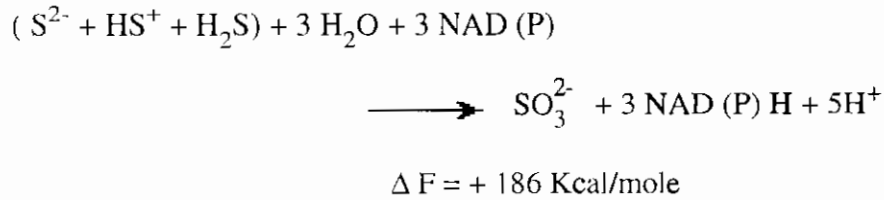
ومن الرسم : فإن تفاعلات (١) ، (٥) ، (٦) تستعمل بواسطة ميكروبات اختزال الكبريت الهدمى dissimilatory ، تفاعلات (٢) ، (٣) ، (٤) تستعمل بواسطة مختزلات الكبريت النباتى assimilatory ، التفاعلات من (٧) إلى (١٢) وكذا (٤) بواسطة *Thiobacilli* وتفاعل (١٣) بواسطة أغلب الميكروبات . ولقد ذكرت الانزيمات التى تلامس هذه التفاعلات بأرقامها الكودية كل فى موضعه سابقاً .

- عملية تمثيل ك أم اوتوتروفيا بواسطة Thiobacilli تحتاج لقوة مختزلة (NAD (P) H₂) بالإضافة إلى ATP . حيث يرتبط نظام أكسدة الثيوسلفات (انتقال الثيوسلفات عبر الغشاء الخلوى وما يتبعه من أكسدة) مع انتقال الالكترونات . وانزيم تنشيط الثيوسلفات يسمى Cyt. C reductase : S₂O₃²⁻ وهو لا يدخل فى عملية الفسفرة المؤكسدة .

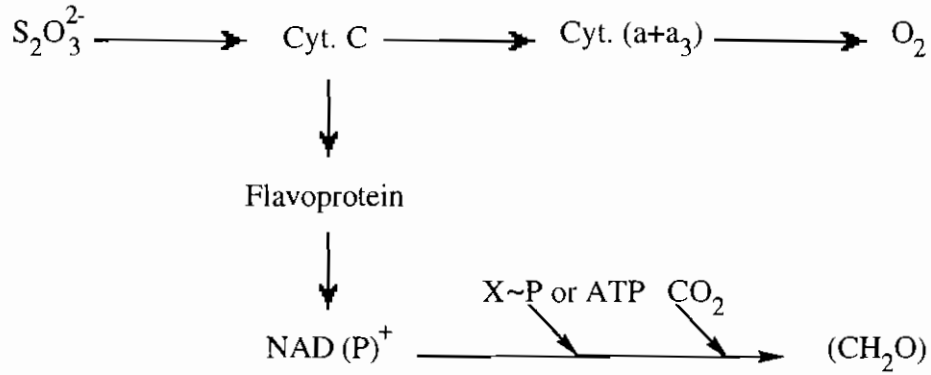
وكما يتضح فإن انتقال الالكترونات إلى جزئى الاكسجين يمر خلال سيتوكرومات ، c ، a₃ ، a ، o ، وهذا يقابله تكوين ATP وتصل p/O ratio إلى 1.0 .



والاختزال المباشر لـ NAD (P) بواسطة مركبات الكبريت المعدنية يستحيل حدوثه من الناحية الترموديناميكية لأنه يتضمن تفاعل ماص للطاقة .



لذا طريقة تكوين القوة الاختزالية اللازمة لتثبيت ك أم يتم بواسطة انسياب الكترونى عكسى Reverse ATP- driven election transport حيث تتجه الالكترونات من Cyt. C إلى الفلافوبروتين بدلا من الاكسجين كما هو بالرسم التالى :

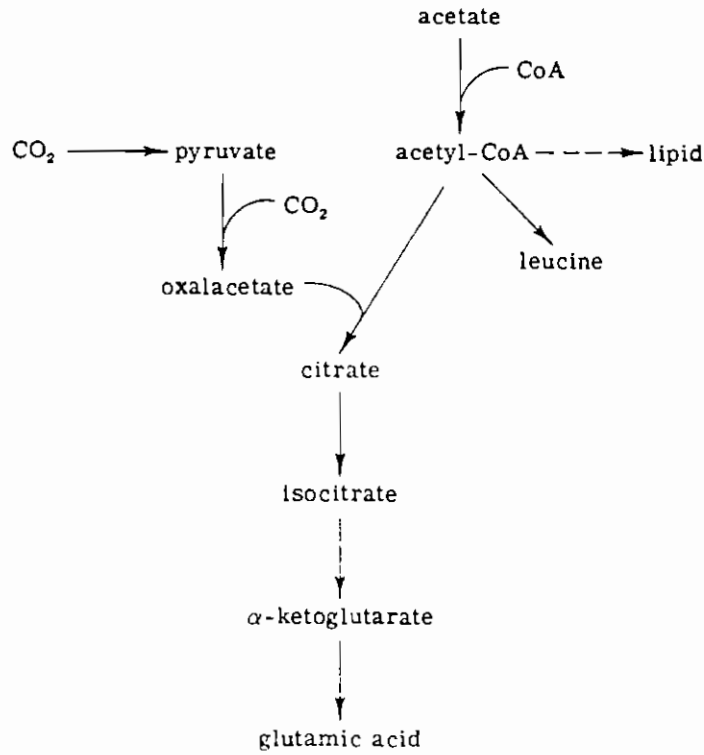


شكل (٦-١٢) : نظام انتقال الالكترونات فى Thiobacilli

ودخول الالكترونات يتم عند مستوى الفلافين مما يقصر طول سلسلة انسياب الالكترون العكسى ولذا فالطاقة الناتجة من الميكروبات الاوتوتروفية عموماً قليل .

- بعض أنواع Thiobacilli يستطيع استخدام المواد العضوية مثل حمض الاسبارتيك ، مستخلص الخميرة ، جلوتامات ، استيات . . . إلخ ، ولكن لا يوجد نمو فى غياب الثيوسلفات . وفى كل الأحوال يثبط تخليق انزيم الريبلوز بيوفوسفات كربوكسيليز الخاص بدورة كالفن وتثبيت ك_٢ اوتوتروفيا فى وجود هذه المواد العضوية . وتمثيل هذه المركبات العضوية يعطى الدليل على وجود انزيمات دورة TCA فى *T. thoparus* .

أما ميكروب *T. neapolitanus* الاوتوتروفى الختمى فيستطيع تنشيط بعض الأحماض الامينية الخارجية لإدخالهم مع ك_٢ فى تكوين البروتين أو لتخليق البرولين والارجنين من الجلوتامات وكذا الادنين والجوانين من الجليسرين وتشبه ميكانيكية التخليق الحيوى فى هذا الكائن تقريباً الكائنات الهيتروتروفية مع الاحتياج للطاقة الاوتوتروفية . وأشهر مثال على ذلك تنشيط الأستات إلى اسيتيل كوانزيم A واستخدامها كمصدر رئيسى لتخليق الليبيدات والأحماض الامينية ثم تكثيف acetyl CoA مع الاكسالواستيات (المتكونة من تثبيت ك_٢) لتكوين السترات كما بالرسم التالى :

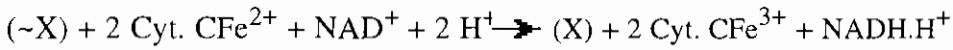
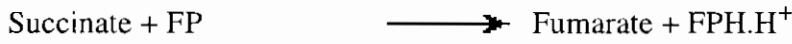


شكل (٦-١٣) : تحولات الاسيتات بواسطة الاتوتروفي الختمى *T. neapolitanus*

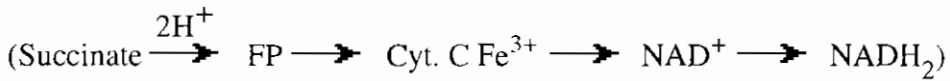
- وبعض أفراد *thiobacilli* الـ *mixotroph* مثل *T. novellus* يستطيع النمو تحت ظروف هيتروتروفية كاملة ولا تحتاج إلى الطاقة الاتوتروفية . ويبدو وجود تغيرات جوهريّة في بناء الغشاء السيتوبلازمي وكذا امتلاك الميكروب لكل انزيمات دورة TCA ودورة glyoxylate . كما يمتلك انزيم glutamate dehydrogenase المرتبط بالمرافقات الانزيمية NAD^+ ، $NADP^+$ والذي يلعب دوراً تنظيمياً في تخليق الجلوتامات بالذات حيث ينظم AMP (الذي يتكون أثناء عمليات التخليق الحيوي) التوازن بين بناء وهدم الجلوتامات . ويستطيع ميكروب *T. novellus* استعادة قدرته على النمو الاتوتروفي بمجرد توافر كأم وبعض الأحماض العضوية في البيئة مع الثيوسلفات .
- وعملية تنظيم النمو الاتوتروفي والهيتروتروفي تتم عند مستوى glucose 6-P و $NAD(P)$ المرتبطة بـ keto glutarate DH ، isocitrate DH ، dehydrogenase حيث تحت الظروف الاتوتروفية يكون أكسدة الثيوسلفات في أقصى معدلاتها بينما يقل نشاط انزيمات هدم الجلوكوز بينما تحت الظروف الـ *mixotroph* يقلل

وجود المواد العضوية من الطاقة اللازمة للنمو ويثبط نظام أكسدة الثيوسلفات وتحفز انزيمات هدم الجلوكوز . وفى الظروف الهيتروتروفية وغياب الثيوسلفات فإن دورتي ED ، TCA تصبحان فى أقصى معدلتهما . والتحكم فى انزيم G-6P DH (بواسطة ATP الذى يثبط هذا الانزيم) هو الذى يحدد الدورة المستخدمة وتشبه فى ذلك بكتريا الايدروجين .

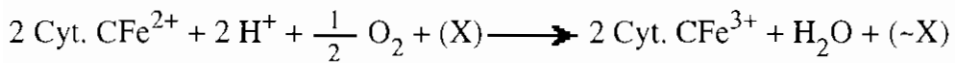
● ونظام تكوين الطاقة فى thiobacilli الهيتروتروفية غير واضح للآن ويبدو أنها تمتلك نظام الانسياب الالكترونى العكسى . وفى هذه الحالة فإن أكسدة الأحماض العضوية تنتج مكونات وسطية بالخلية عالية الطاقة مثل ATP أو مشتقاتها (~X) التى تعكس الانسياب الالكترونى العادى فى السلسلة التنفسية بحيث تختزل NAD^+ بواسطة Cyt. C كما فى بقية الاتوتروفيات .



ويمكن تلخيص المعادلات السابقة فى الصورة التالية :



أو أن يتأكسد Cyt. C مباشرة بواسطة جزئى الاكسجين مع إنتاج مركب غنى الطاقة (~X) .



وهذا المركب الغنى بالطاقة يتكون عند مستوى السيتوكروم اكسيداز الطرفى ويمكن استخدامه فى انتقال الالكترون العكسى لاختزال NAD (P)^+ .

٦٠٦ الفرق بين الميكروبات الاتوتروفية والهميتروتروفية

سبق تعريف الميكروبات الاتوتروفية بأنها التى تستطيع الحصول على طاقتها اما من الضوء (الفوتوتروفية) أو أكسدة المواد الغير عضوية (Clemolithotroph) واستخدام ك أم كمصدر كربون وحيد وتمثيله إلى مادة الخلية من خلال دورة كالفن (الريبولوز بيوفوسفات) ولكن وجد أن عدد ليس بالقليل من ميكروبات المجموعة السابقة يستطيع النمو تحت الظروف الهيتروتروفية فيما يسمى border line cases . وثبت أن التركيب الخلوى متشابه فى الاتوتروفية والهميتروتروفية وان كليهما يملكان نفس الانزيمات ويحتاجان نفس الفيتامينات والمرافقات الانزيمية بل يملكان نظام الفسفرة لتكوين ATP مع تميز الاتوتروفية بامتلاكها بعض الانزيمات الإضافية لتمكينها من أكسدة الأملاح الغير عضوية واختزال ك أم لتخليق مادة الخلية .

فلماذا لا توضع الميكروبات الاتوتروفية مع الهميتروتروفية خاصة أن بعضها يستطيع تمثيل الجلوكوز ولكن ليس كمصدر للطاقة ؟

حاول Kelly سنة ١٩٦٧ وضع تعريف يتضمن ٦ نقاط (منفردة أو مجتمعة) للميكروبات الاتوتروفية .

(١) نفاذيتها المحدودة للمواد العضوية .

(٢) عدم مقدرتها على أكسدة المواد العضوية للحصول على الطاقة أى حتى فى حالة نفاذية بعض المواد العضوية خلال الغشاء فإن الميكروب لا يستطيع الحصول على طاقة من أكسدتها .

(٣) عدم مقدرتها على تخليق مادة الخلية العضوية من أى مصدر كربونى خلاف ك أم الذى يُمثل من خلال دورة كالفن . وقد عدل هذا البند أخيراً بقدرة الميكروب على امتلاك انزيم ريبولوز ٥ اى بيوفوسفات كربوكسيليز (مفتاح دورة كالفن) .

(٤) يُبْطَأ أو يُوقَف نموها فى وجود مواد عضوية خارجية مثل إضافة الجلوكوز - الاسيتات ... إلخ .

(٥) التثبيط الذاتى من نواتج التحولات الايضية العضوية التركيب feed back inhibition مثل حمض البيروفيك يثبط ميكروبات Thiobacilli بقوة .

(٦) الاعتماد على طاقة الضوء (الفوتوتروفية) وأكسدة المواد الغير عضوية (الكيموتروفية) ووجود الأجهزة الخاصة بذلك .

ورغم ذلك فلا بد من مزيد من الدراسات على الميكانيكيات المنظمة لعملية تثبيت ك_٢ . ولتجاوز هذه المشكلة وإيجاد Terminology محدد قام Peck سنة ١٩٦٨ بتقسيم الميكروبات الكيموتروفية إلى ٣ مجاميع :

(١) obligate autotroph وهى التى تحصل على طاقتها فقط من أكسدة المواد الغير عضوية ولا تستطيع تمثيل المواد العضوية البسيطة مثل الاستيات بنفس طريقة ك_٢ وسئالها *Nitrosomonas europaea* ، *Thiobacillus thiooxidans* .

(ب) Facultative autotroph وهى القادرة على استخدام كل من المواد العضوية والغير عضوية كمصدر للطاقة والنمو ومئالها *Nitrobacter sp.* ، *Hydrogenomonas sp.* ، *Thiobacillus intermedius* .

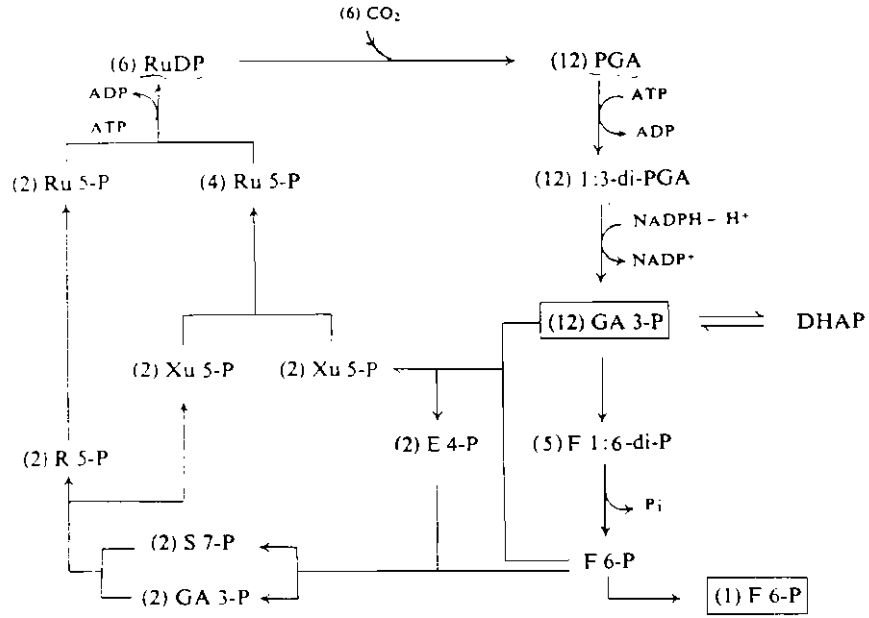
(ج) Assimilatory autotroph التى تحصل على طاقتها فقط من أكسدة المواد الغير عضوية ولكنها تستطيع إدخال المواد العضوية خلال الغشاء الخلوى وتستخدمها فى التخليق الحيوى لمكوناتها ومئالها *Dosulfovibrio* .

وأخيراً قام Ritteberg سنة ١٩٦٩ بتغيير أسماء المجاميع الثلاثة السابقة إلى Chemolithotrophic heterotroph ، mixotroph ، obligate Chemolithotroph على الترتيب .

أما بالنسبة للميكروبات الفوتوتروفية فقد سبق مناقشة الفروق بين أفرادها فى الباب الثالث من هذا الكتاب .

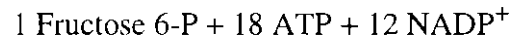
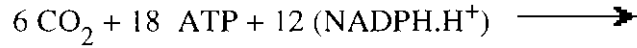
وعموماً فإن مشكلة النمو الاتوتروفى أو الهيتروتروفى فى كلا الميكروبات الفوتوتروفية أو الكيموتروفية تكاد تكون متطابقة .

٧٠٦ تثبيت ك أم من خلال دورة كالفن



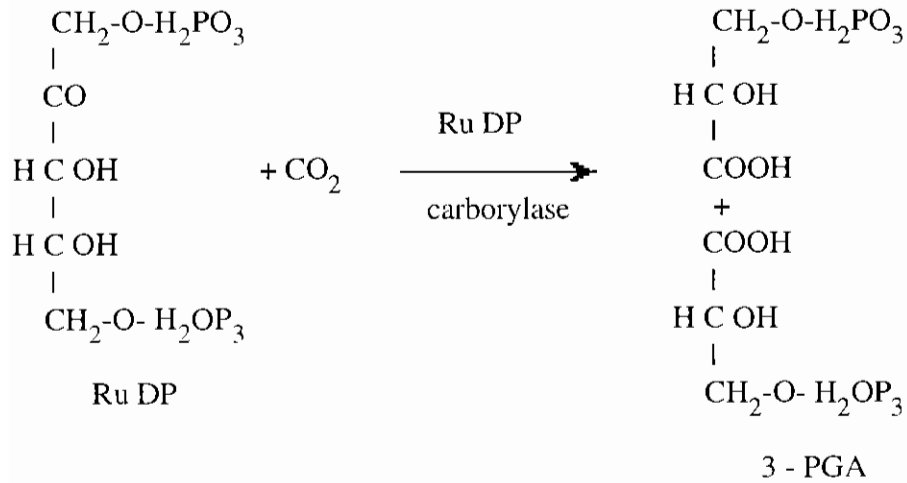
شكل (٦-١٤) : تصور عام لدورة كالفن (الريبولوز بيوفوسفات)

ومحصلة هذه الدورة هو :

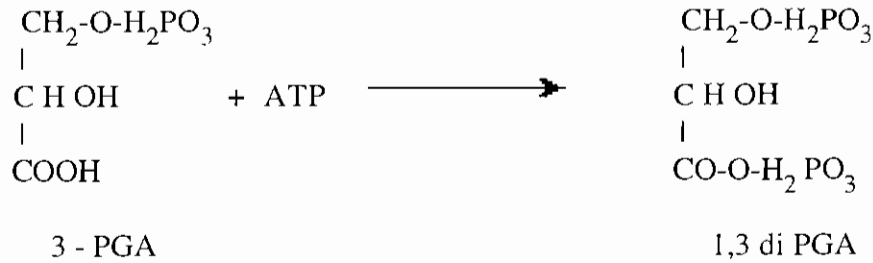


وتفصيلاتها كالتالي :

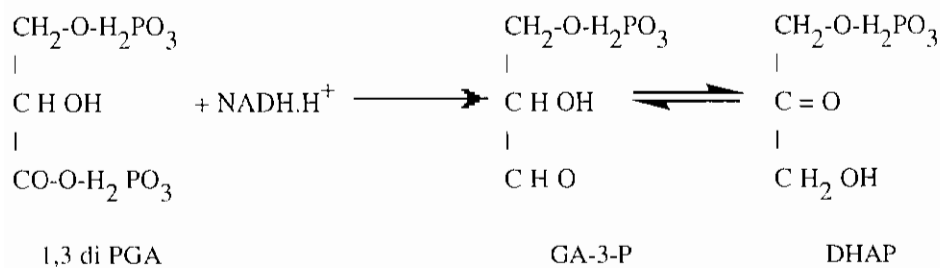
- (١) يتحد ك أم مع الريبولوز اره داى فوسفات (Ru DP) فى وجود انزيم ريبولوز داى فوسفات كربوكسيليز (EC 4.1.1.39) وهو يعتبر مفتاح (key) هذه الدورة ويتكون ٢ مول من ٣ - فوسفو جليسيرات (3-PGA) .



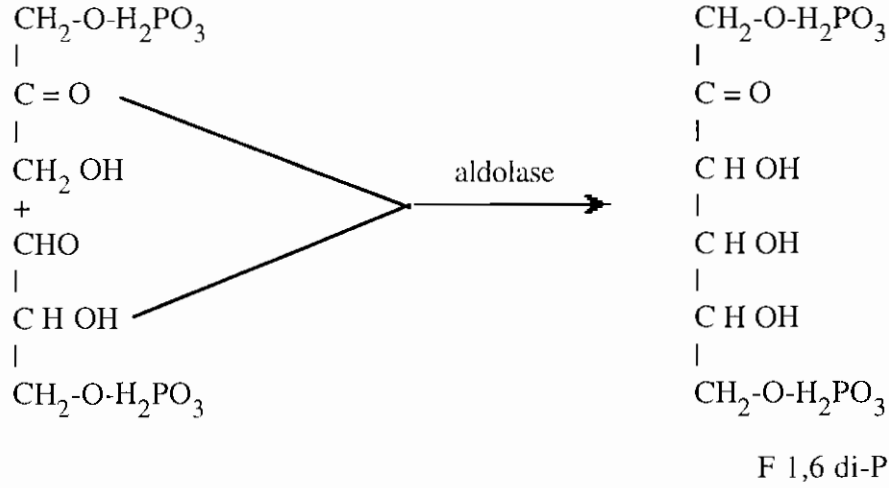
(٢) يتحول ٣ - فوسفو جليسيرات إلى ٣ اى ١ دى فوسفو جليسيرات (1.3 di PGA) فى وجود انزيم فوسفو جليسيرات كينيز (EC 2.7.2.3) وهى خطوة فسفرة تحتاج لطاقة .



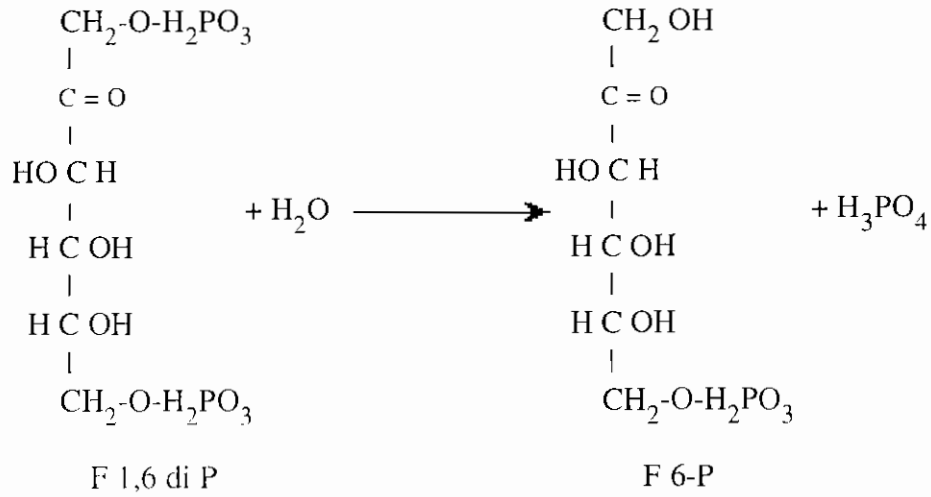
(٣) أكسدة مفسفرة ثانية فى وجود انزيم NADP-linked dehydrogenase (EC 1.2.1.13) لتكوين جليسرلدهيد ٣ - فوسفات (GA-3-P) . والمركب الأخير يوجد فى حالة توازن مع دى هيدروكس اسيتون فوسفات (DHAP) بمساعدة انزيم triosephosphate isomerase (EC 5.3.1.1) .



(٤) ربط المركبين ذوى الثلاث ذرات كربون السابقين بواسطة انزيم
Fructose diphosphale aldalase (EC 4.1.2.13) لتكوين فركتوز ارا ٦ دى
فوسفات .

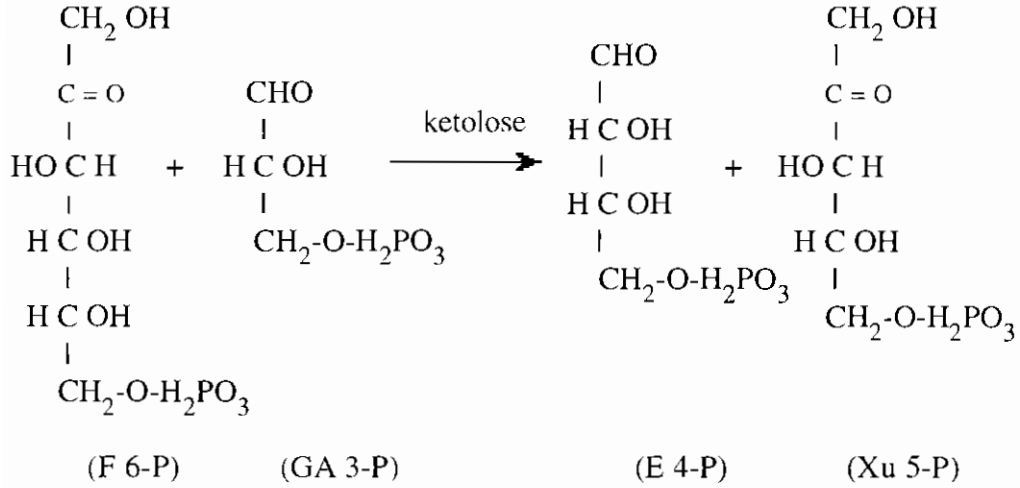


(٥) تحويل فركتوز ارا ٦ دى فوسفات إلى فركتوز ٦- فوسفات بنزع مجموعة فوسفات
dephosphorylation وذلك فى وجود انزيم Hexose diphosphatase
(EC 3.1.3.11) .



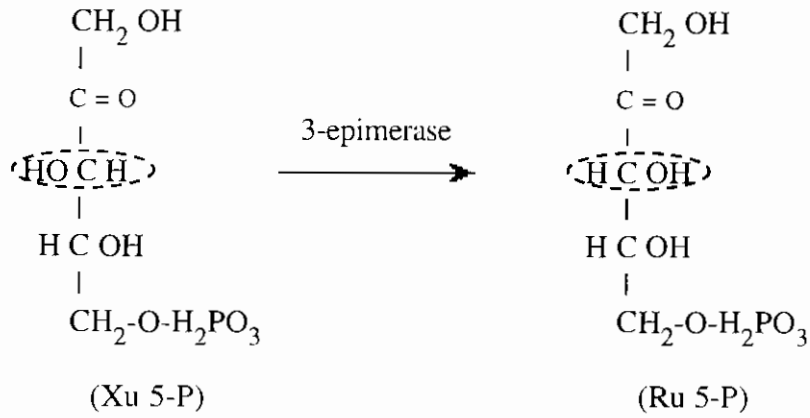
والفركتوز ٦ - فوسفات يمكن أن يتحول فى طريقتين مختلفتين أما إنتاج سكروز أو بتنوزات (كما فى حالة الميكروبات الاتوتروفية) التى تدخل فى تكوين الأحماض النووية مثل RNA ، DNA أو تدخل فى إعادة غلق الدورة الحلقية بتكوين الريبولوز ١, ٥, ٥ داي فوسفات .

(٦) يقوم انزيم Transketolase (EC 2.2.1.1) بربط F 6-P مع GA3-P وشقهما (فصلهما) إلى اريثروز ٤ - فوسفات (E 4-P) ، الزيليلوز ٥ - فوسفات (Xu-5P) .

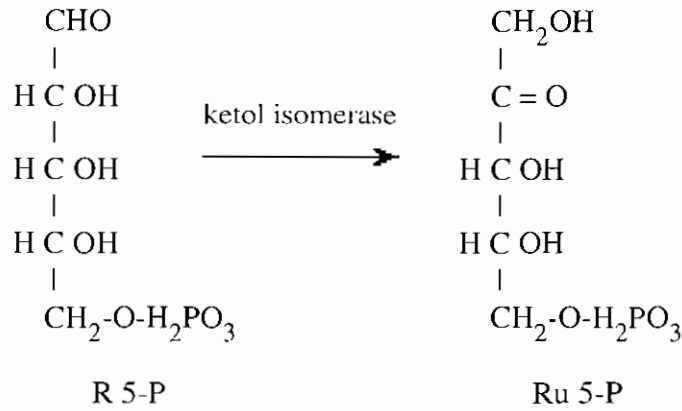


(٧) تستكمل بقية الخطوات مثل دورة HMP حيث فى وجود Transaldolase يرتبط E 4-P مع F 6-P ويحدث تفاعل انشقاقي Cleavage reaction ينتج عنه سيدو هيبتلوز ٧ - فوسفات (S 7-P) ، الجليسرلدهيد ٣ - فوسفات (GA 3-P) والذى يتبعه تفاعل انشقاقي ثان يلامسه Transketolase يتكون عنه ريبوز ٥ - فوسفات (R-5-P) ، الريبيلوز ٥ - فوسفات (Xu-5P) .

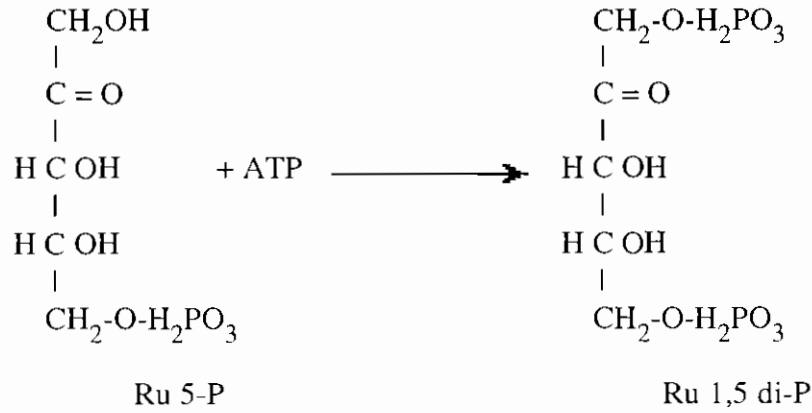
(٨) يتحول الزيليلوز ٥ - فوسفات إلى الريبولوز ٥ - فوسفات (Ru 5-P) فى وجود Ru 5-p 3-epimerase (EC 5.1.3.1) .



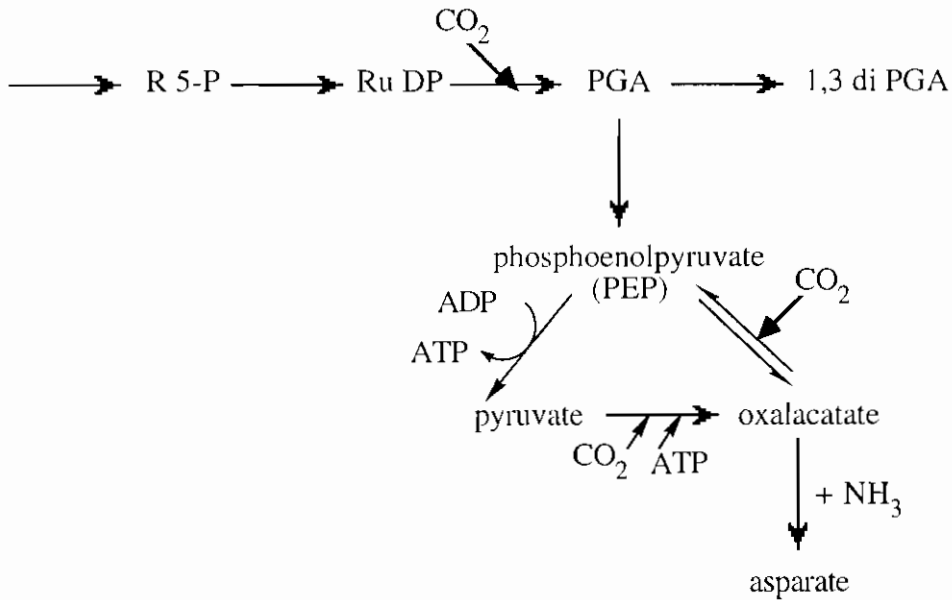
بينما يتحول الريبوز ٥- فوسفات (R 5-P) إلى ريبولوز ٥- فوسفات (Ru 5-P) في وجود انزيم R-5-P ketol isomerase (EC 5.3.1.6) .



(٩) الانزيم الثاني الذى يميز دورة كالفن ويغلق الدورة الحلقية هو phosphoribulokinase (EC 2.7.1.19) وهو يفسفر الريبولوز ٥- فوسفات إلى ريبولوز ١٥ دى فوسفات (Ru DP) الذى هو مفتاح الدورة والذى سميت باسمه .



ويُقاس حدوث أو غياب تثبيت كـ أم بواسطة دورة كالفن بتقدير نشاط انزيم ريبولوز دى فوسفات كربوكسيليز والذي عرف فى المراجع القديمة باسم Carboxy dismutase ومع ذلك فإنه ليس كل الميكروبات الاتوتروفية تستطيع القيام بدورة كالفن كما وصفت سابقاً فهناك بعض الميكروبات القليلة مثل *Chromatium* تتبع ميكانيكية أخرى قريبة منها تعتمد على احتياجها إلى خطوتين لتثبيت كـ أم بدلاً من واحدة .



شكل (٦-١٥) : دورة تثبيت كـ أم المضاعفة فى *Chromatium*

ففى هذا الميكروب ثبت أن حمض الاسبارتيك من النواتج الثابتة لعملية تثبيت ك أم وان ذلك يرجع إلى خطوة إضافة ك أم ثانية عند مستوى فوسفو اينول بيروفات يلامسها انزيم PEP Carboxylase (EC 4.1.1.31) وينتج عنها اوكسالواستيات . وبواسطة عملية نقل مجموعة الامين Transamination يتكون الاسبارت . ولهذا افترض أن *Chromatium* يستعمل دوره «تثبيت ك أم مضاعفة» كوسيلة سريعة لإدخال الكربون فى الأحماض العضوية ثم الامينية لتخليق مادة الخلية .

أسئلة للمراجعة

- ١ - اذكر ٥ مجاميع مختلفة للميكروبات Chemolithotrophs التى تقوم بعملية التنفس الهوائى .
- ٢ - «يتضمن أكسدة الامونيا إلى النيتريت انتقال ٦ (سته) الكترونات» ناقش هذه العبارة موضعاً المركبات الوسيطة وتعاقب سلسلة التفاعل .
- ٣ - «خطوة أكسدة الهيدروكسيل منتج للطاقة exergonic مما يدل على ارتباطها بنظام السلسلة التنفسية» وضح ذلك .
- ٤ - اشرح كيف تستطيع بكتريا التآزت (أو الكيموتروفية عموماً) الحصول على طاقتها (ATP) ، تكوين القوة المختزلة ($NADH.H^+$) اللازمة لتثبيت ك أم برغم أن جهد الأكسدة والاختزال لمواد تفاعلها أقل بكثير من جهد $NAD^+ / NADH_2$ ؟
- ٥ - اذكر أهم الفروق بين النظام الانزيمى لكل من *Nitrobacter* ، *Nitrosomonas* ؟
- ٦ - «تستطيع بكتريا *Hydrogenomonas* النمو اوتوتروفيا وهيتروتروفيا» ناقش هذه العبارة موضعاً الانزيم المسئول (Key) للنمو الاتوتروفى ، الظروف اللازم توافرها لتكوين بولى هيدروكسى بيوترات ، تأثير الايدروجين H_2 -effect ؟
- ٧ - اشرح الفارق بين ميكروبى أكسدة الحديد .
Ferrobacilles ferrooxidans & Thiobacillus ferrooxidans
- ٨ - اشرح السلسلة التنفسية لميكروبات Thiobacilli .
- ٩ - اشرح المصطلحات التالية :
Obligate Facultative , assimilatory autotrophs
وكذا
Chemolithotrophic heterotroph, Mixotroph
- ١٠ - اشرح سلسلة انتقال الالكترون لميكروب mixotroph يستطيع أكسدة المركبات الغير عضوية مثل السلفيت ، أو المركبات العضوية مثل الجلوكوز تحت الظروف الهوائية ؟
- ١١ - ما هو الفرق بين Sulfate oxidation ، assimilatory Sulfate reduction ،
dissimilatory Sulfate reduction ؟
- ١٢ - اشرح لماذا وضعت الخمس مجاميع بكتيرية السابقة تحت مسمى aerobic chemo- lithotraphs ومدى انطباق شروط Kelly عليها .
- ١٣ - ماذا يعنى « دورة تثبيت ك أم المضاعفة » ؟ وأين تلاحظ وما أهميتها ؟

المراجع

1. Aleem, M.I.H. and Lee, H. (1963). ATP-dependent reduction of NAD by ferrocyclochrome C in chemolithotrophic bacteria. Nature (London) 200 : 759.
2. Aleem, M.I.H. (1965). Thiosulfate oxidation and electron transport in *Thiobacillus novellus*. J. Bacteriol. 90 : 95.
3. Anderson, K.J. and Lundgren, D.G. (1969). Enzymatic studies of the iron-oxidizing bacterium. Can. J. Microbiol. 15 : 73.
4. Blackkolb, F. and Schlegel, H.G. (1968). Regulation der Glukose-6-phosphate DH aus *Hydrogenomonas* H16 durch ATP und NADH₂. Arch. Mikrobiol. 63 : 177.
5. Delwiche, C.C. (1981). Denitrification, nitrification and atmospheric nitrous oxide. John Wiley & Sons Inc., New York.
6. Doelle, H.W. (1975). Bacterial metabolism 2nd Ed. Academic Press, New York.
7. Gundersen, K. (1968). The formation and utilization of reducing power in aerobic chemolithotrophic bacteria. Z. Allg. Mikrobiol. 8 : 445.
8. Hurlbert, R.E. and Lascelles, J. (1964). Ribulose diphosphate carboxylase in Thiiorhodaceae. J. Gen. Microbiol. 33 : 445.
9. Kelly, D.P. (1967) Problems of autotrophic microorganisms. Sci. Progr. (London), 55 : 35.
10. Lees, H. (1954). The biochemistry of nitrifying bacteria. Symp. Soc. Gen. Microbiol. 4 : 84.
11. Peck, H.D., Jr. (1968). Energy-coupling mechanisms in chemolithotrophic bacteria. Annu. Rev. Microbiol. 22 : 489.

12. Ramsay, H.H. (1968). Autotrophic and Heterotrophic metabolism in *Hydrogenomonas facilis*. *Antonie van Leeuwenhoek, J. Microbiol. Serol.* 34 : 71.
13. Rittenberg, S.C. (1969). The role of exogenous organic matter in the physiology of chemolithotrophic bacteria. *Advan. Microbiol. Physiol.* 3 : 159.
14. Rose, A.H. (1965). *Chemical Microbiology*. Butterworth, London.
15. Schlegel, H.G. (1966). Physiology and biochemistry of Knallgas bacteria. *Advan. Comp. Physiol. Biochem.* 2 : 185.
16. Schön, G. (1965). Untersuchungen über der Nutzeffekt von *Nitrobacter winogradskyi* Buch. *Arch. Mikrobiol.* 50 : 111.
17. Tabita, R. and lundgren, D.G. (1971). Heterotrophic metabolism of the chemolithotrophic *Thiobacillus ferrooxidans*. *J. Bacteriol.* 108 : 334.
18. Trudinger, P.A. (1967). The metabolism of inorganic sulfur compounds by Thiobacilli. *Rev. Pure Appl. Chem.* 17 : 1.
19. Umbreit, W.W. (1962). Comparative physiology of autotrophic bacteria. *Bacteriol. Rev.* 26 : 145.
20. Yoshida, T. and Alexander, M. (1964). Hydroxylamine formation by *Nitrosomonas europaea*. *J. Biochem.* 75 : 1265.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الباب السابع

التنفس الهوائى

Chemoorganotrophic bacteria

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

يحصل عدد كبير من الميكروبات وخلايا حية أخرى على طاقتها من أكسدة المركبات العضوية بواسطة جزئ الأوكسجين وذلك في سلسلة من التفاعلات التي تلامسها مجموعة متخصصة من الأنزيمات. ونتاج الأكسدة الكاملة هو ك_أ، يد_أ. والالكترونات المنطلقة من مادة التفاعل أثناء هذه الأكسدة تنساب خلال حوامل خاصة متدرجة الجهد وفي النهاية إلى الأوكسجين كمستقبل نهائي. وأثناء ذلك يتكون ATP اللازم لعملية التخليق الحيوي. ولقد ذكرت سابقاً العمليات (الدورات) التي تؤدي لتكوين البيروفات من السكريات السداسية والخماسية والثلاثية أما أكسدة البيروفات الكاملة إلى ك_أ، يد_أ فتلاحظ من خلال ما يسمى دورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل TCA أو دورة كريس (نسبة لمكتشفها) أو دورة حمض الستريك (مفتاح الدورة).

١.٧ دورة حمض الستريك (TCA) Tricarboxylic acids cycle

● بالإضافة لدورها في أكسدة الأحماض العضوية وتكوين الطاقة فإنها تلعب دوراً هاماً في عملية التخليق الحيوي لمادة الخلية حيث ينتج عنها ٢ - أوكسوجولوتارات التي تعتبر بادرة تكوين حمض الجلوتاميك الذي يعتبر مفتاح تكوين الأحماض الأمينية والبروتين أو الأوكسالو اسيتات وما يتبعها من تكوين حمض الأسبارتيك وبقية الأحماض الأمينية.

١.١.٧ تكوين أسيتيل كوانزيم A :

- تستقبل دورة حمض الستريك حمض الأسيتيك في صورة أسيتيل كوانزيم A حيث ينزع ك_أ من حمض البيروفيك ويتكون حمض ثنائي الكربون منشط . وخطوة تكوين أسيتيل كوانزيم A يشارك فيها ٣ إنزيمات مختلفة بالإضافة إلى المرافقات الإنزيمية التالية:

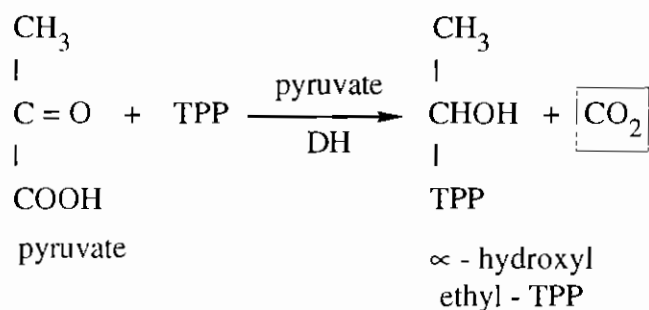
الثيمين بيروفوسفات (TPP) ، حمض الليبوثيك ، NAD^+ .

أما الانزيمات الثلاث فهم :

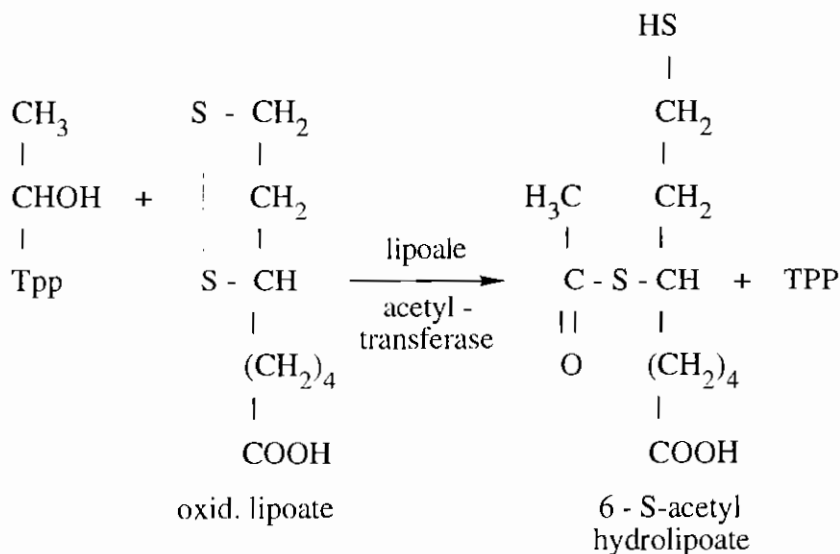
- Pyruvate dehydrogenase (EC 1.2.4.1)
- Lipoate acetyl transferase (EC 2.3.1.12)
- Lipoamide dehydrogenase (EC 1.6.4.3)

وتسلسل خطوات تكوين أسيتيل كوانزيم A كالتالي :

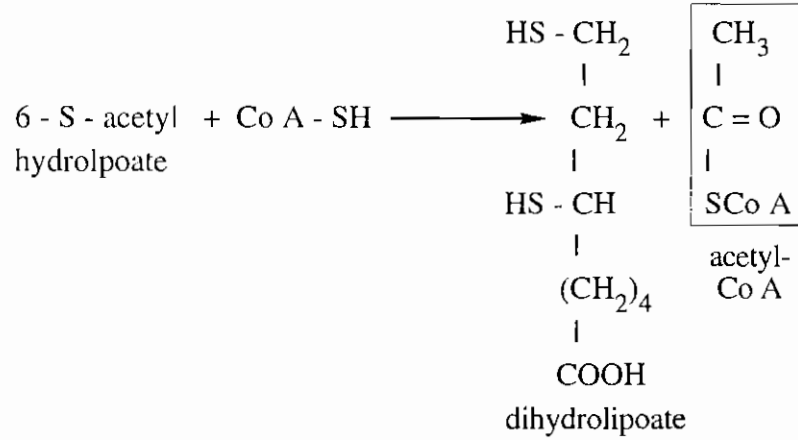
خطوة (١) : دخول البيروفات في Carbanion للثيمين فوسفات وحدوث عملية نزع ك أ_٢ وتكوين الهيدروكسيل إيثيل ثيمين فوسفات ويلامسها إنزيم (a) .



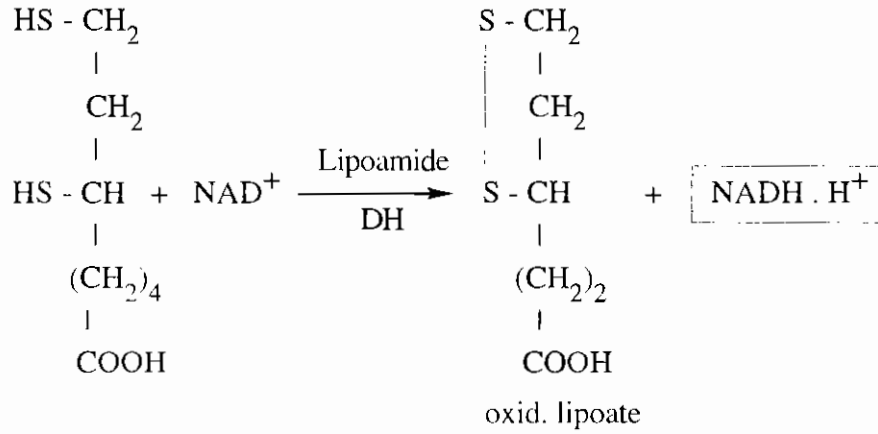
خطوة (٢) : نقل مجموعة الهيدروكسيل إيثيل إلى حمض الليبويك مع حدوث أكسدة لها أثناء النقل لتتحول إلى مجموعة أسيتيل ويكون المركب 6 - S - acetyl hydroliipoate ويلامسها إنزيم (b) .



ويعقب ذلك نقل مجموعة الأسيتيل إلى مجموعة الثيول (ذرة الكبريت) للمرافق CoA ويتبقى دي هيدروليبوات .



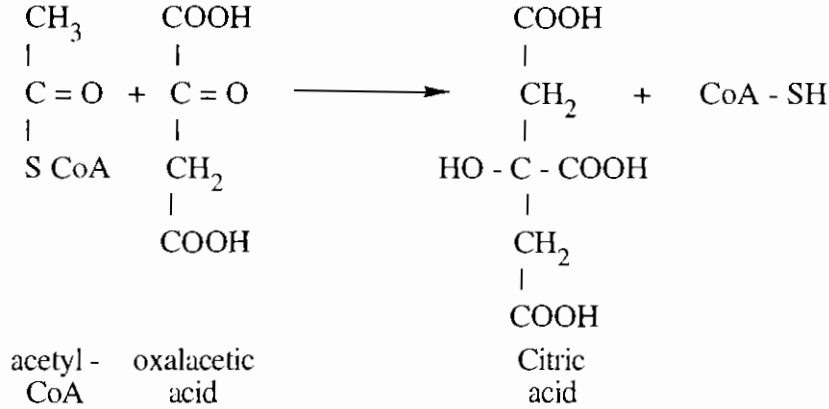
خطوة (3) : ويلامسها إنزيم (C) وهي أكسدة الدهيدروليبونات إلى ليبونات مع اختزال NAD^+ .



أما دور CoA فينظر له كحامل لمجاميع الأستيل مثل ATP حامل لمجاميع الفوسفات، NAD^+ حامل للإلكترونات في الخلية . والطاقة الناتجة عن تحلل hydrolysis مركب أستيل كوازيم A حوالي $\Delta F = - 8800 \text{ cal/mole}$ وهي أعلى من الطاقة الحرة الناتجة من تحلل ATP وتعتبر مجموعة الأستيل هي الوقود المحرك لدورة TCA .

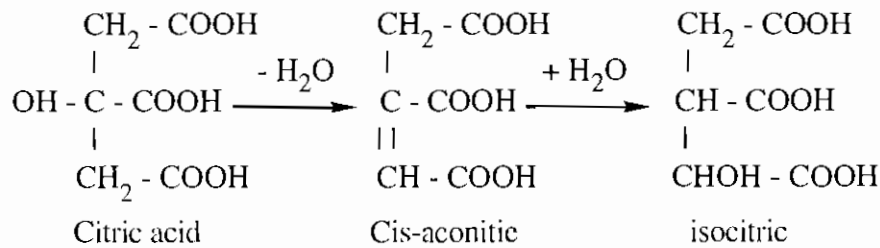
٢٠١٧ خطوات دورة TCA :

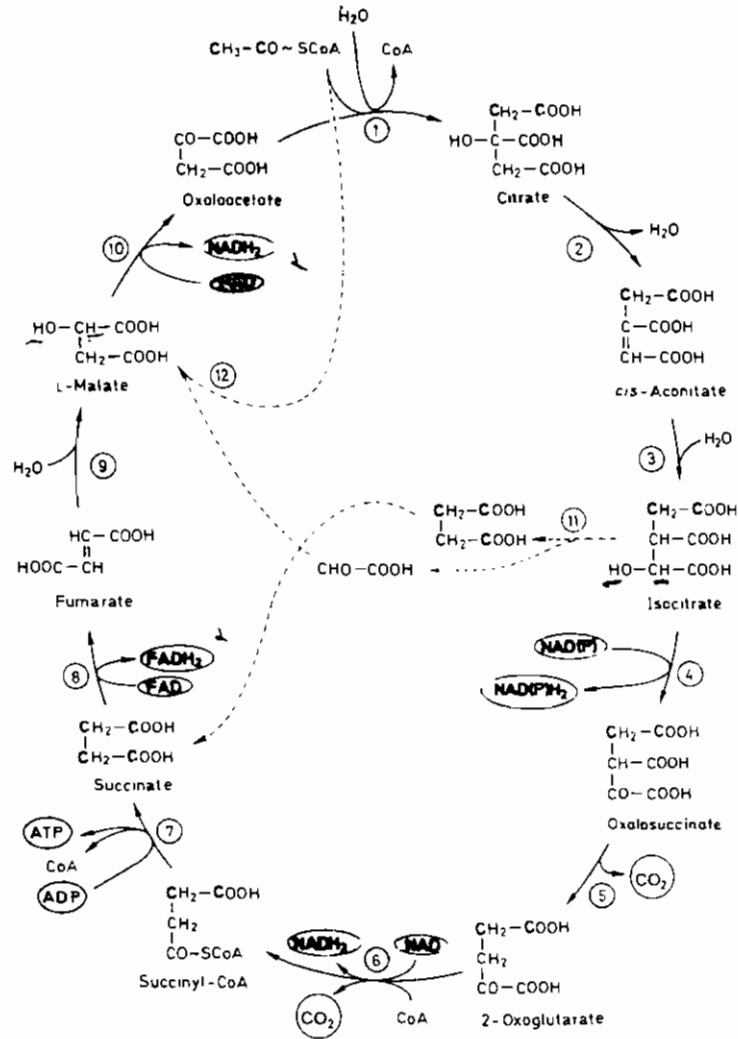
وأولى خطوات دورة TCA هو إعطاء (نقل) مجموعة الأستيل المرتبطة مع كواتزيم A إلى حمض رباعي الكربون ثنائي الكربوكسيل هو أوكسالواستات لتكوين حمض الستريك الثلاثي الكربوكسيل (مفتاح الدورة) ويتحرر CoA الذي يعاود الدخول في تكوين أستيل كواتزيم جديد .



ويلا مس هذا التفاعل إنزيم Citrate synthase (EC 4.1.3.7) ويعرف أيضاً باسم Citrogenase وأيضاً oxalacetate transacetase ويُنَبِّط بواسطة H^+ . NADH أحد نواتج الدورة فيما يعرف بـ "allosteric effect" ولم يلاحظ هذا التثبيط في الثدييات أو الخمائر ولكنه يبدو متخصصاً جداً للميكروبات . وأظهرت تنقية الإنزيم بواسطة أعمدة الفصل الكروماتوجرافي وجود نوعين من Citrate synthase . أحدهما ذو حجم كبير وهو حساس لـ $\text{NADH} \cdot \text{H}^+$. والآخر ذو حجم جزيئي صغير . وكذلك يُنَبِّط الإنزيم بواسطة أوكسوجلوتارات بنفس الطريقة السابقة "allosteric inhibition" .

الخطوة الثانية : هي تكوين Cis - aconitate ثم isocitrate في وجود إنزيم aconitate hydratase (EC 4.2.1.3) الذي يلا مس كلا التفاعلين .

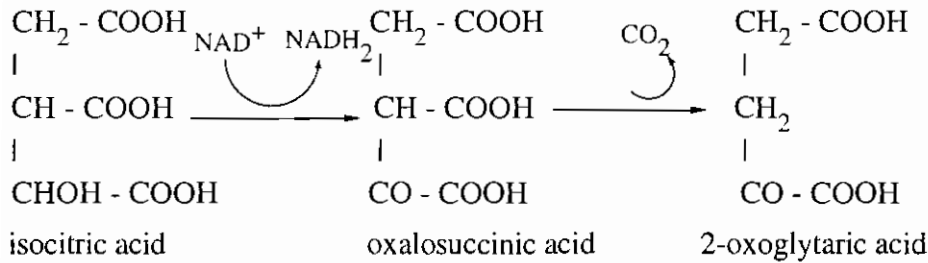




شكل (١.٧) : دورة حمض الستريك (TCA) ، تفرعه glyoxylate في التنفس الهوائي
 نقلاً عن شليجل ١٩٨٦ .

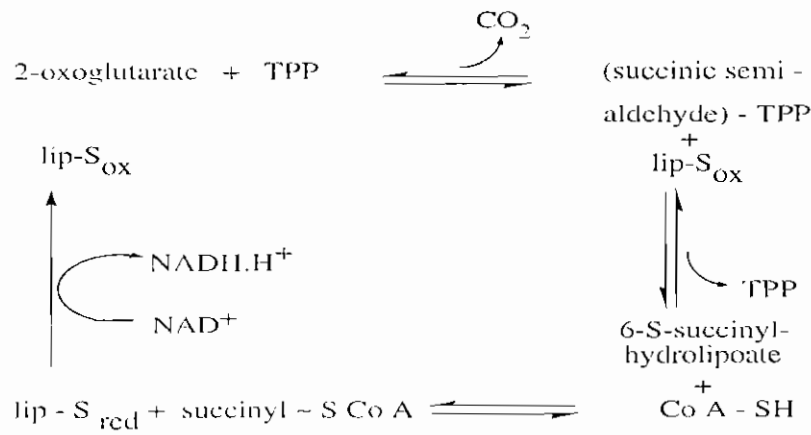
والأحماض الثلاثة توجد في حالة توازن معاً أو بمعنى آخر تكون خليطاً متوازناً .

الخطوة الثالثة : تحول أيسوستريك إلى أوكسالوسكسينات في وجود إنزيم (EC 1.1.1.4) isocitrate dehydrogenase ومنتجا $\text{NADH} \cdot \text{H}^+$ وبنفس الإنزيم يلامس تحول أوكسالوسكسينات إلى أوكسو جلوتارات وينطلق ك H^+ وهو أحد جزيئين ينطلقان من الأستيل الذي غذيت به الدورة .



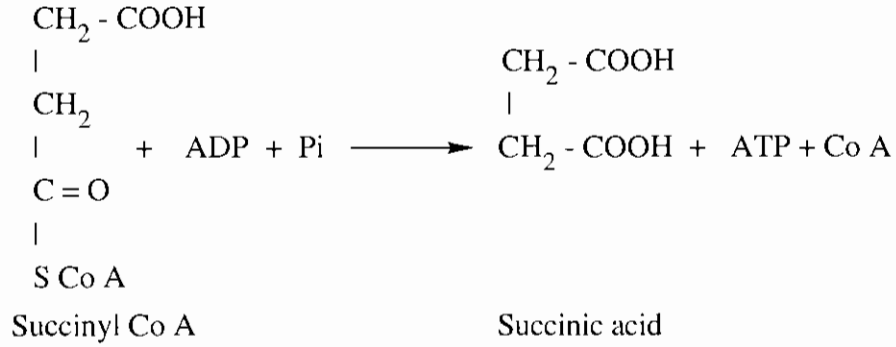
ويعتبر isocitrate نقطة التفرع لدورة glyoxylate وجدير بالذكر أن البكتريا تفضل استخدام المرافق الإنزيمي NADP^+ مع إنزيم isocitrate DH بينما الفطريات والخمائر متخصصة للمرافق NAD^+ .

الخطوة الرابعة : هي تحول أوكسو جلوتارات إلى سكسينيل كوانزيم A وينطلق ك H^+ (الجزئ الثاني) وذلك في وجود إنزيم 2-oxoglutarate DH (EC 1.2.4.2) وهو معتقد إنزيمي يحتاج وجود الثيمين بيروفوسفات (TPP) ، حمض الليبوثيك ، Co A ، Mg^{++} ، NAD^+ مثل البيروفات ديهيدروجينيز السابقة شرحه . ويتأكسد NADH_2 المتكون من خلال سلسلة انتقال الالكترونات .

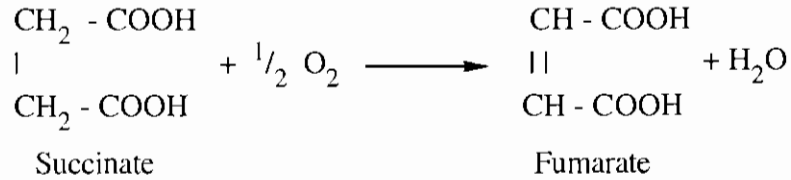


ويلعب معقد الأكسوجنوتارات ديهيدروجينيز دوراً تنظيمياً هاماً في البكتريا اللاهوائية الاختيارية وهو حساس جداً لنقص الأكسجين .

الخطوة الخامسة : يتحول سكسينيل كوانزيم A إلى حمض السكسينيك بملامسة إنزيم Succinyl- Co A Synthetase (EC 6.2.1.5) مع تحرير Co A وتكوين جزئ ATP .

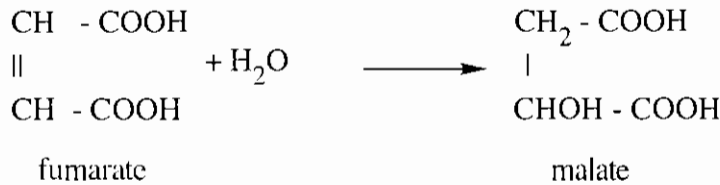


الخطوة السادسة : هي أكسدة السكسينات إلى الفيوماترات بواسطة إنزيم Succinate dehydrogenase (EC 1.3.99.1)

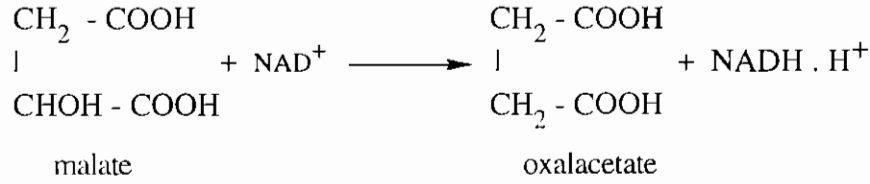


وثبت أن إنزيم السكسينات ويهدروجينز مرتبط بقوة بسلسلة انتقال الإلكترون وتدخل الالكترونات عند مستوى الفلافوبروتين حيث يتكون FADH_2 . ويثبط هذا الانزيم بقوة بواسطة الأكسالواسيتات .

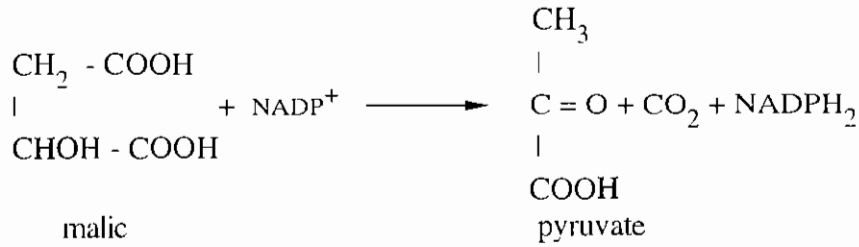
الخطوة السابعة : عبارة عن عملية هدرجة للفيوماترات عند الرابطة المزدوجة لتكوين المالات في وجود إنزيم Fumarate hydratase أو ما يسمى Fumarase (EC 4.2.1.2) .



الخطوة الثامنة (الأخيرة) : هى أكسدة المالات إلى أوكسالواسيتات بتأثير إنزيم malate dehydrogenase (EC 1.1.1.37) ويتكون NADH.H^+ .

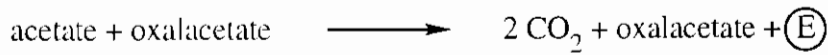


ويتكون هذا الإنزيم من ٤ تحت وحدات فى *Bacillus stearothermophilus* ويبلغ وزنه الجزيئى 117.000 بينما فى *E. coli* يتكون من ٢ تحت وحدة فقط ووزن الجزيئى 60.000 وتستطيع *E. coli* استخدام NADP^+ كمرافق للإنزيم (Malic DH) بدلاً من NAD^+ . وهناك فرق جوهري بينهما : حيث الإنزيم المرتبط بـ NAD^+ يكون Constitutive ويلعب دوراً هدمياً بينما الإنزيم المرتبط بـ NADP^+ فهو inducible ويبدو أنه يلعب دوراً تخليقياً فى تحولات الاحماض رباعية الكربون حيث يلامس تحول الماليك إلى البيروفات كما فى التفاعل :

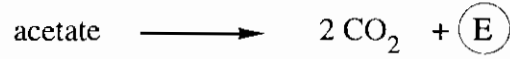


ويختلف نشاط صورتي الإنزيم باختلاف تركيب بيئة النمو . فإنزيم malic DH المرتبط بـ NADP^+ يشبط بقوة بواسطة اوكسالواسيتات بينما المرتبط بـ NAD^+ يتأثر تأثيراً طفيفاً به . وهذا يشير إلى أن الإنزيم الأول ذو طبيعة allosteric protein حيث يتأثر نشاطه بواسطة تراكم نواتج تفاعله "Feed back inhibition".

الخلاصة : يتبين من تفاعلات (خطوات) دورة TCA وأن جزيئ اسيتيل كوانزيم A وجزيئ أوكسالواسيتات قد دخلا وأنه نتج ٢ جزيئ ك أ٣ وجزيئ أوكسالواسيتات بالإضافة إلى الطاقة ويمكن التعبير عن ذلك بالمعادلة :



وبخصم أوكسالو اسيتات من طرفى المعادلة فإنها تأخذ الشكل النهائى :



أى أن جزئى الجلوكوز يتأكسد من خلال دورة EMP إلى ٢ بيروفات والذى يتأكسد كل جزئى منه بواسطة Pyruvate dehydrogenase إلى أسيتيل كوانزيم A + ك أ ثم تتأكسد الأسيتات من خلال دورة TCA إلى ٢ ك أ فيكون الناتج ٦ ك أ .

أما حسابات الطاقة بالنسبة لجزئى جلوكوز تم أكسدته أكسدة كاملة عبر دورة EMP ، ثم دورة TCA وكل الأيدروجين تم أكسدته إلى H₂O من خلال السلسلة التنفسية كالتالى :

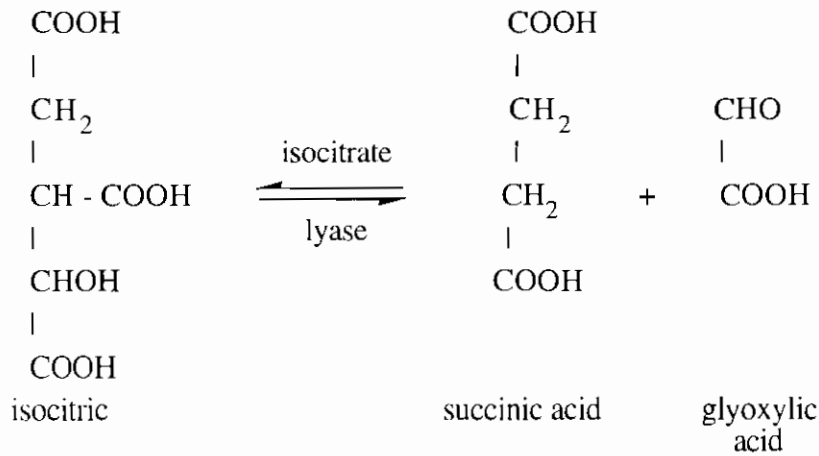
- ٢ جزئى NADH₂ من دورة EMP .
 - ٢ جزئى NADH₂ من Pyruvate DH (خطوة تكون اسيتيل كوانزيم A)
 - ٢ × ٣ جزئى NADH₂ من دورة TCA .
 - ٢ جزئى FADH₂ من دورة TCA .
- المجموع ١٠ جزئيات NADH₂ + ٢ جزئى FADH₂ واعتبار P/O ratio = ٣ ، ٢ ، على الترتيب . فالناتج هو (٣ × ١٠) + (٢ × ٢) = ٣٤ جزئى ATP بالإضافة إلى ٢ - ٢ مول ATP من دورة EMP - ٢ مول ATP من خطوة سكسينيل كوانزيم A فى دورة TCA . فيكون الناتج النهائى هو ٣٨ جزئى ATP لكل ١ جزئى جلوكوز تم أكسدته أكسدة كاملة .



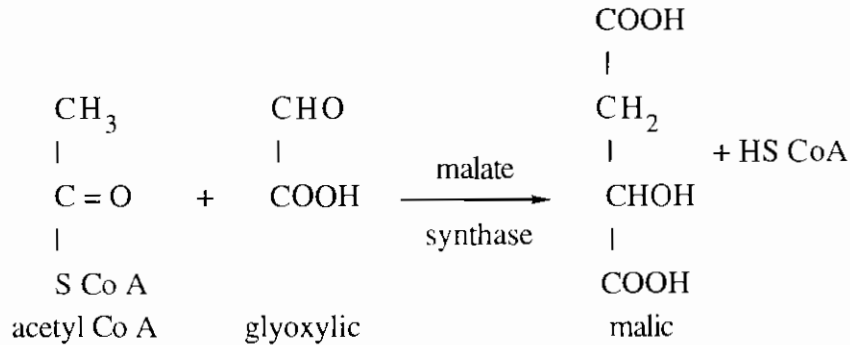
وهذه الحسابات تسرى على معظم البكتريا وفى الميتاكوندريا للكائنات الأرقى . ولكن هناك عدد من البكتريا يوجد بها ٢ نقطة فسفرة فقط لانتقال الالكترون من NADH₂ أى أن النسبة P / O هى ٢ فقط وفى هذه الحالة - كما فى *E. coli* مثلاً - فإن أكسدة الجلوكوز هوائياً تنتج فقط ٢٦ جزئى ATP .

٢.٧ دورة Glyoxylate (DCA)

وتعرف بدورة الأحماض ثنائية الكربوكسيل (DCA) أو دورة Krebs - Kornberg . حيث قاد اكتشاف الإنزيم isocitrate lyase (EC 4.1.3.1) ، malate synthase (EC 4.1.3.2) إلى وجود ميكانيكية حلقية لإعادة تكوين الأحماض رباعية الكربون ثنائية الكربوكسيل داخل دورة TCA . وهي ذات أهمية كبيرة في تحولات الأحماض الدهنية قصيرة السلسلة وتسمى بدورة glyoxylate . وفيها ينشق الأيسوسترات إلى سكسينات ، جليوكسالات بمساعدة إنزيم isocitrate lyase .



والخطوة الثانية في هذه التفرعة تتضمن اتحاد أسيتيل كوانزيم A مع الجليوكسالات مكوناً المالات في وجود إنزيم malate synthase .



ولا يحدث هدم للأسيتات مع انطلاق طاقة ولكن تتكون أحماض رباعية الكربون ثنائية

الكربوكسيل. والتحويلات التالية لهذه الأحماض تعطى البادئات لأغلب مكونات الخلية مثل الأوكسال أسيتات الذى يشتق منه الأسبارتيك وغيره من الأحماض الأمينية .

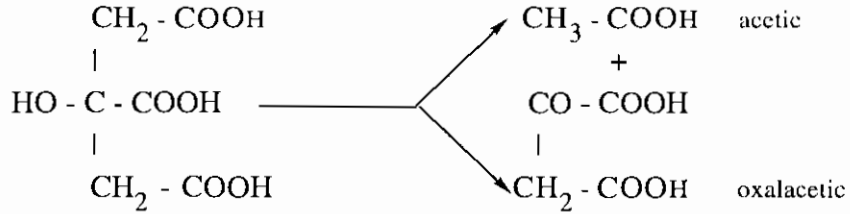
٣.٧ تحولات الأحماض الكربوكسيلية Carboxylic acid metabolism

١.٣.٧ تحولات السترات Citrate metabolism

تستخدم الكائنات نظام نفاذية خاص مرتبط بالطاقة يتمكن من نقل السترات وتمثيلها أيضاً تحت الظروف الهوائية أو بطريقة التخمر كما فى *Enterobaeteria* ، *Halobacterium sp.* ، *Pseudomonas sp.*

- فتحت الظروف الهوائية تمثل السترات عبر الدورة TCA إلى الأوكسال أسيتات والذى يتحول إلى البيروفات بنزع ك⁺ منه بملامسة إنزيم (EC 4.1.1.3) oxalacetate decarboxylase فى بيئة خالية من الصوديوم . وتحول البيروفات عبر دورة gluconeogenesis (عكس دورة EMP) وفى وجود أسيتات كوانزيم A إلى أحماض دهنية عالية ومنها تتكون مادة الخلية خلال دورات التخليق الحيوى المختلفة. وقد لوحظ ذلك فى *Halobaeterium salinarum* ، *Pseudomanas aeruginosa* على سبيل المثال .

- أما طريقة التخمر والذى يحدث تحت ظروف لاهوائية أو هوائية أحياناً فيبدأ بتفاعل أنقسامى للسترات إلى الأسيتات والأكسال اسيتات بملامسة إنزيم Citrate lyase (EC 4.1.3.6) .



ثم يحدث نزع لجزئ⁺ ك⁺ من الأكسال أسيتات ويتكون البيروفات بواسطة نوع آخر من إنزيم oxalacetate decarboxylase والذى يتميز بعدم حساسيته تجاه EDTA واحتياجه المطلق إلى الصوديوم حيث فى غياب Na⁺ لا يتحول السترات مطلقاً بطريقة التخمر. وقد وجدت بعض الميكروبات مثل *Salmonella typhimurium* ، *Aerobacter aerogenes* تستطيع استعمال السترات هوائياً فى بيئة الصوديوم بطريقة التخمر .

وقد أكتشف Sachan & stern سنة ١٩٧١ وظيفة أخرى لإنزيم oxalacetate decarboxylase حيث يعمل كحامل بروتيني في عملية انتقال السترات إلى داخل الخلية. وهذا الإنزيم المنشط بالصوديوم يُحفز induced بوجود السترات وربما يُفسر وضعه كأحد مكونات نظام الانتقال في الغشاء سبب تمثيل السترات العالي تحت الظروف الهوائية.

والفرق الرئيسي بين التحولات تحت الظروف الهوائية واللاهوائية هو تفاعل انقسام السترات حيث يغيب إنزيم oxoglutarate dehydrogenase تحت الظروف اللاهوائية. ولم تشاهد دورة glyoxylate أثناء تحولات السترات سواء هوائياً أو لاهوائياً .

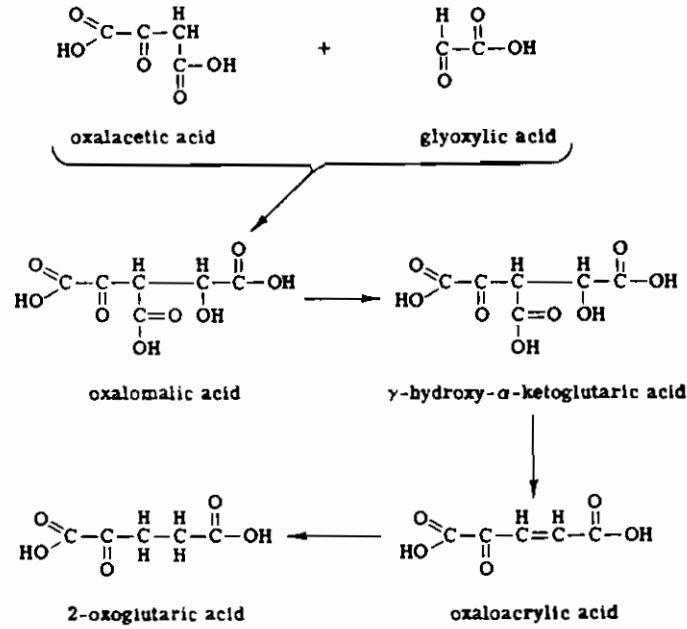
٢.٣.٧ تحولات المالات Malate metabolism

درست تحولات المالات تحت الظروف الهوائية بواسطة *Azotobacter vinelandii* ، *Pseudomonads* وبينما يؤكد *A. vinelandii* المالات بواسطة مالات ديهيدروجينز مرتبط بـ FAD فإن *Pseudomonads* تستخدم مالات ديهيدروجينز مرتبط بـ NAD^+ (EC 1.1.1.40) لأكسدة المالات إلى أوكسال أسيتات .

ويستطيع ميكروب *Acetobacter xylinum* تكوين الأوكسال أسيتات اذا نعى على المالات ولكن بميكانيكية أخرى . حيث تختلف عن malic - NAD^+ dehydrogenase (Ec 1.1.1. 38) لانه ثبت أن حتى في وجود هذا الإنزيم لا يتراكم الأوكسال أسيتات .

يبدو أن الميكروب لا يؤكسد المالات في خطوة واحدة ولكن يحتاج لخطوتين : الأولى مع NAD^+ malate DH (EC 1.1.1.37) لتكوين الأوكسال أسيتات ثم oxalacetate de carboxylase لتزج ك CO_2 وتكوين البيروفات .

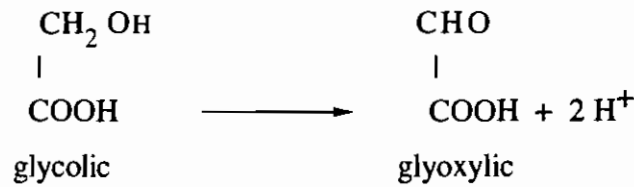
وبالرغم من أن ميكروب *Acetomonas suboxydans* لا يمتلك إنزيمات دورة TCA فإنه يلاحظ تكوين 2-oxoglutarate وذلك أما عن طريق ٢ - كيتوجلوتارات أو ٢,٥ داي كيتو جلوكونات أو يستعمل طريق آخر كما بالتفاعل التالي :



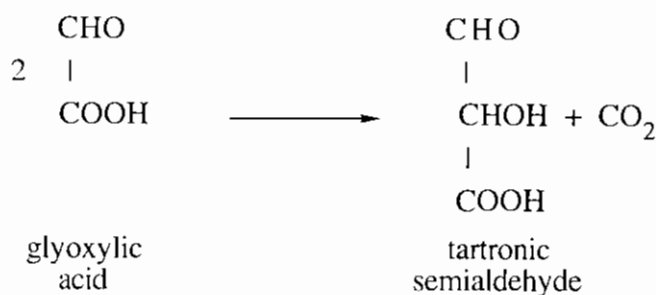
شكل (٢.٧) : تكوين أوكسوجلوتارات بواسطة *Acetomonas suboxydans*

٢.٢.٧ تحولات الجليولات Glycolate metabolism

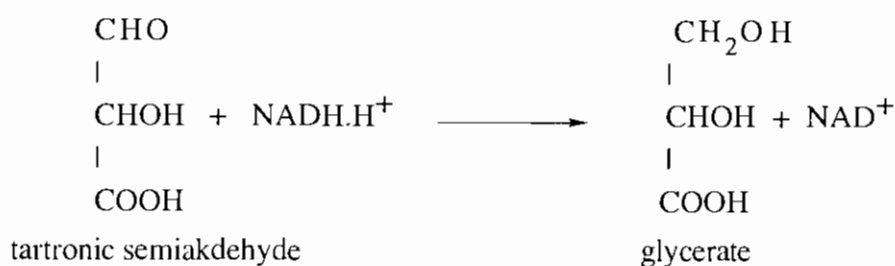
يتطلب نمو الميكروبات على المركبات ثنائية الكربون كمصدر وحيد للكربون ولتكوين مادة الخلية الدخول في بعض التفاعلات الأولية لتكوين مركب وسطي ذو مستوى أكسدة أعلى من الأسيتات حتى يستطيع الدخول في دورة TCA أو دورة glyoxylate . وتتأكسد الجليولات إلى الجليوكسالات glyoxylate بواسطة إنزيم غير معروف يشبه - FAD glycolate oxidase (EC 1.1.3.1) في النباتات وهذا التفاعل يحتاج جزئ أكسجين ويتج طاقة $\Delta F = - 41 \text{ Kcal / mole}$ عند $\text{pH} = 8.0$.



ويتأثير Carboligase (EC 4.1.1.47) يتكثف ٢ جزئ glyoxylate معاً لتكوين المركب الوسطي المطلوب tartronic semialdehyde وينطلق ك⁺ أ .



ويختزل إنزيم (EC 1.1.1.60) tartronic semialdehyde reductase المركب
الوسيطي إلى جليسيرات في وجود NADH.H^+ .

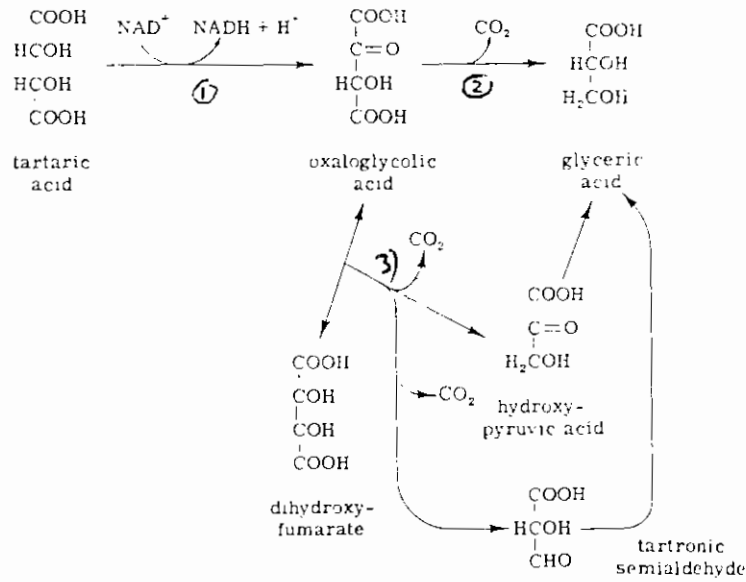


ثم تحدث عملية فسفرة للجليسيرات بواسطة (EC 2.7.1.31) glycerate kinase
ويتكون ٣ - فوسفو جليسيرات والذي يتحول إلى البيرفات عبر فوسفات أينول بيروفات.
ويبدل النشاط السعالي لإنزيمي isocitrate lyase ، malate synthase على استخدام دورة
glyoxylate في الأكسدة الكاملة للجليكرولات إلى ك آه .

كما أن بعض pseudomonads يستطيع اختزال glyoxylate إلى glycolate بملامسة
إنزيم (EC 1.1.1.26) glyoxylate reductase .

٤.٣.٧ تحولات الطرطرات Tartrate metabolism

يستطيع ميكروبي *Pseudomonas putida* ، *Ps. acidovorans* تكوين حمض
الجليسيريك من L (+) - or meso-tartaric acid كما بالرسم التالي :



شكل (٣.٧) : تحولات الطرطرات

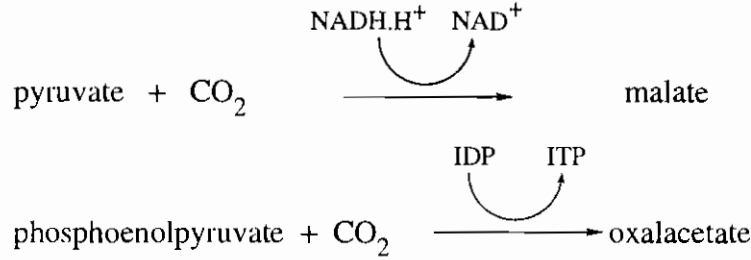
ويلامس التفاعل (١) إنزيم tartarate dehydrogenase (EC 1.1.1.93) وهو متخصص للطرطرات ولا يهاجم L (-) or D (+) malic acid .

أما التفاعل (٢) فيلامسه إنزيم oxaloglycolic reductase (EC 1.1.1.92) مع حدوث نزع لجزي ك أ_٢ .

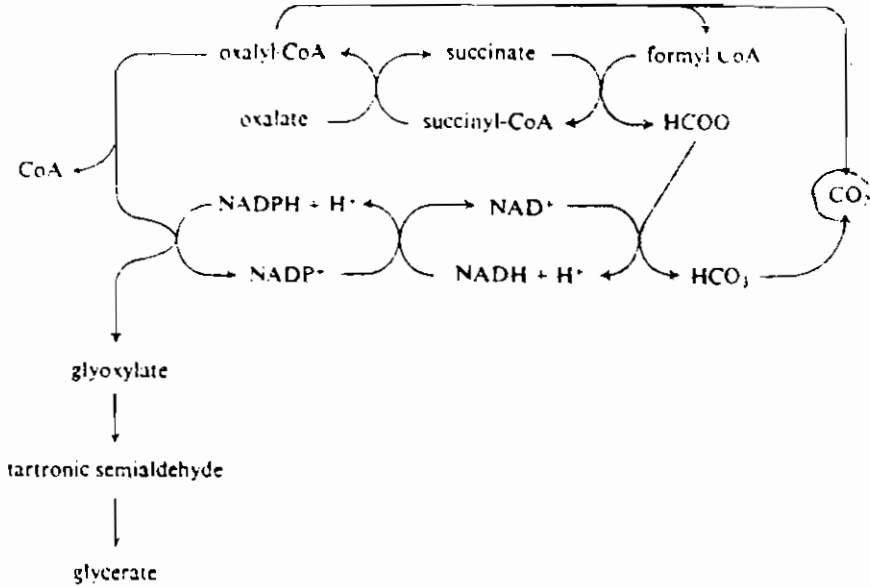
أما تفاعل (٣) فهو تفاعل غير إنزيمي ويلامسه كاتيون Mg^{++} ويتم فيه نزع ك أ_٢ من oxaloglycolic لتكوين هيدروكسي بيروفات أو طرطرات سمي الدهيد وكلاهما سهل التحول إلى الجليسيرات بواسطة hydroxy pyruvate reductase (Ec 1.1.1.29) ويرافقه $NAD(P)H \cdot H^+$ الذي يتأكسد إلى $NAD(P)^+$ للمركب الأول أو إنزيم tartronic semi aldehyde reductase (EC 1.1.1.60) الذي يختزل إلى $NADH_2$ ويحتمل أن تحدث فسفرة لحمض الجليسريك مكوناً ٣ - فوسفو جليسيرات والذي يدخل دورة EMP مكوناً البيروفات والذي يدخل بدوره في TCA وتحدث الأكسدة الكاملة حتى ك أ_٢ ، يد أ_٢ .

٥.٣.٧ تحولات الأوكسالات والفورمات Oxalate & Formate metabolism

يستطيع ميكروب *Pseudomonas oxalaticus* النمو على الفورمات أو الأوكسالات كمصدر وحيد للكربون. حيث يؤكسد الفورمات بواسطة Formate dehydrogenase (EC 1.2.2.1) وينتج كأم الذي يثبت بواسطة ميكانيكية تشبه دورة كالفن حيث يدخل كأم عند مستوى فوسفوجليسيرات أو المالات. ويمكنه تثبيت كأم أيضاً عند مستوى البيروفات أو الفوسفواينول بيروفات



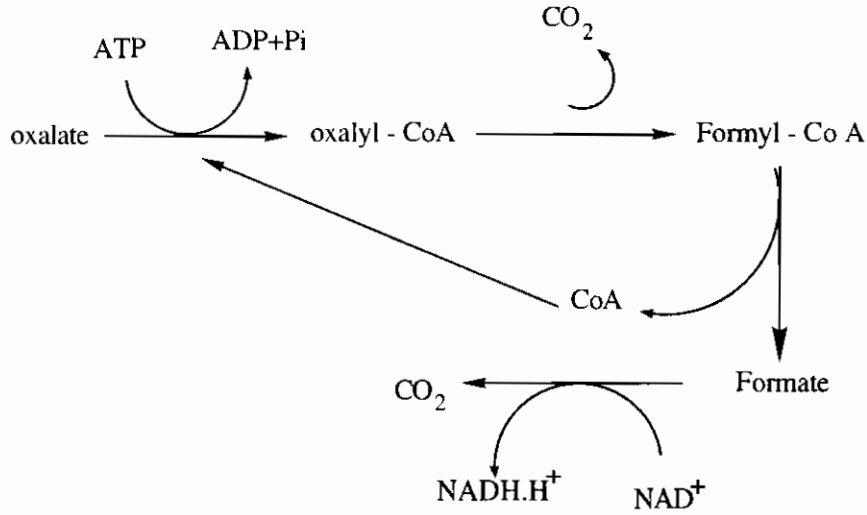
أما إذا نمى *Ps oxalaticus* على الأوكسالات فإن إنزيم - ريبيلوز دي فوسفات كربوكسيليز (EC 4.1.1.39) يغيب ولهذا تتعطل دورة كالفن. وقد اقترح Kornberg سنة ١٩٥٩ الدورة التالية :



شكل (٤.٧) : تحولات الأوكسالات والفورمات في *Ps. oxalaticus*

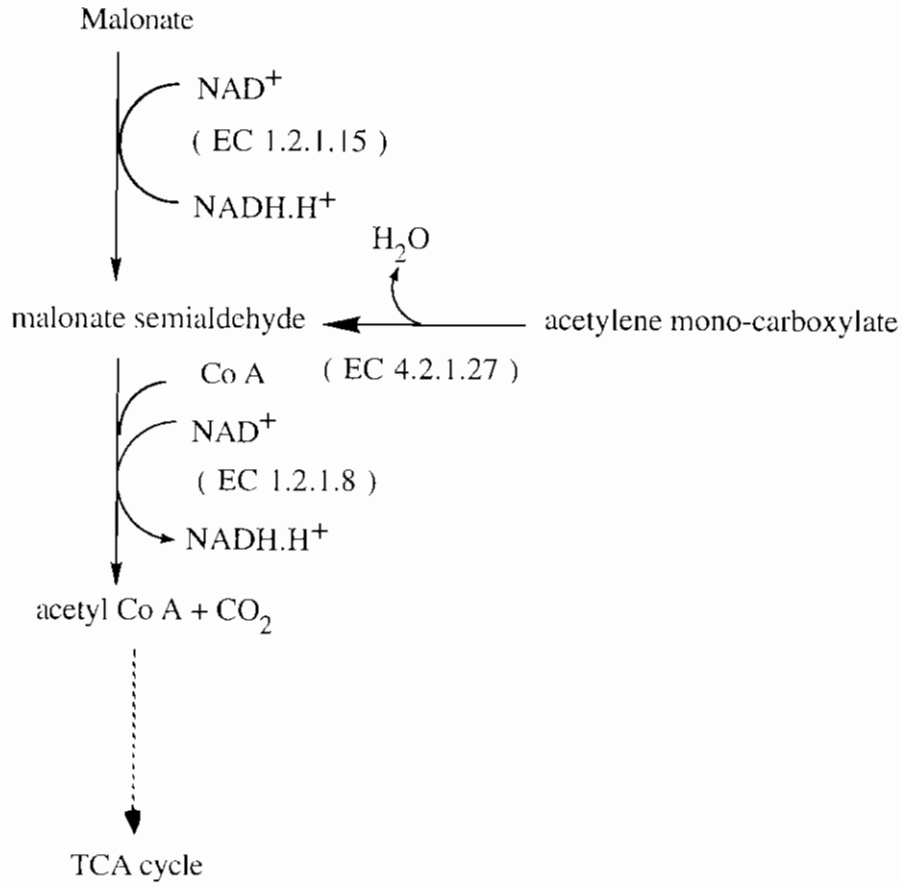
حيث تتأكسد الأوكسالات إلى glyoxylate . ولكى تعمل دورة TCA ، ودورة glyoxylate لابد من تكون أسيتيل كوانزيم A وذلك عن طريق بعض المركبات الوسيطة والبيروفات كما أن أسيتيل كوانزيم A مع glyoxylate يتحدان ويكونا المالات بمساعدة malate synthase وبذلك تكتمل دورة glyoxylate . ويبدو أنها تستخدم أساساً لبناء مادة الخلية من بولى - β - هيدروكسى بيوترات أما دورة TCA فتستخدم فى إنتاج الطاقة .

وتُلامس عملية نزع ك أ₂ من oxalyl - Co A لتكوين Formyl - Co A بواسطة إنزيم oxalyl - Co A dehydrogenase (EC 4.1.1.8) وهذا التفاعل يحتاج ثيمين بيروفوسفات (TPP) كمرافق ويحفز بواسطة الكاتيونات Mg^{++} ، Mn^{++} .



٦.٣.٧ تحولات المألونات Malonate metabolism

المألونات مشيط معروف لإنزيم Succinic dehydrogenase (EC 1.3.99.1) . ونستطيع ميكروبات عديدة من أفراد Pseudomonads أكسدته أكسدة شبه كاملة حيث تتأكسد المألونات أولاً إلى مألونات سيمى الدهيد بواسطة malonate semialde dehydrogenase (EC 1.2.1.15) ويتكون هذا المركب أيضاً بنزع جزئ ماء hydration من حمض أسيتلين مونو كربوكسيليك فى وجود إنزيم Ma. semialdahde dehydratase (EC 4.2.1.27) كما بالرسم :



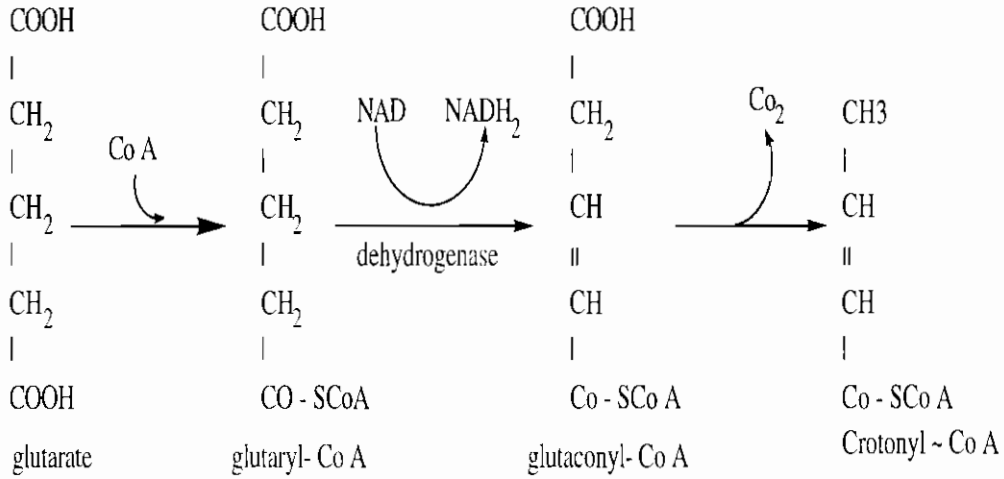
شكل (٥.٧) : تحول المألونات في *Pseudomonas fluorescens*

والخطوة التالية هي نزع ك أم من المألونات سمي الدهيد والذي يحتاج TPP ، Co A ،
Mg⁺⁺ ويتكون أسيتيل كوانزيم A الذي يدخل دورة TCA . والإنزيم المسئول عن هذه
الخطوة هو Malonate semialdehyde dehydrogenase (EC 1.2.1.8) وهو معقد
إنزيمي (راجع بند ١٠١٠٧) .

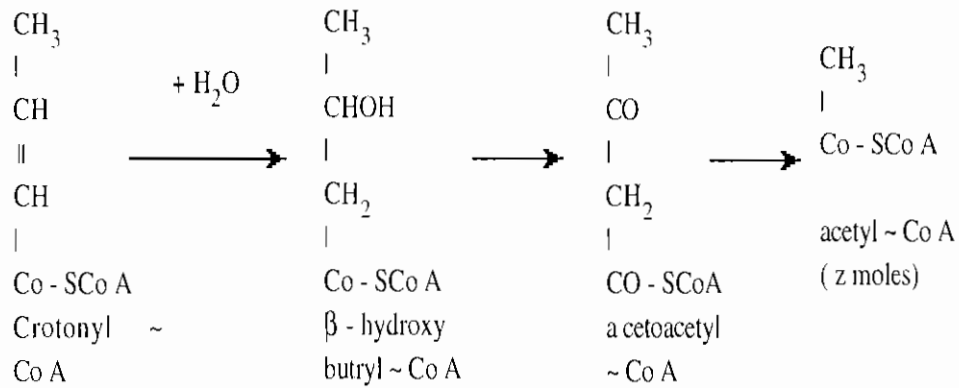
٧.٣.٧ تحولات الجلوتارات Glutarate metabolism

يستطيع *Ps. fluorescens* تحويل الجلوتارات إلى ك أم وأسيتيل كوانزيم A بطريقة
مشابهة لما يحدث في أنسجة الحيوان . حيث تُنشَط الجلوتارات أولاً بواسطة Co A ويتكون
glutaryl - Co A حيث لا يمكن تمثيل الجلوتارات كحمض حر .

- ثم تحدث عملية أكسدة للمركب glutaryl - Co A ينتج عنها glutaconyl - Co A والذي يتبعه مباشرة نزع مجموعة ك أ، ويتكون Crotonyl - Co A والإنزيم المسئول هو glutaryl - Co A dehydrogenase (EC 1.3.99.7) المرتبط بـ FAD .



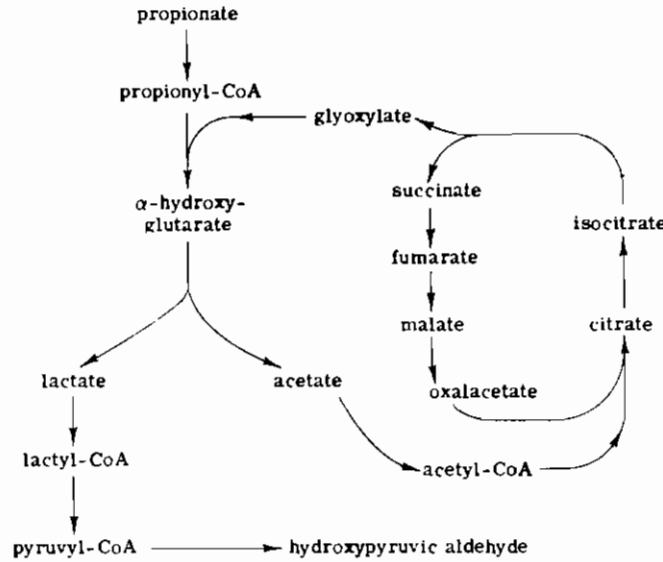
- ثم تحدث عملية إضافة جزيء ماء (hydration) للمركب Crotonyl - Co A في وجود إنزيم crotonase (EC 4.2.1.17) ينتج عنها بيتا - هيدروكسي بيوتيريل - كوانزيم A والذي يتحول إلى أستيواسيتيل كوانزيم A والذي يتكون عنه ٢ مول أستيتيل كوانزيم A الذي يدخل دورة TCA .



٨.٣.٧ تحولات البروبيونات Propionate metabolism

يستطيع *Esherichia coli* تمثيل البروبيونات هوائياً خلال دورة glyoxylate والمركب

النهائي لم يعرف بعد .



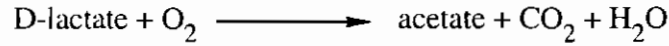
شكل (٦.٧) : تحولات البروبيونات في *E. coli*

حيث نشط البروبيونات أولاً بواسطة Co A ويتكون بروبيونيل كوانزيم A الذي يتحد مع glyoxylate في وجود إنزيم hydroxyglutarate synthase (EC 4.1.3.9) ليكون هيدروكسي جلوتارات ثم يحدث تفاعل انشقاقي cleavage reaction ليتكون اللاكتات والأسيتات وتدخل الأسيتات عبر أسيتيل كوانزيم A إلى دورة TCA / and دورة glyoxylate . أما اللاكتات فتُنشَط في وجود إنزيم Lactyl - Co A synthetase ويتكون لاكتيل كوانزيم A الذي يتحول إلى بيروفيل كوانزيم A ومنه يتكون هيدروكسي بيروفات الدهيد وأي تحولات أخرى لهذا المركب غير معروفة .

وأثبتت الدراسات على طفرات عديدة من *E. coli* أن تركيز مادة التفاعل النامي عليها الميكروب - إذا كان عالياً - يؤثر على تحول البروبيونات إلى أسيتات وفي هذه الحالة ينشط isocitrate lyase ويزداد معدل دورة glyoxylate أما التركيزات المنخفضة فتؤدي إلى تحول البروبيونات إلى أحماض رباعية الكربون غير معلومة ويحتمل استعمال دورة اللاكتات في هذا الغرض .

٩.٣.٧ تحولات اللاكتات Lactate metabolism

تشابه الميكانيكية الإنزيمية لهدم اللاكتات هوائياً في *Acetomonas* ، *Acetobacter* والإنزيم المسئول هو lactate oxidase (EC 1.13.12. gr) وهو لا يحتاج لمرافقات إنزيمية ويعتقد أنه monooxygenases وأن مادة التفاعل تستخدم كمعطي الكترون داخلي .



والبيروفات نفسها يمكن تمثيلها عندئذ بثلاث طرق مختلفة بواسطة بكتريا حمض الخليك .

١ - Pyruvate decarboxylase (EC 4.1.1.1) الذي يلامس تكون الأستالدهيد + ك أ_٢ وتلاحظ هذه الميكانيكية في *Acetobacter* ، *Acetomonas suboxydans* ، *peroxydans* .

٢ - Pyruvate oxidase وهو يحتاج الثيمين بيروفوسفات (TPP) ويوجد في *Aceto-* *bacter pastenrianum* ، *A. Liquefaciens* والناتج هو الأستات .

٣ - خليط من الإنزيم السابق (١) أى Pyruvate decarboxylase ونظام السيتوكروم ولا يحتاج لمرافقات ويعمل O₂ كمستقبل للالكترتون وهو يشبه Pyruvate dehydrogenase (EC 1.2.2.2) والناتج هو الأستات .

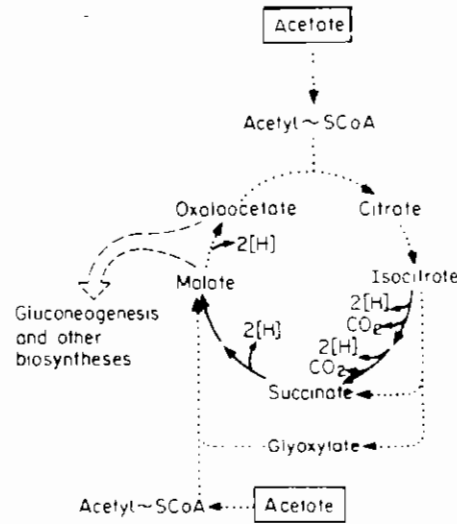
٤.٧ تنظيم تحولات الأحماض الكربوكسيلية

Regulation of Carboxylic acid metabolism

هناك علاقة متينة بين تفاعلات الهدم Catabolic والبناء anabolic . فتحت الظروف الهوائية هناك دورة TCA التي تخدم كحلقة وصل بين نواتج الهدم مع تكوين الطاقة وبادئات البناء وما يعقبها من تفاعلات بناء تعرف anaplerotic sequences أى أن دورة TCA هامة للتنفس ونتاج الطاقة من ناحية وللتخليق الحيوى للخلية من ناحية أخرى .

وأحد الإنزيمات anaplerotic سبق ذكره أثناء مناقشة دورة glyoxylate وهو isocitrate lyase (EC 4.1.3.1) الذي يلامس أنشقاق أيسوسترات إلى حمض رباعي

الكربون (السكسينات) ، مركب ثنائي الكربون (glyoxylate). والإنزيم الثاني هو glyoxylate malate synthase (EC 4.1.3.2) الذي يلامس اتحاد أستيل كوانزيم A مع glyoxylate لتكوين المالات أى أن الميكروبات التى تستخدم السترات والأستيات كمصدر وحيد للكربون تستطيع تكوين ٢ مول حمض رباعى الكربون ثنائى الكربوكسيل من ١ مول سترات، ١ مول أستيات. والأحماض الرباعية تستخدم كإحداثاء بناء فى تكوين الأحماض الأمينية والدهنية وتخليق مادة الخلية عبر ما يسمى gluconeogenesis .

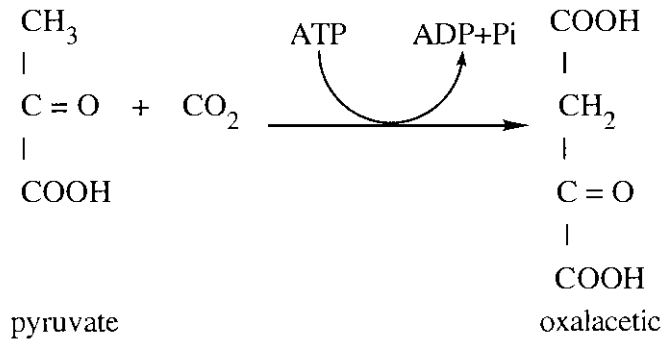


شكل (٧.٧) : التفاعلات الأيضية التى تمد الخلية بالطاقة والكربون أثناء النمو على الأستيات نقلاً عن schlegel سنة ١٩٨٦ (تفاعلات السبنا

« دوره glyoxylate » ، « تفاعلات الهدم « دوره TCA »)

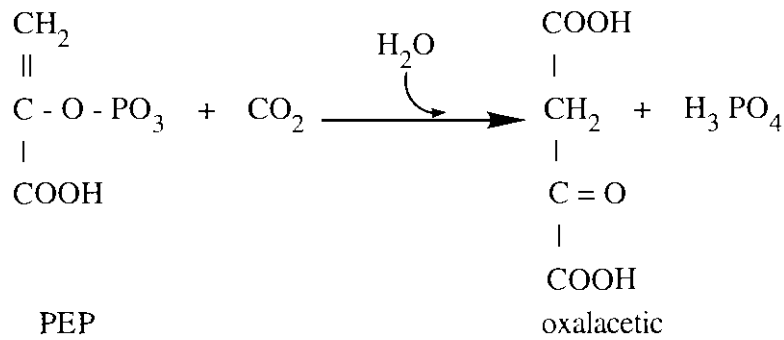
بالإضافة إلى دورة glyoxylate التى تقوم بتزويد الخلية بالأحماض C_4 فإنه يلزم لبدء دورة TCA ضرورة الحصول على مركبات C_4 (وبالتحديد الأكسال أستيات) وهذا يحدث بثبيت ك_٥ . وقد وجد فى عالم البكتريا ٥ انزيمات مسئولة عن آلية تثبيت ك_٥ كالتالى :

١ - Pyruvate carboxylase (Pyr-Cx) المرتبط بالبيوتين (EC 6.4.1.1) وهو ينتج حمض أوكسال أستيك من البيروفات (وهو يختلف عن الإنزيم الموجود فى الثدييات الذى يحتاج acetyl Co A بدلاً من البيوتين) .



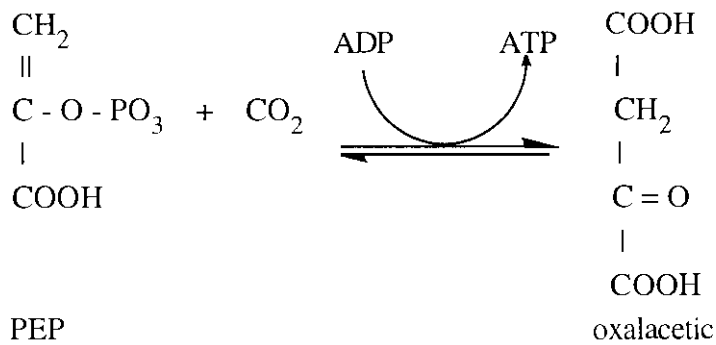
٢ - (EC 4.1.1.31) Phosphoenolpyruvate carboxylase (PEP-Cx) الذي يلامس

تحول الفوسفوانيونول بيروفات إلى الأوكسال أسيتات. وتنطلق مجموعة الفوسفات الغير عضوية حره .



٣ - (EC 4.1.1.49) phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEP-CK) الذي

ينتج الأوكسال اسيتات من الفوسفو أئينول بيروفات ولكن يحتاج لمساعدة من ADP الذي يستقبل مجموعة الفوسفات الغير عضوية مكوناً ATP .

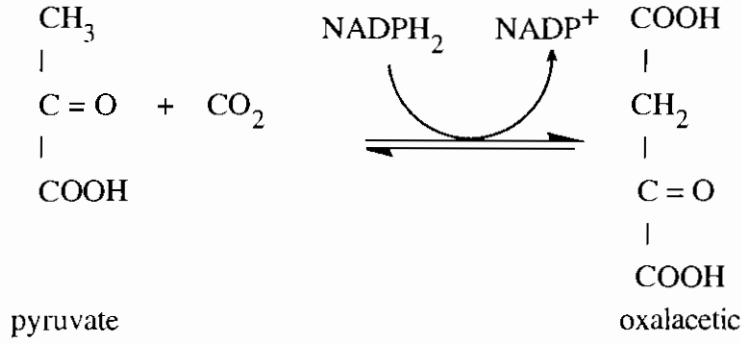


Phosphoenolpyruvate carboxytransphosphorylase (EC 4.1.1.32) - ٤

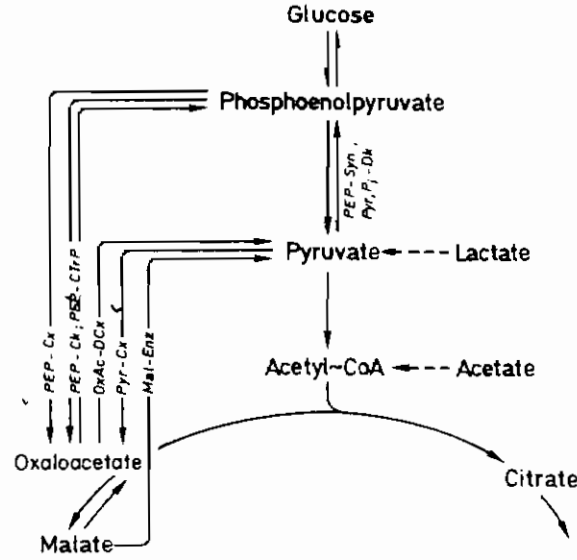
(PEP-CtrP) وهو يلامس تفاعل شبيه بالتفاعل السابق ولكن يحتاج البيكربونات والفوسفات الغير عضوى الذى يتحول إلى البيروفوسفات .

malic enzyme (EC 1.1.1.40) الذى يلامس reductive carboxylation - ٥

لليروفات مكونًا المالات مع أكسدة $NADPH.H^+$ إلى $NADP^+$.



وهكذا أثنان من هذه التفاعلات البنائية (anaplerotic reactions) تعملان عند مستوى البيروفات وثلاثة يعملون عند مستوى الفوسفواينول بيروفات. وبالطبع فإنه ليس كل هذه الإنزيمات موجودة فى نفس الكائن. فى *Enterobacteria* يبدو أن PEP - carboxylase هو الإنزيم الأساسى وأما باقى الإنزيمات فتعمل - فى حالة وجود مركبات C_4 فعلاً - فى نزع ك $decarboxylation$. فمثلاً إنزيم المالك يمكنه استعادة البيروفات لتخليق الأئين، الفالين، الليوسين أو حتى أسيتيل كوانزيم A لتخليق الأحماض الدهنية . ولقد ثبت وجود تنافس فى مركز الطاقة بين إنزيمى PEP - synthetase ، Pyruvate DH ، فإذا كانت شحنة الطاقة ذات قيمة عالية فإن التحول يكون فى اتجاه PEP (تخليق حيوى) وإذا كانت شحنة الطاقة منخفضة فإن الاتجاه يكون ناحية الهدم وتكوين أسيتيل كوانزيم A . وهذه العملية التنظيمية بواسطة شحنة الطاقة (adenylate energy charge) يتدخل فيها التثبيط الرجعى Feed back inhibition . ويبدو أنها تؤدي فى النهاية لتكيف الخلية حسب الاحتياج اللحظى للتحويلات الأيضية ؛ وهذا التأثير التنافسى يغيب فى الخلايا النامية على الجلوكوز وينشط جداً فى الخلايا النامية على المركبات ذات الوزن الجزئى المنخفض مثل الأسيئات . ويمكن تلخيص التفاعلات anaplerotic الرئيسية الداخلة فى تحولات الكربون هوائياً كما بالرسم التالى :



Enzymes: Mal-Enz, malate enzyme; OxAc-DCx, oxaloacetate decarboxylase; PEP-Ck, phosphoenolpyruvate carboxykinase; PEP-Cx, phosphoenolpyruvate carboxylase; PEP-Syn, phosphoenol pyruvate synthetase; PEP-CTrP, phosphoenolpyruvate carboxytransphosphorylase; Pyr-Cx, pyruvate carboxylase; Pyr, P_i-Dk, pyruvate orthophosphate dikinase.

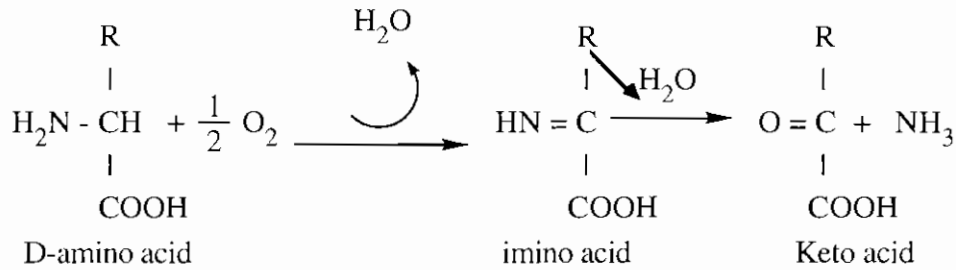
شكل (٨.٧) : كيفية الحصول على مركبات C₄ (المالات، الأكسال أسيتات)

من المركبات C₃ (البيروفات، فوسفو إينول بيروفات) نقلًا عن شليجل سنة ١٩٨٦

٥.٧ تحولات الأحماض الأمينية Amino acids metabolism

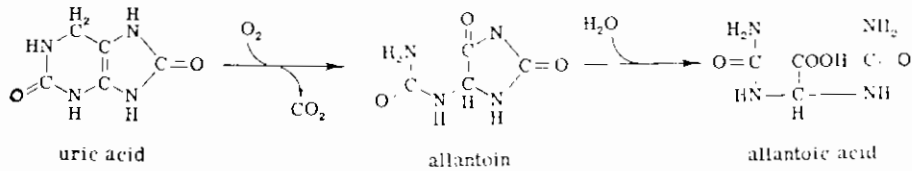
تستطيع البكتريا الهوائية والاختيارية مثل التابعة لعائلات Enterobacteriaceae ، Pseudomonadaceae أكسدة البروتين والأحماض الأمينية تحت الظروف الهوائية واستعمال هذه المركبات كمصدر وحيد للكربون والنتروجين والطاقة .

إنزيمات أكسدة الأحماض الأمينية ذات طبيعة فلافوروتينية وذات جهد أكسدة واختزال حوالي 4 mV - وعادة تتأكسد الأحماض الأمينية D-amino acids إلى imino acids يتبعها تحلل مائي إلى الحمض الكيتونى المقابل . أما الأحماض الأمينية من النوع (L-) فيحدث لها عملية نقل مجموعة الأmino Transamination أولاً قبل أى تحللات أخرى .

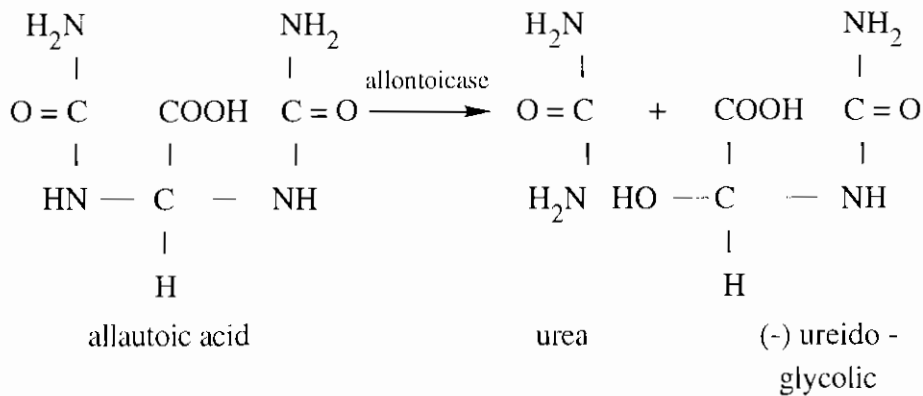


1.5.7 تحول حمض اليوريك والالنتوين Uric acid and allantoin

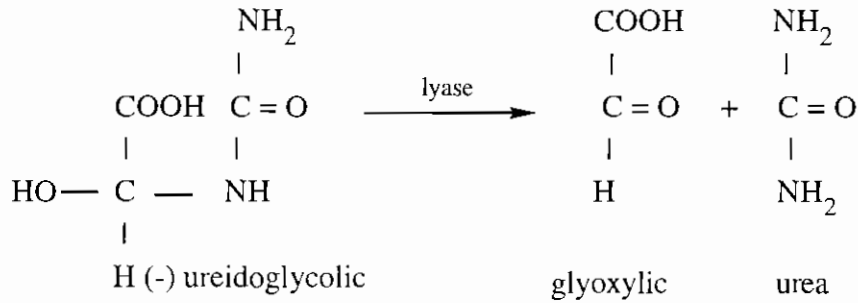
يتم تحلل الألتوين من خلال ٣ طرق مختلفة معتمداً على تخصص الإنزيم المشارك. وأكثر الطرق شيوعاً المستخدمة بواسطة *Pseudomonas aeruginosa* ، *Ps. fluorescens* ، حيث يتأكسد أولاً حمض اليوريك إلى الألتوين بمساعدة إنزيم urate oxidase (EC 1.7.3.3) وينطلق ك أم ثم يعقب ذلك إضافة جزئ ماء hydration بملامسة إنزيم allantoinase (EC 3.5.2.5) الذي ينتج حمض الألتوتيك .



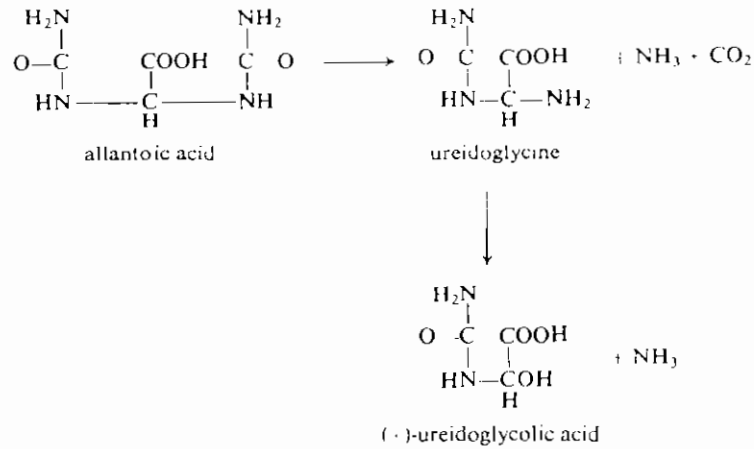
وعند هذا المستوى تشعب الدورة. فالميكروبان السابقان يحولان حمض الألتوتيك إلى Ureidoglycolic (-) ، اليوريا في خطوة واحدة بمساعدة allontoicase (EC 3.5.3.4) ويعرف أيضاً بإنزيم allantoinase amidinohydrolase



ويتحرر جزئاً يوريا آخر بتأثير إنزيم (-) ureidoglycolate lyase (EC 4.3.2.3) ويتكون glyoxylic كنتاج نهائي ثان بجانب اليوريا .

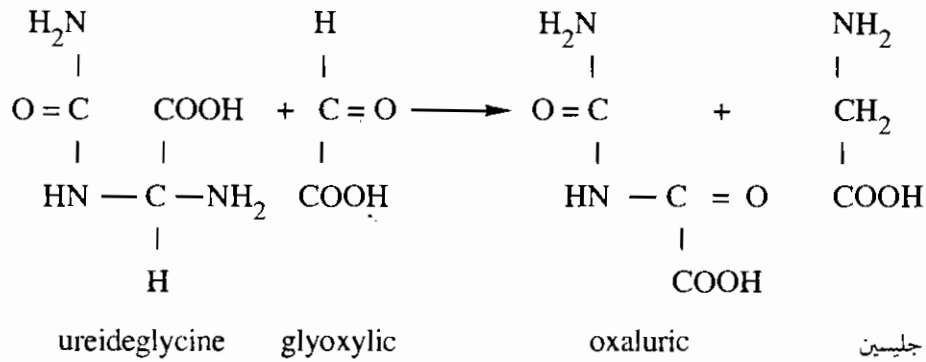


أما ميكروب *Ps. acidovorans* فيسلك طريقاً ثانياً حيث لا يفرز إنزيم allantoicase ولكن يملك إنزيمين هما allantoate amidohydrolase ، ureidoglycine aminohydrolase (+) اللذان يحولان حمض اللنتويك إلى (-) ureidoglycolic (+) وتتطلق الأمونيا ، كما في وجود المركب الوسيطى يوريدوجليسرين . والمركب الناتج (-) ureidoglycolic يتحول إلى glyoxylate واليوريا بواسطة lyase كما سبق .

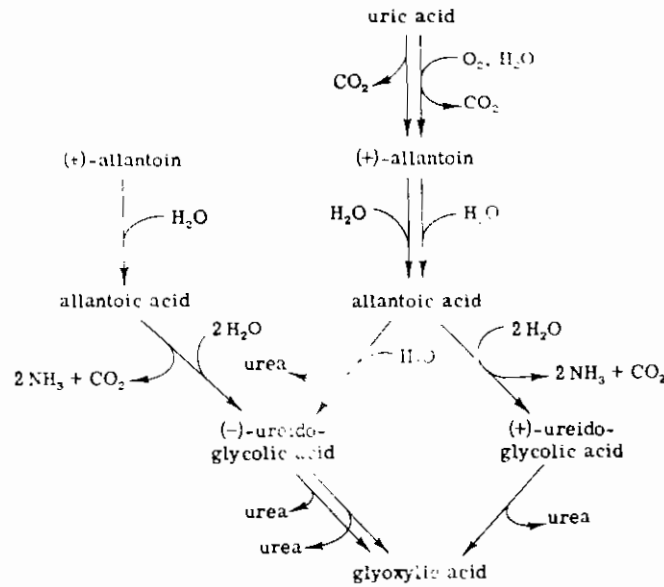


وفي ميكروب *Ps. acidovorans* ايضا يمكن نقل مجموعة أمينو من transamination

المركب الوسطى ureidoglycine إلى المركب glyoxylate ويتكون oxaluric acid والجليسين .



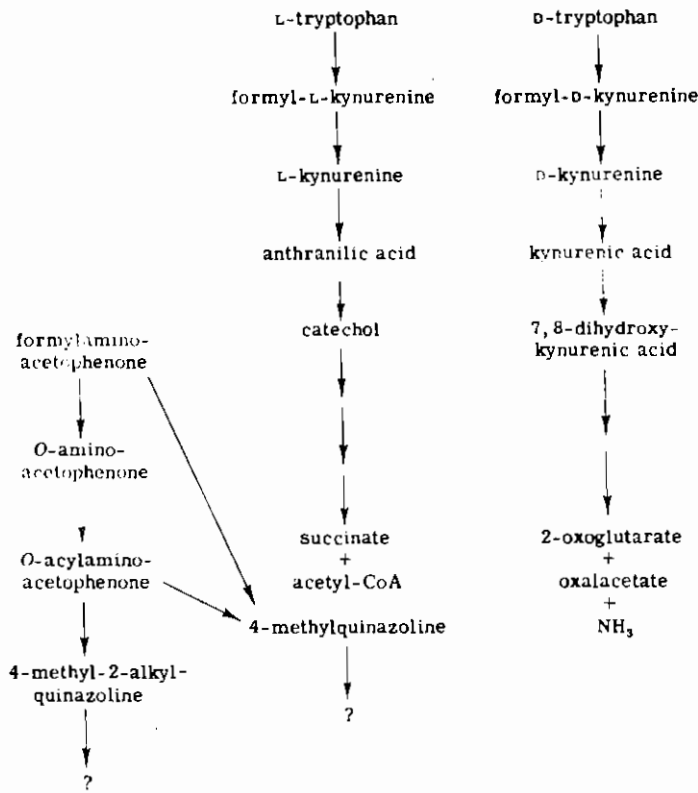
أما الطريق الثالث ويقوم به *E. coli* ، *Arthrobacter allantoicus* حيث يتحول حمض الانتويك إلى ureidoglycolate (-) مع تكوين ٢ مول أمونيا ، ١ مول ك أ ب بتأثير إنزيم allantoate amidohydrolase بدون مركب وسطي . ويمكن تلخيص كل التفاعلات السابقة في الرسم التالي :



شكل (٩.٧) : تحولات حمض اليوريك والالتوين نقلاً عن Vogels, 1969

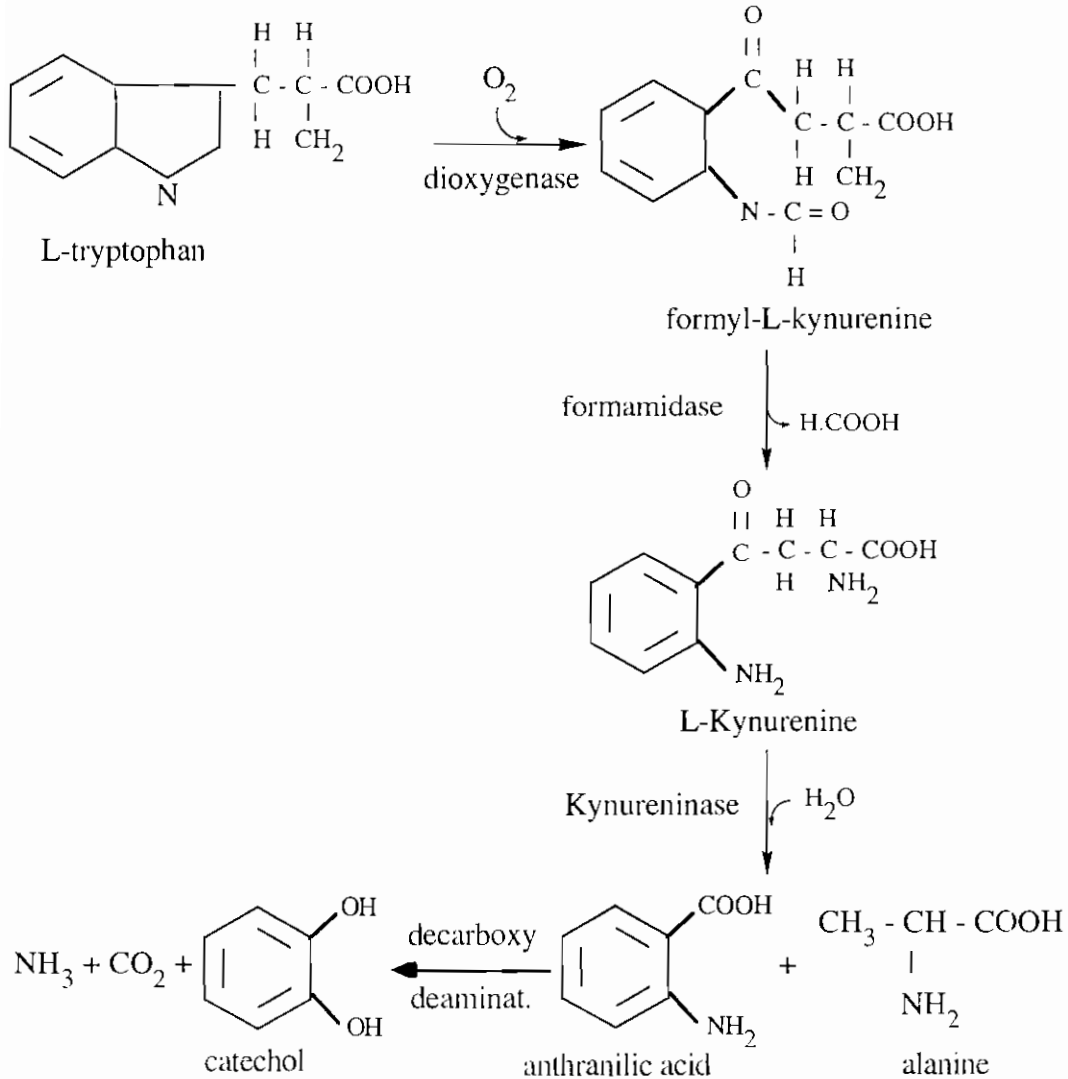
٢.٥.٧ تحول التربتوفان Tryptophan

- تقسيم مجموعة ميكروبات Pseudomonads طبقاً لأسلوبها فى تمثيل التربتوفان إلى :
- ١ - المجموعة الحلقية aromatic وهى التى تحلل التربتوفان من النوع (L) عبر anthranilic acid ويمثلها *Ps. fluorescens* .
 - ٢ - مجموعة quinoline وهى تحلل التربتوفان من نوعى (L) ، (D) عبر Kynurenic acid ويمثلها *Ps. acidovorans* .
 - ٣ - مجموعة racemase - aromatic وهى تحلل التربتوفان من نوع (L) ، (D) عبر حمض anthranilic .
 - ٤ - مجموعة quinazoline وهى تحلل التربتوفان من نوعى (L) ، (D) عبر O-amino - acetophenone ويمثلها *Ps. aeruginosa* .
- ويمكن تلخيص ذلك بالرسم التالى :

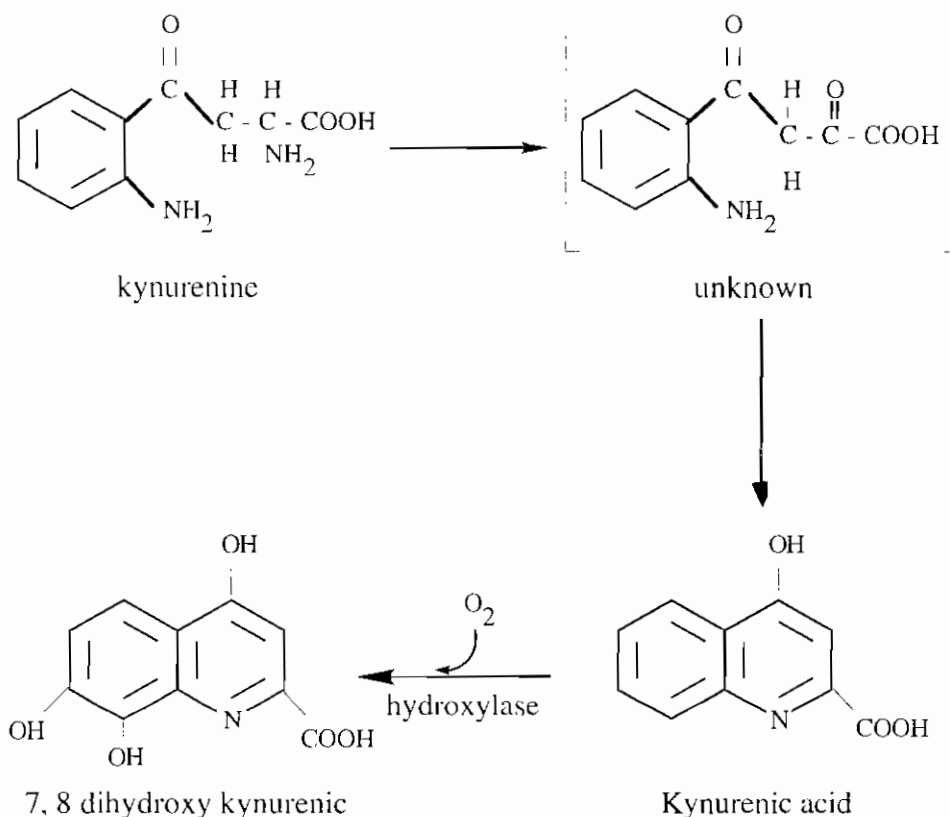


شكل (١٠.٧) : تحولات التربتوفان بواسطة pseudomonads

المجموعة الأولى : تهاجم التربتوفان (L) بواسطة إنزيم
 2,3 dioxxygenase (EC 1.13.11.11) ويتحول إلى formyl - L - kynurenine . وهذا
 الإنزيم يحتوى مجموعة hematin كمجموعة مرافقة ويدخل O_2 إلى الحلقة (Pyrrole ring) .
 ثم تنزع الفورمات بواسطة إنزيم Kyn. Formamidase (EC 3.5.1.9) ويتكون
 Kynurenine ثم يعقب ذلك تحلل مائى للسلسلة الجانبية إلى الآمين بواسطة إنزيم
 Kynureninase (EC 3.7.1.3) ويتكون حمض anthranilic وأخيراً تحدث عملية نزع
 ك أ^٣ مؤكسدة + عملية نزع مجموعة أمين مع إدخال الأوكسجين والنتائج هو Catechol والذى
 يكمل تحولاته عبر دورة β - Ketoacidate .



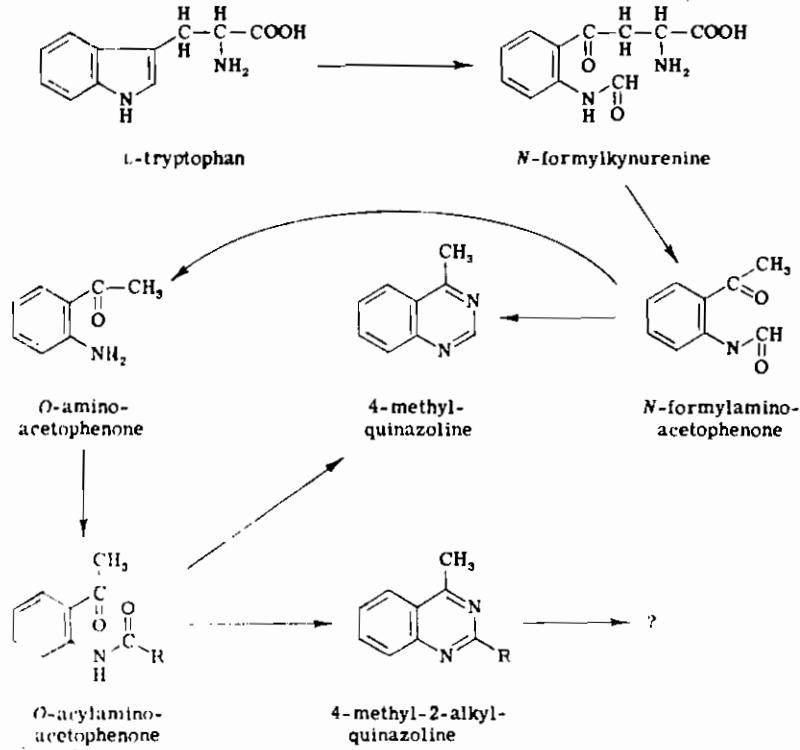
المجموعة الثانية : حيث يتحول (D-) or (L-) tryptophan عبر oxygenase المتخصص، formamidase إلى (D) & (L) - kynurenine كما فى المجموعة الأولى وبدلاً من kynureninase يقوم الميكروب بإفراز kynureninase oxidase (D) or (L) الذى ينتج kynurenic acid عبر مركب وسطي غير معلوم .



والخطوة الأخيرة تتم فى وجود Kynurenate 7, 8 hydroxylase (EC 1.14.99.2) والنتائج النهائية لهذا الطريق هو oxalacetate ، 2 - oxoglutarate ، NH_3 .

المجموعة الثالثة : فهى تحول التربتوفان سواء (D) أو (L) عبر anthranilic acid والفرق بينهما وبين المجموعة الأولى هو وجود racemase الذى يمكن الكائن من تحويل التربتوفان من نوع (D) إلى النوع (L) .

المجموعة الرابعة : ويمثلها *Ps. aeruginosa* . وبرغم أنه أمكن تحديد وتعريف خطوات التحول إلا أن الإنزيمات المشاركة لم توصف بعد . والرسم التالي يظهر خطوات التحول في هذه المجموعة .



شكل (١١.٧) : تحولات التربتوفان في المجموعة الرابعة ويمثلها *Ps. aeruginosa*

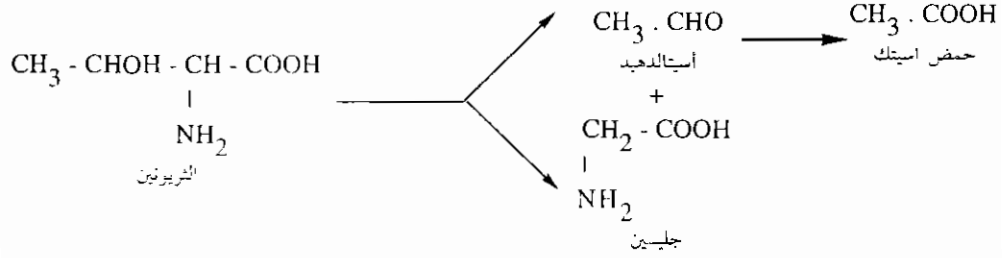
وقد لوحظ أن تحولات التربتوفان في الميكروبات تختلف تماماً عن الموجودة في أنسجة الثدييات وربما يرجع ذلك لوجود oxygenase في الميكروبات .

وتستطيع ميكروبات *streptomyces* ، *B. cereus* أيضاً تمثيل التربتوفان (D) ويبدو أن هذا التحول يلعب دوراً هاماً أثناء التجرثم .

وثبت أن الإنزيم 2, 3 dioxygenase هو إنزيم allosteric يلعب دوراً تنظيمياً في الدورة عند مستوى formyl kynurenin .

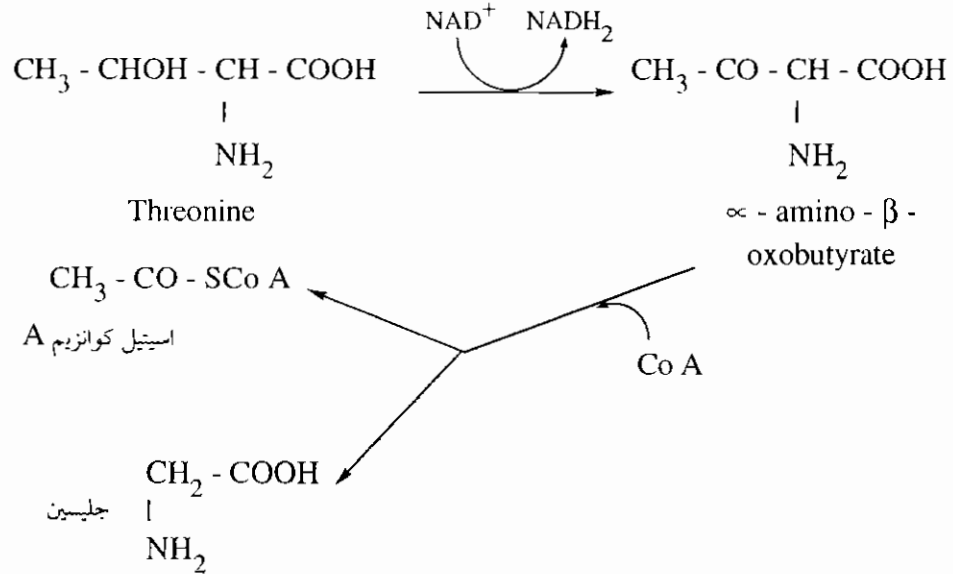
٣.٥.٧ تحولات الثريونين Threonine

يمكن تمثيل الثريونين تحت الظروف الهوائية عبر ٣ طرق مختلفة معتمداً على الإنزيم (Key) الموجود - ويمكن للعديد من Pseudomonads استخدام L-threonine كمصدر وحيد للكربون والطاقة حيث لها القدرة على إفراز إنزيم serine hydroxy methyl transferase (EC 2.1.2.1) الذى يشق الثريونين إلى أسيتالدهيد والجليسين ثم يتحول الأسيتالدهيد إلى الأسيتات الذى يدخل دورة glyoxylate .

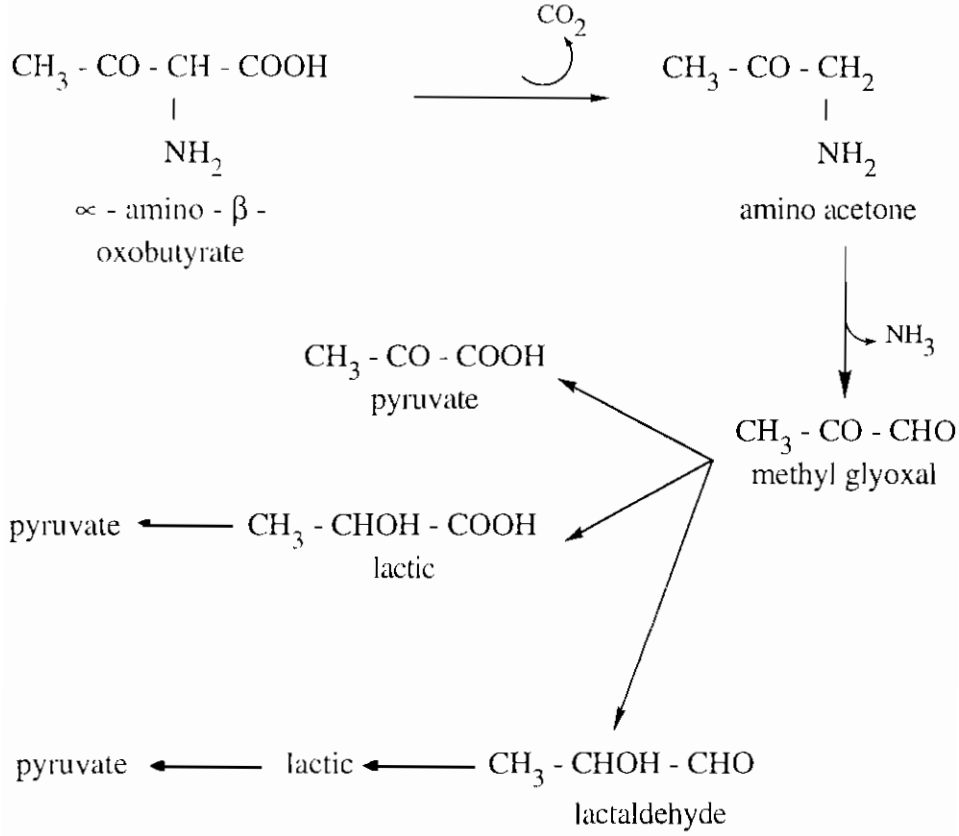


أما ميكروب *Arthrobacter* فلا يستطيع إفراز الإنزيم السابق ولكن يفرز *(L) threonine - 3 dehydrogenase* (EC 1.1.1.103) والذى يؤكسد الثريونين إلى ألفا - أمينو - بيتا - أوكسو بيوترات والذى ينشق فى وجود Co A إلى أسيتيل كوانزيم A والجليسين (الذى يدخل دورة السيرين) والإنزيم المسئول عن ذلك هو :

∞ - amino - β - oxobutyrate Co A - ligase كما يظهر ذلك فى التفاعل التالى :



أما ميكروب *Bacillus subtilis* فيستطيع تمثيل الثريونين والأمينوبروبانول عبر أمينو أسيتون والميثايل جليوكسال إلى البيروفات. فعند مستوى الفا - أمينو - بيتا اوكسوبروبانوات (من المعادلة السابقة) يحل إنزيم amino acetone - reductase محل A ligase كما يلي :



ويتبع الميثايل جليوكسال ٣ طرق لتكوين البيروفات :

- ١ - الأكسدة المباشرة في وجود methyl glyoxal dehydrogenase المرتبط بـ NAD^+ .
- ٢ - أكسدة الميثايل جليوكسال إلى اللاكتيك في وجود إنزيم methyl glyoxalase ثم إلى البيروفيك .
- ٣ - التحول الغير مباشر عبر لاكتل الدهيد في وجود إنزيم NADPH - linked methyl glyoxal reductase (EC 1.1.1.78) ثم إلى اللاكتيك في وجود إنزيم

دورة TCA أو دورة glyoxylate .
D) or (L) - amino propan - 2 - ol dehydrogenase (EC 1.1.1.74 or 75)
glyoxylate . دورة TCA أو دورة glyoxylate .

أما تحول الأمينو بروبانول بواسطة هذه الميكروبات بدلاً من الشريونين فإن إنزيم
D) or (L) - amino propan - 2 - ol dehydrogenase (EC 1.1.1.74 or 75)
يلازم الأكسدة إلى الأمينو أسيتون والذي يتبع الطريق السابق (أمينو أسيتون ← ميثايل
جليوكسال ← بيروفات) وتفرز بعض ميكروبات Enterobacteriaceae هذا الإنزيم ولكن لتكوين
الأمينو بروبانول بدلاً من الأمينو أسيتون (تفاعل عكسي) وذلك لإنتاج فيتامين B₁₂ .

٤.٥.٧ تحولات الليسين Lysine

يستطيع *Pseudomonas putida* تمثيل الليسين من خلال طريقين محددين أحدهما
الصورة الحلقية ومادة تفاعله D - lysine والآخر الصورة غير الحلقية ومادة تفاعله L - lysine
كما بالرسم (شكل ٧ - ١٢) .

والإنزيمات المسئولة عن الطريق الغير حلقى معروفة وهي حسب رقم التفاعل كالتالي :

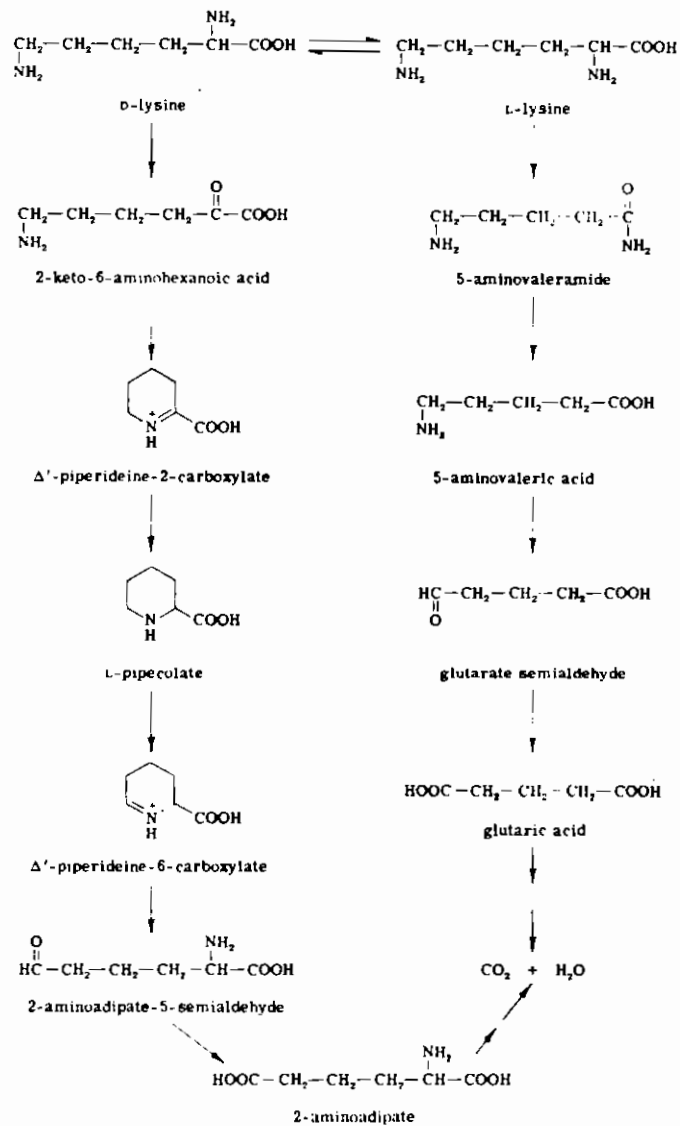
١ - L - lysine - 2 - mono oxygenase (EC 1.13.12.2) .

٢ - amino valeramide amidase (نزع مجموعة الأمينو) .

٣ - amino valerate transaminase (نزع مجموعة الأمينو الثانية) .

٤ - glutaric semialdehyde DH (EC 1.2.1.20) .

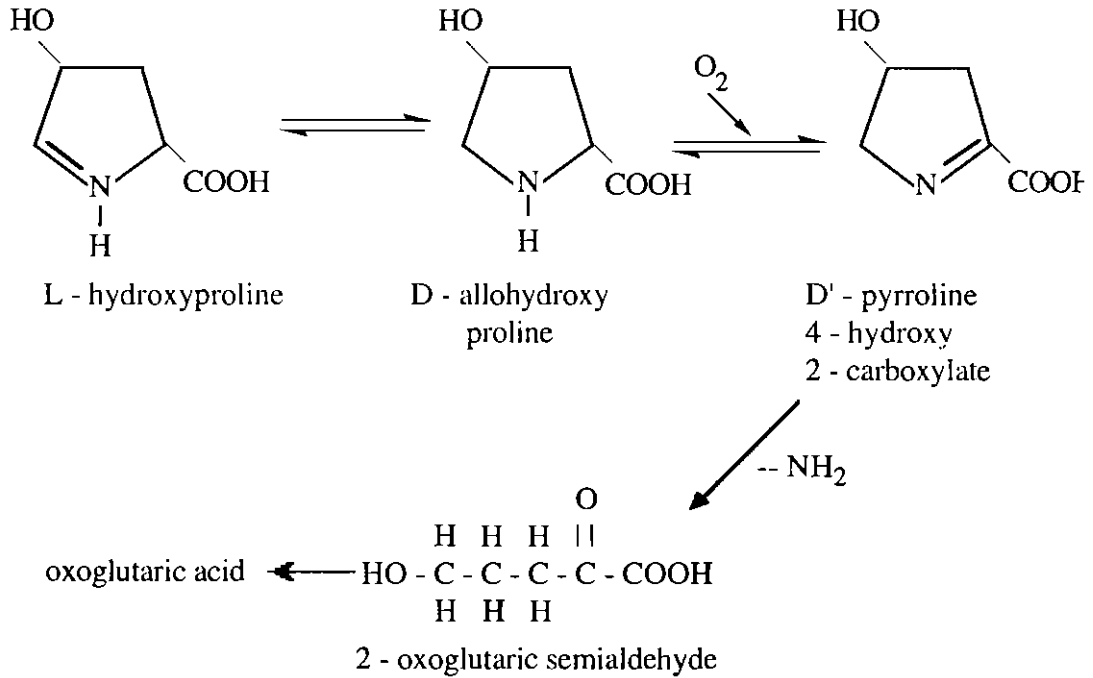
أما الإنزيمات المسئولة عن الطريق الحلقى فما زالت غير محددة والمركب الوسطى لهذا
الطريق هو L-pipecolate وستحدث عنه في الباب القادم .



شكل (١٢.٧) : تحولات الليسين بواسطة *Ps. putida* نقلًا عن Miller & Rodwell 1971

٥.٥.٧ الهيدروكسي برولين Hydroxy proline

يمكن تمثيله بواسطة ميكروبات *Ps. fluorescens* ، *Ps. convexa* ، *Ps. putida* مكونًا ٢ - أوكسو جلوتارات الذي يدخل دورة TCA .



والخطوة الأولى : هي تفاعل عكسي بواسطة 2 - epimerase (EC 5.1.1.8)

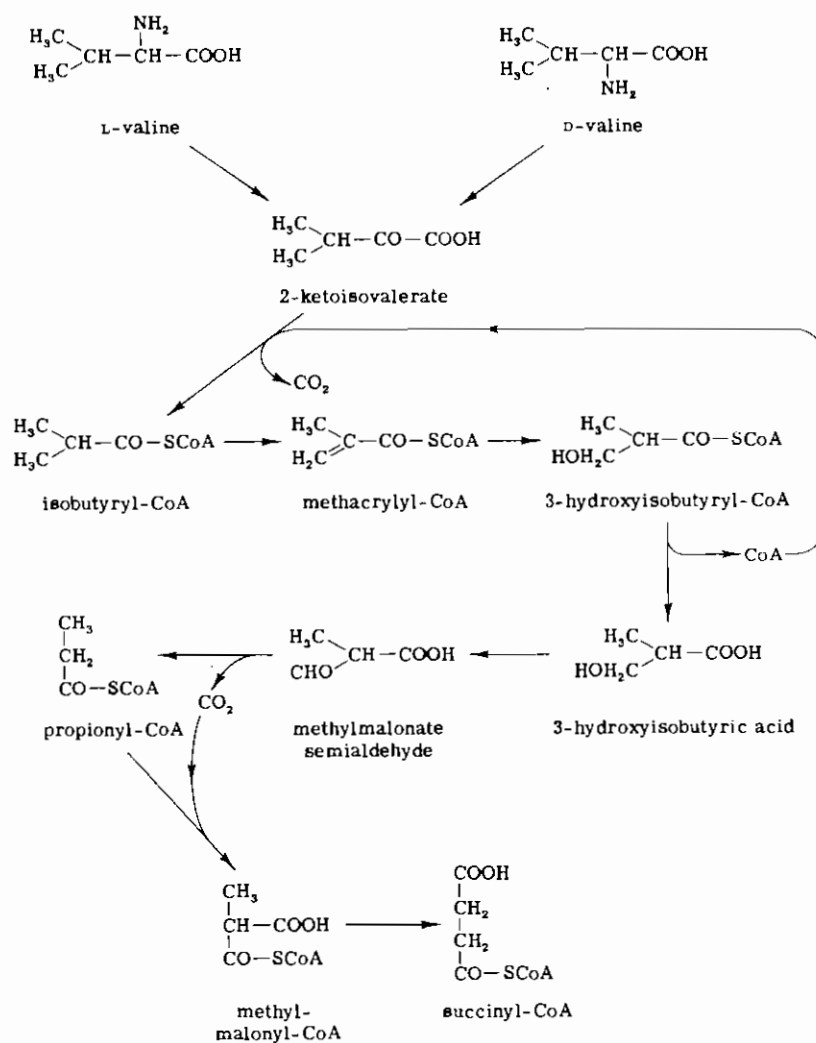
والثانية : تفاعل أكسدة بواسطة oxygenase .

والثالثة : نزع مجموعة الأمينو بواسطة deaminase لتكوين أوكسو جلوتارات سمي الدهيد .

والأخيرة : أكسدة بواسطة dehydrogenase مرتبط بـ NAD⁺ لتحويل سمي الدهيد إلى حمض أوكسو جلوتاريك .

٦.٥.٧ تحولات الفالين Valine

يمكن تمثيل كلا الأيسومير (D-), (L-) لمركب الفالين بواسطة *Pseudomonas aeruginosa* حيث تحدث أكسدة dehydrogenation للمركب D-valine بينما يحدث نقل مجموعة أمينو transamination للمركب L-valine ويتكون نفس المركب الوسطى كيتو أيسوفاليرات .



شكل (١٣.٧) : تحولات الفالين الهوائية بواسطة *Ps. aeruginosa*

ثم يتحول كينو أيسوفاليرات بعملية نزع ك^أ مؤكسدة oxidative decarboxylation فى وجود Co A إلى أيسو بيوتيريل - كوانزيم A . والإنزيم المشارك هو ketoisovalerate dehydrogenase (EC 1.2.1.25) - 2 . ويعقب ذلك خطوتين نزع ايدروجين وادخال جزئ ماء فتكون ٣ - هيدروكسى أيسوبيوتيرات والذى يتأكسد إلى ميثيل مالونات سُمى الدهيد فى وجود hydroxy butyrate DH (EC 1.1.1.31) وهذا المركب الأخير يتأكسد إلى propionyl - Co A فى وجود إنزيم ديهيدروجينز مرتبط بـ NAD^+ ، Co A مع انطلاق ك^أ .

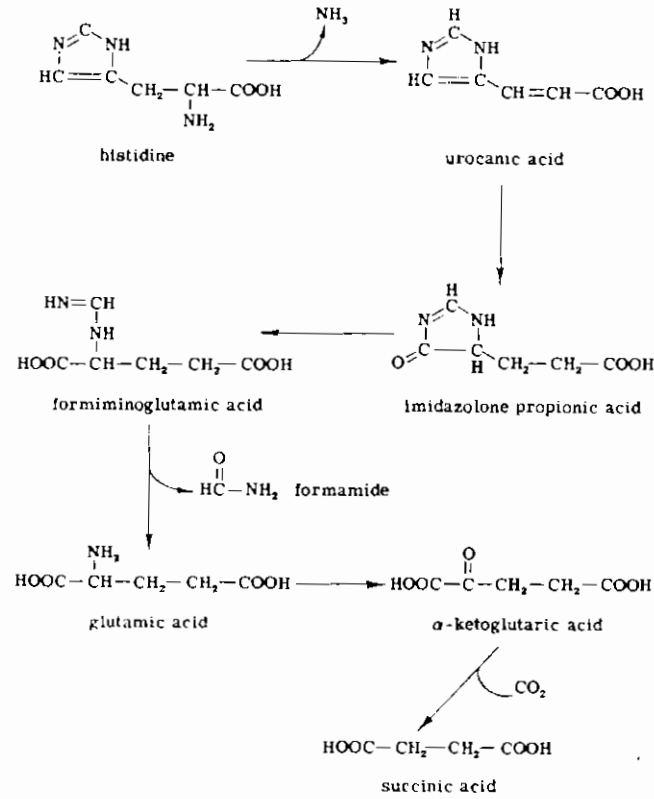
ومركب برويونيل كوانزيم A يتحول أما عن طريق acrylyl - Co A إلى لاكتيل كوانزيم A أو عبر ميثيل مالونات كوانزيم A إلى سكسينيل كوانزيم A ثم إلى السكسينات ومنها إلى دورة TCA أو دورة glyoxylate .

وثبت أن ميكروب *Ps. aeruginosa* يمكنه تكوين الالانين، الأسبارتيك عند تنميته على الفالين مما يدل على وجود تفرعات أخرى من برويونيل كوانزيم A .

٧.٥.٧ تحولات الهستيدين Histidine

يكثر تمثيل الهستيدين بواسطة الميكروبات . وهناك بعض الفروق البسيطة بين تحولاته تحت الظروف الهوائية واللاهوائية .

أما تحت الظروف الهوائية فإنه يحدث أولاً عملية نزع الأمينو فى وجود إنزيم histidine lyase (EC 4.3.1.3) إلى حمض urocanic الذى يختزل فى وجود uroca-nate hydratase (EC 4.2.1.49) إلى أيميد ازولون برويونات . أما كسر الحلقة فيحدث بملامسة إنزيم imidazolone propionase (EC 3.5.2.7) مكوناً formiminoglutamic ثم يحدث تحلل مائى فيتنقسم الجزئ إلى formamide والجلوتاميك والإنزيم المسئول هو formiminoglutamase (EC 3.5.3.8) ثم يتحول الجلوتاميك إلى كيتو جلوتاريك ثم السكسينات فدورة TCA كما يتضح من الشكل التالى (٧-١٤) .



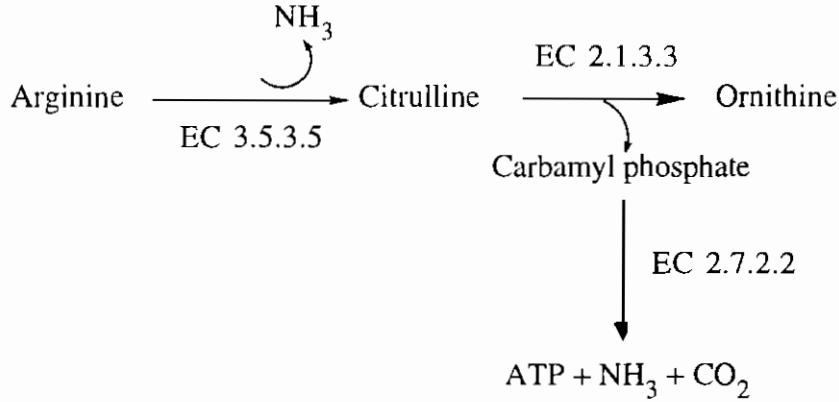
شكل (١٤.٧) : تحولات الهستيدين الهوائية

وقد لوحظ بعض الفروق بين العائلات البكتيرية في هدم الهستيدين. ففي Pseudomonads تستعمل المركب الأول (حمض urocanic) كمحفز فسيولوجي physiological inducer أما السكسينات فتلعب دوراً في الشيط الرجعي feed back inhibition. أما في Enterobacteriaceae مثل *Aerobacter aerogenes* و *Salmonella typhemurium* فتلعب اليورونيك أسيد دور المحفز الفسيولوجي وتخليق ammonia يتأثر بالظروف البيئية المحيطة.

٨.٥.٧ تحولات الارجينين Arginine

يرتبط هدم الارجينين في *Streptococcus faecalis* بتكوين ornithine . حيث

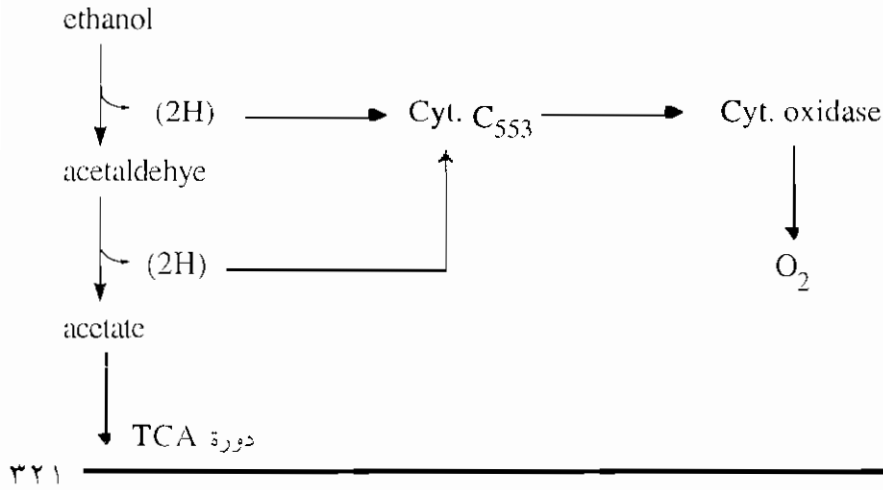
يلامس إنزيم Arginine deiminase (EC 3.5.3.5) تحويل الارجينين إلى سترولين مع انطلاق الأمونيا .



وفى وجود إنزيم Ornithine Carbamoyl transferase (EC 2.1.3.3) ينشق السترولين إلى أورنيثين وكارباميل فوسفات والذي يكمل تحويله فى وجود Autrescine carbamate kinase (EC 2.7.2.2) ليكون ATP ، الأمونيا ، ك أ كنواتج نهائية .

٦.٧ تحويلات الإيثانول Ethanol

تستطيع ميكروبات *Acetobacter* ، *Acetomonas* أكسدة الإيثانول إلى الأسيتات الذى يدخل دورة TCA منتهياً إلى ك أ ، يد أ . ويعتبر الأسيتالدهيد هو المركب الوسطى فى أكسدة الإيثانول والإنزيم المسئول هو ethanol dehydrogenase المرتبط بـ NAD^+ (EC 1.1.1.1) كما هو بالرسم .



ويتميز ميكروب *Acetomonas suboxydans* بقدرته على اختزال $NADP^+$ بمعدل يفوق ٤ مرات اختزال NAD^+ بواسطة ميكروب *Acetobacter peroxydans* .

أما الأستالدهيد فيتأكسد بواسطة *aldehyde dehydrogenase* المرتبط بـ $NAD(P)^+$ (EC 1.2.1.3 or 1.2.1.10) والالكترونات الناتجة من التفاعل تدخل السلسلة التنفسية (نظام انتقال الالكترون) عند مستوى Cyt. C (553) وتراكم $NADPH_2$ الناتج ذو تأثير سى على مواصلة أكسدة الأسيئات خلال دورة TCA فيتجه التفاعل ناحية التخليق الحيوى بواسطة *gluconeogenesis* .

ميكروب *Pseudomonas aeruginosa* يمتلك إنزيم *aldehyde dehydrogenase* - يختلف عن السابق - حيث يحتاج K^+ ، NH_4^+ لتنشيطه .

ووجود *pyruvate dikinase* الذى يحول البيروفات ، ATP ، الفوسفات المعدنى (Pi) إلى فوسفواينول بيروفات ، AMP وبيروفوسفات يؤكد حدوث *gluconeogenesis* (عكسى *glycolysis*) فى بكتريا حمض الخليك أما وجود *pyruvate kinase* فى نفس الوقت فيدل على أن *Acetobacter xylinum* قادر على النمو على الجلوكوز . وكلا الإنزيمين يمكن التحكم فيهما بواسطة *nucleotides* فإذا كانت نسبة ATP / ADP عالية فذلك يشجع *gluconeogenesis* (التخليق الحيوى) بينما النسبة المنخفضة أو تركيز AMP العالى يشجع الهدم *Catabolism* حيث AMP يثبط تفاعل *dikinase* وللمزيد من التفاصيل فى هذه الجزئية يرجع إلى Benziman & Eizen سنة ١٩٧١ .

أسئلة للمراجعة

- ١ - ماهى أهم الفروق بين نظام انتقال الالكترونات فى Chemolithotrophs ، Chemoorganotrophs الهوائية ؟
- ٢ - أشرح دورة TCA مع ذكر الإنزيمات المشاركة فيها .
- ٣ - أشرح بالتفصيل ميكانيكية أكسدة البيروفات إلى أسيتيل كوانزيم A .
- ٤ - لماذا يعتبر المالات مركب مفتاحى فى دورة TCA ؟
- ٥ - ناقش حسابات الطاقة الناتجة عن دورة TCA التى تعتبر المصدر الرئيسى للطاقة للميكروبات الهيتروتروفية الهوائية .
- ٦ - ماهو دور دورة glyoxylate ؟ وماهى الإنزيمات الرئيسية المشاركة فيها ؟
- ٧ - ماهو anaplerotic sequences ؟
- ٨ - أشرح الطريقتين المستخدمتين فى تحولات السترات .
- ٩ - قارن بين التحولات الهوائية للجليكولات بواسطة *Pseudomonas* أو اللاهوائية بواسطة *Microceccus denitrificans* .
- ١٠ - قارن بين تحولات الطرطرات فى كل من *Pseudomonads* & *lactobacillaceae* ؟
- ١١ - قارن بين التحولات الهوائية واللاهوائية لحمض البروبيونيك .
- ١٢ - ناقش باختصار الطرق الأربعة المستخدمة فى تحولات الترتوفان الهوائية .
- ١٣ - «يتحول الشريونين عبر ٣ طرق مختلفة معتمدا على الإنزيمى المفتاحى الموجود» ناقش هذه العبارة .

المراجع

- 1 - Adams, E (1959). Hydroxyproline metabolism 1- Conversion to ∞ - ketoglutarate by extracts of *Pseudomonas*. J. Biol. chem. 234 : 2073.
- 2 - Asai, T. (1968). "Acetic acid bacteria classification and biochemical activities" Univ. of Tokyo press, Tokyo.
- 3 - Behrman, E.J. (1962). Tryptophan metabolism in *Pseudomonas*. Nature (London). 196 : 150.
- 4 - Benziman, M and Eizen, N (1971). Pyruvate - phosphate dikinase and the control of gluconeogenesis in *Acetobacter xylinum*. J. Biol. Chem 246 : 57.
- 5 - Blackmore, M. A and Turner, J. M. (1971) Threonine metabolism via two - carbon compounds by *Ps. oxalaticus*. J. Gen. Microbid. 67 : 243.
- 6 - Doibel, R. H (1964). Utilization of arginine as an energy source for the growth of *streptococcus faecalis* . J. Bacteriol. 87 : 988.
- 7 - Hug, D.H, Roth, D. and Hunter, J (1968) Regulation of histidine catabolism by succinate in *Pseudomonas putida*. J. Bacteriol. 96 : 396.
- 8 - Ichihara, A, Furiya, S. and Suda, M. (1960). Metabolism of L - lysine by bacterial enzymes. III) lysine racemase. J. Biochem. 48 : 277.
- 9 - Karlson, P. (1965). "Introduction to modern biochemistry" 2 nd Ed. Academic Press., New York.

- 10- Kornberg, H. L. and Krebs, H.A. (1957) Synthesis of cell constituents from C_2 units by a modified TCA. Nature (London) 179 : 988.
- 11- Kornberg, H. L. (1967) Anaplerotic sequences and their role in metabolism. Essays Biochem. 2 : 1.
- 12- Krebs, H. A. (1970). Rate control of the tricarboxylic acid cycle. Advan. Enzyme Regul. 8 : 335.
- 13- Miller, D. L. and Rodwell, V. W. (1971) Metabolism of basic amino acids in *Pseudomonas putida* catabolism of lysine by cyclic and acyclic intermediates. J. Biol. Chem. 246 : 2758.
- 14- Norton, J. E. and Sokatch, J. R. (1966). Oxidation of D- and L- valine by enzymes of *Pseudomonas aeruginosa*. J. Bacteriol. 92 : 116.
- 15- Sacchan, D. S and stern, I. R. (1971). Studies of citrate transport in *Aerobacter aerogines*. Biochem, Biophys. Res. Commun. 45 : 402.
- 15a- Schlegel, H. G. General microbiology. 6 th Ed. Cambridge press.
- 16- Vogels, G. D. (1969). Stereospecificity in the allantoin metabolism. Antonie van leeuwenhoek; J. Microbiol. serol. 35 : 236.
- 17- Weitzman. P. D. and Dunmore, P. (1969). citrate synthases : Allosteric regulation and molecular size. Biochem. Biophys. Acta 171 : 198.
- 18- White, D. C. and Sinclair, P. R. (1971) Branched electron transport systems in bacteria. Advan. Microbial. Physiol. 5 : 173.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الباب الثامن

التنفس الهوائى
تحولات الهيدروكربونات

Hydrocarbons metabolism

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

بعض المواد الكيماوية الثابتة والمعقدة التركيب مثل البارفينات ، الزيوت المعدنية ، المشتقات البترولية والمطاط يمكن أن تتحلل بيولوجياً . وعمليات هدم الهيدروكربونات عموماً هي عمليات أكسدة .

وتستخدم بعض الميكروبات المحللة للمركبات الهيدروكربونية مواد تفاعل مساعدة Co-substrates كمصدر للطاقة وفي نفس الوقت تؤكسد الهيدروكربونات أكسدة غير كاملة (خطوة أو خطوتين) وهذه الميكانيكية تسمى Co-oxidation أو Co-metabolism للهيدروكربونات وأهم أمثلتها التخلص من المخلفات الصناعية في محطات معالجة مياه الصرف باستخدام الحمأة المنشطة activated sludge .

وعموماً يتكون أثناء تحول الهيدروكربونات الأحماض الدهنية والتي تتعرض لعمليات أكسدة إضافية بطرق مختلفة (ألفا ، بيتا ، أوميغا) .

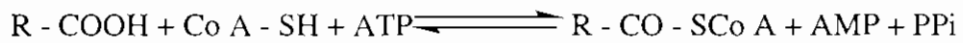
١٠.٨ طرق أكسدة الأحماض الدهنية

١.١.٨ الأكسدة من النوع ألفا - oxidation

وهي تحدث في الوضع أو ذرة الكربون رقم ٢ من السلسلة ونتيجة هذا التفاعل هو ك أم من الحمض الدهني معطياً odd - numbered fatty acid . والميكانيكية الحقيقية لهذا التفاعل ليست معروفة .

٢.١.٨ الأكسدة من النوع بيتا - oxidation

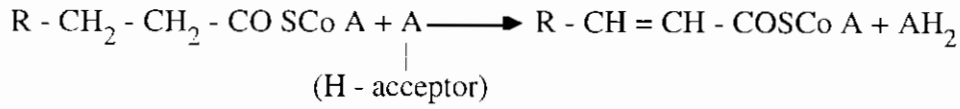
هذا النوع من الأكسدة هو الشائع والأكثر دراسة في الأحماض الدهنية وينتج عنه وحدات من الأستات (C₂) . والخطوة الأولى فيه هي عملية تنشيط الحمض الدهني بواسطة نقله transformation إلى Co A - thioester المقابل وذلك بملازمة إنزيم acyl - Co A synthetase (EC 6.2.1.3) .



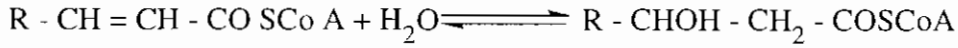
وأشهر الأمثلة هو تكوين أسيتيل كوانزيم A ، برويونيل كوانزيم A .

أما الأحماض الدهنية ذات السلسلة الطويلة المشبعة فتتحول إلى :

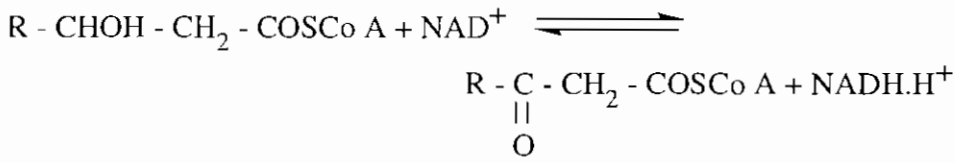
١ - الصورة الغير مشبعة بواسطة (EC 1.3.99.3) acyl. Co A dehydrogenase



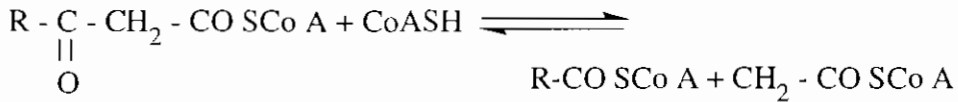
٢ - المركب الناتج (fattyacyl - Co A الغير مشبع) تحدث له عملية هدرجة بواسطة hydratase مكوناً β - hydroxy acyl-Co A للحمض الدهني المستخدم :



٣ - المركب الأخير يتأكسد بواسطة hydroxyacyl - Co A:NAD oxidoreductase (EC 1.1.1.35) إلى β - keto acyl - Co A ester المقابل :



٤ - وأخيراً يحدث تفاعل أنشغافي thiolytic cleavage للمركب β - keto acyl ويتكون أستيتيل كوانزيم A ويقوم إنزيم thiolase (EC 2.3.1.16) بلامسة التفاعل :

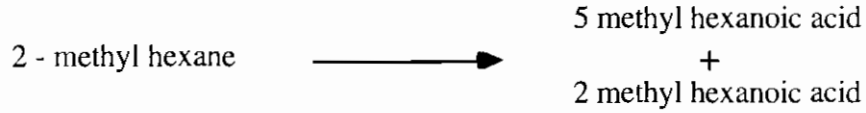


٣.١.٨ الأكسدة من النوع أميجا ω - oxidation

ويتضمن تحول الحمض الدهني إلى مركباته الهيدروكسيلية والتي تتأكسد بعد ذلك إلى أحماض دي كربوكسيلية (ثنائية الكربوكسيل) وهذا النظام يحتاج استخدام نظام انتقال الالكترن بالذات مع Cyt. P-450 أو Thioredoxin أو Cyt. C reductase المرتبط بـ NADP^+ يلاحظ هذا النوع من الأكسدة كنظام ذو وظائف متعددة أثناء تحول الهيدروكربونات .

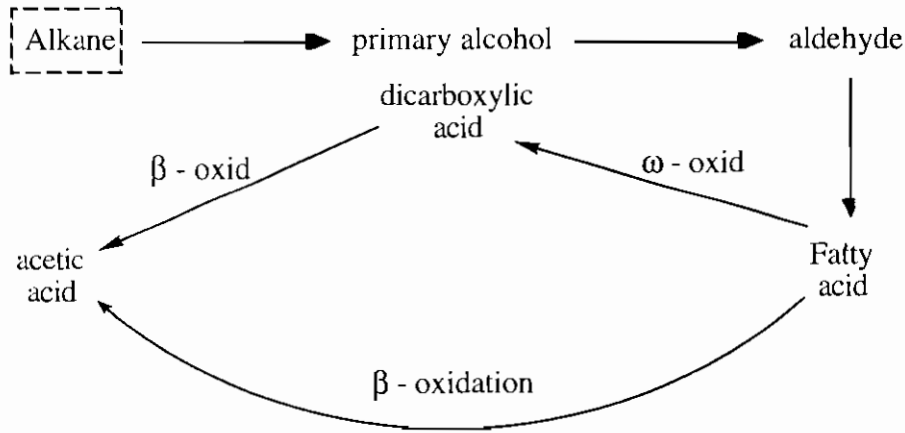
٢.٢.٨ الأكسدة من الطرفين Diterminal oxidation

قليل من البكتيريا تهاجم كلا نهايتي السلسلة مثل *Ps. aeruginosa* النامي على 2 - methyl hexane وينتج خليط من الأحماض .



ومازال هناك اعتقاد أن الميكروب يهاجم طرف واحد ثم الطرف الثاني وليس الطرفين في وقت واحد .

وسواء كانت الأكسدة من طرف واحد أو طرفين فإن الهجوم يقع على مجموعة الميثيل ويؤدي لتكوين الكحول المقابل ثم الألدريد ثم الحمض الدهني والأخير يتحلل بواسطة ω - ، α ، β - oxidation .



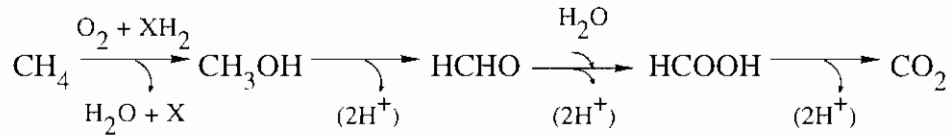
وعموماً فإنه يلزم لأكسدة مجموعة الميثيل وجود مجموعتين مختلفتين من المرافقات الانزيمية :

- في *pseudomonads* بواسطة rubredoxin كمنشط لـ O_2 .
- في *Corynebacterium* بواسطة Cyt. P-450 .
- أما أكسدة مجموعة الميثيلين فتحتاج بلا شك Cyt. P-450 .

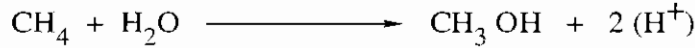
٣.٢.٨ أكسدة الميثان Methane oxidation

لا يُنظر للبكتريا التي تستخدم الميثان - كمصدر للكربون والطاقة - كأحد البكتريا المحللة للهيدروكربونات ولكن كمجموعة متخصصة جداً من البكتريا تستخدم المركبات وحيدة الكربون . وتضمها مجموعة methylophilic bacteria التي تستخدم أيضاً الميثانول ، الأحماض الأمينية الميثيلية ، داي ميثيل أستر ، الفورمالدهيد ، الفورمات بجانب الميثان وهي تقع في عدة أجناس مثل *Methylosinus* ، *Methylococcus* ، *Methylomonas* وتميز بعدم قدرتها على استخدام السكريات ، الأحماض العضوية أو الكحولات .

كيفية الحصول على الطاقة : تؤكسد الميكروبات الميثان إلى الميثانول ثم الفورمالدهيد ثم الفورمات وأخيراً إلى ك_٢ طبقاً للمعادلة .



والخطوة الأولى (أى أكسدة الميثان إلى ميثانول) تتضمن دخول جزئى أكسجين غازى (ليس من الماء) فى التفاعل وذلك فى وجود إنزيم methane oxygenase بينما XH_2 هو العامل المختزل . وهى تختلف عن التصور السابق بوجود hydroxylase الذى يتضمن دخول الماء فى تفاعله :



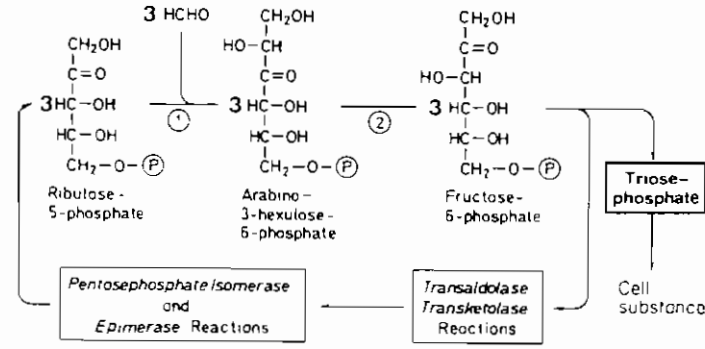
حيث لم يعزل بعد أحد من إنزيماته .

والخطوة الثانية (أكسدة الميثانول إلى الفورمالدهيد) ثبت أنها لا تعتمد على الكتاليز ولكن تتم بواسطة methanol dehydrogenase الذى يستخدم أحد مشتقات Pteridine (methoxatin) كمجموعة مرافقة بدلاً من الفلافوبروتين وتركيبه عبارة عن (PQQ) pyrroloquinoline quinone .

أما الخطوة الثالثة (أكسدة الفورمالدهيد إلى الفورمات) فتتم فى وجود إنزيم formaldehyde dehydrogenase مرتبط بـ NAD^+ (EC 1.2.1.1) ويحتاج إلى الجلوتاثيون المختزل (GSH) .

أما الخطوة الأخيرة (أكسدة الفورمات إلى ك أ⁺) فتلامس بواسطة إنزيم *formate dehydrogenase* (EC 1.2.1.2) مرتبط بـ NAD^+ .

تخليق مادة الخلية : يبدأ من الفورمالدهيد حيث يثبت من خلال دورة ريبولوز مونوفوسفات وخلالها يتحد الفورمالدهيد مع الريبولوز - 5 فوسفات مكوناً - 3 - arabino - phosphate (في وجود إنزيم *hexulose - 6P synthase*) والذي يتحول إلى الفركتوز - 6 - فوسفات (بملاسة *hexulose - 6P isomerase*) والآخر يعاد تحويله إلى البنتوزفوسفات كما في دورة كالفن .

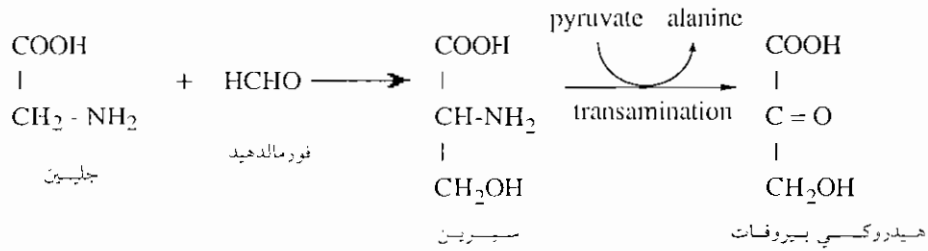


شكل (١.٨) : دورة الريبولوز مونوفوسفات لتثبيت الفورمالدهيد

نقلاً عن Strom et al. 1974

تمثيل المركبات C₂ من خلال دورة السيرين Serine pathway

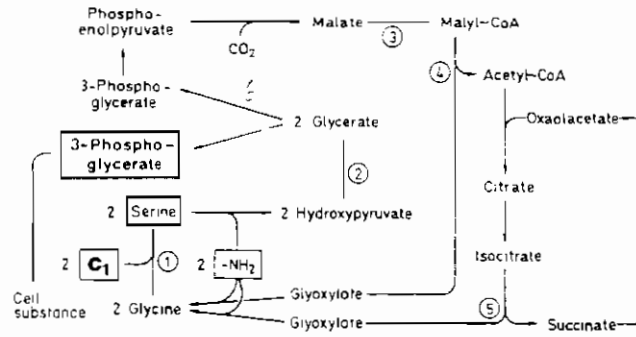
تمت الدراسة في وجود ميكروبي *Hyphomicrobium X. , Pseudomonas M. A.* حيث يستقبل الجليسين المركب أحادي الكربون - الفورمالدهيد - ويتكون السيرين بملاسة إنزيم *Serine hydroxymethyl transferase* (EC 2.1.2.1) ثم تحدث خطوة نقل مجموعة الأمين بين السيرين والبيروفات ويتكون الهيدروكسي بيروفات :



ويختزل المركب الأخير إلى الجليسرال فـ ووجود
 hydroxypyruvate reductase (EC 1.1.1.29) وأخيراً تتحول الجليسرال إلى
 ٣-فوسفوجليسرال في وجود glycerate kinase (EC 2.7.1.31) وهذا المركب يدخل في
 التخليق الحيوي لمادة الخلية أو يدخل دورة EMP كما هو مبين بدوره السيرين بالشكل (٢-٨)
 ثبت أن ميكروب *Pseudomonas MA* يمتلك اثنين من إنزيمات دورة EMP لتحويل
 ٣-فوسفوجليسرال عبر ٢ - فوسفو جليسرال إلى فوسفو أنيول بيروفات والذي تحدث له
 عملية Carboxylation (إضافة ك أ) في وجود PEP - Carboxylase (EC 4.1.1.31)
 وتتكون المالات . وبملاسة إنزيم malate thiokinase يتكون Malyi - Co A والذي يتحول
 إلى acetyl Co A في وجود الإنزيم المكتشف حديثاً في كثير من البكتريا الممثلة لمركبات
 C₁ وهو malyi - Co A lyase (EC 4.1.3.24) .



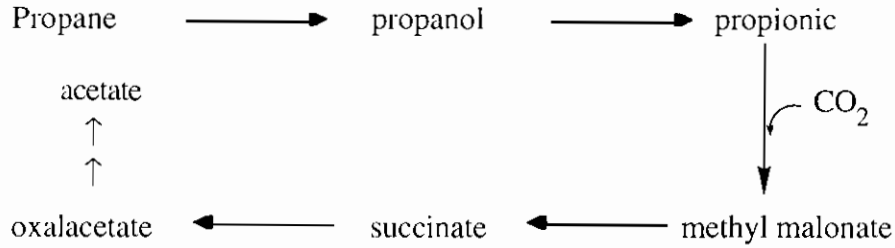
وهذا هو مصدر الجزء الأول من glyoxylate أما مصدر الجزء الثاني فهو اتحاد أستيل
 كوانزيم A مع الأوكسال أستات مكوناً السترات ثم الأيسوسترات الذي ينقسم بمساعدة إنزيم
 isocitrate lyase ويتكون السكسينات, glyoxylate, ومن هذين الجزئين (glyoxylate)
 يتكون الجليسين ويصبح مسيراً لتكوين السيرين وإعادة الدورة .



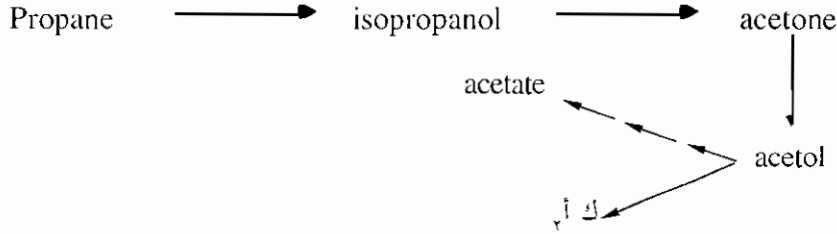
شكل (٢.٨) : تمثيل المركبات C₁ عبر دورة السيرين نقلاً عن شليجل ١٩٨٦

٤.٢.٨ أكسدة البروبان Propane oxidation

ويتم ذلك عن طريق الأكسدة الطرفية حيث يتأكسد البروبان إلى البروبانول ثم إلى البروبيونيك. وفي وجود *Brevibacterium* sp. JOB 5 يمكن تحويل البروبيونيك إلى الأستات عبر ميثيل مالونات والسكسينات .



وفي دراسة باستخدام إنزيم isocitrate lyase لوحظ أن البروبان لا يتأكسد حتى بالطريق الطرفي ولكن عبر أيسوبروبانول والاسيتون إلى الأسيترول ومنه إلى الأستات ، ك أ. ووجود الأستات يشجع تكوين الإنزيم السابق .

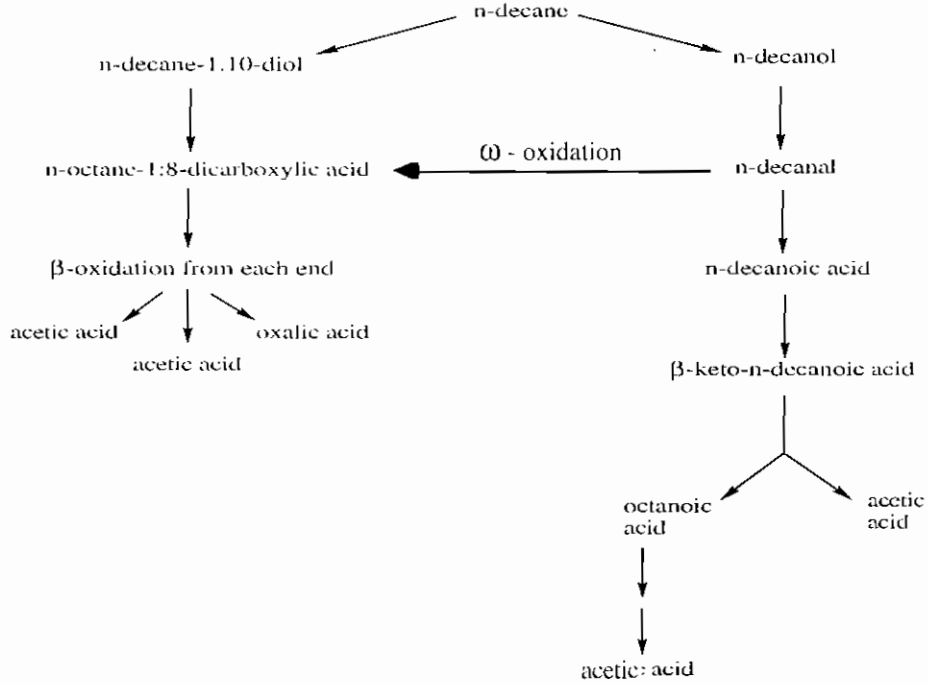


٥.٢.٨ أكسدة الديكان n - Decane oxidation

يتأكسد n. Decane بواسطة *Mycobacterium rhodochrous* وبعض أفراد Pseudomonads إلى n-Decanol والذي يتحلل في وجود alcohol & aldehyde dehydrogenases إلى حمض n- Decanoic ثم يحدث β - oxidation والنتيجة النهائية حمض الخليك وهناك دورة بديلة يحدث فيها ω - oxidation ، ∞ أولاً للديكان حيث يتكون المركب الوسطى أوكتان ١ : ٨ ثنائي الكربوكسيل ثم يتبعها β - oxidation له حتى مستوى حمض الخليك والاكساليك .

وكلا الدورتين يمكن أن يلتقيا معاً بالأكسدة (نوع أوميغا) للمركب ديكانول مكوناً أوكتان ١ : ٨ ثنائي الكربوكسيل كما بالرسم التالي (شكل ٨-٣)

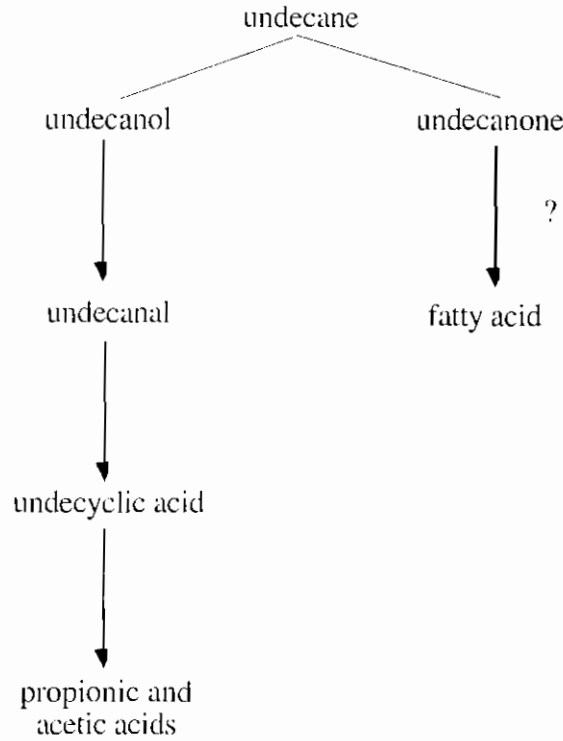
وطبيعة الناتج النهائي تعتمد على الألكان إذا كان فردى (add) أو سلسلة . فالأكسدة (بيتا) للألكان من النوع odd بعد الوصول إلى الحمض الدهنى تعطى أسيتات وبروبيونات فى **monoterminal attack** أو أسيتات ومالونات فى **diterminal attack** ومازالت هناك دراسات على الديناميكية الحرارية لهذه العمليات .



شكل (٣.٨) : أكسدة n - Decane بواسطة الميكروبات

٦.٢.٨ أكسدة المركبات الغير ديكانيه Undecane oxidation

يستطيع ميكروب *Pseudomonas sp. H* المعزول من بحر الشمال بواسطة *killinger* (1970) وهو متحمل للملوحة العالية أكسدة الهيدروكربونات (Undecanes) وذلك بالأكسدة الطرفية يتبعها β - oxidation والناتج النهائي أحماض الأستيك والبروبيونيك . وهناك أكسدة تحت طرفية ينتج عنها undecanome ومازالت تحولاته إلى الأحماض الدهنية غير معلومة (شكل ٨-٤ التالى) .



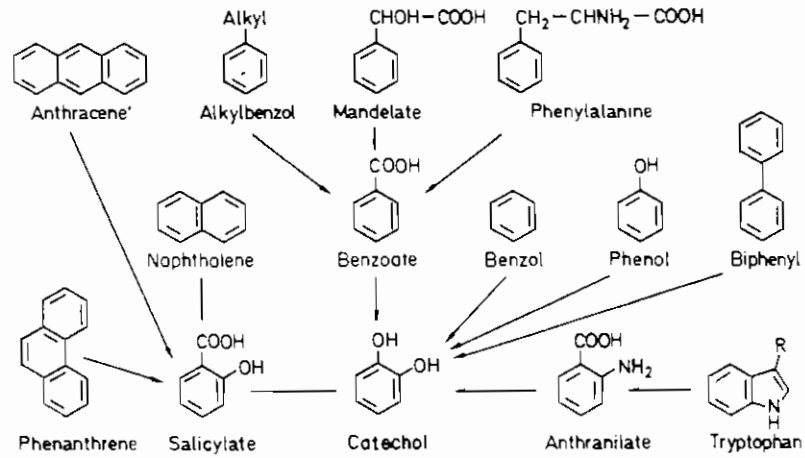
شكل (٤.٨) : أكسدة مركبات undecane

٣.٨ أكسدة الهيدروكربونات الحلقية Aromatic Hydrocarbons

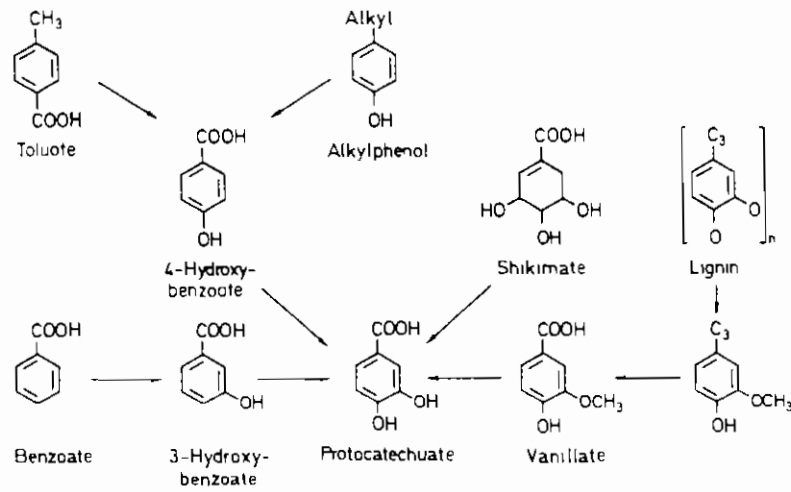
حظيت أكسدة وهدم الهيدروكربونات الحلقية باهتمام كبير في العقود الأخيرة ويرغم أزيد من المعلومات المتاحة من تحولات المركبات الحلقية إلا أن الأمر اقتصر على عدد محدود من البكتريا وبالذات التابعة لجنس *Pseudomonas* وتشير الأبحاث الحديثة إلى إمكانية هدم المركبات الحلقية تحت الظروف اللاهوائية ولكن ميكانيكية ذلك لم تتضح بعد .

١.٣.٨ الإعداد لكسر الحلقة Preparation of ring cleavage

تتحول أغلب الهيدروكربونات الحلقية بالأكسدة إلى واحد من مركبين وسطين أساسيين قبل كسر الحلقة وهما Protocatechuate ، Catechol كما بالرسم التالي :

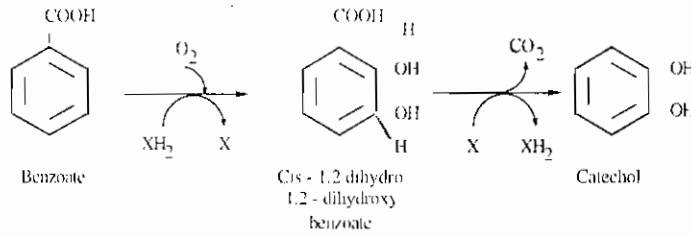


شكل (٥.٨) : طرق هدم المركبات الأروماتية المؤدى إلى Catechol

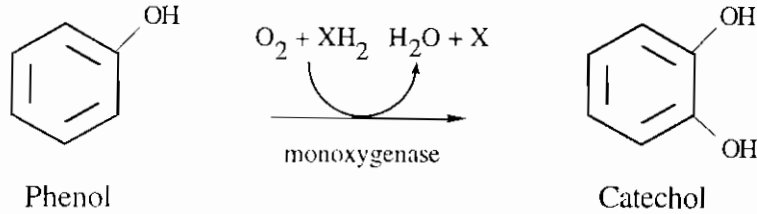


شكل (٦.٨) : طرق هدم المركبات الأروماتية المؤدى إلى protocatechuate

وفي كل الأحوال فإن مجموعة الهيدروكسي تدخل إلى الحلقة . ويمكن تفسير تكوين مركب Catechol (١, ٣ دى هيدروكسى بنزين) اللازم قبل كسر الحلقة كما فى المعادلة التالية :



ويلازم هذا التفاعل إنزيم benzoate 1,2 dioxygenase (EC 1.13.99.2) حيث يدخل جزئ O_2 أولاً إلى الحلقة ويعقب ذلك عمليتي نزع الأيدروجين ونزع ك هـ ليتكون الكاتيكول. أما المركبات الفينولية فيلازمها إنزيم phenol - 2 - monooxygenase حيث تدخل إحدى ذرتي O_2 للحلقة والأخرى تختزل إلى الماء .



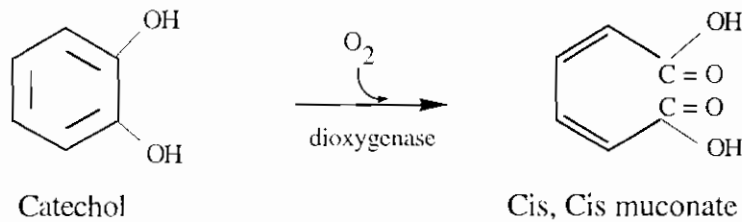
والمجاميع الاستبدالية الموجودة على الحلقة الأروماتية يتم التخلص منها عادة - ولكن ليس دائماً - قبل كسر الحلقة فمثلاً مجاميع النيترو ، السلفونات ، الكلورو يحل محلها مجموعة هيدروكسي. أما السلاسل الجانبية الأليفاتية فيمكن تقصيرها أو حتى التخلص منها بعدة طرق أو تظل على اتصالها بالحلقة .

٢.٣.٨ كسر الحلقة Ring cleavage

يلازم كسر الحلقة إنزيم dioxygenase الذي يقوم بإدخال جزئ O_2 للحلقة ويحدث ذلك الكسر بأحد طريقتين :

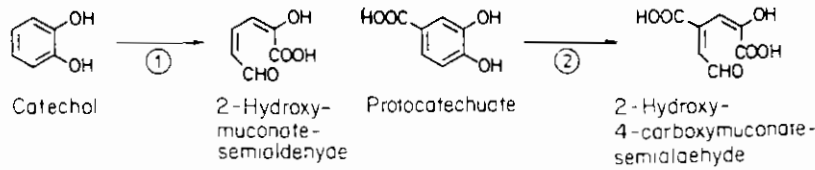
Ortho or intradiol cleavage (I)

وأهم الميكروبات التي تقوم به *Ps. putida* ، *Acinetobacter calcoaceticus* ، *Alcaligenes eutrophus* ويحدث الكسر بين ذرتي كربون متجاورتين عليهما مجموعتي هيدروكسي وينشق Catechol بواسطة إنزيم Catechol - 1,2 - dioxygenase (ortho - pyro - catechase) (EC 1.13.11.1) .



Meta or extradiol cleavage (II)

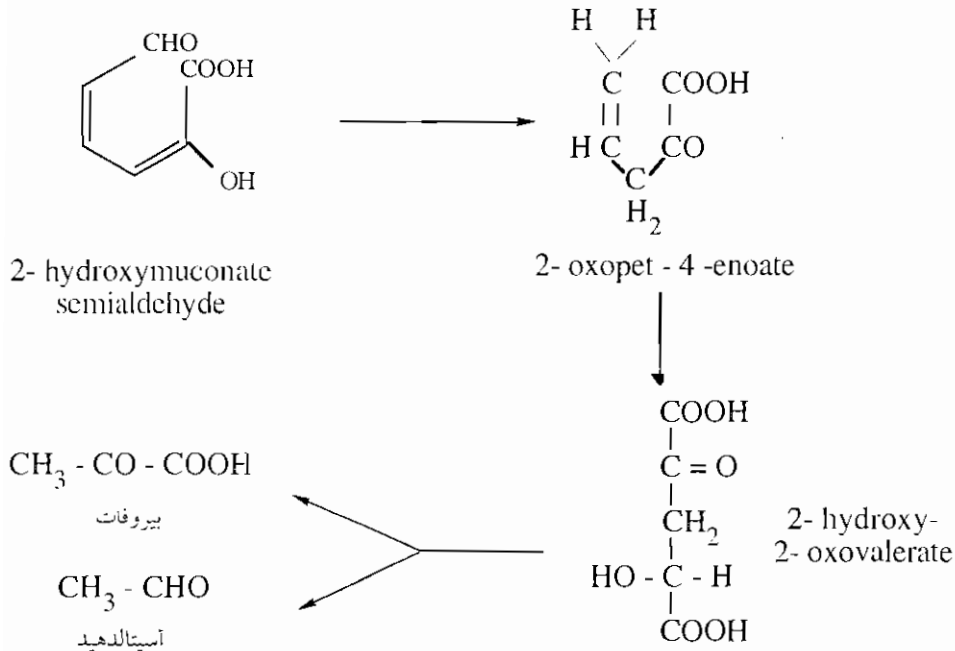
يحدث الكسر بين ذرة كربون عليها مجموعة هيدروكسي وأخرى مجاورة لها لا تحمل مجموعة هيدروكسي ويلامس التفاعل بواسطة dioxygenases والمركب الناتج من الكاتيكول هو ٢ - هيدروكسي ميكونات سمي الدهيد والإنزيم المسئول هو (meta pyrocatechase) Catechol - 2,3 - dioxygenase . أما المركب الناتج من protocatechuate فهو ٢ - هيدروكسي - ٤ - كربوكسي ميكونات سمي الدهيد وذلك بملاسة إنزيم (EC 1.13.11.8) protocatechuate 4,5 dioxygenase .



شكل (٨.٨) : كسر الحلقة بطريقة meta cleavage

ومشتقات الميكونات سمي الدهيد الناتجة تدخل في الدورات المعروفة عبر البيروفات

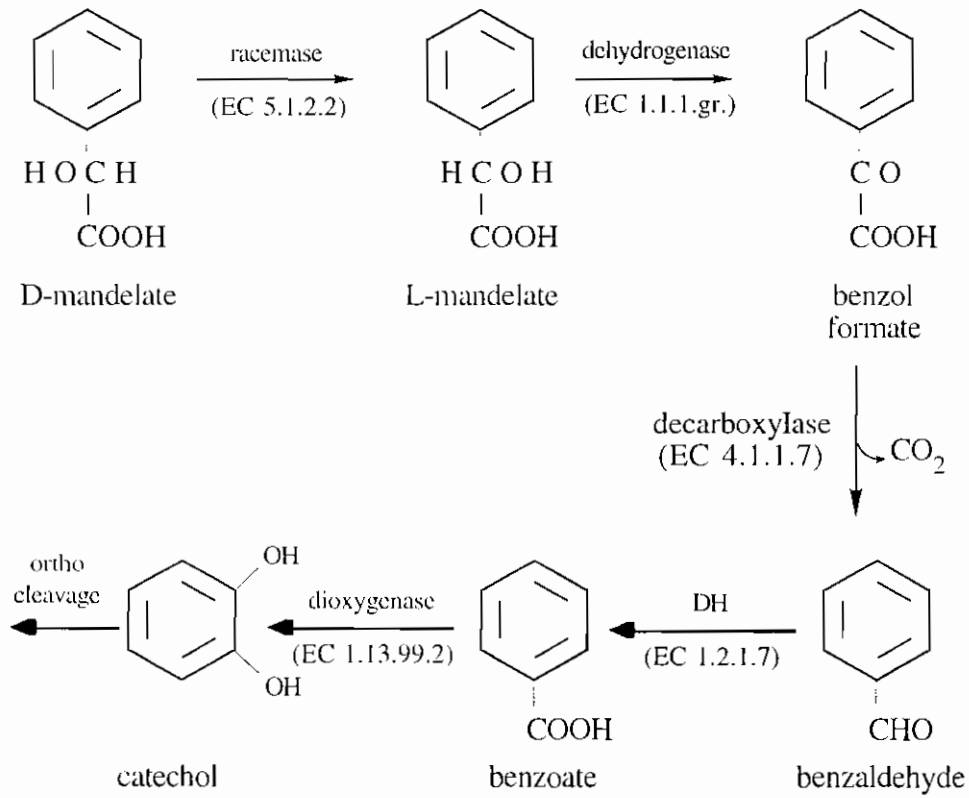
والأسيتالدهيد كما يلي :



وتحديد إفراز الإنزيمات المسئولة عن الانشقاق سواء ortho أو meta تلعب الظروف البيئية النامى فيها الميكروب وكذا مرحلة النمو البكتيرى دوراً هاماً فيه . وفى بعض pseudomonads يرتبط هدم المركبات الحلقية عبر catechol بكسر الحلقة بطريقة ortho بينما المهذومة عبر protocatechuate يستخدم طريقة meta لكسر الحلقة ولكن لا يعتبر ذلك تعميمًا .

٣.٣.٨ تحول Mandelate - D

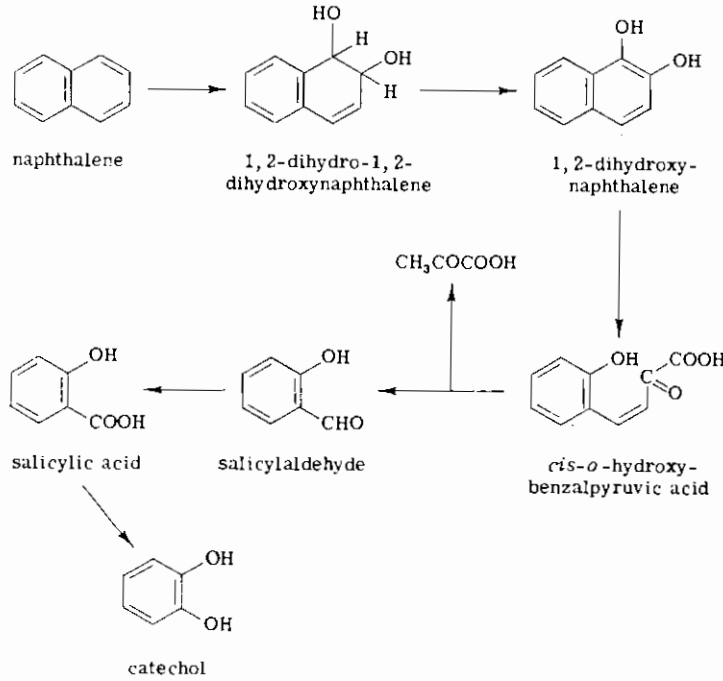
يدخل هذا المركب فى سلسلة من تفاعلات الهدم حتى يصل إلى Catechol والذي يدخل بدوره فى ortho cleavage وينتهى بتكوين β - ketoadipate ومنه إلى الأستيل كوانزيم A والسكسينات .



شكل (٩.٨) : تحولات D-mandelate لتوضيح ortho - cheavage حلقة البنزين

٤.٣.٨ تحول النفثالين Naphthalene

لوحظ ذلك فى عدد من ميكروبات التربة مثل *Pseudomonas denitrificans* ، *Achromobacter sp.* ، *Ps fluorescens* . ويمثل salicylate ، catechol المركبات الوسيطة فى سلسلة هدم حلقتى النفثالين .



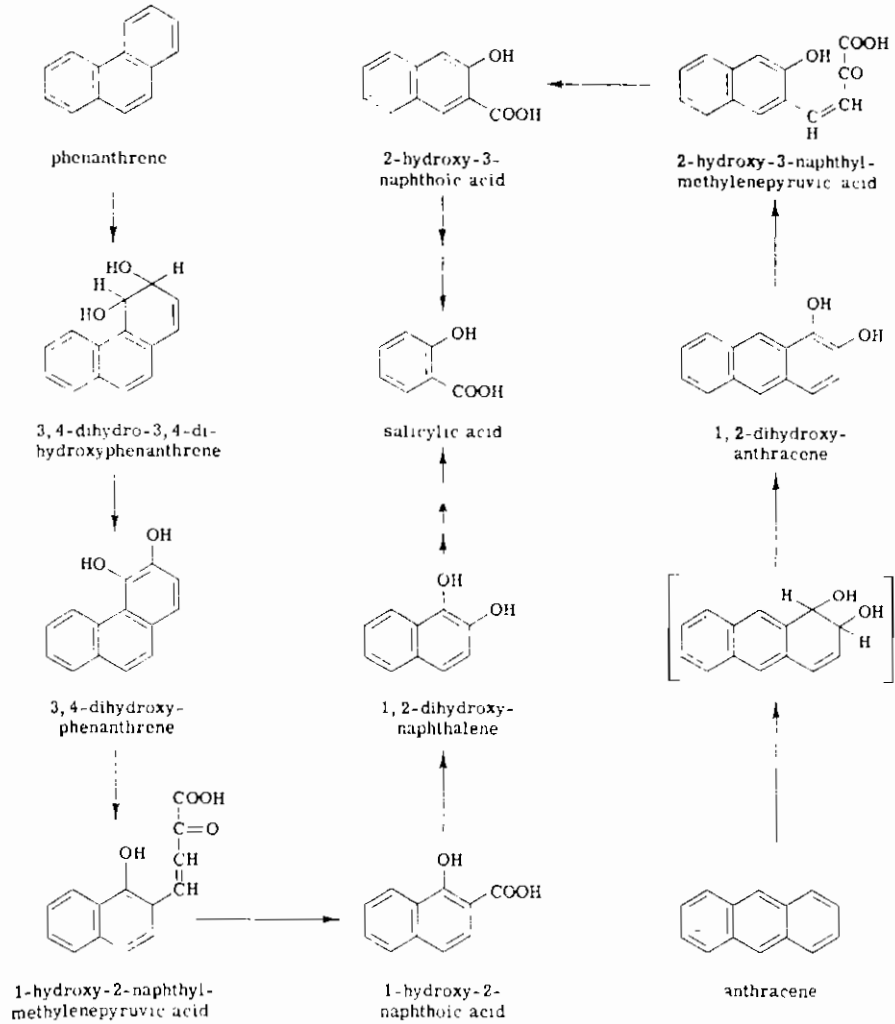
شكل (٨.١٠) : أكسدة النفثالين بواسطة Pseudomonads

نقلًا عن Davis & Evans سنة ١٩٦٤

والخطوة الأولى هى أكسدة النفثالين إلى ١, ٢ دى هيدروكسى نفثالين وعند هذا المستوى تنكسر الحلقة الأولى ويتكون Cis - o - hydroxy benzal pyruvate الذى ينشق إلى ساليسيل الدهيد + البيروفات فى وجود aldolase . وبعملية أكسدة يتحول الأخير إلى حمض السليسيليك الذى يحدث له عملية نزع ك أ^١ مصحوبة بالأكسدة ويتحول إلى كاتيكول ويلاص الخطوة الأخيرة إنزيم Sulicylate 1-mono oxygenase (EC 1.14 . 13.1) ويتحول الكاتيكول إلى β - ketoadipate ويكمل تحوله كما سبق .

5.3.8 anthracene & phenanthrene تحول

وهما مركبان ثلاثى الحلقات تستطيع ميكروبات *Flavobacterium* sp. هدمها بكسر الحلقات واحدة وراء الأخرى فى نظام يشبه أكسدة النفثالين السابق ويلعب حمض السيليسليك دور المركب الوسطى فى عملية الهدم .

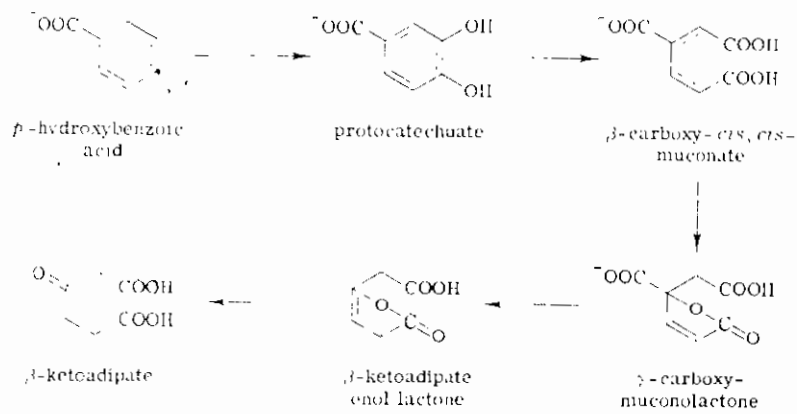


شكل (١١.٨) : تحولات anthracene , Phenanthrene

نقلًا عن Fernely et al, 1964

٦.٣.٨ تحول هيدروكسي بنزوات P - Hydroxy benzoate metabolism

بعض الهيدروكربونات التي تستخدم دورة β - ketoadipate تستعمل *protocatechuic acid* بدلاً من *Catechol* كمركب وسطي للتفاعل مثل الهيدروكسي بنزوات الذي درس في العديد من البكتيريا مثل *Ps. putida*, *Moraxella calcoacetica* حيث يهاجم المركب بعملية هدرجة في الوضع ٣ لانتاج *protocatechuic acid* (٣, ٤) دي هيدروكسي بنزوات) بملامسة إنزيم *3-hydroxy benzoate 3-monooxygenase* (EC 1.14.13.2).

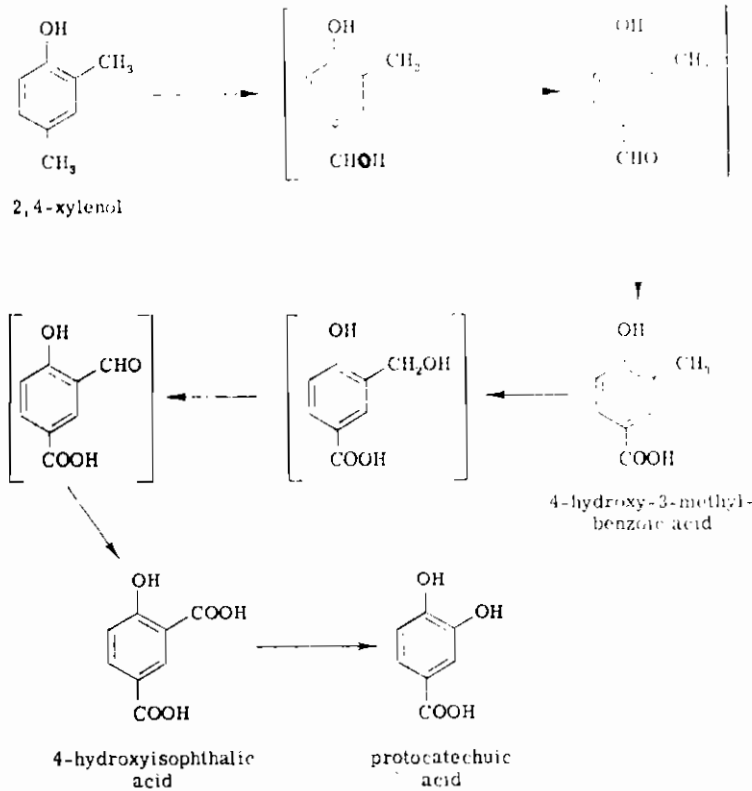


شكل (٨.١٢) : تحولات هيدروكسي بنزوات في *Pseudomonas putida*

والخطوة الثانية هي أكسدة *Protocatechuic acid* بطريقة *ortho* ويتكون ٣ - كربوكسي *Cis, Cis* ميكونات ويعقب ذلك عملية *lactonization* حيث يتكون ٤ - كربوكسي ميكونولاكتون في وجود إنزيم *Cycloisomerase* (EC 5.5.1.2).
وبنزع ك أ_١ يتكون β - ketoadipate lactone بمساعدة إنزيم *carboxy muconolactone decarboxylase* (EC 4.1.1.44) ومن المركب الأخير يتكون β - ketoadipate.

٧.٣.٨ تحول الزيلينول 2,4- Xylenol

درس ذلك فى fluorescent pseudomonads حيث تتحول مجموعة الميثيل فى الوضع بارا para إلى هيدروكسيل ثم إلى الكربوكسيل ويعرف المركب الوسطى الناتج بحمض ٤- هيدروكسى ٣- ميثيل البنزويك. والجزء التالى من الهدم يتم تحويل مجموعة الميثيل الثانية بنفس الأسلوب مكوناً ٤- هيدروكسى آيسوفيثالينا. الذى يتحول إلى Protocatechuate حيث يدخل فى ortho - cleavage منتهياً إلى β - ketoaipate كما بالرسم التالى :

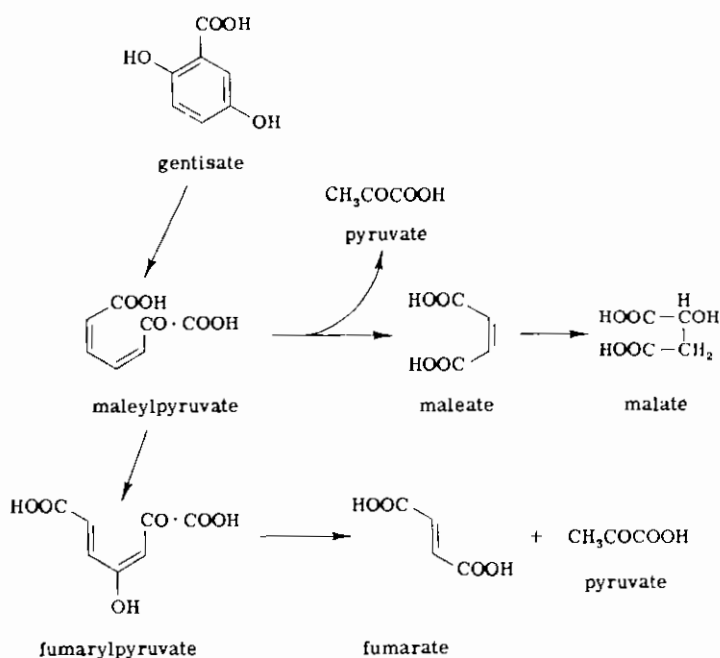


شكل (١٣.٨) : تحولات ٢, ٤ الزيلينول بواسطة أحد سلالات *Pseudomonas* نقلاً عن Chapman & Hopper, 1968

٨.٣.٨ تحول Gentisate

بالإضافة إلى Catechol ، Protocatechuate بيرز Gentisate كمركب وسطي في تحولات الهيدروكربونات قبل الدخول فسي تفاعلات كسر الحلقة وبالأخص أثناء نمو *Ps. acidovorans* على هيدروكسي بنزوات الذي يتأكسد بتأثير إنزيم 6-hydroxylase إلى gentisate وهو إنزيم متخصص في ذرة الكربون رقم ٦ (أما 4-hydroxylase المتخصص في الوضع ٤ فينتج عنه protocatechuate كما لوحظ ذلك في *Ps. testosteroni*).

ويتأكسد Gentisate بواسطة (EC 1.13.11.4) gentisate 1,2 dioxygenase إلى ماليل بيروفات (كسر الحلقة) وبعملية isomerization يتحول إلى فيوماريل بيروفات وهذه الخطوة تحتاج تركيز عالى من الجلوتاثيون المختزل (GSH) ولذا يشك في حدوثها بواسطة *Ps. acidovorans* ويستطيع الميكروب تحويل ماليل بيروفات إلى ماليت maleate والبيروفات وبالهدرجة يتحول الماليت إلى مالات .



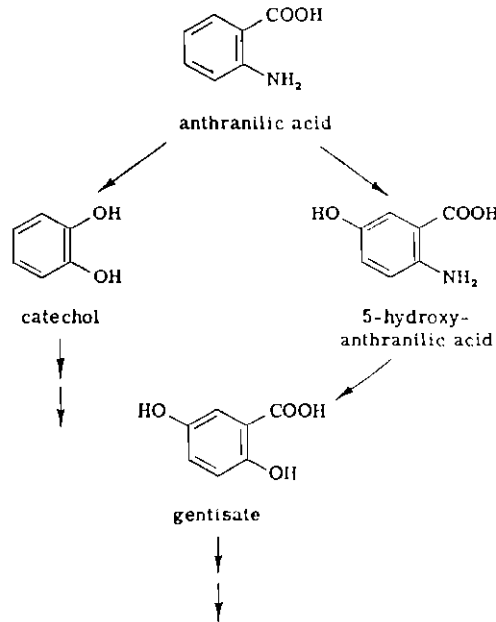
شكل (٨.١٤) : تحولات Gentisate بواسطة أحد سلالات *Pseudomonas* نقلًا عن lack, 1959

وهناك بعض السلالات من *Pseudomonas* التي تستطيع بالفعل تحويل ماليل بيروفات إلى نظيرة الأيسوميري نيوماريل بروفات ويعقب ذلك تحلل مائي إلى الفيوماريك ثم إلى البيروفيك .

ويستعمل gentisate pathway أثناء أكسدة m- cresol حيث يتحول الأخير إلى 3- هيدوكسي بنزوات أولاً قبل تكوين Gentisate وينفس الطريقة يتحول 2,5 xylenol إلى 4 - ميثيل جيتسات .

٩.٣.٨ تحولات Anthranilic acid

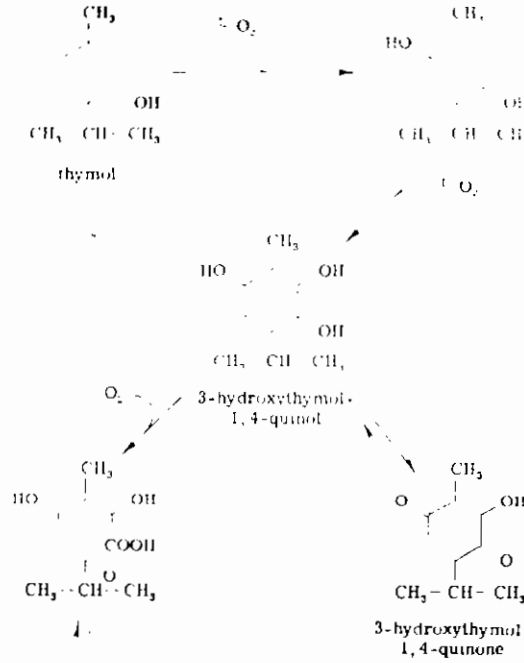
يمكن أن يتحول عن طريقين أما تكوين المركب الوسطى Catechol أ، المركب الوسطى gentisate .



شكل (١٥.٨) : تحولات anthranilic بواسطة *Nocardia* نقلاً عن Cain سنة ١٩٦٨
ويقوم بذلك ميكروب *Nocardia opaca* ويبدو أن تكوين catechol هو الأسلوب السائد والإنزيم المسئول هو 5-hydroxylase حيث يقوم بترزج مجموعة الأمين واستبدالها بمجموعة الهيدروكسيل في الوضع 5 .

١٠.٣.٨ تحولات الثيمول Thymol

ويعتبر أبرز مثال لأسلوب meta cleavage لكسر الحلقة الأروماتية حيث يستطيع ميكروب *Ps. putida* تحويل الثيمول إلى أيسوبيوترات ، أسيتات ، ٣ - أوكسو بيوترات كنواتج نهائية للتفاعل . وكيفية ذلك أن الثيمول يتعرض للأكسدة مرتين لتكوين ٣ - هيدروكسي ثيمول - ١ ، ٤ كينول الذي يتحول بسهولة في التربة إلى الكينون المقابل ذو اللون الأرجواني .



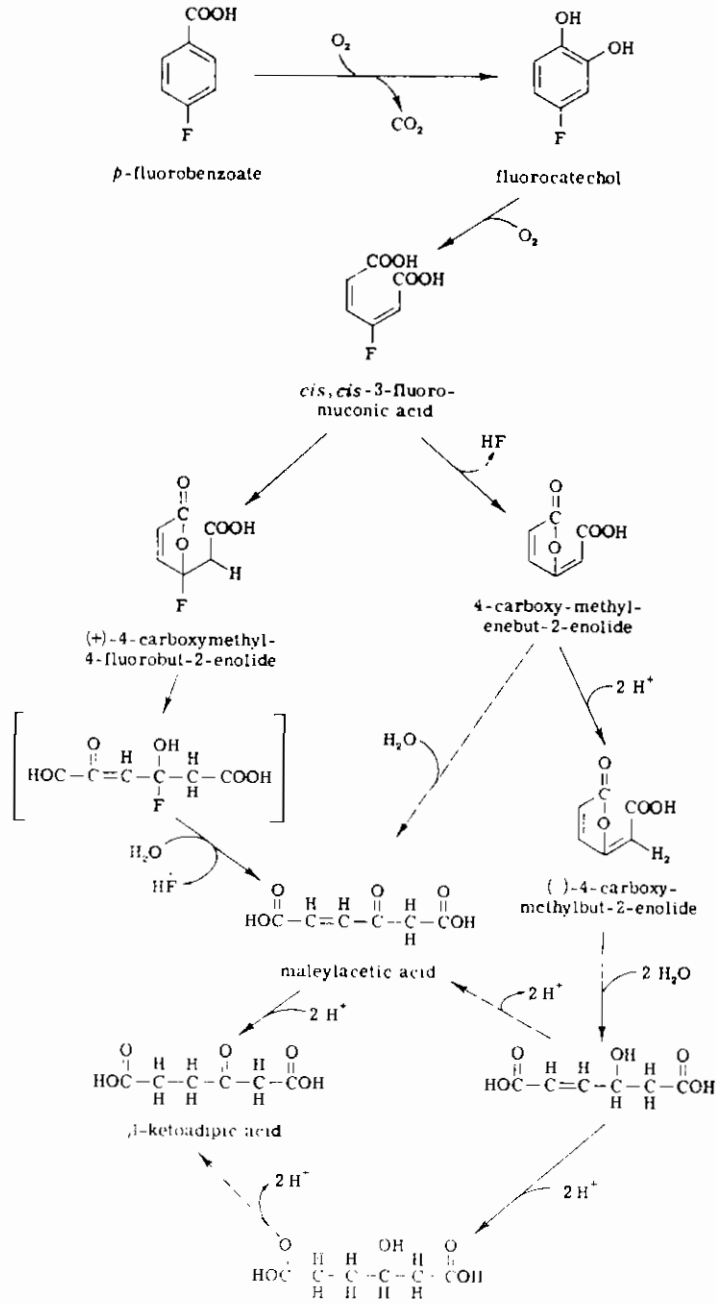
شكل (١٦.٨) : تحولات الثيمول بواسطة *Ps. putida* نقلا عن

Chamberlain & Dagley, 1968

أما حلقة السبزين في quinol فتتكسر في وجود dioxygenase ويكمل الهدم حتى النواتج النهائية (أيسو بيوترات ، أسيتات) السابق ذكرها .

١١.٣.٨ تحولات P-xylene

وهو يشبه تحول 2,4 xylenol السابق وصفه في فقرة ٧.٣.٨ . حيث تستطيع بعض سلالات *Pseudomonas* أكسدة إحدى مجموعتي الميثيل إلى *P. toluic acid* مروراً بالكحول والألدهيد المقابل ثم تحدث عمليتي hydroxylation ، decarboxylation ويتكون ٤ - ميثيل كاتيكول .



شكل (١٨.٨) : تحولات P - فلوروبنزوات بواسطة Pseudomonads
 عن Harper & Blakley (1971)

٥.٨ تحولات الأحماض الكربوكسيلية الفينوكسي الكيل

Phenoxyalkyl carboxylic acids

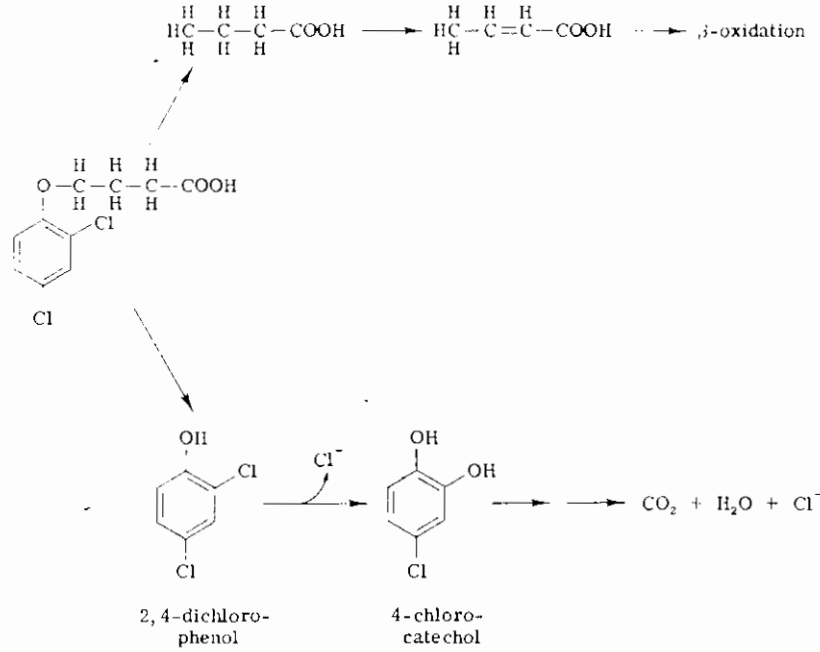
أصبح التخلص من المبيدات وملوثاتها هو موضوع الساعة. ويتركز (PCR) Pest con- trol research الحالى على ايجاد مركبات عضوية تتحكم فى الافات الحشرية والأمراض النباتية سواء بكتريا أو فطرية أو فيروسية. وقابلية هذه المبيدات على التحلل ذو أهمية تطبيقية نظراً لسمية هذه الكيماويات للإنسان والحيوان.

وتتخطم معظم المبيدات أو يتخلص من سميتها بأساليب وتقنيات مختلفة فى التربة وأغلبها ينصب على النشاط البيولوجى biological degradation . ومعظم المبيدات المقاومة للتحلل هى هيدروكربونات مكلورة مثل DDT ، chloradane ، aldrin ، phenoxy herbicides ، dieldrin مثل 2.4 D . أى أن البناء أو التركيب الكيماوى للمبيد يؤثر على مقاومة التحلل persistence ومعدل التحول ويمكن الرجوع لكثير من المراجع فى هذا الصدد مثل Audus 1964 ، Gripps 1971 . . الخ .

والميكانيكية العامة لأكسدة الأحماض الكربوكسيلية الفينوكسي الكيلية مازالت محل تساؤل ! فالبعض يفترض أن aliphatic moiety لهذه الأحماض تتحول بواسطة β - oxidation وتشير دراسات على تحلل ٢, ٤ داي كلوروفينوكسي البيوترات بواسطة *Flarobacterium* إلى حدوث التحلل بواسطة كسر رابطة الأستر بدلاً من β - oxidation للأحماض الدهنية . وهذا الكسر لرابطة الأستر يؤدي إلى تكوين ٢, ٤ داي كلورو فينول وحمض البيوتيريك والأول تحدث له عملية dehalogenation عند الوضع ortho والنتائج هو 4-chlorocatechol قابل للتحلل الكامل مع احتمال تكون - Cis, Cis chloro muconic acid . وعموماً توجد طريقتين لتحول الأحماض الكربوكسيلية الفينوكسي الكيلية :

١ - تستخدم أساساً بواسطة *Nocardia sp* وتشمل الأكسدة (β) للسلاسل الأليفاتية وتؤدي لتكوين مركبات وسطية phytotoxic من المركبات الأصلية .

٢ - كسرا رابطة الأستر بالأكسدة وتتم غالباً بواسطة *Flauobacterium sp.* وتؤدي للتخلص من المجموعات الاستبدالية الجانبية وبالتالي من سمية مبيدات الأعشاب . (كما يظهر ذلك من الرسم التالى) .

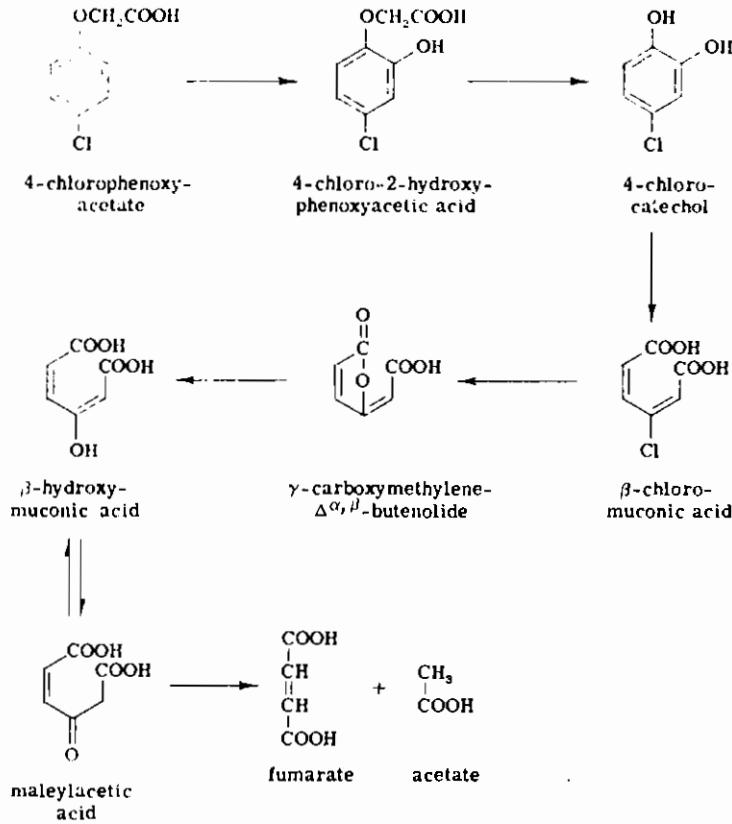


شكل (١٩.٨) : تصور عام للاكسدة الأولية للأحماض الكربوكسيلية الفينوكسي الكيلية
نقلًا عن Mac Rae et al., 1963

١.٥.٨ تحولات ٤-كلوروفينوكسي أسيتات 4-Chlorophenoxy acetic acid

يستعمل مييد الحشائش الهرموني ٤ - كلوروفينوكسي أسيتات مع ٢, ٤ داي كلورو فينوكسي أسيتات، ٤ - كلورو -٢- ميثيل فينوكسي أسيتات بنجاح في مجال وقاية النبات وأصبح واسع الانتشار عالميًا .

وتستطيع كثير من الميكروبات مهاجمة هذه المبيدات وتحليلها ولكن بدرجات مختلفة مثل *Corynebacterium sp.* ، *Nocardia coeliaca* ، *Flavobacterium aquile* ، *Mycoplana sp.* ، *Arthrobacter sp.* ، *Achromobacter sp.* ، *Pseudomonas NCIB 9340* ، وهناك نوع واحد من *Arthrobacter* ، *Pseudomonas* يستطيع هدم ٤- كلوروفينوكسي أسيتات بالكامل إلى النيورمارات والأسيتات كما بالرسم التالي :



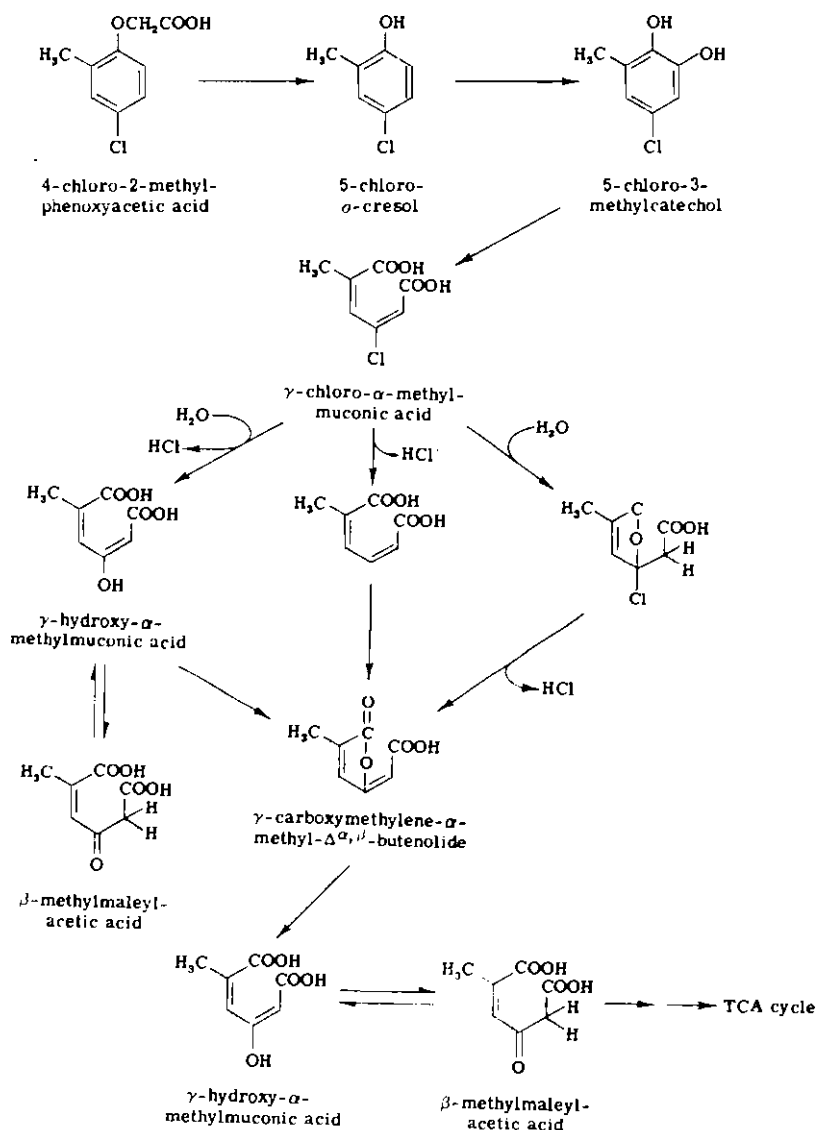
شكل (٢٠.٨) : تحولات ٤-كلوروفينوكسي أسيتات بواسطة الميكروبات
 نقلاً عن Evans, et al, 1971

حيث يبدأ التحلل بعملية hydroxylation (إدخال OH-) للحلقة الأروماتية في
 الوضع ortho وتكون ٤-كلورو-٢-هيدروكسي فينوكسي أسيتات. ثم تكسر رابطة الأستر
 ويتكون glyoxylate ، ٤-كلورو كاتيكول الذي يدخل في ortho - cleavage للحلقة
 مكوناً β-كلوروميونكات الذي يفقد أيون الكلوريد (Cl⁻) فيما يسمى dehalogenation
 ويتحول بعملية lactonization إلى اللاكتون المقابل أي ٤-كربوكسي ميثيلين بيوتانوليد
 وهذا اللاكتون يتحول سريعاً إلى ماليل أسيتات ثم إلى الفيومارات والأسيتات .

٢٠.٥.٨ تحول ٤-كلورو-٢-ميثيل فينوكسي أسيتات

وهو أكثر ثباتاً في التربة من ٢, ٤ داي كلوروفينوكسي أسيتات . والخطوة الأولى هي كسر
 رابطة الأستر واستبدالها بمجموعة هيدروكسي مكوناً ٥-كلورو-٥-كربوكسي + الجليوكولات
 ثم تحدث عملية hydroxylation في الوضع ortho مكوناً ٥-كلورو-٣-ميثيل كاتيكول

وهذه الخطوة تختلف في الترتيب عن المركب السابق ٤- كلورو فينوكس أسيتات . والخطوة التالية هي كسر الحلقة بطريقة ortho - cleavage ويتكون ٨-كلورو - ∞ - ميثيل ميكونات الذي يفقد أيون الكلوريد dehalogenation بواحد من ٣ طرق (كما بالرسم) مع عملية lactonization (تكوين اللاكتون المقابل والناتج ٨ - كربوكسي ميثيلين - ∞ - ميثيل بيونوليد والذي يتحول بدورة إلى ميثيل ماليل أسيتات ومنه إلى دورة TCA .



شكل (٢١.٨) : تحولات المبيد العشبي الهرموني : ٤- كلورو - ٢- ميثيل فينوكسي أسيتات بواسطة ميكروبات التربة - نقلًا عن Gaunt & Evans, 1971

٢.٥.٨ تحول ٤,٢ داي كلورو فينوكسي أسيتات

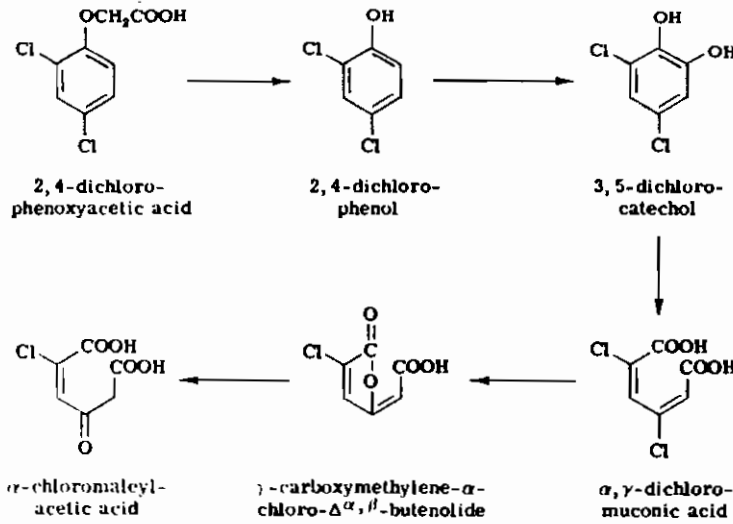
2,4-dichlorophenoxy acetate (2,4 D)

يشبه سابقه في خطوات الهدم الأولى من حيث كسر رابطة الأستر واستبدال السلسلة الجانبية بمجموعة الهيدروكسي ليعطى ٤,٢ داي كلوروفينول ، جليوكسالات. ثم يقوم ميكروبي *Pseudomonas* NCIB 9340 ، *Arthrobacter* sp. بعملية *hydroxylation* في الوضع ortho مكوناً ٥,٣ داي كلورو كاتيكول ثم يحدث كسر الحلقة بطريقة *ortho* مكوناً ∞ ، لداي كلورو ميكونات. (بينما يستطيع ميكروبي *Flarobacterium peregrinum* ، *Achromobacter* sp. تحويل ٤,٢ داي كلوروفينول إلى ٤- كلورو كاتيكول ثم إلى ٤- كلوريد ميكونات) .

على أي حال مركب ∞ ، لداي كلوروميكونات تحدث له عمليتي *dehalogenation* ، *lactonization* (نزع أحد أيونات Cl^- مع تكوين اللاكتون المقابل) والناتج تكوين ٨-كربوكسي ميثيلين -∞- كلورو بيوتانوليد والذي يتحول إلى كلورو ماليل أسيتات. وتعتمد نواتج هدم هذا المركب على المرحلة التي يطرد فيها أيون الكلوريد المتبقى

- فإذا طرد Cl^- أثناء مهاجمة كلورو ماليل أسيتات فإنه يتحول إلى 3- ketoadipic ثم السكسينات .

- أما إذا ظل Cl^- في الجزئ فإن كلورو ماليل أسيتات يتحول إلى 2, chloro -4- keto adipic الذي يتحول إلى الكلورو سكسينات ثم السكسينات أي ينطلق (Cl^-) في آخر خطوة بالتفاعل .



شكل (٢٢.٨) : تحول ٤,٢ داي كلوروفينوكسي أسيتات نقلاً عن Tiedje et al, 1969

5.5.8 التحولات الأيضية لـ Riboflavin

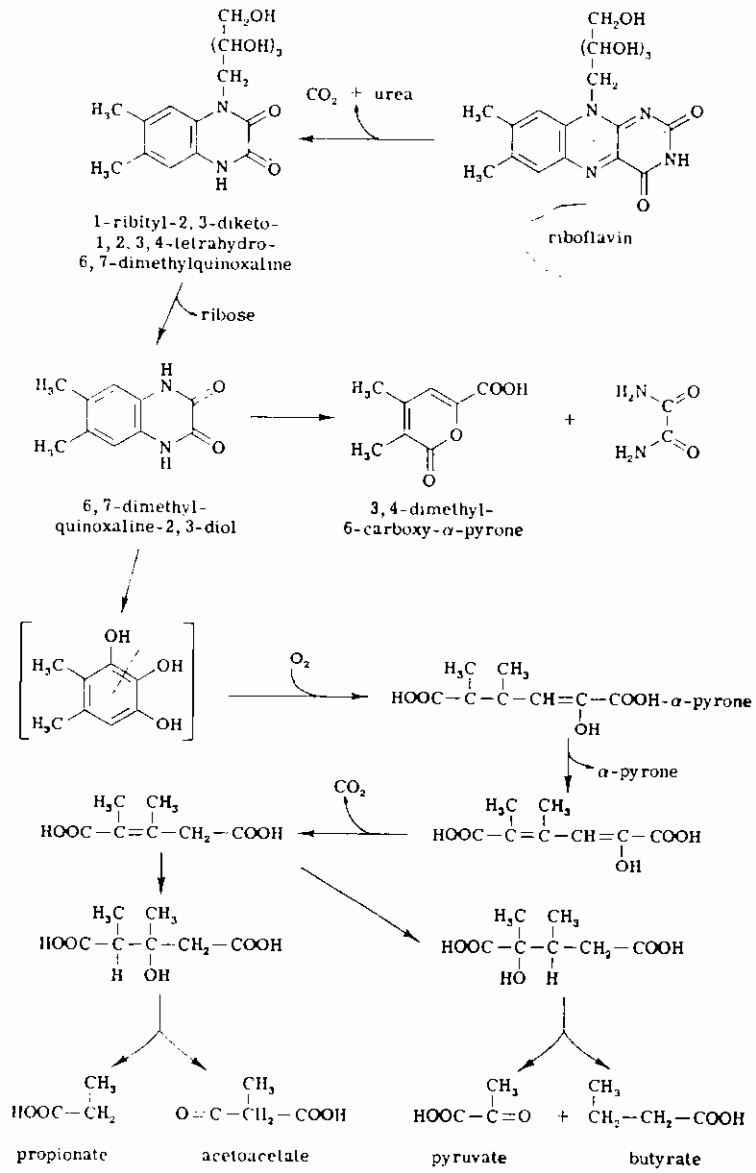
يستطيع *Pseudomonas* أكسدة الريبوفلافين إلى البيوتيريك ، البيروفات ، البروبيونيك ، أستو أسيتات .

الخطوة الأولى عدنية hydroxylation لجزيء الريبوفلافين ينتج عنها (1- ريبثيل 3,2 - داى كيتو 4,3,2,1 تترأ هيدرو 7,6 داى ميثيل كينو كسالين) وتحتاج هذه الخطوة إلى الأوكسجين ويخرج ك₂ أ₂ . يوريا .

الخطوة الثانية فصل السلسلة الجانبية بالأكسدة وينتج عنها خروج الريبوز ويتكون 7,6 دى ميثيل كينوكسالين 3,2 - ديول والذي يتحول فى اتجاهين .

أما إلى تكوين 4,3 داى ميثيل -6- كربوكسى - الفايرون أو الطريق الثانى الذى يؤدي إلى تكوين البيروفات ، البيوترات ، البروبيونات . الأستو أسيتات ويمكن تلخيص التصور العام لهذه التحولات كما بالرسم التالى (شكل 8 - 24) .

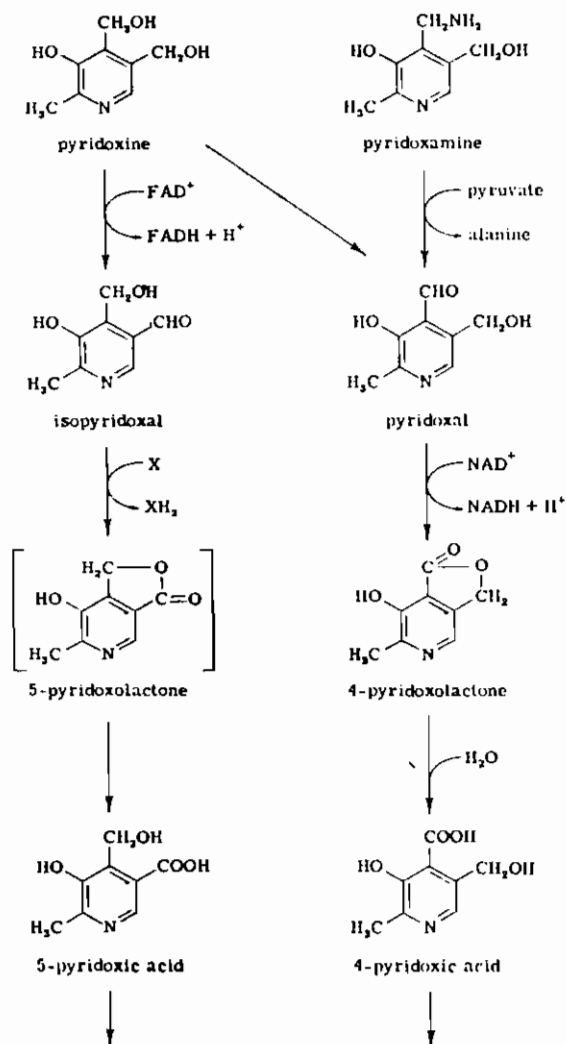
ويعتمد تحديد اتجاه التفاعل على درجة التهوية لبيئة النمو فالتهوية العالية تشجع الطريق المؤدى إلى الأحماض الصغيرة مع انطلاق ك₂ أ₂ بكمية كبيرة .



شكل (٢٤.٨) : تحلل الريبوفلافين بواسطة *Pseudomonas RF*
 نقلاً عن Barz & Stadtman (1969)

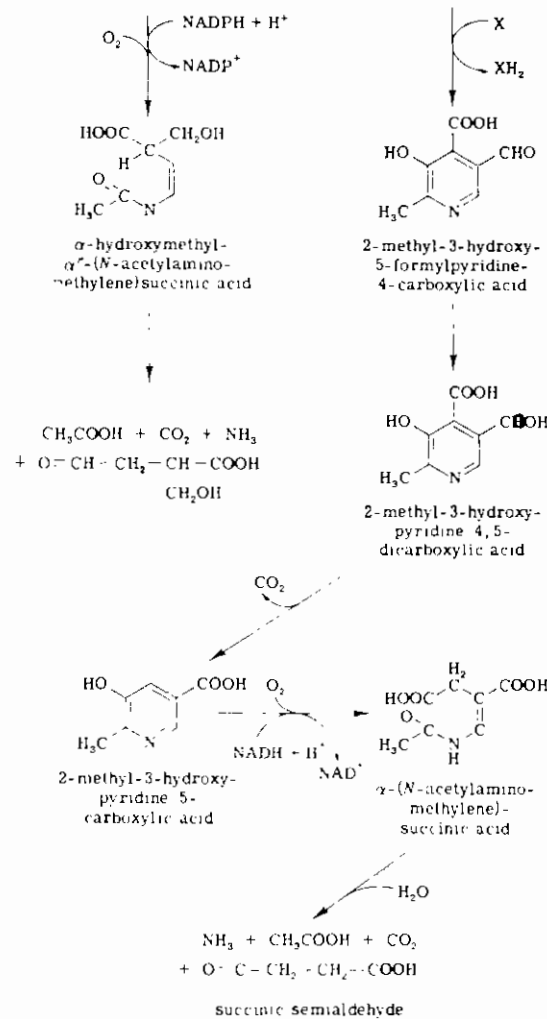
٦.٥.٨ تحولات فيتامين B₆ (Pyridoxine)

يُستخدم طريقان مختلفان لهدم فيتامين B₆ ويعتمد ذلك على وجود Pyridoxine أو Pyridoxamine كمصدر وحيد للكربون والطاقة .



شكل (٢٥.٨) : تحولات فيتامين B₆ (Pyridoxine) ، Pyridoxamine ، بواسطة كائنات التربة (بقية الشكل بالصفحة التالية)

الطريقة الأولى هو تحول بيردوكسين بواسطة *Pseudomonas* ويشمل
 Pyridoxine 5-dehydrogenase (EC 1.1.99.9) المرتبط بـ FAD ويستعمل ٦,٢ داي
 كلورو أندوفينول كمستقبل للأيدروجين وينتج عنه isopyridoxal .



تابع شكل (٢٥.٨) : لتحولات فيتامين B₆ نقلاً عن Sparrow et al, 1969

ويوجد إنزيم آخر مختلف تماماً هو Pyridoxine 4- oxidase (EC 1.1.3.12) معزول من *Pseudomonas MA-1* يلامس تحول Pyridoxine إلى Pyridoxal وهو يستعمل كل من الأكسجين، دي كلورو أندوفينول كمستقبل للأيدروجين .

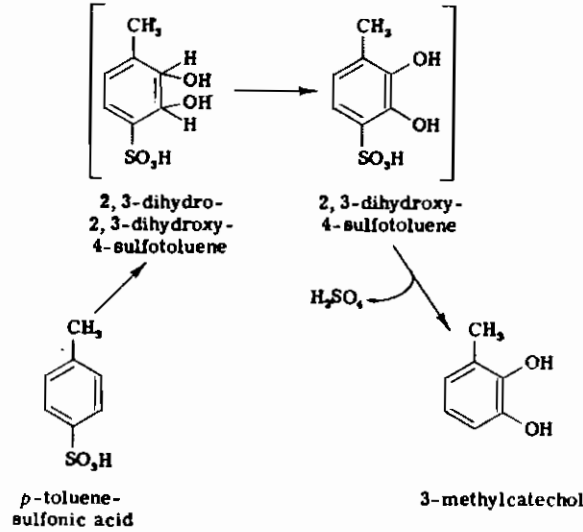
المهم أن أيسو بيردوكسال الناتج يتأكسد إلى 5- بيردوكسال أسيتون والذي يتحول مباشرة إلى 5-pyridoxic acid وعند هذا المستوى من التفاعل يحدث كسر الحلقة بواسطة pyridoxate dioxygenase (EC 1.14.12.5) ويتكون أحد مشتقات السكسينك ومنه يتكون الاستيك، ك أ، الأمونيا ، السكسينات سمي الدهيد كنواتج نهائية .

الطريقة الثانية وقد درست بتوسع أكبر . فالخطوة الأولى لتحول pyridoxamine هي نزع مجموعة الأمينو مكوناً Pyridoxal ومحولاً البيروفات إلى الآئين. ويلى ذلك تكون 4-pyridoxolactone بملاسة إنزيم pyridoxal DH المرتبط بـ NAD^+ والأخير يتحول إلى حمض 4-pyridoxic فى وجود إنزيم pyridoxolactonase (EC 3.1.1.27) والخطوة التالية هى أكسدة مجموعة الكحول فى 4 pyridoxic acid فى خطوتين متعاقبتين $(COOH \leftarrow CHO \leftarrow CH_2OH)$ مكوناً حمض 2- مثل 3- هيدروكسى بيريدين - 4, 5 دي كربوكسيليك ثم تنزع ك أ من الوضع 4 حتى يدخل فى تفاعل oxygenase cleavage لكسر الحلقة وينتج الفا - (أسيثيل أمينو مثيلين) - سكسينات، والذي يتحول بدوره فى وجود hydrolase إلى النواتج النهائية (الأسيتات، ك أ، أمونيا ، سكسينك سمي الدهيد) وبرغم أن كلا الدوريتين المستخدمتين فى تحول فيتامين B_6 ذات إنزيمات inducible إلا أنه ليس معروفاً للآن إذا كانت Single or sequential induction .

٧.٥.٨ تحولات سلفونات التولوين P-toluene sulfonate

يستطيع العديد من أفراد Pseudomonads تحويل السلفونات الحلقية مثل سلفونات التولوين حيث تتحرر مجموعة السلفونات من الحلقة الأروماتية مع حدوث oxygenase reaction مكوناً 3-ميثيل كاتيكول يعقبه كسر الحلقة بطريقة meta ويتكون البيروفات والأسيتات كنواتج نهائية (شكل ٨-٢٦) .

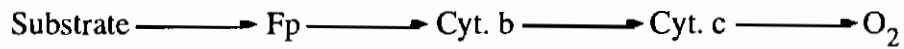
ويستطيع ميكروب *Alcaligenes* تحويل سلفونات الكيل البنزين بنفس الطريقة السابقة من حيث مهاجمة السلسلة الجانبية مكوناً مشتقات الكاتيكول قبل كسر الحلقة. ويستطيع *Ps. testosteroni* استخدام سلفونات البنزين كمادة نمو جديدة .



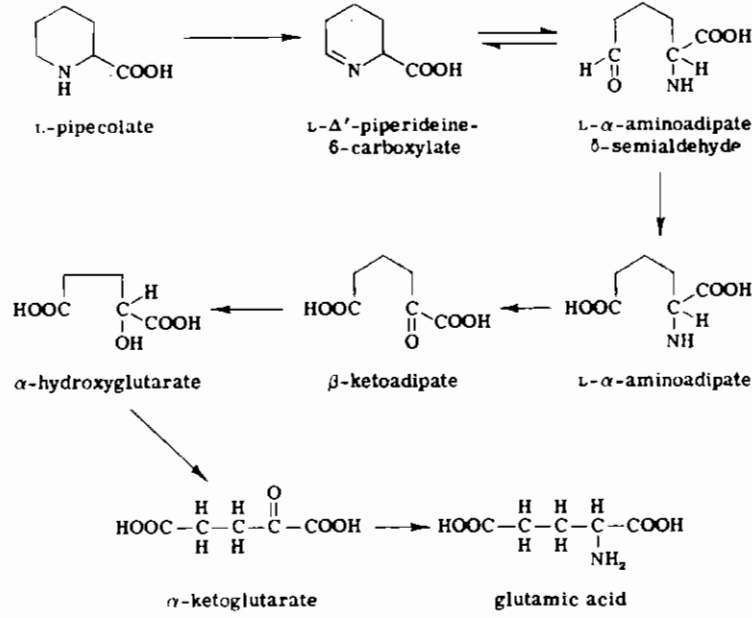
شكل (٢٦.٨) : تحولات P - toluene sulfonate
(المراجع Focht & Williams, 1970)

٨.٥.٨ تحولات البيبي كولات Pipecolate

يستطيع ميكروب *Ps. putida* القيام بهدم هذا المركب الحلقى المرتبط بمجموعة النيترو. والخطوة الأولى هي عملية أكسدة بيبي كولات إلى L-6-piperidine-6-carboxylate وجود إنزيم pipecolate dehydrogenase (EC 1.5.99.3) يعقب ذلك تفاعل غير إنزيمي ينتج عنه L- α -amino adipate semialdehyde (كسر الحلقة) والذي يتأكسد بدوره إلى L- α -amino adipate (الالدهيد ← كربوكسيل) والخطوة الثالثة هي عملية نزع مجموعة الأمين ويتكون β -keto adipate ومنه يتكون الفا هيدروكسي جلوتارات الذي يتأكسد إلى الفاكيتو جلوتارات بلامسة إنزيم oxidoreducase (EC 1.1.99.2) مرتبط بالغشاء الخلوي والمعروف بـ (*Ps. putida* - ETP) وهذا الإنزيم متخصص للايسومير (L). وفي حالة استخدام O_2 كمستقبل نهائي للإلكترون فإن نظام انتقال الإلكترون يتبع :



والتفاعل الأخير يتضمن نقل مجموعة الأمين ويتحول الفاكيتو جلوتارات إلى حمض الجلوتاميك .



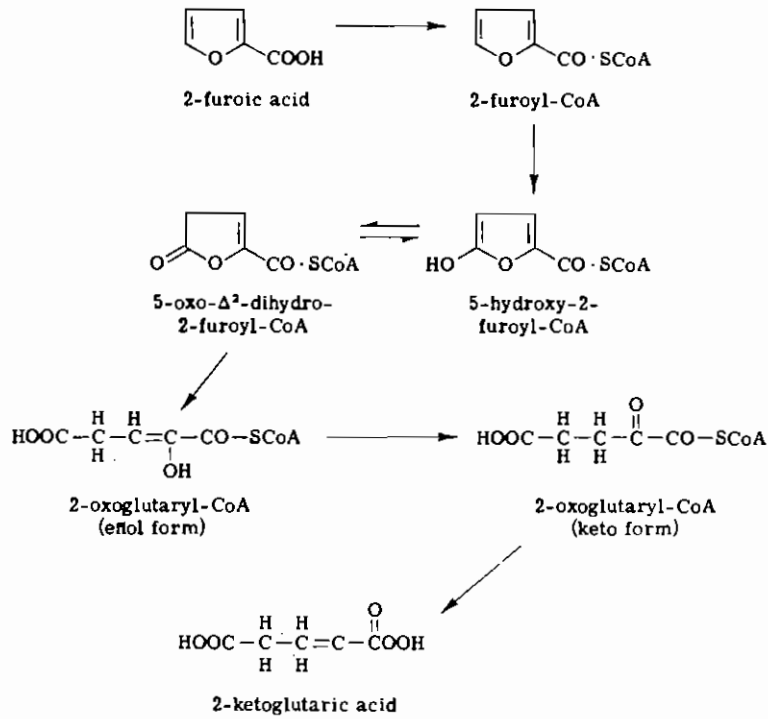
شكل (٢٧.٨) : تحولات L-pipecolate بواسطة *Ps. putida*

نقلًا عن Basso et al سنة ١٩٦٢

٩.٥.٨ تحول Furoic acid

ترجع أهمية هذا التحول لقيام الميكروبات بمهاجمة حلقة الفيوران Furan الهامة في الأبحاث الأكلينيكية .

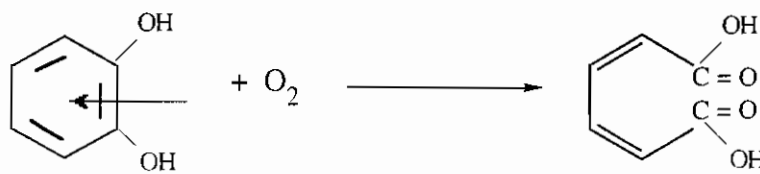
والخطوة الأولى هي تحول ٢- فيوريك أسيد إلى فيوريل كواتزيم A بملامسة إنزيم L-Furoyl- Co A synthetase . ويلى ذلك عملية إدخال (OH-) فى الوضع 5 ويكون ٥- هيدروكسى ٢- فيورويل كواتزيم A والسدى يوجد فى حالة توازن مع نظيره الكيتونى 5-oxo- Δ^2 - dihydro -2- furoyl - Co A والأخير يتحول بواسطة إنزيم lactone hydrolase إلى الصورة الأينولية للمركب 2-oxoglutaryl - Co A ثم إلى الصورة الكيتونية لنفس المركب . وأخيراً بتأثير thiolester hydrolase يخرج Co A ويتكون الناتج النهائى 2-oxoglutarate كما هو موضح بالشكل التالى .



شكل (٢٨.٨) : تحولات 2-furoic acid (المرجع (Trudgill (1969)

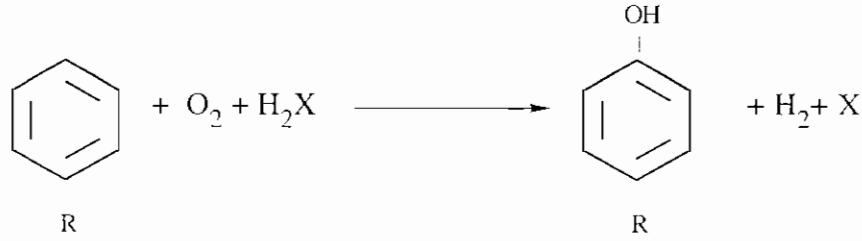
٦.٨ إنزيمات Oxygenases

هي مجموعة من الإنزيمات التي تلامس إدخال جزئ الأكسجين إلى المركبات العضوية المختلفة وتم تعريفها بواسطة IUB بأنها الإنزيمات التي تلامس إضافة جزئ الأكسجين عبر الرابطة المزدوجة بين ذرتي كربون. أي إضافة كلا ذرتي جزئ الأكسجين إلى مادة التفاعل (وليس أي من الذرات المضافة مصدرها الماء المذيب). ولذا استعمل Hayaishi, 1966 اصطلاح dioxygenase لهذا النوع من الإنزيمات .



طريقة تأثير dioxygenase

ويتبع نفس المجموعة إنزيمات "hydroxylases" وهي إنزيمات تلامس أيضاً إضافة جزيء الأكسجين لمادة التفاعل ولكن ذرة واحدة فقط من جزيء الأكسجين تدخل لمادة التفاعل بينما الذرة الثانية تكون ماء ويمثل H_2X معطى الأيدروجين .



طريقة تأثير (hydroxylase (mono oxygenase)

وقد استعمل Hayaishi سنة ١٩٦٦ اصطلاح monooxygenase لهذا النوع من الإنزيمات بينما يفضل Mason et al سنة ١٩٥٥ تسمية هذه الإنزيمات "mixed function oxidases" وهي تسمية قديمة وطويلة .

ويمكن فصل oxygenases عن oxidases بوضوح فالأخيرة إنزيمات تستعمل جزيء الأكسجين كمستقبل للإلكترون ولذا تكون H_2O_2 أو H_2O كناتج ولا تدخل الأكسجين إلى مادة التفاعل .

وتنتشر إنزيمات oxygenases بصورة واسعة في الطبيعة فهي :

- هامة في تفاعلات الهدم والتخليق بالذات المركبات الأروماتية حيث تعتبر الإنزيم الأول الذي ينقل الهيدروكربونات الغير قابلة للتحلل مثل البنزين ، نفتالين إلى مركبات اليقاتية يمكن استخدامها في دورات التحولات الأيضية السائدة .
 - تؤكسد الألكان لتعطى أحماض دهنية التي تواصل تحويلها بواسطة β or ω - oxidation
- علمًا بأنه لا يزال العديد من المركبات الحلقية لم يعرف بعد ميكانيكية تحولاتها .

أسئلة للمراجعة

- ١ - حدد الفروق بين الأكسدة alpha ، beta ، omega المتبعة فى أكسدة الأحماض الدهنية؟
- ٢ - ماهو الفرق بين الأكسدة diterminal ، menoterminal للألكان ؟
- ٣ - ما المقصود بالاصطلاح "mixed function oxidase" مقارنة بـ oxygenase ؟
- ٤ - أشرح كيفية إعداد الحلقة الأروماتية للكسر ؟
- ٥ - ما الفرق بين ortho & meta cheavage لحلقة البنزين ؟
- ٦ - ما المقصود بـ sequential induction لآى دورة تحليل ؟
- ٧ - أشرح الطريقتين المختلفتين لاستخدام الهيدروكربونات وصولاً إلى β -ketoacid ؟
- ٨ - ماهو الفرق بين Catechol pathway ، gentisate ؟
- ٩ - أشرح الفرق بين تحولات الهيدروكربونات الأروماتية ، الأروماتية الهالوجينية .
- ١٠ - ماهى الميكانيكية المنظمة (المحددة) لتحولات هيدروكسى بنزوات بواسطة *Ps putida* ، *Acinetobacter calcoaceticus* ، *Alcaligenes eutrophus* ؟
- ١١ - أشرح تحولات مبيد الحشائش الهرمونى ٢- ميثيل ٤- كلوروفينوكسى أسيتات والمبيد الحشرى DDT ؟
- ١٢ - ناقش كيفية مهاجمة الميكروبات حلقة Furan ؟
- ١٣ - ما الفرق بين طريقة تأثير dioxygenase ، monooxygenase ؟

المراجع

- 1 - Audus, L. J. (1964). "The physiology and Biochemistry of Herbicides" Academic Press, New York.
- 2 - Barz, W and Stadtman, E. R. (1969). Bacterial degradation of riboflavin. Arch. Microbiol. 67 : 128.
- 3 - Basso, L. V., Rao, D. R. and Rodwell, V. W (1962). Metabolism of pipecolic acid in *Pseudomonas* species. J. Biol. Chem. 237 : 2239.
- 4 - Cain, R. B. (1968). Anthranilic acid metabolism by microorganisms. Antonie van leeuwenhoek; J. Microbiol Serol. 34 : 417.
- 5 - Chamberlain, E. M. and Dagley, S. (1968). The metabolism of thymol by *Pseudomonas*. Biochem. J. 110 : 755.
- 6 - Chapman, P.J. and Hopper, D.J. (1968). The bacterial metabolism of 2,4 - xylenol. Biochem. J. 110 : 491.
- 7 - Cripps, R. E. (1971). The microbial breakdown of pesticides. Soc. Appl. Bacteriol. Symp series, 1 : 255.
- 8 - Davies, J. I. and Evans, W.C. (1964). Oxidative metabolism of naphthalene by soil pseudomonads. The ring - fission mechanism. Biochem. J. 91 : 251.
- 9 - Davies, R. S., Hossler, F.E. and Stone R. W. (1968). Metabolism of p- and m- xylene by species of *Pseudomonas*. Can. J. Microbiol. 14 : 1005.
- 10- Evans, W. C., Smith, B. S., Moss, P. and Fernaley, H. N (1971) Bacterial metabolism of 4-chlorophenexyacetate. Biochem J. 122 : 543.

- 11- Fernley, H. N., Griffiths, E. and Evans, W.C. (1964). Oxidative metabolism of phenanthrene by soil bacteria. The initial ring fission step. Biochem. J. 91 : 15.
- 12- Focht, D.D. and Williams, F. D. (1970). The degradation of p- toluene sulfonate by *Pseudomonas*. Can. J. Microbiol 16 : 309.
- 13- Gaunt, T. K. and Evans, W. C. (1971). Metabolism of 4- chloro -2- methyl phenoxyacetate by soil pseudomonads - Ring fission, Lactonizing and delactonizing enzymes. Biochem. J. 122 : 533.
- 14- Harper, D. B. and Blokley, E. R. (1971) The metabolism of p - fluorophenyl acetic acid by *Pseudomonas* sp. II The degradative pathway. Can, J. Microbiol. 17 : 645.
- 15- Hayaishi, O. (1966). Crystalline oxygenase of pseudomonads - Bacteriol. Rev. 30 : 720.
- 16- Killinger, A. (1970) Der Abbau von Undecan durch ein marines Bakterien. Arch. Microbiol 73 : 160.
- 17- Lack, L. (1959). The enzymic oxidation of gentisic acid. Biochem Biophys. Acta 34 : 117.
- 18- Mac Rae, I. C., Alexander, M. and Rovira, A. D. (1963). The decomposition of 4-(2,4 - dichlorophenoxy) butyric acid by *Flavobacterium* sp. J. Gen. Microbiol. 32 : 69.
- 19- Ornston, L.N. and Stanier, R. Y (1966). The conversion of catechol and protocatechuate to β - keto adipic acid by *Ps. putida*. J. Biol Chem. 241 : 3776.

- 20- Schlegel, H.G. (1986). General microbiology, 6th Ed., Cambridge Univ. Press, London.
- 21- Sparrow, L. G., Ho, P.P.K., Sundaram, T.K. Zach, D., Nyns, E. T. and Snell, EE. (1969) The bacterial oxidation of vitamin B₆. J. Biol. Chem. 244 : 2590.
- 22- Steenson, T. I. and Walker, N. (1956) observations on the bacterial oxidation of chlorophenoxy acetic acids. Plant & Soil 8 : 17.
- 23- Taylor, H. F. and Wain, R. L. (1962). Side chain degradation of certain ω - phenoxyalkane carboxylic acids by *Nocardia coeliaca* and other microorganisms isolated from soil. Proc. Roy. Soc. ser. B. 268 : 172.
- 24- Tiedje, H.M., Duxbury, J.M., Alexander, M. and Dawson, J. E. (1968), 2,4-D metabolism : Pathway of degradation of chlorocatechols by *Arthrobacter* sp. J. Agr. Food Chem. 17 : 1021.
- 25- Trudgill, P.W. (1969). The metabolism of 2-furoic acid by *pseudomonas* F2. Biochem. J. 113 : 577.
- 26- Vestal, T. R. and Perry, J. J. (1969). Divergent metabolic pothways for propane and propionate utilization by a soil isolate. J. Bacterial. 99 : 216.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الباب التاسع

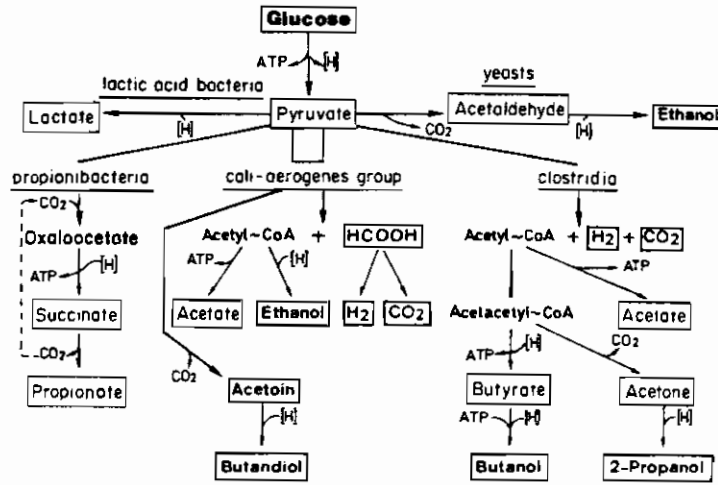
التخميرات

Fermentations

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

١.٩ مقدمة عامة

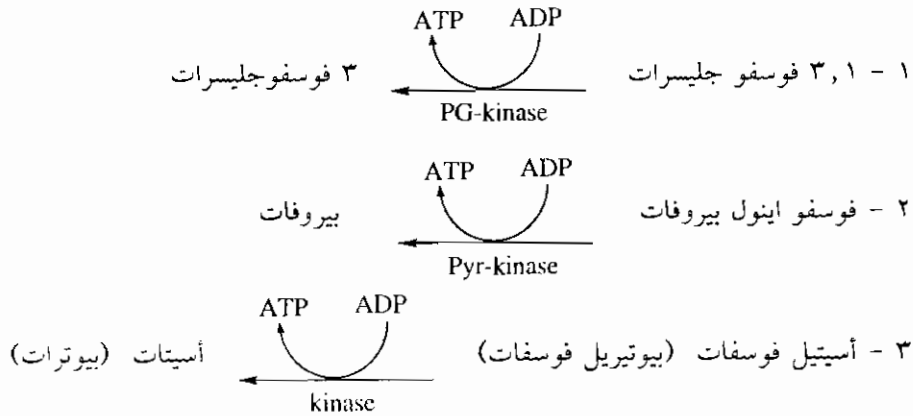
- التخمر عملية أيضية بهدف إعادة تخليق الطاقة وفيها تستخدم نواتج الهدم العضوية «كمعطي» وأيضا «كمستقبل» للايدروجين (أو للالكترون)، أى ليس لأكسجين أو بدائله (النترات - الكبريات . . . الخ) دور هنا كما قال باستير "La Fermentation est la via sans l'air" هو الحياة بدون هواء .
- وخطوات التخمر عبارة عن نزع الأيدروجين (dehydrogenation) حيث ينتقل الأيدروجين إلى عامل مساعد مثل NAD^+ أو $NADP^+$ والميكروبات التي تقوم بها لا تملك نظام السلسلة التنفسية لانتقال الالكترون e^- - transport chain ولذا تحدث عملية إعادة تخليق ATP عادة بأسلوب substrate level phosphorylation .
- ويتكون أثناء تخمر الكربوهيدرات كثير من النواتج الوسطية سواء بصورة منفردة أو متجمعة مثل الأيثانول - اللاكتات - بروبيونات - فورمات - بيوترات - سكسينات - أسيتات - بيوتانول - أسيتون - بيوتاندول - بروبانول - ك_٢ - أ - يد_٢ . وبناء على الناتج النهائي السائد - من الناحية الكمية - تقسم التخمرات إلى تخمر كحولي - تخمر لاكتيكي - تخمر الفورميك . . . وهكذا .
- ومعظم الميكروبات التي تقوم بعملية التخمر لا هوائية حتمية ولكن بعضها لاهوائية اختيارية وتستطيع النمو في غياب أو وجود الأكسجين وفي هذه الميكروبات الاختيارية يُثبَطُ الأكسجين التخمر ويشجع التنفس . وتعتبر النواتج النهائية لعملية التخمر صفة تقسيمية لمجموعة البكتريا التي تنتجها ويظهر الرسم التالي ملخص مصغر للتفاعلات وللمركبات الوسطية والنهائية الناتجة من تخمر البيروفات وأهم الميكروبات التي تكونها .



شكل (٩-١) : ملخص التفاعلات والنواتج لأهم العمليات التخمرية والميكروبات التي تقوم بها (Schlegel, 1986)

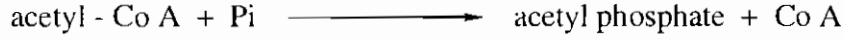
- تخليق الطاقة وتخزينها بواسطة الخمر :

بمراجعة العدد الضخم من عمليات ونواتج التخمر وجد أن عدد قليل جداً من التفاعلات هو القادر أو المختص بحفظ الطاقة وأهمها :

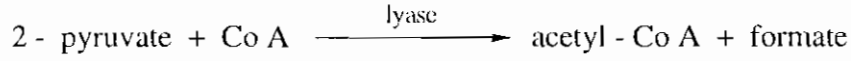
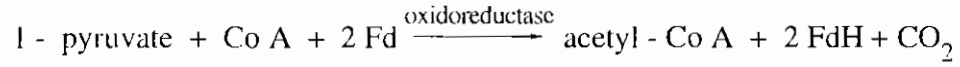


وأغلب المكنونات التي تقوم بعملية التخمر تستخدم التفاعلين الأول والثاني كما أنها تستخدم البيروفات أو المركبات المشتقة من أسيتيل كوانزيم A كمستقبل للأيدروجين وينتج أثناء تخمر الجلوكوز واحد إلى أربع جزيئات ATP .

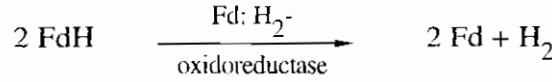
أما التفاعل الثالث فيتميز بسهولة تكوين أسيتيل فوسفات من السكريات الخماسية والسداسية مثل الزيليلوز ٥- فوسفات ، الفركتوز ٦- فوسفات في وجود phosphoketolase وأيضاً من أسيتيل كوانزيم A بواسطة phosphotransferase (EC 2.3.1.8) .



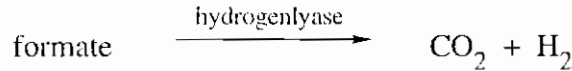
● ميكانيكية انطلاق H_2 (المادة العضوية كمعطي للأيدروجين). تستطيع الميكروبات اللاهوائية أكسدة البيروفات إلى أسيتيل كوانزيم A بطريقتين :



في التفاعل الأول (Clostridial type) يستخدم إنزيم pyruvate ferredoxin oxidoreductase حيث يختزل Fd (Ferredoxin) إلى FdH وهو مركب له جهد أكسدة واختزال منخفض ثم ينطلق الأيدروجين بواسطة ديهيدروجينز منخفض .



أما التفاعل الثاني (Enterobacterial type) والذي يصاحبه إنزيم pyruvate - formate lyase فإن الفورمات الناتجة تنشق بواسطة hydrogenlyase وينطلق الأيدروجين .



وكلا الميكانيكيتين السابقتين لتحرير H_2 تتضمن مركبات وسطية (FdH and formate) ذات جهد أكسدة واختزال منخفض جداً بحيث أن المكافئات المختزل (البروتون أو الالكترن) المتكونة من أكسدة السيروفات إلى أسيتيل كوانزيم A تنطلق من الخلية بدون صعوبة .

هذا بعكس الأيدروجين الناتج أصلاً من dehydrogenation للمركب جليسرول أسهيد ٣- فوسفات فى شكل $NADH_2$ والذي يجب نقله إلى مستقبل عضوى . إن تأثير من البكتريا تحوير هذا ال H_2 فى وجود إنزيم $NADH_2$: Fd oxidoreductase : معادلة :



وحيث أن التفاعل السابق تضمن تغيراً إلى جهد أكسدة واختزال أكثر سالبية (من $E_0 - 320mV$ لمركب $NADH_2$ إلى $E_0 - 420 mV$ لمركب Fd) فإن المعادلة لا تميل باتجاه انطلاق الأيدروجين . ولهذا فالميكروبات التى لها القدرة على إنتاج H_2 من $NADH_2$ يمكنها استخدام هذا الطريق عند تسميتها فى بيئات مختلطة مع ميكروبات لها القدرة على استخدام جزئى H_2 ويعتبر هذا نوع من التكامل بين الميكروبات فى الطبيعة وهذه البكتريا القادرة على تحوير جزئى H_2 من $NADH_2$ (بالطريق السابق) يمكنها استخدام أسيتيل كوانزيم A كمستقبل للأيدروجين ويحوّله إلى أسيتيل فوسفات ومنه يحصل على ATP بواسطة تفاعل الكينيز وبهذه الطريقة يمكنها أن تحصل حتى ٤ جزيئات ATP من تخمير ١ مول جلوكوز ويعتبر الأسيتات هو الناتج النهائى .

٢٠٩ تخمرات بكتريا حمض البروبيونيك

تقوم *Propionibacteria* بتخمير الجلوكوز أو اللاكتات تحت الظروف اللاهوائية مكونه حمض البروبيونيك . وهذه البكتريا غير متجربة مختلفة الأشكال فهى كروية فى سلاسل تحت الظروف اللاهوائية وعصوية تحت الظروف الهوائية . وهى توجد غالباً فى معدة *rumen* الحيوانات مثل الأبقار والأغنام وتوجد أيضاً فى الألبان والتربة ويمكن عزلها من بيئة أكثر محتوية على اللاكتات ومستخلص الخميرة وأهم أنواع *Propionibacterium* *Veillonella alcalescens* ، *P. pentosaceum* ، *P. acnes* ، *freudenreichii* ، *Closteridium propionicum* ، (*Micrococcus lactilyticus*) .

وجنس *propionibacterium* هو الممثل لهذه البكتريا وهو عصويات موجبة لجرام غير متحركة غير متجربة ولا تنمو على البيئات الصلبة المعرضة للهواء . ونظراً لقدرتها على

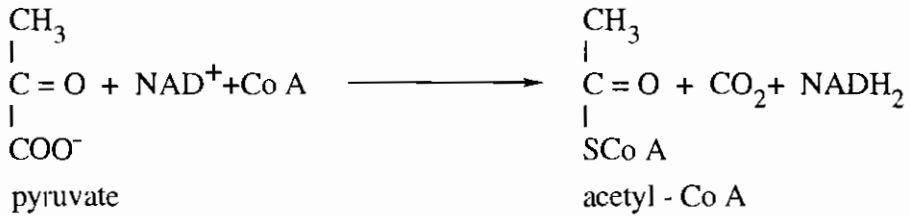
النمو وتخليق ATP تحت ظروف التخمر اللاهوائية فإنه ينظر إلى Propionibacteria على أنها لاهوائية حتمية إلا أنه في الحقيقة فإن كل أعضاء بكتريا البروبيونيك تستطيع النمو تحت ظروف هوائية ولكن كمية الخلايا الناتجة تحت الظروف الهوائية أقل بكثير عنه تحت اللاهوائية ولهذا فإن Propionibacteria تعتبر في الواقع microaerotolerant . وهي تستطيع تحت الظروف اللاهوائية تخمير الجلوكوز والسكروز واللاكتوز والبتوز وكذا اللاكتات والمالات والجليسرول إلى حمض البروبيونيك ويتم هدم السكريات السداسية عبر دورة EMP إلى البيروفيك .

وقد اكتشف Wood & Werkman سنة ١٩٣٦ فى دراسة على تخمر الجليسرول بواسطة *P. acidipropionici* قدرتها على تثبيت ك أ بواسطة Carboxylation للبيروفات مكوناً أحماض ثنائية الكربوكسيل ويعرف ذلك بتفاعل "wood-werkman" وهو ليس مقصوراً على بكتريا حمض البروبيونيك ولكن يلاحظ فى الحيوانات والنبات ومعظم الميكروبات الهيتروتروفية .

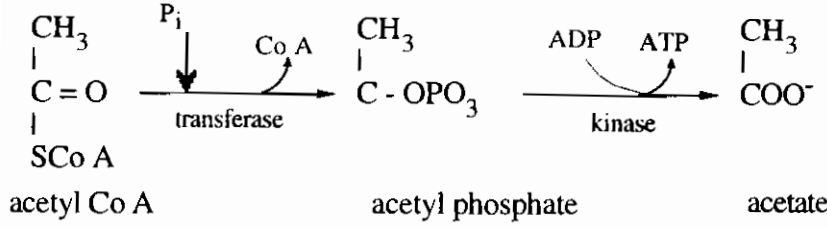
١.٢.٩ تكوين حمض البروبيونيك من الجلوكوز

تتكون البيروفات من الجلوكوز بواسطة Propionibacteria عن طريق دورة EMP وعند مستوى البيروفات ينقسم طريق الهدم فى اتجاهين :

الاتجاه الأول : تحول البيروفات إلى أسيتيل كوانزيم A بملامسة إنزيم البيروفات ديهيدروجينيز المرتبط ب Ferricyto. b₁ (EC 1.2.2.2) وهو يختلف عن البيروفات ديهيدروجينيز المرتبط ب Lipoate (EC 1.2.4.1) الذى يكون أسيتيل كوانزيم A أيضاً ولكن يحتوى نظامه المعقد على أربع إنزيمات أخرى كما وصف فى دورة TCA. (الباب السابع) .

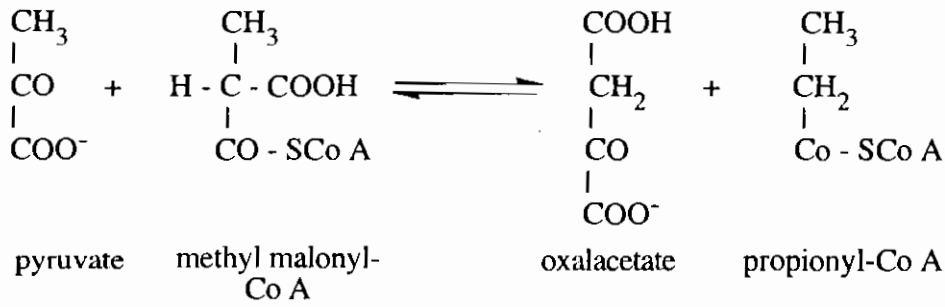


ثم يتحول أسيتيل كوانزيم A إلى أسيتيل فوسفات بملامسة إنزيم Phosphate acetyl transferase (EC 2.3.1.8) ويلى ذلك نقل مجموعة الفوسفات إلى ADP بمساعدة إنزيم acetyl kinase (EC 2.7.2.1) ويتكون ATP والأسيتات كما بالمعادلة التالية :

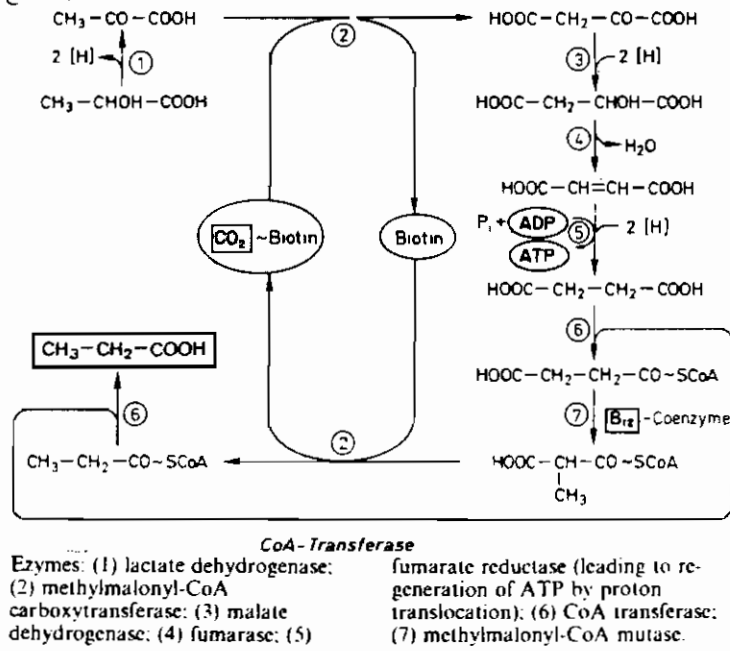


أما الاتجاه الثاني : وهو تكوين البروبيونات فهو دورة حلقيه تبدأ من البيروفات أو من فوسفواينول بيروفات .

* بالنسبة للبيروفات : فإنها تسلك طريق ميثيل مالونيل كوانزيم A حيث يتحول البيروفات إلى أوكسال أستات بإضافة جزئ ك أ_٢ وذلك في وجود إنزيم methyl malonyl - Co A carboxytransferase (EC 2.1.3.1) وهذا الإنزيم يحتوى على البيوتين (رقم ٢ بالشكل ٩-٢) .



ويتحول الأوكسال أستات إلى المالات في وجود malate dehydrogenase (EC 1.1.1.gr.) (رقم ٣) ثم إلى الفيومارات بلامسة Fumarase (EC 4.2.1.2) (رقم ٤) ثم أخيراً إلى السكينات في وجود Fumarate reductase (رقم ٥) والخطوة الأخيرة يصاحبها انطلاق ATP بواسطة Proton translocation (راجع التنفس الهوائي باستخدام الفيومارات في الباب السادس). ثم تنشّط السكينات بنقل Co A إليها في وجود Co A - transferase (رقم ٦) (EC 2.8.3.5) ويتكون سكينيل - كوانزيم A والذي يتحول إلى المركب الوسطى (key) المميز للدورة وهو methyl malonyl - Co A وذلك بلامسة إنزيم mutase (رقم ٧) والذي يرتبط بالمرافق الإنزيمي Vit. B₁₂ (Cyanocobalamin) . وهذا المركب الوسطى يفقد جزئ ك أ_٢ - الذي يعاد استخدامه في تحول البيروفات كما في المعادلة السابقة - والمركب الناتج هو بروبيونيل كوانزيم A ومنه تتكون البروبيونات في وجود Co A - transferase (رقم ٦) الذي ينقل Co A إلى السكينات . ويمكن تلخص هذه التفاعلات والانزيمات المشاركة في الرسم التالي :



شكل (٢.٩) : طريقة ميثيل مالونيل كوانزيم A لتكوين البروبيونات

ومما يجدر ذكره أثناء تفاعلات تكوين البروبيونات :

١ - انتقال مجموعتي CO_2 ، Co A رجعيًا من الناتج إلى البادئ بدون المرور بالصورة الحرة .

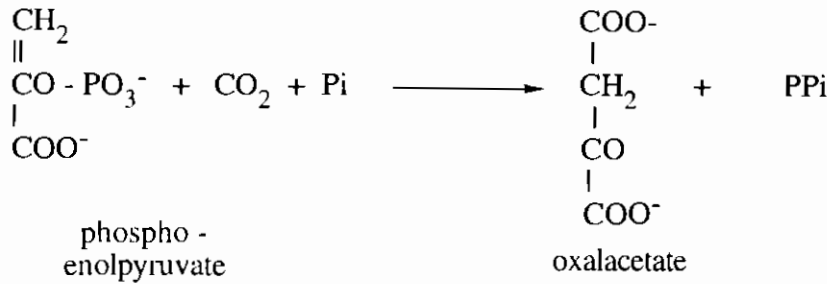
٢ - مشاركة ٣ عوامل مساعدة (بيوتين، Co A ، Co B_{12}) في التفاعل وهو صفة مميزة له .

٣ - دورة methyl malonyl - Co A تفاعل عكسي بمعنى أن بروبيونيل كوانزيم A (الناتج من تحولات الأحماض الدهنية والأيزوليوسين) يمكن تحويله (بإضافة ك_١٥) إلى ميثيل مالونيل - كوانزيم A ثم إلى سكسينيل - كوانزيم A في وجود إنزيم mutase المرتبط ب Co B_{12} ويلاحظ ذلك في ريزوبيا العقد الجذرية وفي أنسجة الحيوانات .

٤ - يتميز هذا الطريق (ميثيل مالونات كوانزيم A) بإنتاج كمية عالية من الطاقة (ATP) حيث يتكون حوالي ٦ مول ATP لكل ١,٥ مول جلوكوز كالتالي : ٤ مول ATP من أكسدة البيروفات إلى الأسيتات، ك_١٥ + ٢ مول ATP من خطوة تحول الفيومارات إلى السكسينات .

* أما بالنسبة لفوسفواينول بيروفات : فهو يتحول إلى أوكسال أسيتات في وجود

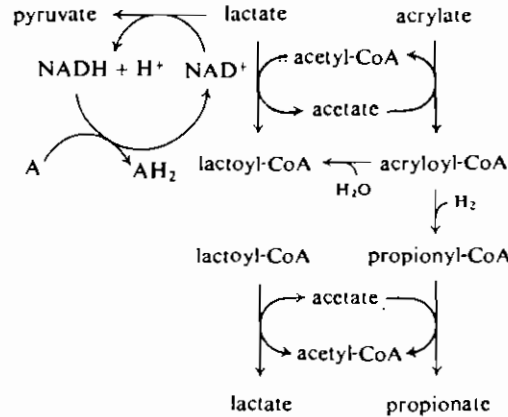
إنزيم PEP-Carboxy kinase (EC 4.1.1.38) ثم يكمل الدورة كما سبق :



وبالطبع كمية ATP الناتجة ستقل بمقدار ٤ مول نتيجة فقد خطوة أكسدة البيروفات إلى الأسيئات ، ك أ .

٢.٢.٩ تكوين حمض البروبيونيك من اللاكتات

تستخدم بعض الميكروبات مثل *Bacteroides* ، *Clostridium propionicum* ، *Megasphaera elsdenii* ، *rumin* طريقاً آخرًا لتكوين البروبيونات من اللاكتات ويعرف باسم المركب الوسطى (key) فيه وهو acryloyl - Co A كما بالرسم التالي :



شكل (٣.٩) : تكوين حمض البروبيونيك باستخدام اللاكتات كمصدر الكربون حيث يتكون Lactoyl - Co A في وجود إنزيم acetate - Co A transferase (EC 2.8.3.8) . ويتحول هذا اللاكتويل كوانزيم A إلى acryloyl - Co A بملامسة إنزيم Lactoyl - Co A dehydratase (EC 4.2.1.54) ومنه يتكون propionyl - Co A بتأثير إنزيم acyl - Co A dehydrogenase (EC 1.3.99.3) .

ويأعادة Co A إلى الأسيئات ففى وجود propionyl - Co A transferase (EC 2.8.3.1) تتكون البروبيونات كتأثير نهائى .

٣.٩ تخمرات بكتريا الكلوستيريديم المحلله للسكريات

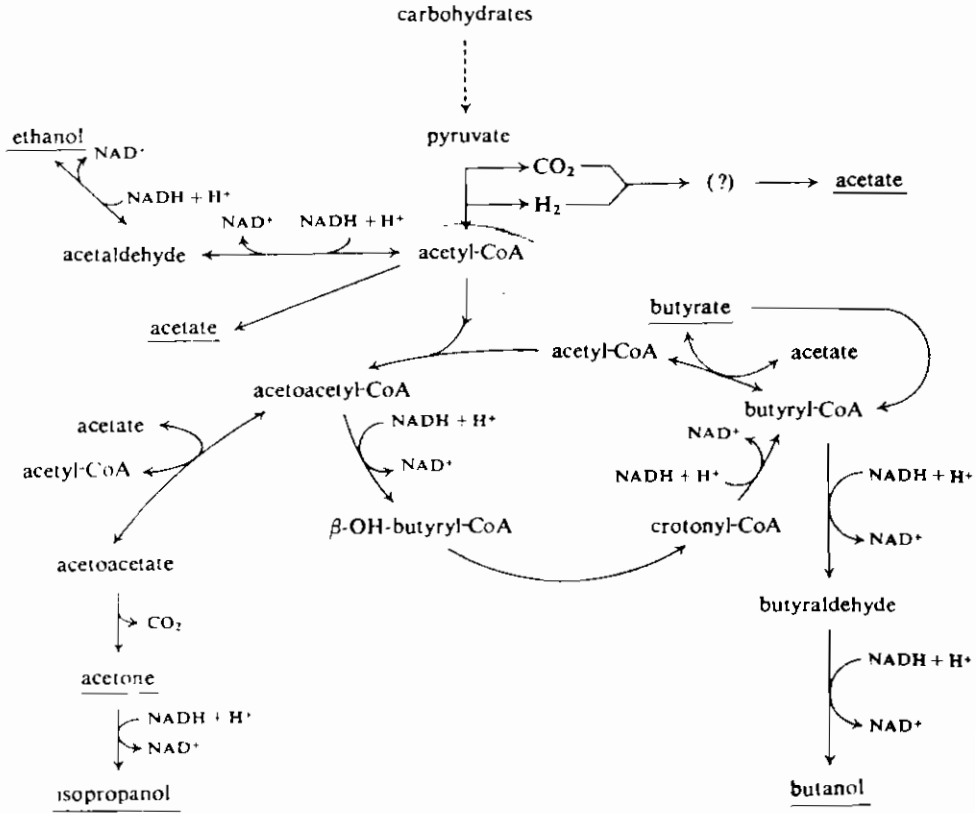
Saccharolytic Clostridia

يقوم عدد كبير من البكتريا التابعة لجنس *Clostridium* بعملية تخمر الكربوهيدرات منتجة أحماض (الأسيتات، البيوترات، الملاكات) وكحولات (الأيذوبروبانول، الإيثانول، البيوتانول) وكتونات (الأسيتون) وغازات (ك أ_٢، يد_٢) كناتج نهائية وذلك حسب مصدر ونوع الكائن .

جدول (٩-١) : حصر لميكروبات Clostridia طبقاً لخواص التخمر من مواد داخلة وناتج نهائية

Clostridium species	Substrates	Fermentation products
<i>(1) Butyric acid formation</i>		
<i>C. butyricum</i>	glucose starch, dextrin	butyrate, acetate, CO ₂ , H ₂
<i>C. tyrobutyricum</i>	glucose or lactate, glycerol + acetate	butyrate, acetate, CO ₂ , H ₂
<i>C. pasteurianum</i>	glucose, starch, mannose, inulin	butyrate, acetate, CO ₂
<i>C. pectinovorum</i>	pectin, starch, glycogen, dextrin	butyrate, acetate
<i>(2) Butanol formation</i>		
<i>C. butylicum</i>	glucose	butyrate, acetate, butanol, 2-propanol, CO ₂ , H ₂
<i>C. acetobutylicum</i>	glucose, glycerol, pyruvate	butyrate, acetate, butanol, acetone, aceton, ethanol, CO ₂ , H ₂
<i>(3) Propionic acid formation</i>		
<i>C. propionicum</i>	alanine, threonine	acetate, propionate, CO ₂
<i>(4) Caproic acid formation</i>		
<i>C. kluyveri</i>	ethanol - acetate + CO ₂	caproate, butyrate, H ₂
<i>(5) Stickland reaction</i>		
<i>C. botulinum</i>		
<i>C. histolyticum</i>	proteins, amino acids	acetate, lactate
<i>C. sporogenes</i>		NH ₃ , H ₂
<i>C. sticklandii</i>		
<i>(6) Presence of special metabolic pathways</i>		
<i>C. acetium</i>	(CO ₂ - H ₂), fructose	acetate
<i>C. tetanomorphum</i>	glutamate, histidine	butyrate, acetate, NH ₃ , CO ₂ , H ₂
<i>C. acidi-urici</i>	urea, xanthine	acetate, formate, CO ₂ , NH ₃

ويمكن تلخيص التفاعلات المختلفة لتخمير الجلوكوز بواسطة الميكروبات التابعة لمجموعه Saccharolytic clostridia كما بالرسم (٤-٩) .



شكل (٤.٩) : تكوين الأسيتات ، الأستيون ، والبيوترات ، البيوتانول والإيثانول بواسطة Saccharolytic clostridia نقلاً عن Doelle, 1975

ويتبع جنس *Clostridium* تقسيمياً عائلة Bacillaceae وهي كائنات موجبة الجرام والخلايا الخضرية عصوية الشكل وهي متجترمة بجراثيم طرفية أو وسطية تسبب انتفاخ الخلية والجراثيم مقاومة للحرارة وهي متحركة بفلاجيلات عديدة وهي تنمو فقط تحت الظروف اللاهوائية متراوحة بين اللاهوائية الحتمية ، microaerotolerant ولا تحتوى على مشتقات الهيم (سيتوكروم ، كتاليز) وأغلبها ميزوفيليه (الحرارة المثلى ٣٠ - ٤٠ م)

وبعضها ثرموفيليه (حتى ٧٠ م) وتنمو في pH متعادل أو قلوى وتثبط بالحموضة العالية كما في السيلاج والسلامى .

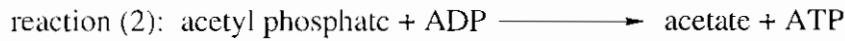
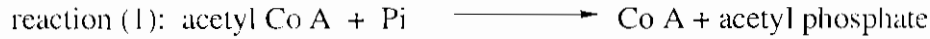
١.٣.٩ تكوين الأستات

أول خطوة هو تحويل البيروفات إلى أستيل كوانزيم A ولقد سبق شرح ذلك تحت الظروف الهوائية حيث يحتاج لإنزيم Pyruvate dehydrogenase (EC 1.2.4.1) مع Lipoate . الثيمين بيروفوسفات (TPP) . ولكن تحت الظروف اللاهوائية توجد ٣ تقنيات لذلك :

- ١ - بيروفات ← أستيل كوانزيم A أو أستيل فوسفات مع تكوين ك_٢ أ_٢ .
يد_٢ وعدم استخدام الفورمات كمركب وسطي .
- ٢ - بيروفات ← أستيل كوانزيم A أو أستيل فوسفات مع تكوين الفورمات التي تتحول إلى ك_٢ أ_٢ ، يد_٢ بملاسة إنزيم formate : H₂ lyase .
- ٣ - البيروفات ← أستالدهيد ، ك_٢ أ_٢ مباشرة .

ويلاحظ أن نظام (٣) هو السائد في الخمائر والنباتات الراقية أما نظام (١) فيميز clostridia بينما نظام (٢) فيميز Enterobacteraceae . كما أن نظام (١) . (٢) يحتاجان TPP ، Co A

وحيث أنه في Enterobacteria تدخل الطاقة المخزنة في رابطة الثيول أستر لمركب أستيل كوانزيم A (CH₃ - CO~SCo A) إلى حيز الاستخدام بواسطة تفاعلين :



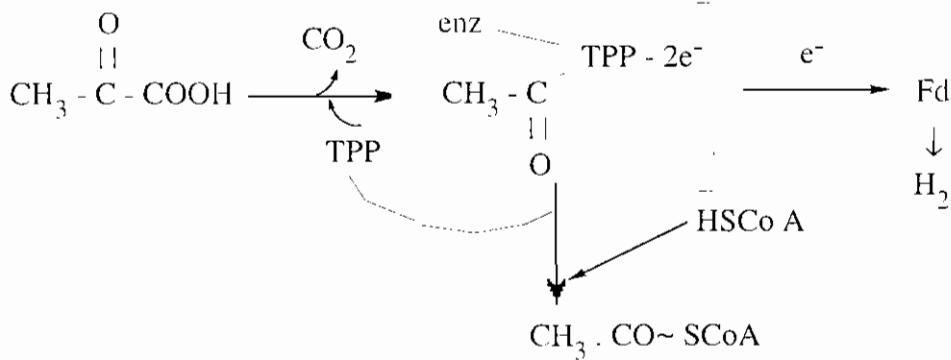
ويلاص التفاعل الأول إنزيم phosphate acetyl transferase (EC 2.3.1.8) بينما يلاص التفاعل الثاني إنزيم acetate kinase (EC 2.7.2.1) والنتيجة هو الأستات فإنه يتضح أن كل ١ مول أستات متكون يقابله تخليق ١ مول ATP . وهذا النظام الأيضى يعتبر طريقه مبسطة لتحلل البيروفات إلى الأستات مع إنتاج ٢ مول أستات من ١ مول جلوكوز .

إلا أن Barker, 1956 وجد أن *Cl. thermoaceticum* يكون 3 مول أسيتات من 1 مول جلوكوز وقد اقترح نظاماً أكثر تعقيداً وهو اختزال جزئى ك أ₄ بأسلوب معين للحصول على مول أسيتات آخر. ولإجراء هذا الاختزال لابد من وجود مستقبل أيروجين. وكان معروفاً لبعض الوقت أن تحلل البيروفات فى *Clostridia* إلى أسيتيل كوانزيم A يتضمن انطلاق ك أ₄ ، يد₄ فقط إلا أن Wood سنة 1961 افترض أن الفورمات لابد أن تكون المركب الوسطى فى *Clostridia* كما هو الحال بالفعل فى *Enterobacteria* وهى تتحلل فى وجود انزيم formic hydrogenase فى خطوتين :



والمركب A (H-accepter) معروف بأنه فيردوكسن (Fd) والإنزيمات المشاركة هى Formale hydrogenase ، Formale dehydrogenase (EC 1.2.2.1) على الترتيب . ولكن نظراً لأنه لم يثبت بعد وجود الفورمات فى *Clostridia* فقد حاول Valentine سنة 1964 حل هذه المشكلة بعدم اعتبار الفورمات ك مركب وسطى وافترض تفاعل خاص بهذه الميكروبات سمي :

"Clostridial type of pyruvate decarboxylation" حيث يقوم إنزيم pyruvate dehydrogenase. (EC 1.2.2.2) أو إنزيم Pyruvate synthase (EC 1.2.7.1) بنزع ك أ₄ من البيروفات وتكوين معقد من الثيمين بيروفوسفات والأسيتيل والإنزيم كما بالرسم ومنه ينتقل الألكترون إلى Fd .



شكل (5.9) : عملية نزع ك أ₄ من البيروفات من النوع Clostridial Type

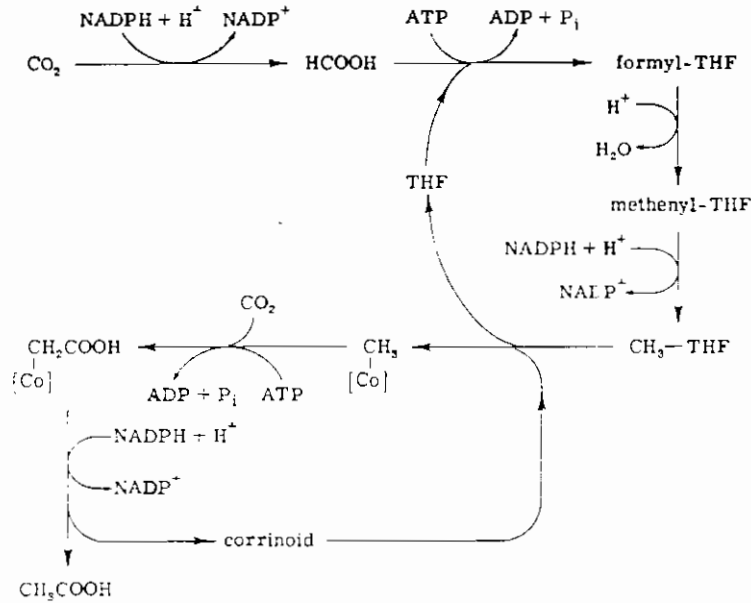
ويعاد أكسدة الفيروكسين المختزل بواسطة (EC 1.12.7.1) Fd-hydrogenase ويتكون جزئ H_2 أما معقد (الإنزيم - TPP - الأستيل) فيهاجم بواسطة phosphate (EC 2.3.1.8) acetyl transferase في وجود Co A ويتكون أستيل كوانزيم A . وهذا الاحتياج لـ Co A صفة مميزة لتحول أو نزع ك أ_{هـ} من البيروفات في Clostridia بعكس نظام formate - pyruvate في Enterobacteria حيث لا يوجد مثل هذا الاحتياج لـ Co A . وثبت أن Co A يلعب دوراً تنظيمياً في تنشيط تحول البيروفات فعلاً في Clostridia .

وتوجد ميكانيكيتين لتحويل ك أ_{هـ} إلى جزئ أسيتات ثالث :

١ - التحول المباشر من ك أ_{هـ} إلى الأسيتات .

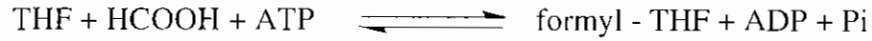
٢ - التحول الغير مباشر من ك أ_{هـ} إلى الأسيتات عبر ∞ ketovalerates .

الطريق المباشر : أول خطوة هي تكوين الفورمات من ك أ_{هـ} وذلك بلامسة formate dehydrogenase المرتبط بـ $NADPH_2$ والمعزول من *Cl. thermoaceticum* وبرغم أن هذا الاختزال يميل بقوة اتجاه ك أ_{هـ} ، $NADPH_2$ ولذا الفيروكسين يبدو ضرورياً لدفع التفاعل تجاه البيروفات التي تخدم في هذه الحالة كمعطي للإلكترون لاختزال ك أ_{هـ} .

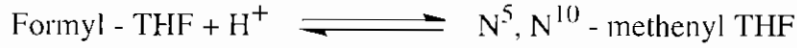


شكل (٥.٩) a : التحول المباشر لـ ك أ_{هـ} إلى أسيتات بواسطة Clostridia
نقلًا عن (Poston et al, 1966)

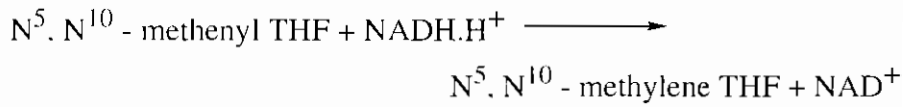
واختزال الفورمات إلى مجموعة الميثيل للأسيتات يتم بتأثير عدة إنزيمات أولها (THF) tetrahydrofolate synthetase (EC 6.3.4.3) حيث يتكون فورميل تتراهيدروفولات



الذي يختزل إلى ميثنيل تتراهيدروفولات بلامسة إنزيم methenyl tetrahydrofolate cyclohydrolase (EC 2.5.4.9) وهو حساس جداً لـ PH حيث يفضل الظروف الحامضية .



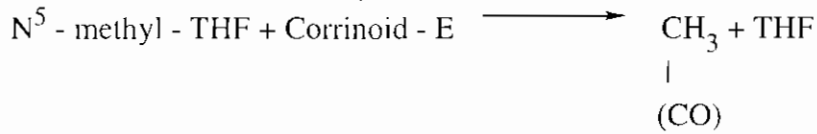
وفى وجود إنزيم methylene tetrahydrofolate dehydrogenase (EC 1.5.1.5) تختزل مجموعة methenyl - إلى methylene - .



وتختزل مجموعة methylene إلى مجموعة methyl فى وجود NADPH_2 dehydrogenase مكوناً ميثيل تتراهيدروفولات .



وابتداء من هذا المستوى تعتمد الدورة على وجود أو غياب Corrinoids فى الكائن . وفى غيابه تستمر الدورة بإدخال الجليسين عبر السيرين والبيروفات إلى الآسيتات أما فى وجود corrinoids كما فى ميكروب *Cl. thermoaceticum* تنتقل مجموعة الميثيل إلى reduced corrinoid مكوناً معقد بروتينى methyl corrinoid وينفصل THF .

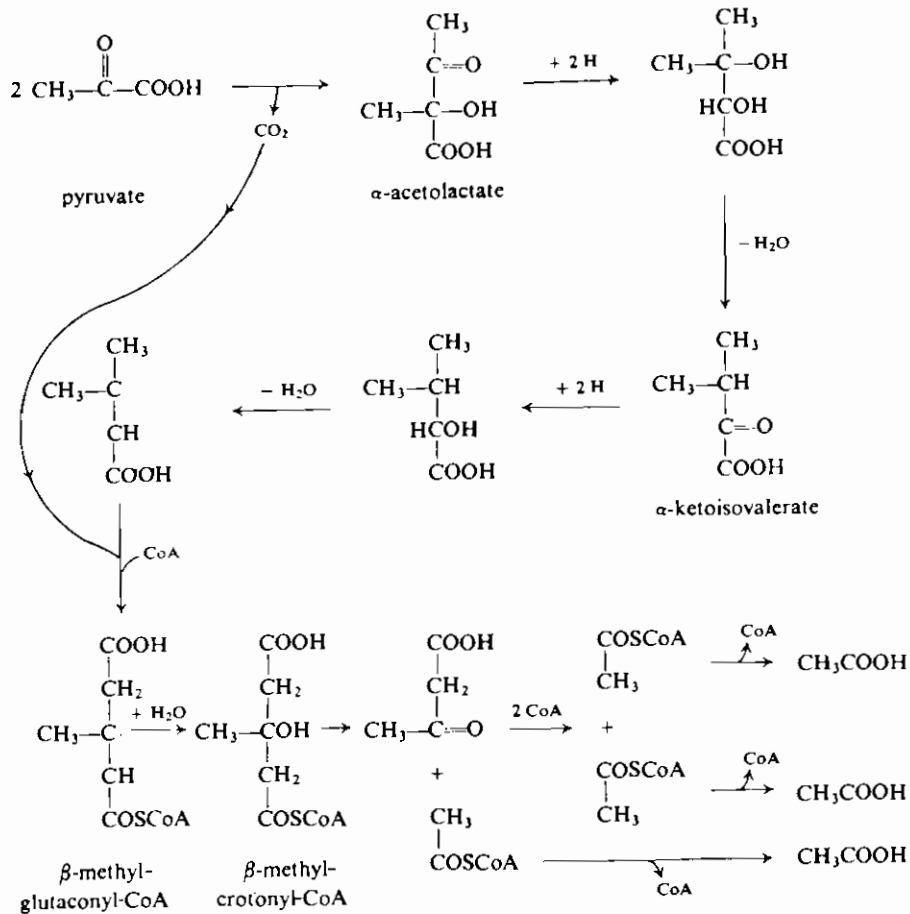


methyl - corrinoid complex

وهذا المعقد يتحد مع ك أم من البيروفات (عملية Transcarboxylation) مكوناً

، Carboxymethyl corrinoid الذي ينشق في وجود NADPH.H^+ مكونًا الأسيئات ،
Corrinoid المختزل الذي يعاد استخدامه مرة أخرى .

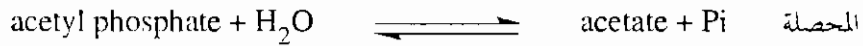
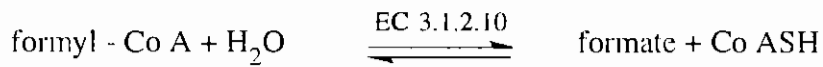
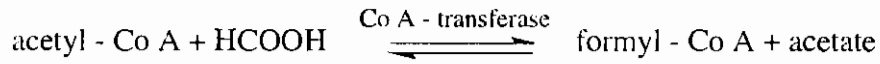
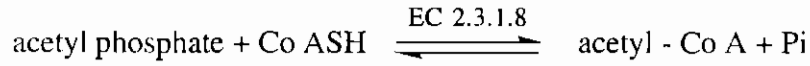
الطريق الغير مباشر : يتحول البيروفات إلى ∞ - اسيتو لاكتات (بالتكثيف
وبتزعك أ α) كما بالرسم والذي يتحول إلى المركب الكيتوني ∞ - ketoisovalerate
(المركب الوسطى key فى السلسلة) والذي يتحول بتثبيت ك α فى وجود
كوانزيم A إلى β - methyl - glutaconyl - Co A والذي ينشق إلى أوكسال أسيئات
وأسيثيل كوانزيم A ثم إلى الأسيئات كما بالرسم التالى :



شكل (٦.٩) : التحول الغير مباشر (ك α إلى الأسيئات)

ويتضح من الرسم كيفية تكوين ٣ مول أسيتات لكل مول من الجلوكوز (= ٢ بيروفات) هذا في حالة عدم تكون الفورمات في تحولات الجلوكوز بواسطة *Cl. thermoaceticum*.

أما ميكروب *Cl. kluyveri* فإنه يمتلك إنزيم Formyl - Co A hydrolase (EC 3.1.2.10) كجزء من Phosphate acetyl transferase (EC 2.3.1.8) ولهذا يبدو الميكروب قادراً على تكوين الأسيتات بالأسلوب التالي (يشبه Enterobacterial type).

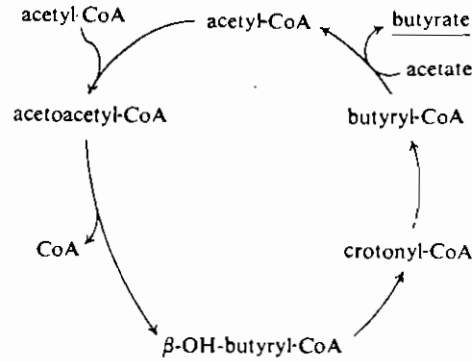


وهذه الفروق في طرق التحول الأيضى هامة جداً في تقسيم البكتريا التابعة لجنس

Clotredium.

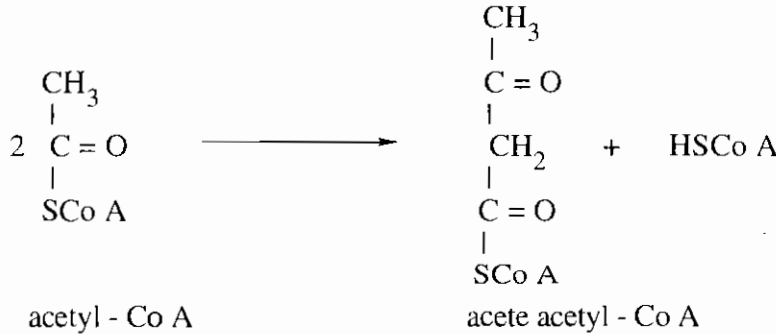
٢.٣.٩ تكوين البيوترات Butyrate

تستطيع بكتريا Soccharolytic clostridia تخمير الجلوكوز إلى حمض البيوتريك ويعتبر المركب الوسطى (أسيتيل كوانزيم A) نقطة البداية، لأنه لو نظرنا من زاوية تكوين الطاقة فإن تكوين الأسيتات كنتاج نهائى وحيد ليس مقنعاً أو كافياً لصعوبة إعادة أكسدة NADH.H^+ إذا انخفض pH وأصبح الوسط حامضياً. ولهذا ليس غريباً أن نجد في Clostridia ميكانيكية حلقيه مشابهة لما في propionibacteria. وهذه الميكانيكية تؤدي لتكوين حمض البيوتريك - الأقل حموضة بكثير عن الأسيتات - كنتاج نهائى كما هو موضح بالرسم التالى.

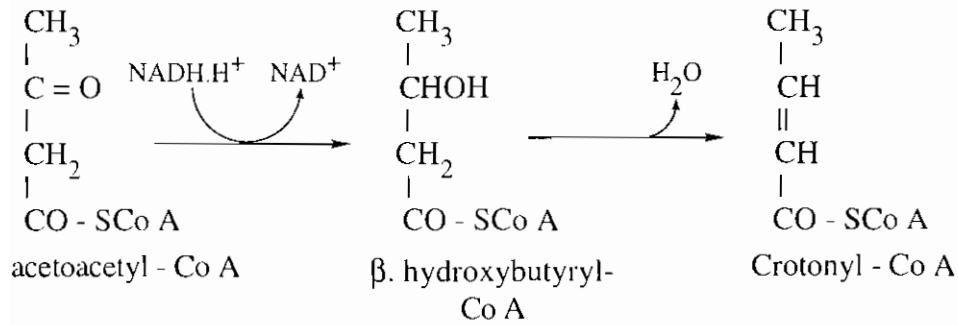


شكل (٧.٩) : تكوين حمض البيوتيريك من أسيتيل كوانزيم A بواسطة Clostridia

حيث يتكثف جزيئين أسيتيل كوانزيم A لتكوين الأسيتو أسيتيل كوانزيم A في وجود إنزيم acetyl Co A : acety transferase (EC 2.3.1.9) Thiolase ويتحرر جزيء Co A .

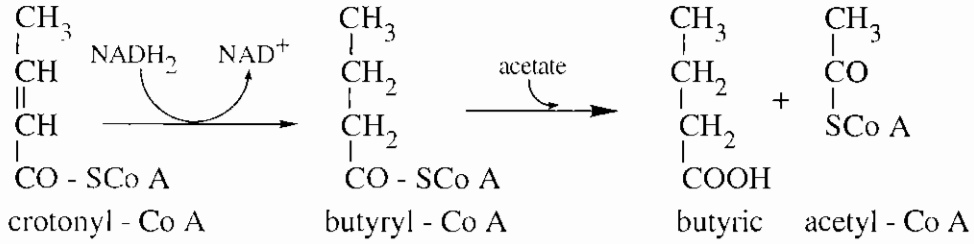


والخطوة التالية هي اختزال أسيتو أسيتيل كوانزيم A إلى بيتا - هيدروكسي بيوتيريل كوانزيم A مع أكسدة NADH.H^+ إلى NAD^+ . وتلامس هذا التفاعل إنزيم β -hydroxy butyryl - Co A dehydrogenase (EC 1.1.1.30) ويعقب ذلك خروج



جزئ ماء dehydration ويتكون Crotonyl-Co A وذلك بلامسة إنزيم enoyl - Co A hydratase أو حديثاً (EC 4.2.1.17) Crotonase .

والخطوة الأخيرة هي خطوة اختزال ثانية في وجود إنزيم butyryl - Co A dehydrogenase (EC 1.3.99.2) حيث يتكون البيوتيريل كوانزيم A ويتأكسد NADH.H⁺ إلى NAD⁺ ثم تحدث عملية نقل Co A إلى الأستات بلامسة butyryl - Co A synthetase (EC 6.2.1.2) ويتكون البيوتيريك وأستيل كوانزيم A الذي يعاود

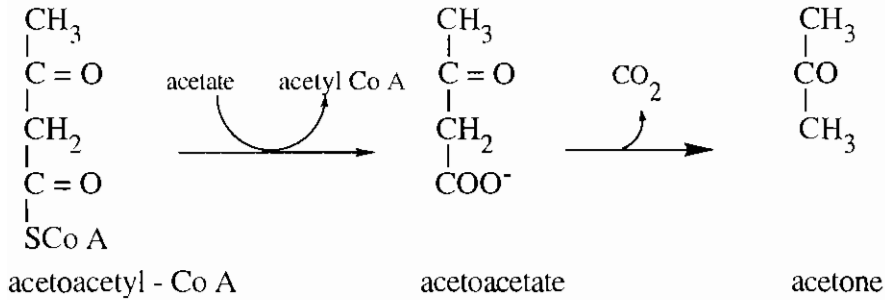


الدخول في الدورة مرة أخرى أو يستعمل لتكوين ATP بواسطة acetyl phosphate acetate kinase ، transferase كما سبق شرحه في تكوين الأستات .

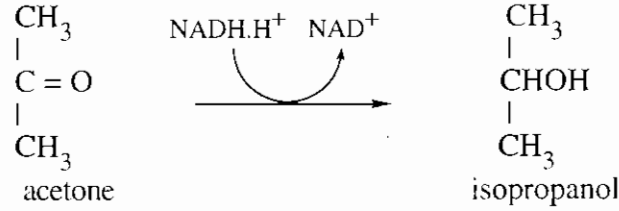
٣.٣.٩ تكوين الأستون ، الأيزوبروبانول ، البيوتانول ، الإيثانول

يستطيع العديد من Saccharolytic clostridia التي تخمر الكربوهيدرات إلى البيوتيريك أن تغير نظامها إلى إنتاج الأستون أو حول البيوتيريك المتكون إلى البيوتانول وذلك في حالة انخفاض pH البيئة عن ٤ بسبب حموضة البيوتيريك .

فميكروب *Cl. acetobutylicum* يقوم بتحويل الأستون أستيل كوانزيم A إلى أستون أستات بواسطة Co A - transferase ثم بواسطة إنزيم acetoacetate decarboxylase (EC 4.1.1.4) يتكون الأستون .

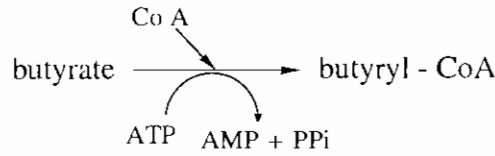


ويستطيع ميكروب *Cl. butylicum* فقط مواصلة اختزال الأسيتون بواسطة إنزيم isopropanol dehydrogenase (EC 1.1.1.80) إلى الأيزوبروبانول ولكنه لا يستطيع تكوين الميثانول .

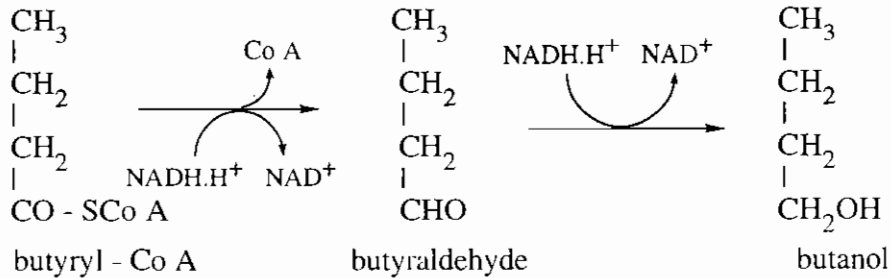


أما اختزال البيوتيريك إلى البيوتانول فيتم في ثلاث خطوات :

الخطوة الأولى : هي تحويله مرة أخرى إلى butyryl - Co A في وجود Co A transferase (تفاعل عكسي) أو بطريق آخر في وجود ATP ، Co A .



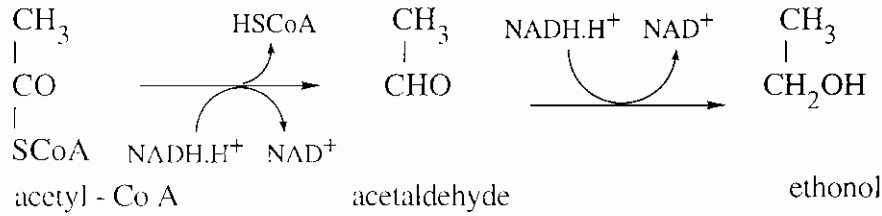
الخطوة الثانية : اختزال البيوتيريل كوانزيم A إلى بيوتيرالدهيد ويلاص التفاعل إنزيم butyraldehyde dehydrogenase (EC 1.2.1.10) وينفرد Co A .



الخطوة الثالثة هي اختزال الألدهيد إلى البيوتانول في وجود alcohol dehydrogenase (EC 1.1.1.1) .

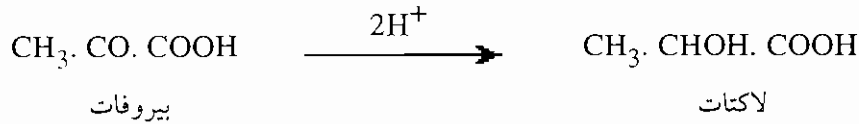
بالنسبة لتكوين الإيثانول بواسطة *Cl. acetobutylicum* يختلف عن طريقة تكوينه بواسطة الخمائر وتتفرع سلسلة إنتاجه من الأسيتيل كوانزيم A بواسطة aldehyde dehydrogenase (EC 1.2.1.10) السابق ذكره في اختزال البيوتيريل إلى البيوتيرالدهيد -

حيث يتكون الأستالدهيد ثم بواسطة alcohol dehydrogenase الذي يختزل الأستالدهيد إلى الإيثانول .



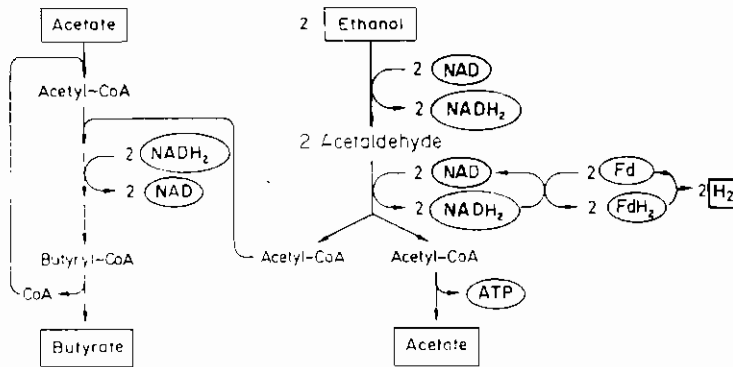
٤.٣.٩ تكوين اللاكتات

يستطيع بعض أنواع Saccharolytic clostridia مثل *C. perfringens* ، وبعض البكتريا المنتجة للبيوتيريك مثل *Butyribacterium* sp. اختزال البيروفات إلى اللاكتيك حيث تمتلك إنزيم lactate dehydrogenase (EC 1.1.1.27) ويلاحظ هذا الاختزال فقط عند تنمية البكتريا في وسط غذائي به نقص في عنصر حديد .

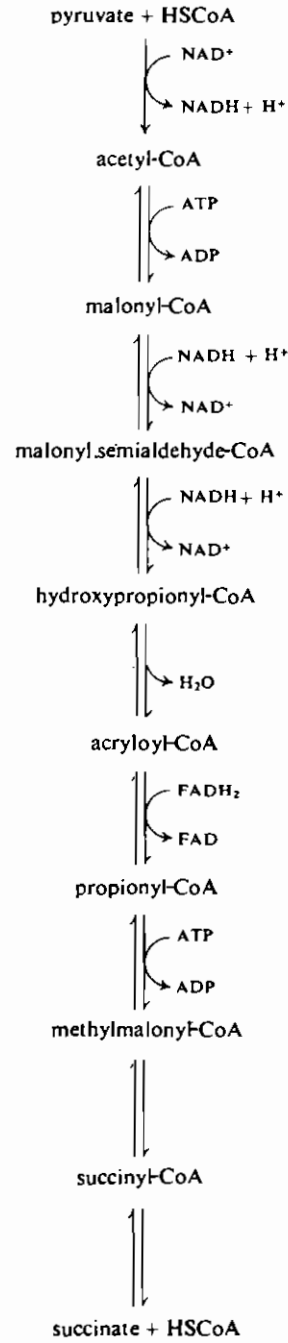


٥.٣.٩ تكوين البيوتيريك من الإيثانول والاسيتات

يستطيع ميكروب *Cl. kluyveri* النمو على بيئة إيثانول - أسيتات منتجا البيوترات . حيث يتأكسد الإيثانول إلى الأستالدهيد ثم إلى أسيتيل كوازيم A ويتكون القوة المختزلة NADH.H⁺ كما بالرسم .

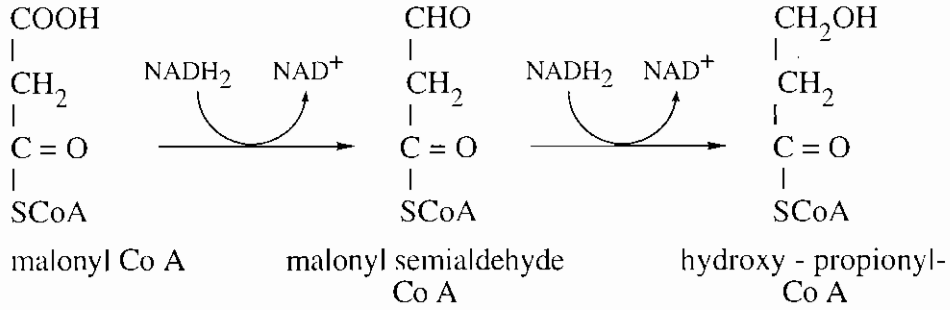


شكل (٨.٩) : تكوين البيوترات أثناء تخمر الإيثانول والاسيتات بواسطة *Cl. kluyveri*

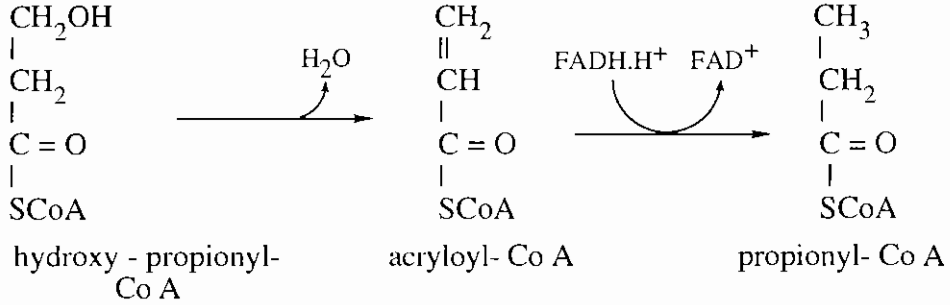


شكل (٩.٩) : تكوين السكسينات من البيروفات بواسطة *Cl. kluyveri*.

ثم يقوم malonyl semialdehyde DH (EC 1.2.1.15) باختزال مالونيل كوانزيم A إلى مالونيل سمي الدهيد كوانزيم A ويلي ذلك خطوة اختزال ثانية مباشرة في وجود إنزيم hydroxy propionate DH (EC 1.1.1.59) ويتكون هيدروكسي بروبيونيل كوانزيم A .



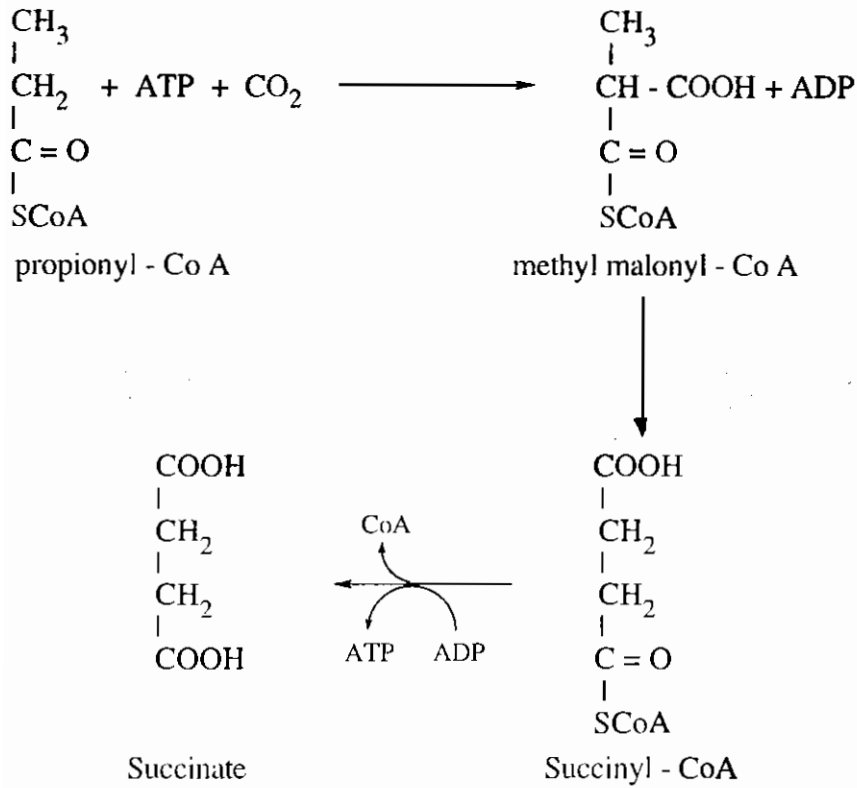
وبعملية نزع جزئ ماء في وجود إنزيم enol - Co A hydratase (Ec 4.2.1.17) يتكون acryloyl Co A والذي يختزل في وجود FADH.H^+ (كمعطى للأيدروجين) إلى بروبيونيل كوانزيم A .



ثم يتم تثبيت جزئ ك أ⁺ الثاني في وجود البيوتين ، Mn^{++} ، ATP بملامسة إنزيم propionyl - Co A carboxylase (EC 6.4.1.3) وينتج ميثيل مالونيل كوانزيم A والذي يتحول بدوره إلى سكسينيل كوانزيم A في وجود إنزيم methyl malonyl - Co A mutase (EC 5.4.99.2) . (كما يتضح في المعادلات التالية) .

وبخروج Co A وتكون ATP في وجود إنزيم Succinyl - Co A Synthetase (EC 6.2.1.5) يتكون السكسينات (النتائج النهائية) .

ومما يجدر ملاحظته أن أغلب أنواع البكتريا الأخرى التي تنتج السكسينات من البيروفات تقوم بذلك عبر دورة glyoxylate .



٤.٩ تخمرات Enterobacteriaceae

الميكروبات التابعة لهذه العائلة عصويات قصيرة غير متجذمة سالبة لجرام متحركة بفلاجيلات منتشرة على سطح الخلية هوائية اختيارية تمتلك الهيمين (السيتوكروم والكتاليز) وتحصل على طاقتها إما هوائياً بالتنفس أو لا هوائياً بالتخمر. وتعيش عادة في المعدة والأمعاء intestinal tract. وهي تخمر الجلوكوز مكونة أحماضاً وأحياناً غازات ولها أهمية في التطبيقات الصحية والبيئية مثل تلوث مياه الشرب وتسبب بعض الأمراض مثل العفن الطرى للبطاطس والتسمم الغذائي بالسالمونيلا ويمكن تقسيم الميكروبات التابعة لها إلى ٣ مجاميع كبيرة :

- ١ - المنتجة للأحماض mixed acid producer ويمثلها *E. coli* (MR +, VP -).
- ٢ - المنتجة للبيوتاندول butanediol ويمثلها *Aerobacter aerogenes* (MR -, VP +).
- ٣ - المنتجة للجليكول ثلاثي الميثيلين ويمثلها *Citrobacter freundii*.

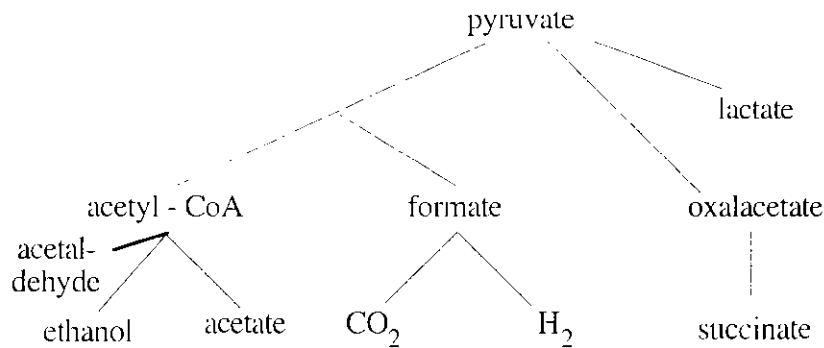
جدول (٩ - ٢) : الفرق فى التركيب النوعى والكمى للنواتج المتكونة بواسطة المجموعتين المنتجة للأحماض والمنتجة للييوتاندول .

Products	mol / 100 mol glucose		
	<i>E. coli</i>	<i>A. aerogenes</i>	
2.3 Butandiol	$\text{CH}_3 - \text{CHOH} - \text{CHOH} - \text{CH}_3$	0	66.5
Ethanol	$\text{CH}_3 - \text{CH}_2\text{OH}$	42	70
Succinate	$\text{COOH} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{COOH}$	29	0
Lactate	$\text{CH}_3 - \text{CHOH} - \text{COOH}$	84	3
Formate	$\text{H} - \text{COOH}$	2	18
Hydrogen	H_2	43	36

وهدم الكربوهيدرات يتم غالباً بواسطة دورة الفركتوز ثنائى الفوسفات (EMP) وأحياناً بواسطة دورة البنتوز فوسفات (HMP) وثبت أن الميكروبات التابعة لهذه العائلة تمتلك الإنزيمات الخاصة بهاتين الدورتين ولكن بدرجات متفاوتة مما يؤدي إلى الاختلاف الحادث فى أنظمة التخمر التى تقوم بها وبالتالي اختلاف النواتج النهائية الناتجة عنها .

١.٤.٩ الميكروبات المنتجة لخليط الأحماض

تستطيع هدم البيروفات كما يلى إلى العديد من النواتج النهائية كما يلى :



وإذا سار النظام بمعدله العادى فإنه يمكن وضع المعادلتين الآتيتين للميكروبات المنتجة لخليط الأحماض .

$$1 - \text{moles (ethanol + acetate) = moles (H}_2 + \text{formate)}$$

$$2 - \text{moles H}_2 = \text{moles (CO}_2 + \text{succinate)}$$

ويمكن تفسير ذلك كالتالى :

1 مول بيروفات ← 1 مول أسيتيل كوازيم A + 1 مول فورمات
أى أن :

$$1 - \text{مولات البيروفات} = \text{مولات أسيتيل كوازيم A} = \text{مولات الفورمات} .$$

وحيث أن أسيتيل كوازيم A يتحول إلى إيثانول ، الأسيتات أو كليهما فيكون :

$$2 - \text{مولات البيروفات} = \text{مولات الإيثانول} + \text{مولات الأسيتات}$$

من المعادلتين (1) ، (2) يكون .

$$3 - \text{مولات الفورمات} = \text{مولات (الأسيتات + الإيثانول)}$$

وبما أن الفورمات ينقسم إلى H_2 ، CO_2 فيكون :

$$4 - \text{مولات H}_2 = \text{مولات CO}_2 = \text{مولات الفورمات المتحللة}$$

وحيث أن كل الفورمات لا تتحلل فيكون :

$$\text{مولات الفورمات الكلية} = \text{مولات الفورمات المتحللة} + \text{مولات الفورمات الباقية}$$

وبوضع معادلة (4) فى الاعتبار .

$$5 - \text{مولات الفورمات الكلية} = \text{مولات H}_2 + \text{مولات الفورمات الباقية}$$

وبتعويض المعادلتين (3) ، (5) يكون الصورة النهائية :

$$\boxed{\text{مولات (الإيثانول + الأسيتات)} = \text{مولات (الفورمات + H}_2)}$$

أما إذا أخذ ك أ_{هـ} فى الاعتبار فيحتمل أن بعض ك أ_{هـ} (الذى أشتق من الفورمات) أنه

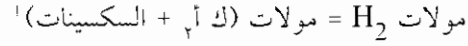
يستهلك فى إنتاج السكسينات بمعدل 1 مول ك أ_{هـ} لكل 1 مول سكسينات .

∴ مولات ك أ_{هـ} من الفورمات = مولات ك أ_{هـ} المستهلك فى السكسينات + مولات

ك أ_{هـ} الباقى

وحيث أنه من معادلة (٤) :

مولات ك أ_٢ من الفورمات = مولات H₂ من الفورمات
فيكون :



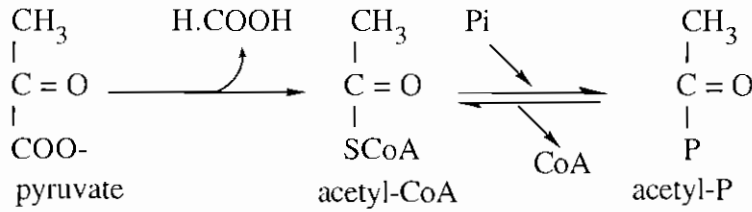
١.١.٤.٩ تكوين الأستالدهيد

يمكن في وجود إنزيم pyruvate decarboxylase (EC 4.1.1.1) تحويل البيروفات إلى الأستالدهيد + ك أ_٢ وهذا التفاعل يحتاج Mn²⁺ ، TPP كمرافقات إنزيمية .



وميكانيكية هذا التفاعل يطلق عليها phosphoroclastic split إذا كان الناتج الفورميك أو thioclastic split إذا كان الناتج ك أ_٢ + يد_٢ .

وفي كلا الحالتين فهما وجهان لعملة واحدة synonymous والمركبان الوسيطيان acetyl phosphate ، - CoA في حالة توازن بواسطة phosphate acetyl transferase (EC 2.3.1.8) .



ولقد عُرِّلَ الإنزيم السابق وحددت صفاته وثبت أنه :

allosteric enzyme يُنشط بواسطة البيروفات ويُثبط بواسطة NADH.H⁺ ويتأثر أكثر بوجود ATP ويتحكم في تكوين أستيل كوانزيم A وبالتالي في استخدام دورة TCA بالكامل .

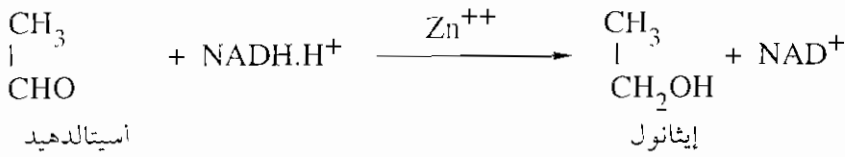
أما تكوين الأستالدهيد من أستيل كوانزيم A فيحتاج إلى المرافق الإنزيمي NAD⁺ في وجود aldehyde dehydrogenase (EC 1.2.1.10) .



ولمست هذه الطريقة الوحيدة التي يتكون الأستالدهيد بها بواسطة Enterobacteriaceae حيث يمكن تكوينه من الأستات بواسطة aldehyde DH آخر (EC 1.2.1.3) وهو إنزيم عالي التخصص جدا كما أن هناك إمكانية ثالثة في وجود NADP⁺ linked aldehyde DH (EC 1.2.1.5).

٢.١.٤.٩ تكوين الإيثانول من الأستالدهيد

يتم ذلك في وجود إنزيم alcohol dehydrogenase (EC 1.1.1.1) الذي يتفاعل عموماً مع الكحولات الأولية والثانوية .

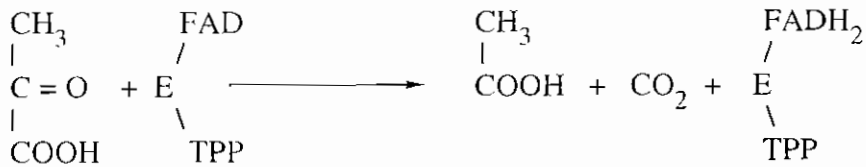


وأثناء تكوين الإيثانول من البيروفات يعاد تكوين ٢ مول من NADH₂ لكل مول إيثانول .

٣.١.٤.٩ تكوين الأستات

وذلك إما مباشرة من البيروفات أو بطريق غير مباشر من أستيل كوانزيم A عبر ٣ طرق مختلفة .

* الطريقة المباشرة بملاسة إنزيم pyruvate oxidase (EC 1.2.3.3) . ويربط الفلافوبروتين الذائب بين FAD ، TPP وينشط بواسطة فوسفو ليبيدات والأحماض الدهنية طويلة السلسلة .

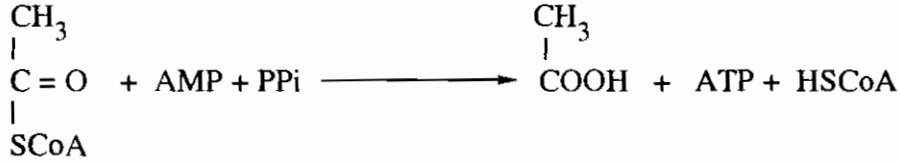


* الطريقة الغير مباشرة :

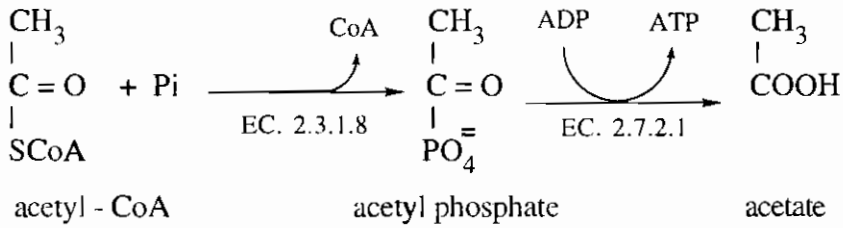
أ - بملاسة إنزيم acetyl - CoA hydrolase (EC 3.1.2.1) ولا ينتج عن ذلك طاقة .



ب - بلامسة إنزيم acetyl - CoA synthetase (EC 6.2.1.1) ويكون جزئى ATP ولكن يحتاج هذا التفاعل إلى AMP ، بيروفوسفات .

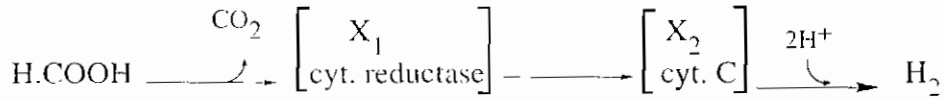


ج - وهى أكثر الطرق استخداماً فى *E. coli* وانتاجاً للطاقة ويلاصها إنزيم phosphate acetate kinase (EC 2.7.2.1) وكذا إنزيم acetyl transferase (EC 2.3.1.8)



٤.١.٤.٩ تكوين ك_٢ ، يد_٢ من الفورمات

يتضمن تكوين ك_٢ ، يد_٢ من الفورمات تفاعلين إنزيمين أحدهما formate DH (EC 1.2.1.2) ذاتى والآخر DH (dehydrogenase) مرتبط بالغشاء فى وجود حوامل للإلكترون وسطية غير معروفة وليكن X₁ ، X₂ .



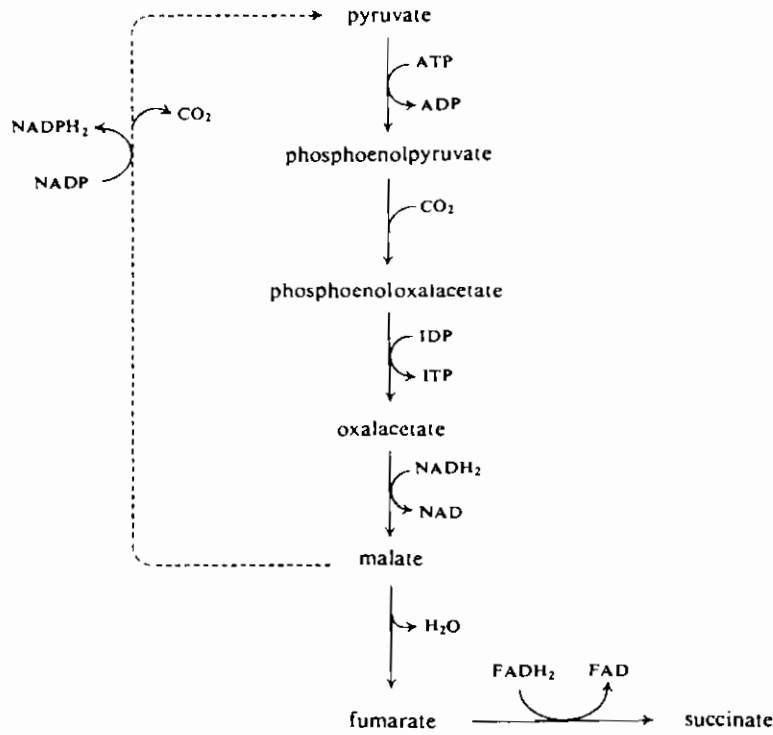
وهناك دلائل تشير إلى أن X₂ هو سيتوكروم من النوع C ذو جهد أكسدة واختزال منخفض (Em = - 225 mV) وهذا السيتوكروم يتكون فقط بواسطة بكتريا الكلوليفورم أثناء النمو اللاهوائى . وطبقاً لهذا فإن X₁ يحتمل أن تقوم بوظيفة cyt. C reductase . ولقد بُدلت جهود كثيرة لتحديد الفيرووكسين (Fd) فى الميكروبات اللاهوائية الاختيارية بعد اكتشافه فى Clostridia ولكن كانت النتائج سلبية مما أدى للاعتقاد أن هناك فروق نوعية فى المرافقات المشاركة فى الميكروبات اللاهوائية الحتمية واللاهوائية الاختيارية بالرغم من أن

الجهد المنخفض يشير إلى إمكانية أن يكون Cyt. C ، Fd متطابقان .

وأهمية هذا التفاعل هو هدم الفورمات إلى كميات متساوية من ك⁺ ، يد⁻ ولكن هناك الكثير من البكتيريا ليس لها القدرة على هدم الفورمات وبالتالي يتراكم كنتاج نهائي مثل *Serratia* ، *Proteus* ، *Shigella* ، *Salmonella* .

٥.١.٤.٩ تكوين السكسينات

سبق الحديث عن تكوين السكسينات من خلال دورة TCA تحت الظروف الهوائية وأيضاً بواسطة *Clostridia* تحت الظروف اللاهوائية أما *Enterobacteraceae* فتستعمل دورة ثالثة تحتوي على بعض إنزيمات TCA كما بالرسم التالي :

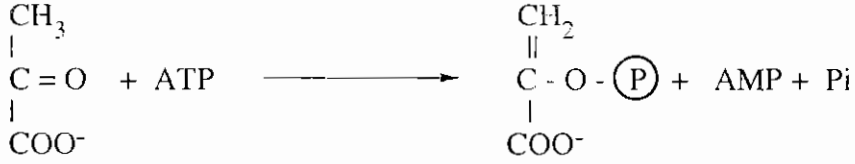


شكل (١٠.٩) : تكوين السكسينات من البيروفات

بواسطة بكتريا عائلة *Enterobaeteraceae* مستعملاً دورة TCA العكسية

والبداية حدوث عملية فسفرة للبيروفات وتتحول إلى فوسفو إينول بيروفات تحتاج إلى

عوامل مسيه ATP . K^{+} . Mg^{++} وإنزيم PEP-synthase .

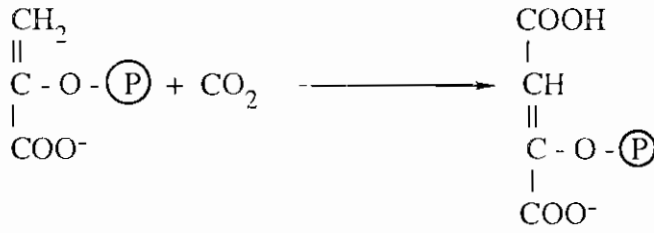


بيروفات

فوسفو إينول فوسفات

ثم إدخال جزئى ك آء فى وجود إنزيم PEP - Carboxylase مكونا فوسفو إينول

أوكسال أسيتات .



فوسفو إينول بيروفات

فوسفو إينول أوكسال أسيتات

أما الخطوة التالية فهى خطوة إنتاج طاقة حيث تنتقل مجموعة الفوسفات إلى IDP

مكونة ITP والأوكسال أسيتات ويعتقد أن phosphate transferase يقوم بلامسة التفاعل

نظراً للاحتياج إلى Mg^{++} أما بقية التحولات من أوكسال أسيتات إلى المالات إلى

الفيومارات ثم أخيراً إلى السكسينات فهى تتم فى خطوات مشابهة لدورة TCA ولكن بطريقة

عكسية .

وميكروبات Enterobacteraceae لها القدرة على قفل الدورة باستخدام malate

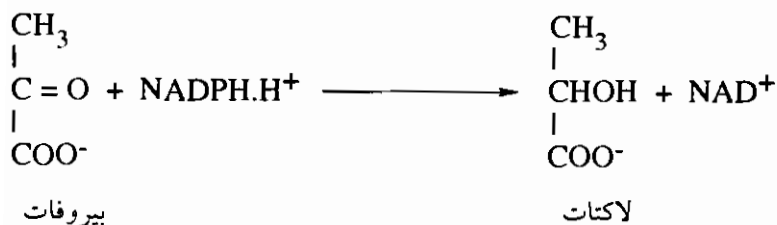
dehydrogeuase (EC 1.1.1.40) لتكوين البيروفات من المالات . وبذلك يستطيع

الكائن تثبيت ك آء من الخطوة السابقة ولكن لا يستطيع إعادة تخليق $NADP^{+}$.

٦.١.٤.٩ تكوين اللاكتات

وذلك بتأثير إنزيم L-lactate dehydrogenase (EC 1.1.1.27)

أو D-lactate DH (EC 1.1.1.28) .



ويلاحظ أن كمية اللاكتات المتكونة تختلف حسب الميكروب فمثلاً *Serratia kielsensis* تحول نصف البيروفات إلى لكتات بينما لا تكون اللاكتات إطلاقاً بواسطة *Aerobacter aerogenes* وكذا تختلف كمية اللاكتات حسب ظروف النمو للكائن .

٢.٤.٩ الميكروبات المنتجة للبيوتاندول Butanediol

١.٢.٤.٩ تكوين الأستوين Acetoin

توجد ٣ طرق لتكوين الأستوين من البيروفات بواسطة الميكروبات كما هو موضح في الشكل (١١.٩) .

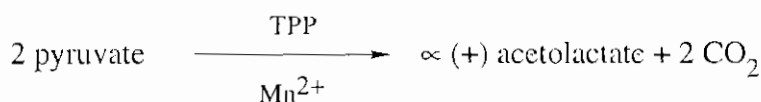
الأولى : في الخمائر وتعتمد على التكوين المباشر للأستالدهيد من البيروفات يعقبه Carboligase reaction مكوناً الأستوين .

الثاني : تكوين الأستوين عبر الأستولاكتات .

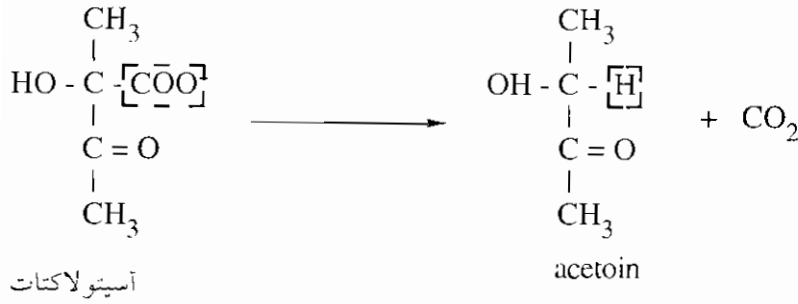
الثالث : يستخدم diacetyl كمركب وسطي لتكوين الأستوين .

* بالنسبة لتكوين الأستوين من الأستولاكتات

لا تحتوي ميكروبات *Bacillus subtilis* ، *Aerobacter aerogenes* ، *streptococcus faecalis* ، *Clostridium acetobutylicum* على نظام نزع ك أ_١ (decarboxylase) ولا تستطيع إنتاج الأستالدهيد ولذلك يفترض وجود إنزيم واحد فقط مسئول عن نزع ك أ_١ من البيروفات ونقل الألددهيد وتكوين مركب وسطي ثابت هو acetolactate - ∞ وهذا الإنزيم هو acetolactate synthase (EC 4.1.3.18) . والمعادلة الإجمالية له :

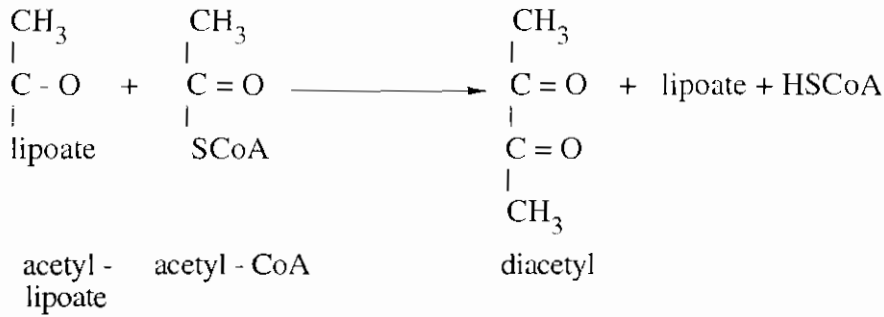


مكونا الأستوين acetoin .

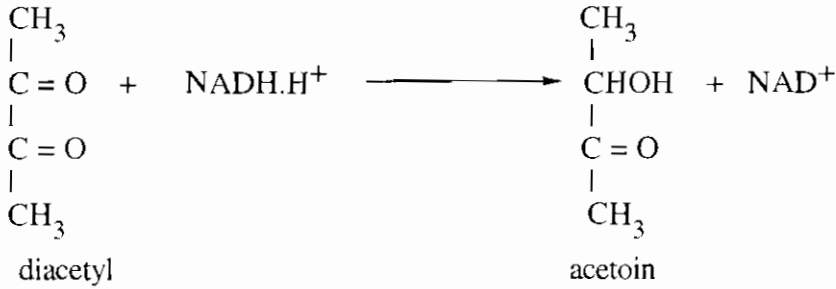


** تكوين الأستوين من داي أسيتيل Diacetyl

كما سبق شرحه يُكوّن الكائن أسيثيل ليبونات بمساعدة pyruvate DH (EC 1.2.4.1) . وفي نفس الوقت يُكوّن أسيثيل كوانزيم A بطريقة phosphoroclastic split (or thioclastic) يتحد كلا الأستيات المنشطة ويكونا diacetyl .



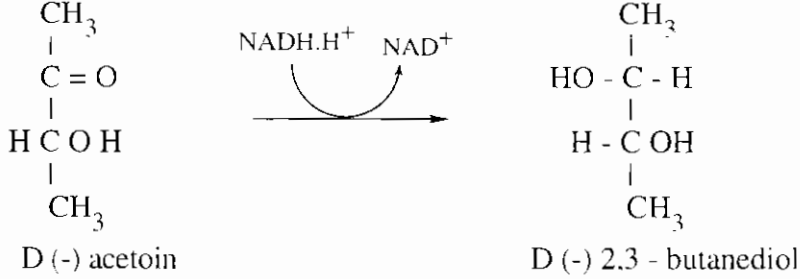
ثم يقوم إنزيم Acetoin dehydrogenase (EC 1.1.1.5) باختزال داي أسيثيل إلى أسيوتين .



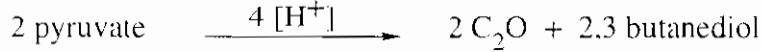
والتفاعل الأخير أكثر اقتصاداً لأن الكائن يستعمل الإنزيمات الموجودة لتكوين أسيثيل كوانزيم A .

٢.٢.٤.٩ تكوين البيوتاندول من الأستيون

يقوم إنزيم butanediol DH (EC 1.1.1.4) باختزال الأستيون سواء كان (+) L ، أو (-) D إلى البيوتاندول .



ولقد ثبت وجود عدد من butanediol dehydrogenases متخصصة حسب الصورة الأيزوميرية التي تحولها فمثلاً ميكروب *B. polymyxa* يكون DH 2,3 butanediol من النوع (-) D أما *A. aerogenes* ، *Ps. hydrophila* يحتويان على النوع (+) L أما ميكروب *B. subtilis* فيحتوي كليهما (-) D ، (+) L . ويزيد ميكروب *Ps. hydrophila* بأحتوائه على acetoin racemase (EC 5.1.2.4) الذي يحول صور الأستيون الأيزوميرية بعضها إلى بعض وهذا يشرح وجود الصور الأيزوميرية الثلاث للبيوتاندول في تخمر الكربوهيدرات وعموماً المعادلة العامة لتكون البيوتاندول من البيروفات هي :

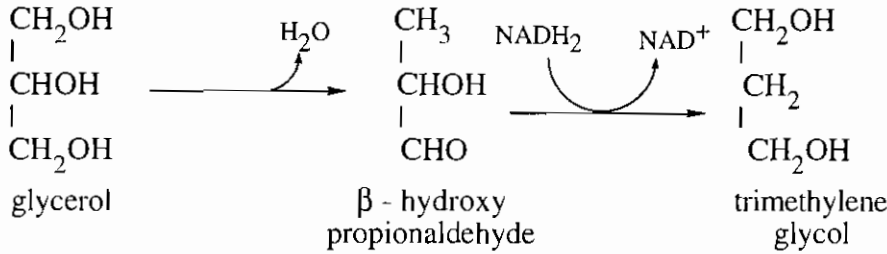


ويبدو أن تكون البيوتاندول يعتمد على pH حتماً فإذا ارتفع فوق 6.3 فإن حمض الأستيك وحمض الفورميك يتراكان بينما يتوقف تكوين ك آ ، يد ، أستيون ، البيوتاندول . أما إذا قل عن 6.3 pH يتحول النظام لإنتاج الأستيون والبيوتاندول .

ومن البكتريا التي تقوم بإنتاج البيوتاندول *Serratia mercescens* ، *A. aerogenes* ، *Erwinia Carotovora* ، *Ps. hydrophila* ، *B. subtilis* كما أن إنتاج الأستيون يستخدم في التشخيص البيوكيميائي لأفراد جنس *Neisseria* حيث يُنتج بواسطة بعض أنواعها مثل *N. flara* ، *N. denitrificans* ، *N. mucosa* بينما لا ينتج بواسطة البعض الآخر مثل *N. animalis* ، *N. Cinera* .

٣.٤.٩ الميكروبات المنتجة للجليكول ثلاثي الميثيلين Trimethylene glycol

يستطيع بعض أعضاء Enterobacteraceae تحويل الجليسرول إلى جليكول ثلاثي الميثيلين أو إلى جليسرلدهيد ٣- فوسفات مثل ميكروبي *Citobacter freundii* ، *Aero- bacter aerogenes* .



وهذه العملية تبدو غير مرتبطة بتحويلات الكربوهيدرات ولكن تلاحظ فقط في وجود الجليسرول .

وبعض الميكروبات مثل *E. coli* ، *Acetobacter suboxydans* يستطيع أكسدة الجليسرول إلى دي هيدروكسي أسيتون فوسفات كما شرح في الباب الخامس ويشير هذا التفاعل الأيضى إلى العلاقة القوية بين *E. coli* ، *acetic acid bacteria* .

٤.٤.٩ تنظيم تحولات الكربوهيدرات في الميكروبات اللاهوائية

Pasteur and Carbtree effect

يستطيع عدد كبير من البكتريا اللاهوائية الاختيارية القيام أما بالتنفس الهوائى أو التخمر وهذا التغير من الظروف الهوائية إلى اللاهوائية يؤدي لاختزال كمية الخلايا، يقلل معدل استهلاك الجلوكوز، يؤثر على نوع الناج النهائي المستكون بالتخمر وهذه الظاهرة تعرف بتأثير الأكسجين "oxygen" or "Pasteur" effect .

فتحت الظروف الهوائية تقوم الميكروبات بأكسدة الجلوكوز كاملاً إلى ك_٢ أ_٤ ، يد_٢ أ_٤ وتغطي فرق جهد الأكسدة والاختزال (0.3 to + 0.8 V-) باستخدام سلسلة انتقال الإلكترونات المرتبطة بانتاج الطاقة وأغلب الإنزيمات التنفسية مرتبطة بالغشاء. أما أثناء التخمر اللاهوائى فإن الميكروبات تستخدم المركبات العضوية كمستقبل للإلكترون ولا تملك نظام سلسلة انتقال الإلكترون وإنما انطلق ٢ جزئى ATP فى خطوة تحول جليسرلدهيد ٣-

فوسفات إلى البيروفات تمثل أهم التفاعلات المنتجة للطاقة في الميكروبات اللاهوائية وهذه الطاقة تكونت عند مستوى مادة التفاعل مما تعرف بنظام substrate level phosphorylation .

ومن المعروف أن الأكسجين يتحكم في حياة الميكروبات عن طريق تأثيره على تحفيز أو تثبيط إنزيماته الحيوية مثل إنزيمات دورة TCA أو سلسلة انتقال الإلكترون. وعلى سبيل المثال إنزيم 2 oxoglutarate dehydrogenase يتفاوت تأثيره بالأكسجين. وبدونه (ظروف لاهوائية) يستخدم *E. coli* طريق الهدم الاختزالي لتكوين السكسينات ثم الأكسوجلوتارات حيث تشجع الميكروب تكوين Fumarate reductase (EC 1.3.1.6) لتكوين السكسينات. أما في حالة وجود O_2 فإن الميكروب ينمو مستخدماً دورة TCA .

ويبدو أنه تحت الظروف الهوائية فإن دورة TCA تسلك سلوكاً حلقياً بينما تحت الظروف اللاهوائية تعدل لتأخذ الشكل المتفرع الغير حلقى الذي يؤدي لتكوين السكسينات. وبعكس الميكروبات اللاهوائية الحتمية حيث يُختزل نشاط إنزيمات TCA وإنزيمات السيوكروم المرتبطة بالغشاء فإن الميكروبات الاختيارية مثل *E. coli* تحتفظ بنشاط كثير من الإنزيمات المرتبط بالغشاء تحت الظروف اللاهوائية وقد ثبت أثناء دراسة مستويات إنزيمات دورة TCA في *E. Coli* النامية أما هوائياً أو لاهوائياً تحت ظروف غذائية مختلفة وجود ٣ عوامل تؤثر على تخليقها الحيوى :

- أ - وجود أو غياب الأكسجين Parteur effect .
- ب- التأثير السلبى للجلوكوز Carbtree effect .
- ج- التوازن بين احتياجات الهدم والبناء .

وأكثرهم تأثيراً كان تأثير الجلوكوز الذى يُثبط بوضوح تكوين إنزيمات دورة TCA وتعرف هذه الظاهرة «بتأثير الجلوكوز» «glucose" or "Crabtree" effect» والتفرقة بينه وبين تأثير باستير صعباً ولكنه ليس مستحيلاً .

5.9 تخمرات بكتريا حمض اللاكتيك Fermentation of Lactobacillaceae

تتبع بكتريا حمض اللاكتيك عائلة Lactobacillaceae وهي عضويات طويلة أو قصيرة وكذا كرويات موجبة لجرام غير متجرتمة ومعظمها غير متحركة وتعتمد على تخمر الكربوهيدرات منتجة حمض اللاكتيك أى مخمرة حتمية (بعكس Enterobacteriaceae التي تنتج اللاكتيك) ولا تحتوى خلاياها على الهيمين - السيتوكروم والكتاليز - وبالرغم من ذلك تستطيع النمو فى وجود الهواء أو الأكسجين وهي لذلك aerotolerant .

ومن الصفات المميزة لهذه العائلة احتياجها إلى عوامل نمو إضافية مثل الفيتامينات (لاكتوفلافين ، ثيمين ، حمض الفوليك ، بيوتين ، حمض النيكوتينك) والأحماض الأمينية والقواعد النيتروجينية ولهذا تسمى غالباً على بيئات معقدة تحتوى على مستخلص الخميرة ومستخلص الطماطم وحديثاً جداً ثبت أنها تكون السيتوكروم أثناء النمو على بيئة الدم وبالتالي يمكنها القيام بعملية الفسفرة المرتبطة بالسلسلة التنفسية وهي لا تستطيع تخليق pro-phyrin وتتميز بخاصية قدرتها على تمثيل سكر اللاكتوز . وأماكن أنتشارها فى الطبيعة : فى المياه والأراضى وأساساً فى الألبان ومنتجاتها وفى معدة وأمعاء الإنسان والحيوان .

ونظراً لإنتاجها كميات كبيرة من حمض اللاكتيك لابد من إضافة منظم buffers ليثية النمو عادة كربونات الكالسيوم فتظهر مستعمراتها محاطة بهالات راتقة (شفافة) على سطح الآجار . وهي سهلة العزل على البيئات المتخصصة . كما يمكن اعتبار كثير من منتجات الألبان «كمزراع نقية طبيعية» مثل اللبن الحامض ، العجين الحامض (acid dough) ، sauer kraut ، السيلاج .

1.5.9 تخمر الجلوكوز

تقسم lactobocillaceae تبعاً لقدرتها على تخمير الجلوكوز إلى لاكتات 90 ٪ (أى ٨,١ مول لاكتيك لكل ١ مول جلوكوز) وتعرف بـ homofermentative أو إلى نواتج أخرى بجانب اللاكتات وتعرف Heterofermentative كما بالجدول التالى :

Cocci	R ods
<i>Homofermentative</i> $C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2 CH_3-CHOH-COOH$	
<i>Streptococcus lactis</i> <i>Streptococcus faecalis</i> <i>Streptococcus salivarius</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Streptococcus cremoris</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Streptococcus diacetylactis</i> <i>Pediococcus cerevisiae</i>	Thermobacteria (opt. temp. 40°C; do not grow at 15°C) <i>Lactobacillus lactis</i> <i>Lactobacillus helveticus</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus bulgaricus</i> <i>Lactobacillus delbrückii</i> Streptobacteria (opt. temp. 30-37°C; always grow at 15°C) <i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Sporolactobacillus inulmus</i>
<i>Heterofermentative</i> $C_6H_{12}O_6 \longrightarrow CH_3-CHOH-COOH + CH_3-CH_2OH + CO_2$ (or CH_3-COOH)	
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> (= <i>Betacoccus</i>) <i>Leuconostoc cremoris</i>	Betabacteria: <i>Lactobacillus brevis</i> <i>Lactobacillus fermentum</i> <i>Lactobacillus viridescens</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i>

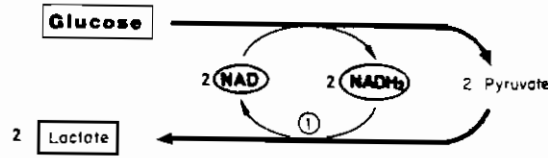
جدول (٢.٩) : تقسيم بكتريا حمض اللاكتيك حسب الشكل ونوع التخمر

Homofermentative Lactobacteria 1.1.5.9

وهي تحول الجلوكوز عبر دورة EMP حيث تحتوى على جميع إنزيماتها بما فيها aldolase وتستخدم H_2 الناتج من تحول جليسرلدهيد ٣ - فوسفات إلى ١, ٣ داي فوسفو جليسرات لاختزال البيروفات إلى لاكتات كما هو مبين في شكل (٩-١٢) .

ويحدد التخصص النوعى stereospecificity لإنزيم لاكتات ديهيدروجينيز وكذا وجود أو غياب إنزيم Lactate racemase نوع الأيزومير الناتج إذا كان (-) D ، (+) L ، أو DL .

ويمكن فقط لجزء ضئيل من البيروفات أن تحدث له عملية نزع ك أ_١ decarboxylation ويتحول إلى الأسيئات والإيثانول ، ك أ_١ وربما الأستون وهذا يتوقف على تركيز الأكسجين .



شكل (١٢.٩) : تكوين اللاكتات من الجلوكوز بواسطة Homofermentation

٢.١.٥.٩ Heterofermentative Lactobacteria

وهي تخمر الجلوكوز منتجة أقل من ٨,١ مول لكتات لكل ١ مول جلوكوز (أقل من ٩٠٪) وبالإضافة لذلك يتكون الإيثانول ، أسيت جليسرول ، مانيتول ، ك أ٧ كما هو موضح في الشكل (٩-١٣) وتوجد عدة أنواع من تقنيات التخمر (نوع - Hetero) :

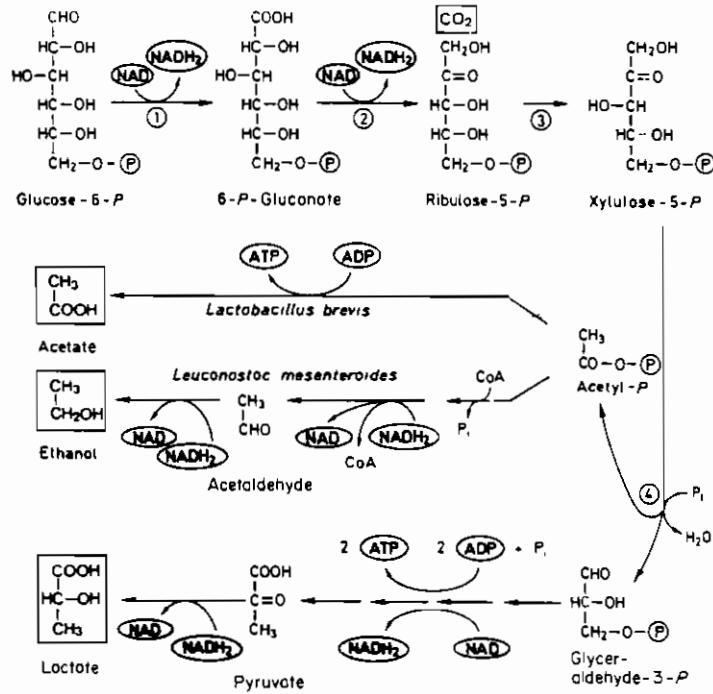
١ - *Leuconostoc type* - حيث يتكون ٨,١ مول من اللاكتيك ، ١,٢ - ٢,٢ مول أسيتات ، ٩,٢ مول ك أ٧ ، ٨,٢ مول إيثانول ، ٢,٤ - ٤,٤ مول جليسرول والأخير يتكون تحت ظروف خاصة .

٢ - *Peptostreptococcus type* - حيث ينتج اللاكتيك ، بروبيونيك فقط .

٣ - *Butaric producer type* - وتشمل كل البكتريا التي تنتج اللاكتيك والبيوتاريك كناتج نهائي لتخمر الجلوكوز .

وتفتقد *Heterolactobacteria* إنتاج إنزيمات دورة EMP وبالذات *aldolase* (*EC 4.1.2.13*) ، *triose phosphate isomerase* ولذا فالتحلل الأولي للجلوكوز يتم بواسطة دورة البنتوزفوسفات (HMP) عبر الجلوكوز ٦ - فوسفات ، ٦ - فوسفو جلوكونات ، ريبولوز ٥ - فوسفات والأخير يتحول إلى الزيليلوز ٥ - فوسفات بواسطة *epimerase* .

ويتبع ذلك تفاعل أنشغاقى فى وجود إنزيم *phosphoketolase* والثيمين بيروفوسفات مكوناً فوسفوأسيتيل والجليسرلدهيد ٣ - فوسفات . ويتحول الأسيتيل فوسفات إلى الاستيات بواسطة *acetate kinase* مع فسفرة ADP كما فى ميكروب *L. brevis* أو يختزل إلى الإيثانول عبر استيل كوانزيم A والأسيتالدهيد كما فى ميكروب *Leuconostoc sp.* .

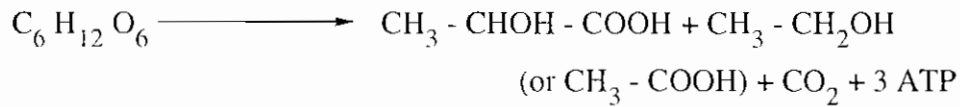


Enzymes: (1) glucose-6-phosphate dehydrogenase; (2) phospho-gluconate dehydrogenase; (3) epimerase; (4) phosphoketolase. Acetylphosphate is either converted to acetate by acetate kinase with

phosphorylation of ADP (*L. brevis*) or reduced to ethanol (*L. mesenteroides*). Oxidation of glyceraldehyde phosphate is by the usual fructose-bisphosphate pathway.

شكل (٩. ١٣) : التخمر بواسطة Herofermentative lactobacteria (*Lactobacellus brevis* ، *Leuconostoc mesenteroids*)

أما الجليسرلدهيد ٣- فوسفات فيتأكسد إلى البيروفات مستخدماً دورة EMP المعروفة ثم يختزل إلى اللاكتيك في وجود Lactate dehydrogenase (EC 1.1.1.28) . والمحصلة النهائية للتفاعل هو تحول الجلوكوز إلى لاكتات ، إيثانول (أو أسيتات) ، ك أ_٣ مع تكون ٣ مول من ATP لكل ١ مول جلوكوز وهذا يمثل نصف الطاقة المنتجة بواسطة Homofermentats ويعبر عن المعادلة الإجمالية للتفاعل كما يلي :



وهناك تقسيم آخر وضعه Buyze et al, 1959 حسب الإنزيمات ولا يعتمد على الناتج النهائي كالتالى :

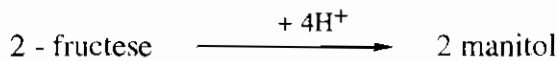
- ١ - obligate homofermenters تحتوى fructose diphosphate aldolase (EC 4.1.2.13) ولا تحتوى جلوكوز ٦ - فوسفات ديهيدروجينيز (EC 1.1.1.49) ولا فوسفو جلوكونات ديهيدروجينيز (EC 1.1.1.43) .
- ٢ - Obligate Heterofermenters وتحتوى إنزيمات الديهيدروجينيز السابقة ولكن لا تحتوى FDP - aldase .
- ٣ - Facultative Homofermenters. تحتوى الثلاث إنزيمات معاً وتستطيع استخدام كلا النظامين .

ويتحكم فى نوع التخمر اللاكتيكي عوامل عديدة :

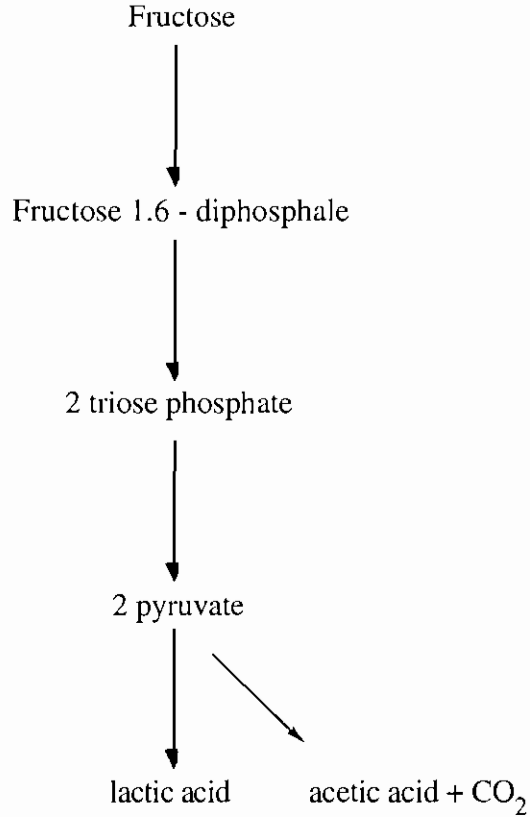
- ١ - الظروف البيئية مثل الحرارة ، pH .
- ٢ - المرافقات الإنزيمية المصاحبة لإنزيمات الدهيدروجينيز الداخلة فى العملية من حيث استخدام NAD ، FAD .
- ٣ - المركب الوسطى فركتوز داي فوسفات حيث يؤثر مباشرة على Lactate DH بصفة خاصة فى Streptococci .
- ٤ - تأثير الأكسجين على معدل تحول الجلوكوز إلى اللاكتيك وعلى نوع الأيسومر الناتج .

٢.٥.٩ تخمر الفركتوز

يسلك ميكروبي *Lactobacillus plantarum* ، *L. pentoaceticum* نفس الأسلوب فى تخمير الجلوكوز والبتوزات ولكن يختلف الحال عند تخمير الفركتوز حيث ينتج الميكروب الثانى المانيتول بالإضافة إلى حمض اللاكتيك وحمض الأسيتيك بينما الميكروب الاول لا ينتج المانيتول وينتج اللاكتيك والأسيتيك فقط كما هو موضح فى شكل (٩-١٤) . ويعمل الفركتوز فى ميكروب *L. pentoaceticum* كمستقبل للبروتونات الزائدة .



ويلا مس هذا التفاعل إنزيم (EC 1.1.1.67) manitol DH المرتبط بـ NADH_2 .
ويغيب هذا الإنزيم في ميكروب *L. plantarum* فلا يكون المانيتول ويستخدم ذلك كصفة
تقسيمية للفرقة بين الميكروبين .



شكل (١٤.٩) : تخمرات الفركتوز بواسطة بكتريا حمض اللاكتيك

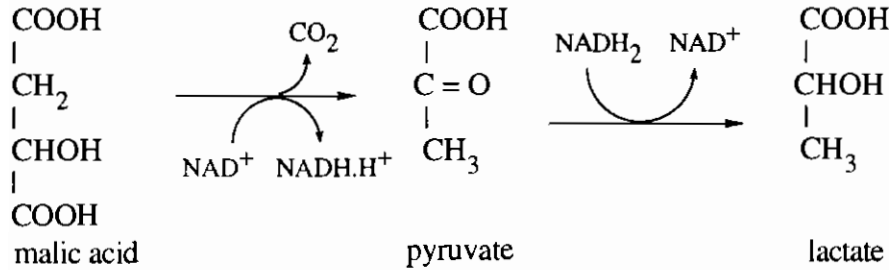
وبدلاً من استخدام ٣ مول فركتوز كمصدر للكربون يمكن استخدام الجلوكوز والفركتوز
بنسبة ١ : ٢ لتوفير الفركتوز وتكوين المانيتول .



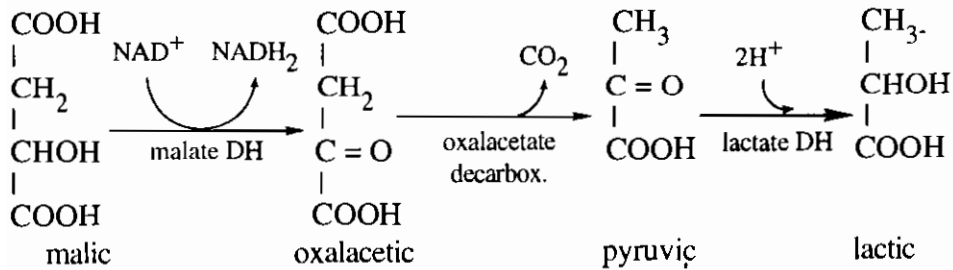
٣.٥.٩ تخمر المالات

يستطيع عدد ضخم من بكتريا حمض اللاكتيك تحويل حمض المالك إلى اللاكتيك
وهذا ذو أهمية تجارية كبيرة في صناعة النبيذ ويعرف بـ malolactic fermentation

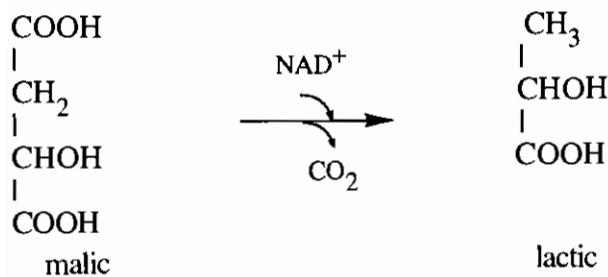
والميكانيكية الحقيقية لتحويل المالك ما زالت غير مستقرة فكان يعتقد لمدة طويلة أن المالك تحدث له عملية نزع ك أ₃ إلى البيروفات مصحوبة بنزع الايدروجين بواسطة malic DH مرتبط ب NAD⁺ (EC 1.1.1.38) ويعقبه اختزال البيروفات إلى اللاكتات بواسطة lactate dehydrogenase كما بالمعادلة :



وهناك ميكانيكية أخرى وهي تتضمن خطوة dehydrogenation يعقبها خطوة decarboxylation ويتكون الأكسال أسيتات كمركب وسطي بين المالك والبيروفات وقد عزل الأكسال أسيتات فعلا من *L. plantarum* ويلامس هذه العملية إنزيمى malate DH ، oxalacetate decarboxylase .



وتوجد ميكانيكية ثالثة عبارة عن decarboxylation مباشرة لحمضية المالك فيتحول إلى حمض اللاكتيك بدون تكوين الأكسال أسيتات أو البيروفات وعندئذ ليس هناك حاجة لوجود lactate DH .



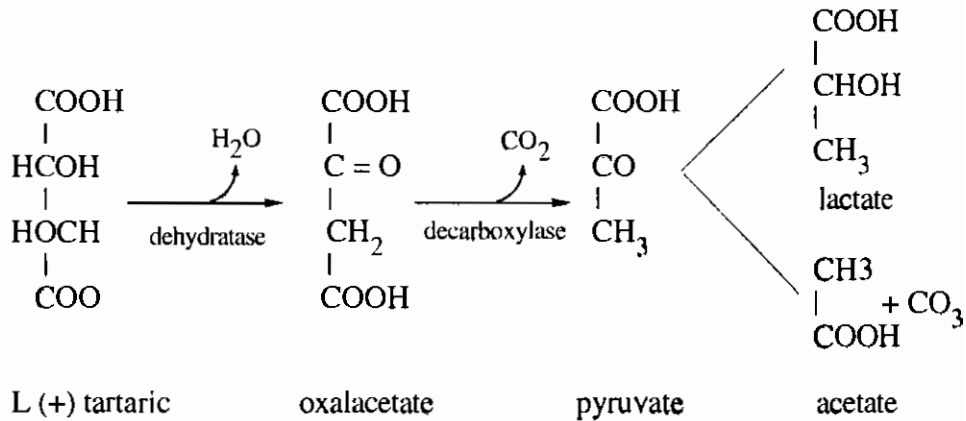
ويلاقي التصور الأخير تأييداً متزايداً حيث أظهرت دراسة الإنزيمات وتنقيتها إن lactate DH المرتبط بـ NAD^+ غير موجود في تخمر مالولالكتيك بواسطة *L. plantarum* .
 وهناك اعتقاد أن بعض الميكروبات تمتلك أكثر من ميكانيكية واحدة في نفس الوقت .

٤.٥.٩ تخمر الطرطريك Tartrate

أظهرت دراسة على ٧٨ سلالة من أجناس *Leuconostoc* ، *pediococcus* ، *Lactobacillus* أن ميكروبي *L. brevis* ، *L. Plantarum* فقط قادرة على تحويل حمض الطرطريك .

وقد وجد في مستخلص الخلايا لميكروب *L. plantarum* أن ١ مول طرطريك يتحول إلى ١,٥ مول ك أ ، ٥ ، مول حمض الأسيتيك ، ٥ ، حمض اللاكتيك . أما في حالة ميكروب *L. brevis* فيتكون ١,٣٣ مول ك أ ، ٢١ ، ٦٧ ، مول أسيتيك ، ٣ ، مول سكسينات .

وكما تشير النواتج النهائية فإن الطرطريك يهدم بطرق مختلفة معتمداً على نوع السلالة تحت الدراسة فميكروب *L. plantarum* يحول الطرطريك أولاً إلى أكسال أسيتات في وجود tartrate dehydratase (EC 4.1.1.32) ثم تحدث عملية نزع ك أ بملامسة إنزيم oxalacetate,decarboxylase ينتج عنها البيروفات والذي يتعرض لتأثير إنزيمين مختلفين أحدهما lactate DH المستوى عن تكوين اللاكتيك والآخر pyruvate DH system المسئول عن تكوين ك أ ، حمض الأسيتيك كما بالمعادلة التالية :



وقد ثبت أن نسبة $NAD^+ / NADH.H^+$ بالوسط النامي فيه الميكروب هي التي تحدد الناتج النهائي. ففي حالة وجود كمية عالية من $NADH.H^+$ يميل التفاعل إلى تكوين الأستيتك ، ك أ_١ على حساب اللاكتيك والعكس إذا كانت نسبة NAD^+ عالية فإن التفاعل يميل تجاه تكوين اللاكتيك .

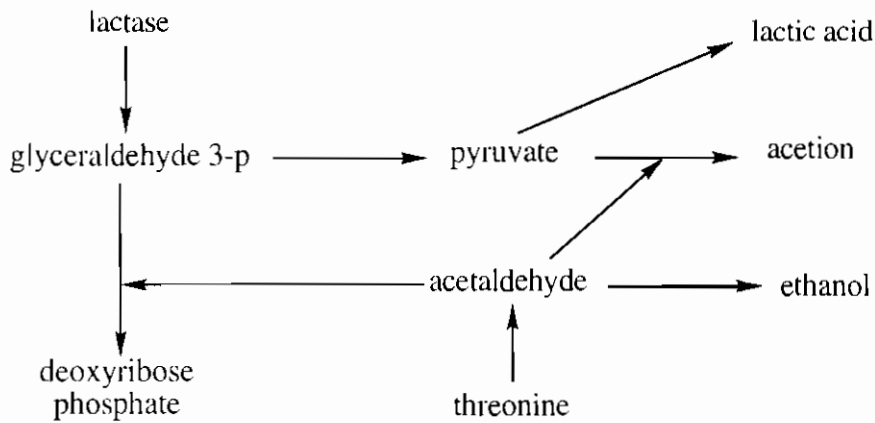
أما بالنسبة لميكروب *L. brevis* فيحول الطرطريك إلى بيروفات ثم إلى أستيتك ، ك أ_١ ولا تسلك الطريقة الآخر لتكوين اللاكتيك برغم أنه يملك كلا الإنزيمين (+) *L. D (-) lactate DH* ، ولا يوجد تفسير لذلك ولقد ثبت أن إضافة الجلوكوز تؤثر على تحول الطرطريك بواسطة *L. plantarum* فقط ولا تؤثر بالنسبة لميكروب *L. brevis* وعلى أى حال فإن الجلوكوز يتحول قبل الطرطرات .

٥.٥.٩ تخمر اللاكتوز بواسطة N - streptococci

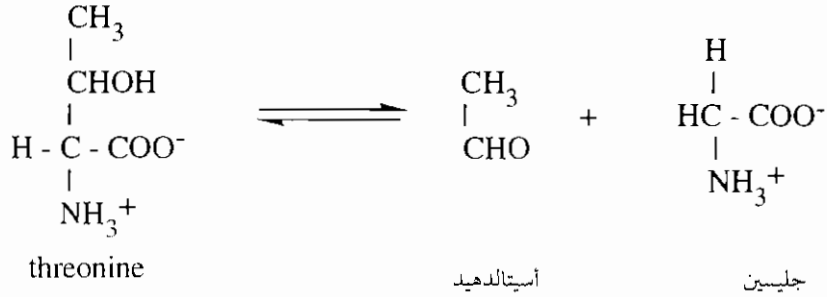
لوحظ أن مجموعة البكتريا المسماة *Streptococcus lactis* ، *S. diacetylactis* ، *S. eximoris* تستطيع تخمير اللاكتوز في اللبن إلى اللاكتيك .

ويقوم إنزيم PEP - phosphotransferase بنقل اللاكتوز إلى داخل الخلية البكتيرية وهو يحتوى Factor III ولذا يشبه نظام Staphylococci (لاحظ ميكانيكية انتقال الجلوكوز - الباب الخامس) .

وبعد دخول اللاكتوز للخلية فإن هذه الميكروبات تحوله في وجود الثيونين وتكون الجليسين والأستيتالدهيد .



والإنزيم الذى يلامس تحول الشريونين هو Serine hydroxy methyl transferase (EC 2.1.2.1) فى وجود pyridoxal phosphate كمرافق ويتكون الأستيتالدهيد ، والجليسين .

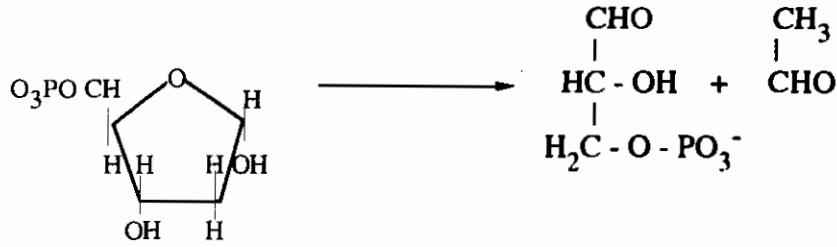


ولقد ذكر سابقاً فى فقرة (٣٠٥) طرق تحول الأستيتالدهيد الثلاث معتمداً على نوع الإنزيم المتوافر .

ودورة اللاكتوز الأساسية تتم بمشاركة مع دورة EMP فتحت الظروف اللاهوائية يعتبر البيروفات هو مستقبل الأيدروجين الأساسى ويتخمر ٩٦ ٪ من الجلوكوز إلى السلاكتيك أما تحت الظروف الهوائية فلا يوجد تغيير فى الدورات المستخدمة ولكن يشارك جزئى الأوكسجين وأيضاً البيروكسيد فى التفاعل ويتكون H_2O_2 بملاسة إنزيم ديهيدروجينيز حيث يتأكسد NADH.H^+ بواسطة O_2 ويؤدى تراكم H_2O_2 بكميات كبيرة إلى تثبيط النمو ويتفاوت نشاط الإنزيمين من سلالة إلى أخرى .

٦.٥.٩ تخمر ديزوكسى ريبوز Deoxyribose

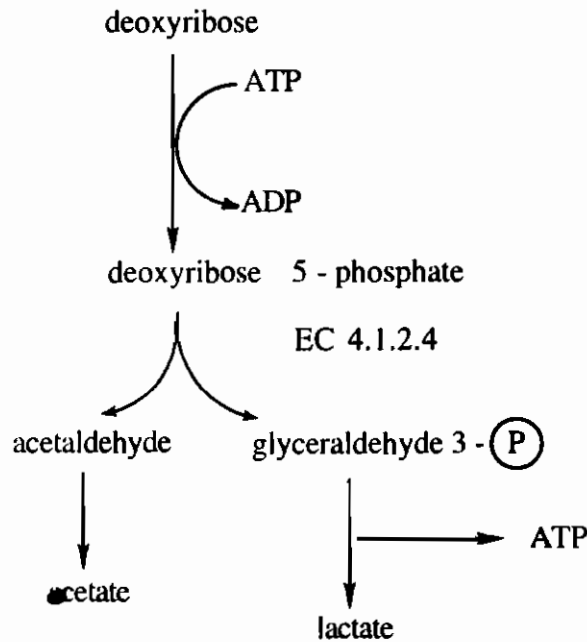
لا يحدث تحول لهذا السكر فى الخلايا التامية على الجلوكوز أو الأرابينوز أو الزيلوز ولكن يحفز هدمه فى *L. plantarum* فى وجود خليط من الجلوكوز والديزوكسى ريبوز؛ حيث يحدث النمو على حساب الجلوكوز والإنزيم المسئول عن ذلك هو deoxyribo aldolase (EC 4.1.2.4) الذى يلامس تفاعل تحول ديزوكسى ريبوز ٥ - فوسفات إلى جليسرلدهيد ٣ - فوسفات والأستيتالدهيد .



ديزوكسي ريبوز ٥-فوسفات

أستالدهيد جليسرلدهيد ٣-فوسفات

والجليسرلدهيد يتحول إلى اللاكتيك لأن *L. plantarum* يمتلك كل إنزيمات دورة EMP بينما يتحول الأستالدهيد إلى الأسيتات والطاقة الناتجة هي ١ مول ATP لكل مول ديزوكسي ريبوز متخمر .



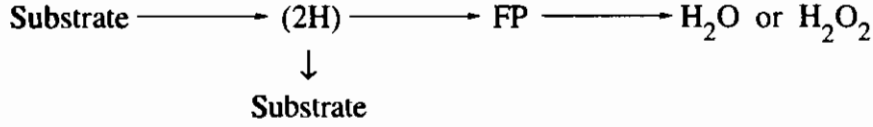
٧.٥.٩ تحول البيوتين Biotin degradation

يستطيع ميكروب *L. plantarum* هدم البيوتين إلى vitamers وكذا تحول أوكسي بيوتين ، دي ثيوبوتين إلى نواتج غير قابلة للاستخدام بواسطة *Saccharomyces cerevisiae* . ويبدو أن الميكروب السابق ليس فريداً من نوعه ولكن يمتلك ميكروب *L. casei* أيضاً نفس النظام .

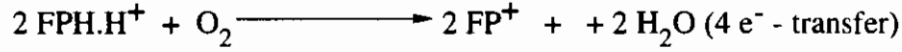
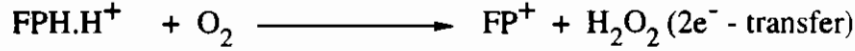
٦.٩ الفسفرة ونظام انتقال الالكترونات فى بكتريا حمض اللاكتيك

Phosphorylation and electron transport system

تتميز عائلة Lactobacillaceae بخواصها التخمرية ويحتمل أحتوائها على سيتوكرومات ولكن لا تستخدمها لأن نظام تنفسها يعتمد أساساً على الفلافوبروتينات .



تحت الظروف اللاهوائية يستخدم مادة تفاعل (Substrate) اخرى كمستقبل للإيدروجين أما تحت الظروف الهوائية فيمر الالكترونون إلى الفلافوبروتين الذى يتفاعل بدوره مع الأكسجين مكوناً الماء أو بيروكسيد الهيدروجين .



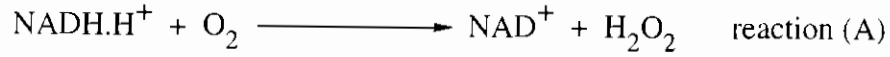
- ويشاهد نظام انتقال (2e-) غالباً أثناء أكسدة الجلوكوز فى معلق الخلايا لميكروب *L. delbruckii* أو *L. acidophilus* حيث لوحظ نسبة ١ : ١ بين استهلاك الأكسجين وإنتاج بيروكسيد الهيدروجين .

- ويتعرض بيروكسيد الهيدروجين للتحلل بواسطة إنزيم NAD - linked peroxidase (EC 1.11.1.1) مكوناً الماء .



- وتستطيع ميكروبات أخرى من Streptococci ، lactobacilli اختزال البيروكسيد فى وجود مادة معطية للالكترونون بلامسة إنزيمات لا تحتوى عناصر ثقيلة كهوامل لمسيه ويعرف ذلك بـ Atypical peroxidases (بيروكسيديز غير نمطى) .

- والتأثير الموحد للإنزيمي FP-NAD peroxidase & FP - NAD dehydrogenase ينتج الأربعة الكترونات اللازمة فى خطوة اختزال الأكسجين إلى الماء .



- ولهذا تُستخدم بكتريا حمض اللاكتيك diaphoroses لتحولاتها اللاهوائية بينما تستخدم oxidases and / or peroxidases لتحولاتها الهوائية .

* **Diaphorases** : وهى إنزيمات تربط أكسدة NADH.H^+ (المختزل) باختزال مستقبل الكترولن صناعى .



حيث (A) معظمها فلافوروتينات .

* **Flavoprotein linked oxidases** : تم عزل ٤ فلافوروتينات تلامس أكسدة NADH_2 من ميكروب *Streptococcus faecalis* (تفاعل A) وهم :

١ - FD - oxidase .

٢ - Cyt. C reductase (EC 1.6.99.3) .

٣ - diaphorase التى تستعمل ٦,٢ داي كلوروفينول أندوفينول (2,6 DCIP) ، فروسيانيد $(\text{Fe CN}_6)^{2-}$ ، سلسلة من الكيتونات كمواد مؤكسدة oxidants .

٤ - menadione reductase (EC 1.6.99.2) .

وهذه الإنزيمات الأربعة يمكن فصلها من بعضها وهى غير ثابتة أثناء العزل ولكن يمكن إعادة تنشيطها بواسطة مجموعة الثيول (SH-) .

* **Flavoprotein linked peroxidases** : وهى تقسم إلى قسمين :

١ - atypical peroxidase : بعض أفراد بكتريا حمض اللاكتيك مثل *S. faecalis* ،

، *Lactobacillus brevis* ، *Leuconostic mesenteroides* هى كائنات حية خالية

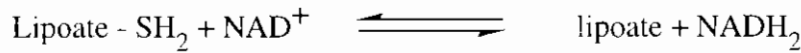
من السيوكروم والكتاليز ولكن تستطيع ملامسة اختزال هيدروجين بيروكسيد إلى الماء

فى وجود مواد مؤكسدة كمعطى للألكترون (تفاعل B) ومن أمثلتها الكحولات ،

الجلوكوز ، الجليسرول ، اللاكتات ، الفركتوز .

ويعتبر هذا التفاعل نموذجاً لانتقال الالكترون لاهوائياً بين الفلافوبروتينات .

* **Dehydrogenase activity** : ذكر سابقاً أن *S. faecalis* ، *L. casei* ، تقوم بتحويل البيروفات فى وجود lipoic acid تحت الظروف الهوائية فيما يعرف pyruvate dehydrogenase complex system كما وصف فى دورة TCA . أما ميكروب *Leuconostoc mesenteriodes* فيمتلك (EC 1.6.4.3) lipoamide dhydrogenase الذى يلامس التفاعل العكسى وهذا الإنزيم عبارة عن فلافوبروتين .



أيضاً *S. faecalis* يحتاج حمض الليبوثيك لاختزال diacetyl والذى يتضمن acetyl - CoA كما سبق ذكره فى فقرة ١٠١٠٧ .

Flavoprotein respiration

ترتبط عمليات التخمر بحدوث الفسفرة عند مستوى مادة التفاعل substrate level phosphorylation . وعلى سبيل المثال بكتريا حمض اللاكتيك تستطيع تحويل الجليسرول فقط تحت الظروف الهوائية بينما تحت الظروف اللاهوائية لا يتم ذلك بدون مستقبل للأيدروجين خارجى . وفى بكتريا *Pediococcus* تعتمد أكسدة الجليسرول على إنتاج الكتاليز فكلما زاد محتوى الخلايا من الكتاليز كلما زاد النمو على الجليسرول . ويلاحظ وجود نوعين من الكتاليز فى *lactobacilli* .

أ - Classical catalase (EC 1.11.1.6) الذى يكسر (يشق) هيدروجين بيروكسيد وهو حساس لـ azide وغير حساس لـ pH الحامضى كما يلاحظ فى بعض أنواع *Leuconostoc* ، *Pediococcus* عند نميتها فقط على بيئة محتوية على الهيم (بيئة الدم) .

ب - Pseudocatalase ولا يحتوى على الهيم كمجموعة مرافقة prosthetic group وعادة حساس للحموضة ويلاحظ فى سلالات *Leuconostoc* ، *Pediococcus* ، *L. plantarum* فقط ويعجز عن شق H_2O_2 فى اختبار الكتاليز العادى .

ويمكن أن يوجد كلا نوعى الكتاليز فى نفس الميكروب ويستطيع ميكروب *S. faecalis*

تكوين Cyt. b₂ عند تنميته على بيئة مضاف إليها الهيم وثبت فعلاً حدوث فسفرة مؤكسدة كاملة وزيادة نشاط إنزيم nitrate reductase وأيضاً زيادة تكوين الكتاليز إلى المستوى الموجود في المزارع النامية هوائياً .

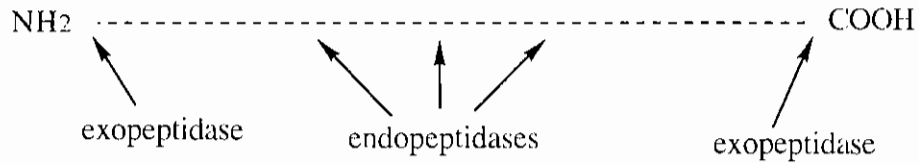
وبناء على تفاعل الكتاليز يمكن تقسيم Heterofermentative bacteric إلى مجموعتين الأولى موجبة للكتاليز على الآجار العادي وآجار الدم والثانية موجبة لاختيار الكتاليز فقط على بيئة الدم .

٧.٩ تخمرات بكتريا الكلوستيريديم المحللة للبروتينات Proteolytic clostridia

تتفوت مقدرة الميكروبات على هدم البروتينات إلى بيتونات. بولى بيتيدات ، أحماض أمينية. وحيث أن أغلب هذه المواد النيتروجينية العضوية ذات مستوى أكسدة بين الكربوهيدرات والدهون لذا فهي مفيدة كمصدر للكربون والتروجين والطاقة لكل من الميكروبات الهوائية واللاهوائية .

واجزيئات البروتينية الضخمة عادة موجودة خارج الخلية وميكانيكية مرورها عبر الغشاء الخلوى لا تعتمد فقط على الحجم - برغم أنه عامل مهم - ولكن أيضاً على مقدرة الخلايا على إفراز إنزيمات خارجية exoenzymes لتفتت هذه الجزيئات خارجياً قبل دخولها بمساعدة permeases ثم إفراز الإنزيمات الداخلية عليها endoenzymes واستخدامها كوحدات. بناء أو مواد للتخمر وتعرف الإنزيمات الخارجية التى تفرزها البكتريا ذات المقدرة على هدم البروتين بـ proteolytic enzymes لتحويل هذه المركبات (polymeric) إلى مكوناتها (monomeric) قبل دخولها الخلية .

وتقسم هذه الإنزيمات إلى قسمين endopeptidases ، exopeptidases طبقاً لنوع تأثيرها على السلسلة الببتيدية (طرفياً أو داخلياً) .



وعلى سبيل المثال إنزيم pepsin (EC 3.4.23.1) يعتبر endopeptidases أما إنزيم serine dehydratase فهو exopeptidase حيث يتزع مجموعة الأمينو ويحول السيرين إلى بيروفات .

وتقسم exopeptidases إلى :

أ - amino peptidases التي تعمل على النهاية الطرفية ذات مجموعة الأمينو ($-NH_2$) وتعتمد على تنشيطها بالأيونات المعدنية مثل Fe^{2+} ، Mn^{2+} ، Mg^{2+} .

ب- Carboxy peptidases التي تحلل الببتيدات من ناحية مجموعة الكربوكسيل ($-COOH$) الطرفية .

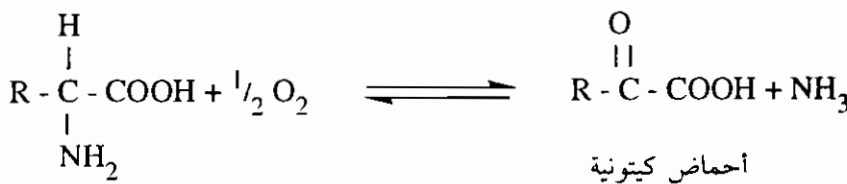
وتعمل proteolytic enzymes على تكسير جزئ البروتين خارجياً إلى البولي ببتيدات ، الأليجو ببتيدات ، الأحماض الأمينية ثم تقوم بهدم الأحماض الأمينية داخلياً بإحدى طريقتين decarboxylation أو deamination . ونظراً لأنطلاق الأمونيا فإن عملية هدم المواد العضوية النيتروجينية (البروتين) يطلق عليها معدنه النيتروجين mineralization أو ammonification .

وتستطيع كثير من الميكروبا اللاهوائية أو الاختيارية هدم الأحماض الأمينية مفردة أو في أزواج أو مرتبطة بمركبات أخرى غير نيتروجينية .

١٠٧.٩ تحولات الأحماض الأمينية المفردة Single amino acid metabolism

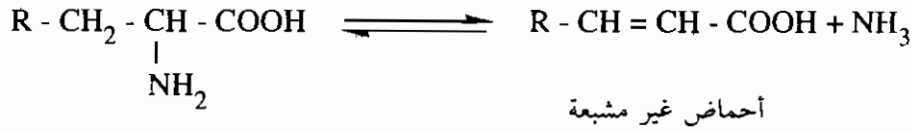
تتم عملية نزع مجموعة الأمين deamination في البكتريا بعدة طرق تختلف حسب الإنزيمات التي يفرزها الميكروب والظروف البيئية .

١ - نزع الأمونيا بالأكسدة oxidative deamination والنتائج أحماض كيتونية .



فلو كان الحمض الأميني هو الأئين فإن الناتج هو تراكم البيروفات .

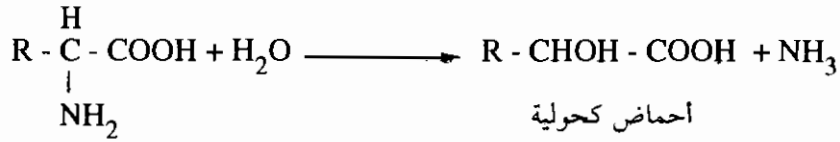
٢ - عدم التشبع desaturation deamination والناتج هو أحماض دهنية غير مشبعة .



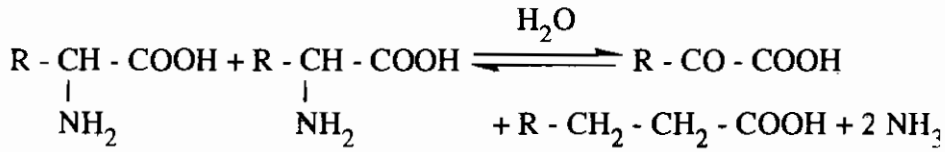
٣ - نزع الأمونيا بالاختزال reductive deamination والناتج هو الأحماض الدهنية المشبعة ويقوم بهذا التفاعل الميكروبات اللاهوائية الحتمية والاختيارية في وجود . dehydrogenases



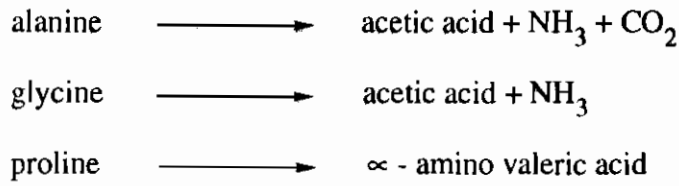
٤ - نزع الأمونيا بالتحلل المائي hydrolysis والناتج هو أحماض كحولية .



٥ - تفاعل أستكلاند Stickland reaction ويشمل تفاعلي أكسدة واختزال لحمضين أمينيين في وقت واحد مع تكوين ٢ جزئى أمونيا .

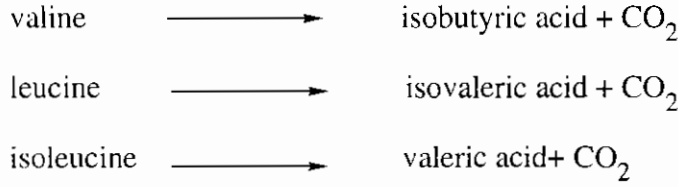


وقد أثبت ستكلاند سنة ١٩٣٥ التفاعلات والنواتج التالية :



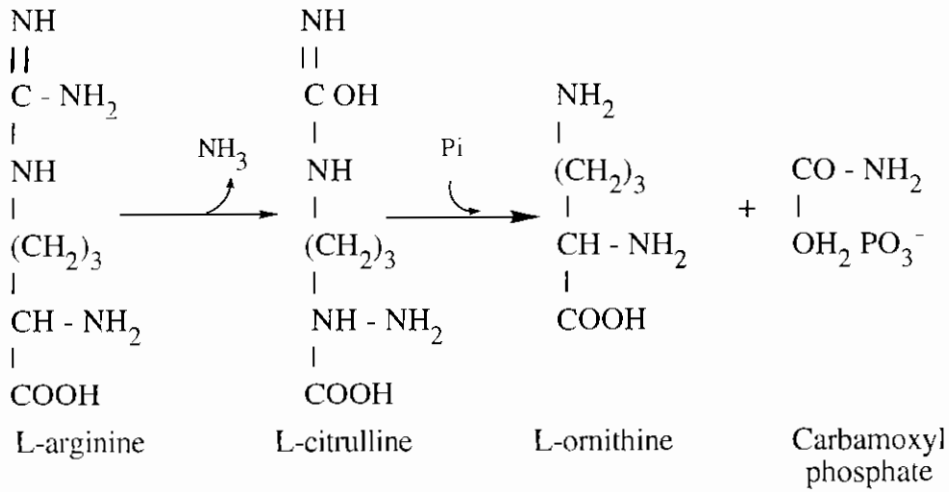
كما أضاف Cohen - Bazine et al (1948) التفاعلات والنواتج النهائية التالية في

البكتريا *Cl. valerianum* ، *Cl. caproicum* .

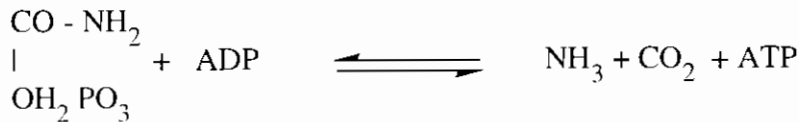


١.١.٧.٩ تحولات الأرجينين Arginine metabolism

حيث تحدث عملية نزع الأمونيا أولاً بواسطة إنزيم arginine deiminase (EC 3.5.3.6) ويتبعه تفاعل transferase فيتحول سترولين إلى أورنيثين والكاربموكسيل فوسفات والإنزيم الذي يلامس هذا التفاعل هو ornithine carbamoyl transferase (EC 2.1.3.3).



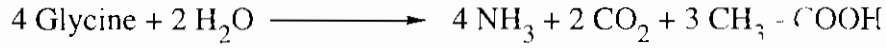
ويتبع ذلك تفاعل منتج للطاقة في وجود Carbamate kinase (EC 2.7.2.2) ويتكون ATP .



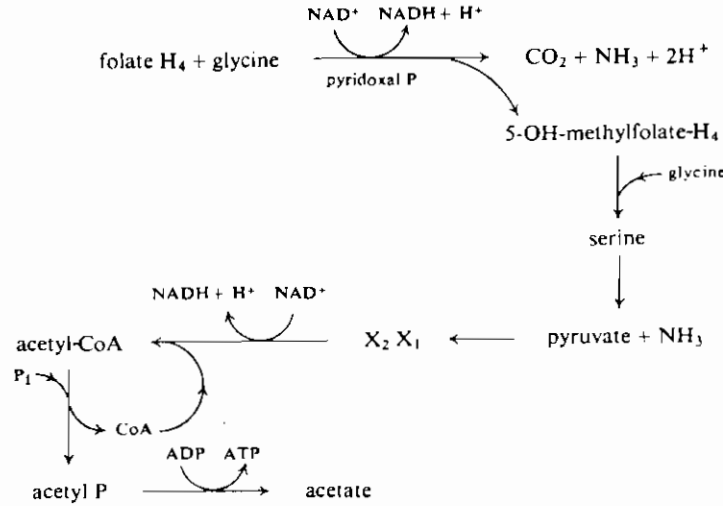
ومن الميكروبات التي تقوم بتحويل الأرجينين *Halobacterium Salinarum* ، *Cl. botulinum* .

٢.١.٧.٩ تحولات الجليسين Glycine

الميكروبات اللاهوائية القادرة على تحويل الجليسين هي *Diplococcus glycinophilus* ، *Micrococcus anaerobius* ، *M. variabilis* والمعادلة العامة للتحلل :

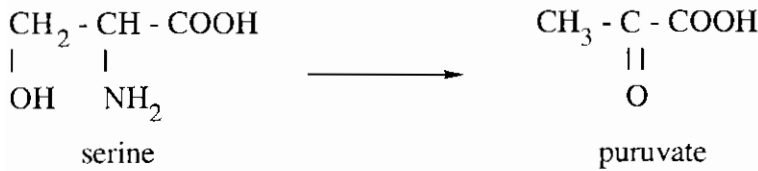


ويحتوى metabolic pathway للجليسين فى ميكروب *Diplococcus* مركبات تراهدروفلولات THF . بيردوكسال فوسفات ، NAD^+ ، الأستات والخطوة الأولى هى تفاعل أكسدة - اختزال حيث يتكون CO_3 ، NH_3 ، H_2 يعقبها دخول جزئ جليسين ثان .



شكل (١٥.٩) : تحولات الجليسين بواسطة الميكروبات اللاهوائية

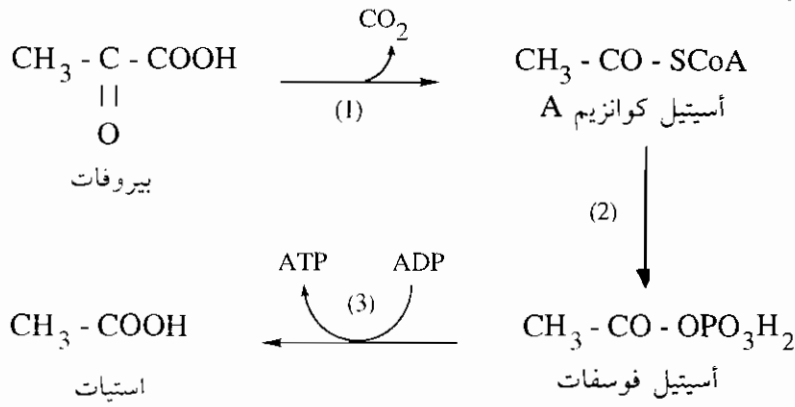
ويتكون السيرين ثم يلى ذلك عملية نزع مجموعة الأمين deamination لتحويل السيرين إلى البيروفات .



ويلى ذلك اختزال البيروفات إلى الأستات متضمنة Phosphoroclastic split مع تكوين أستيل كوازيم A كمركب وسطى كما هو مبين بالمعادلات التالية :

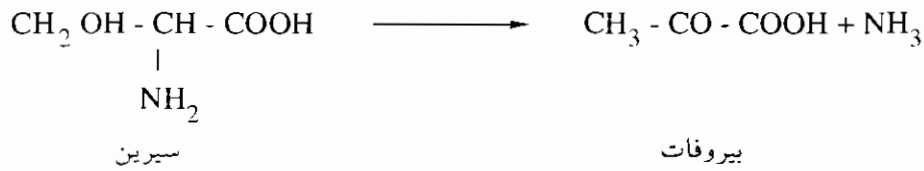
والإنزيمات المشاركة هى حسب أرقامها :

- 1 - Carboxylase.
- 2 - Phosphate acetyl transferase (EC 2.3.1.8).
- 3 - acetate kinase (EC 2.7.2.1).



٣.١.٧.٩ تحولات السيرين Serine

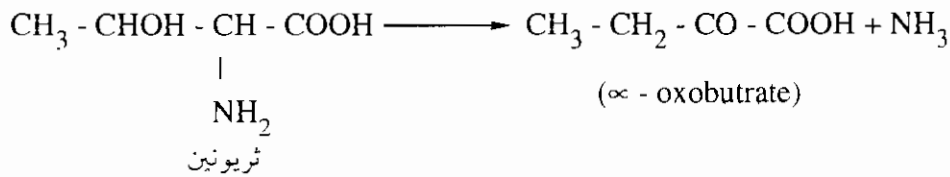
السيرين إلى البيروفات بواسطة البكتريا اللاهوائية وذلك في وجود Serine dehydratase (E.C. 4.2.1.13) وهو متخصص للأيسومر L-serine ولكن يتفاعل أيضاً مع L-threonine .



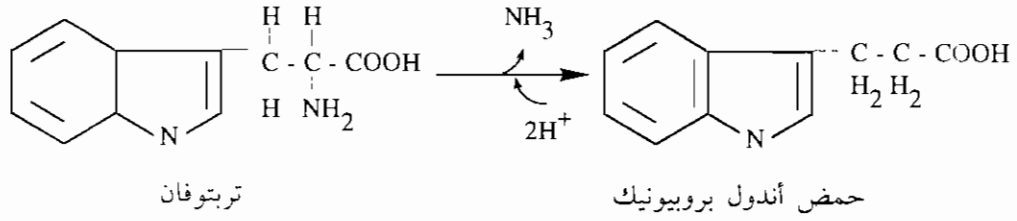
وفي هذه الحالة لا بد من وجود إنزيم آخر لتحويل D-serine ، D-threonine .

٤.١.٧.٩ تحولات الثريونين Threonine

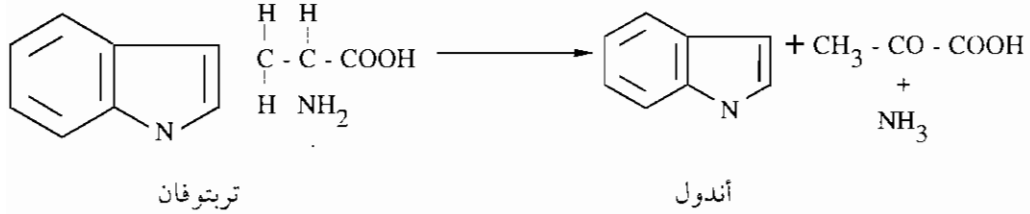
تقوم ميكروبات *M. lactilyticus* ، *M. aerogenes* ، *Cl. propionicum* ، *Cl. tetanomorphum* في وجود إنزيم threonine dehydratase (EC 4.2.1.16) بتحويل الثريونين وإنتاج الفا أوكسو بيوترات مع انطلاق الأمونيا .



بينما يكمل ميكروب *M. aerogenes* خطوة أخرى لتكوين حمض البيوتيريك في وجود dehydrogenase .



وهذا التفاعل يلعب دوراً هاماً في تقسيم بكتريا القولون وعدد من البكتريا يستطيع إفراز Tryptophanase (EC 4.1.99.1) الذي يكون البيروفات والأندول وتنتقل الأمونيا .

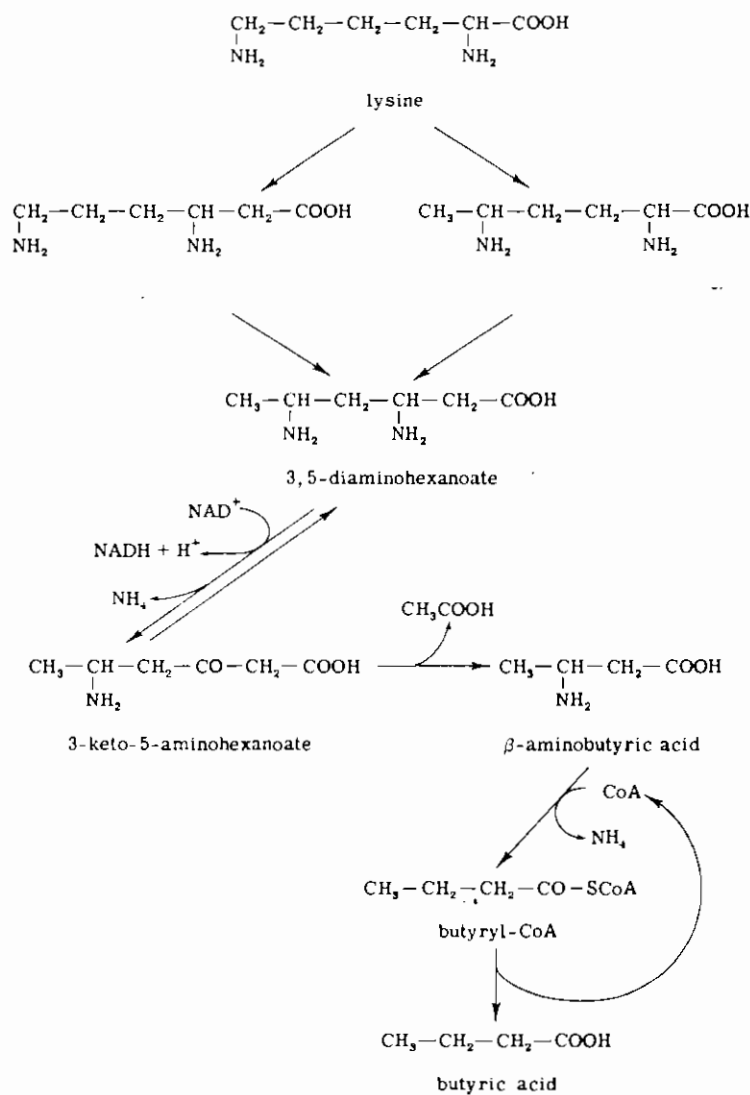


٦.١.٧.٩ تحولات الليسين Lysine

يستطيع ميكروب *Cl. sticklandii* استخدام الليسين كمصدر وحيد للكربون والطاقة .
والخطوة الأولى لمهاجمة الليسين هو تفاعل يعتمد على Cabamide حيث يحرك مجموعة الأمين أما من ذرة الكربون رقم ٦ إلى ٥ معطياً 2,5 diamino hexanoate أو من الوضع ٢ إلى ٣ مكوناً β - lysine مستخدماً الفاكيتو جلوتاريك كعامل مساعد (كما بالشكل ٩-١٧) .

ثم يتحول كلا المركبين إلى 3,5 diamino hexanoate وتحدث عملية نزع الأمونيا بالأكسدة مكوناً ٣- كيتو -٥- أمينو هكسانوات في وجود NAD^+ .

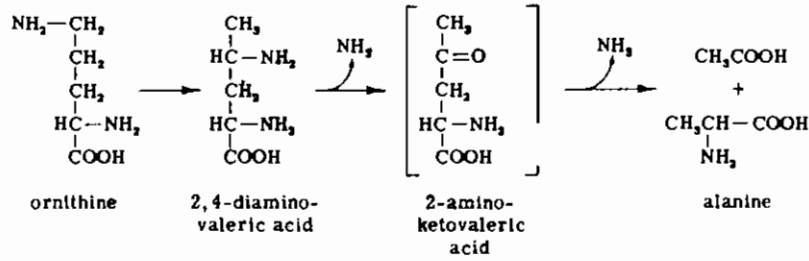
ويعقب ذلك thiolytic cleavage لتكوين الأسيئات وبيتا أمينو جلوتارات ثم عملية deamination ثانية في وجود CoA تؤدي لتكوين Butyryl-CoA وأخيراً عملية deacylation ينتج عنها حمض البيوتيريك كنتاج نهائي مع تكوين ١ مول ATP .



شكل (٩. ١٧) : تحولات الليسين في *Cl. sticklandii*

٧.١.٧.٩ تحولات الاورنيثين Ornithine

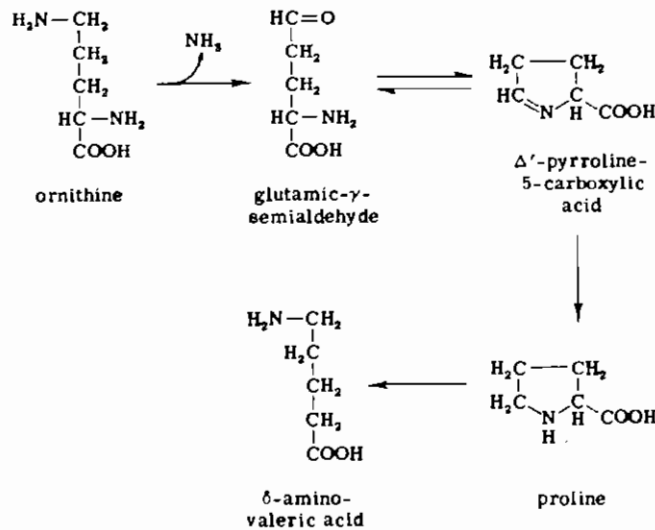
وهو يشبه تحول الليسين من حيث أن خطوة التفاعل الأولى عبارة عن أنشقاق يعتمد على Cabamide بين ذرة الكربون رقم ٣ ، ٤ في *Cl. sticklandii* ويتكون 2,4 diaminovaleate ثم يأخذ التفاعل مساره كما بالرسم ٩-١٨ .



شكل (١٨.٩) : تحولات ornithine في *Cl. sticklandii*

أما ميكروب *Cl. botulinum* فإن تفاعلات تحوله تختلف تمامًا عن سابقه حيث يتكون البرولين ، الفاءمينو فاليرات كمركبات وسطية .

ويتحول الأورنيثين أولاً إلى جلوتاميك سمي الدهيد الذي يكون في حالة توازن مع ornithine - ٥- Carboxylic acid - pyrroline - Δ ويلامس هذا التفاعل إنزيم - ٥- ornithine - transaminase (EC 2.6.1.13) . والمركب الأخير يختزل إلى البرولين مع استخدام NADH_2 كمعطى للأيدروجين ثم يحدث كسر لحلقة البرولين يؤدي لتكوين أمينو فاليرات .



شكل (١٩.٩) : تحول الأورنيثين بواسطة *Cl. botulinum*

٢٠٧٠٩ تبولات زوج من الأحماض الامينية Pairs of amino acids

تستطيع كثير من Clostridia النامية على خليط من الأحماض الأمينية إجراء تفاعل أكسدة - اختزال بين الأحماض الأمينية المناسبة أو أحماض أمينية مع مركبات غير نيتروجينية مناسبة ويعرف هذا بتفاعل "Stickland" حيث لا يستطيع حمض أميني بمفرده التحول ولكن رجيد زوج من الأحماض أحدهما يختزل والآخر يتأكسد فيحدث التحول سريعاً.

والبكتريا التي تستخدم هذا النوع من التفاعل أغلبها يتبع proteolytic clostridia مثل *Cl. butyricum* ، *Cl. botulinum* ، *Cl. aerofetidum* ، *Cl. acetobutylicum* ، *Cl. sticklandii* ، *Cl. histolyticum* ، *Cl. sporogenes* ، *Cl. caproicum* ،

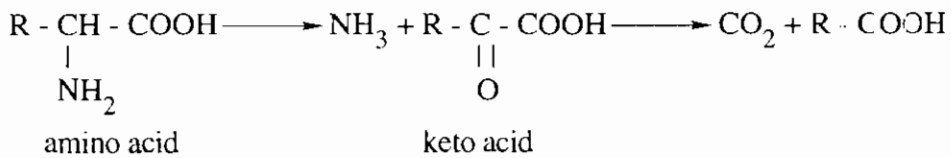
ونختص ميكانيكية التفاعل طبقاً للأحماض المشاركة فيه فمثلاً الآين يتأكسد بينما الجيسين يختزل بينما في تفاعل آخر قد يختزل الآين. ولذا تقسم الأحماض الأمينية إلى ٣ مجاميع حسب مستوى أكسدة واختزال الأحماض الكيتونية المقابلة لها .

١ - الأحماض الأمينية الأليفاتية الأكثر اختزالاً من keto acids - ∞ (الآين - ليوسين - أيزوليوسين - فالين) .

٢ - الأحماض الأمينية الأليفاتية ذات مستوى أكسدة مماثل keto acids - ∞ (سيرين ، ثريونين ، سيسيتين ، ميثونين ، ارجينين ، سترولين ، اورنيثين) .

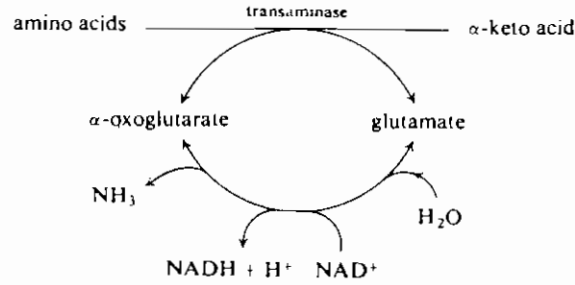
٣ - الأحماض الأمينية الأخرى ذات مستوى أكسدة أقل من keto acids - ∞ (هستدين ، فينيل الآين ، تربتوفان ، ثريوسين ، أسبارات ، جلوتاميك) .

ويتم أكسدة الأحماض الأمينية عبر الأحماض الكيتونية التي تحدث لها عملية نزع ك أم decarboxylation بعد ذلك .



وأصعب التفاعلات والتي لم تفسر تقنياتها بعد هي التي يشارك فيها أحماض المجموعة الأروبي فوي أما تفاعلات نزع الأمين بالأكسدة oxidative deamination مباشرة مثل glutamic dehydrogenation أو نقل مجموعة الأمين transamination يعقبها نزع مجموعة

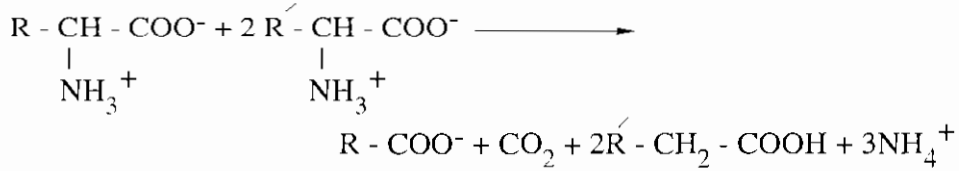
الأمين بالأكسدة للحمض المتكون ويلاسر هذا التفاعل glutamic dehydrogenase (EC 1.4.1.2) . أما في ميكروب *Cl. saccharobutyricum* فإن أكسدة الآمين ، الغالين ، الليوسين لا تتم على حساب حمض أميني آخر ولكن على حساب أوكسوجلوتارات (حمض غير نيتروجيني) .



شكل (٩ . ٢٠) : تفاعلات de- and transamination في الميكروبات اللاهوائية

وقد وجد stickland سنة (1935) في مستخلص خلايا *Cl. sporogenes* التفاعل بين

الجليسين - الآمين ، البرولين - الآمين واستنتج المعادلة العامة التالية :

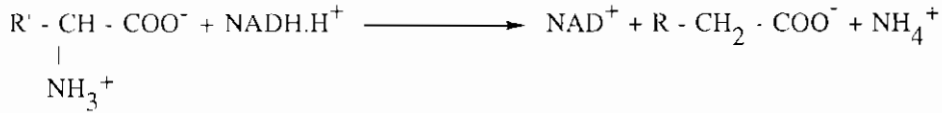
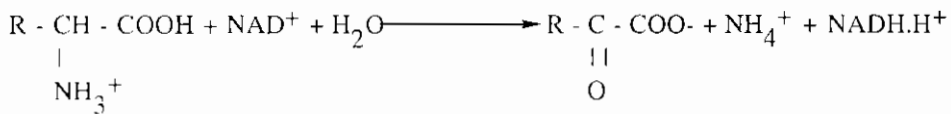


وتشير الأبحاث الحالية أن تفاعل ستكلاند يتكون من عدد من الخطوات أولها تتضمن

NAD^+ كمستقبل ايدروجين أولى في وجود dehydrogenase المناسب وثانيها تتضمن

إعادة أكسدة NADH_2 في وجود حمض أميني كمستقبل للإلكترون بملامسة إنزيم

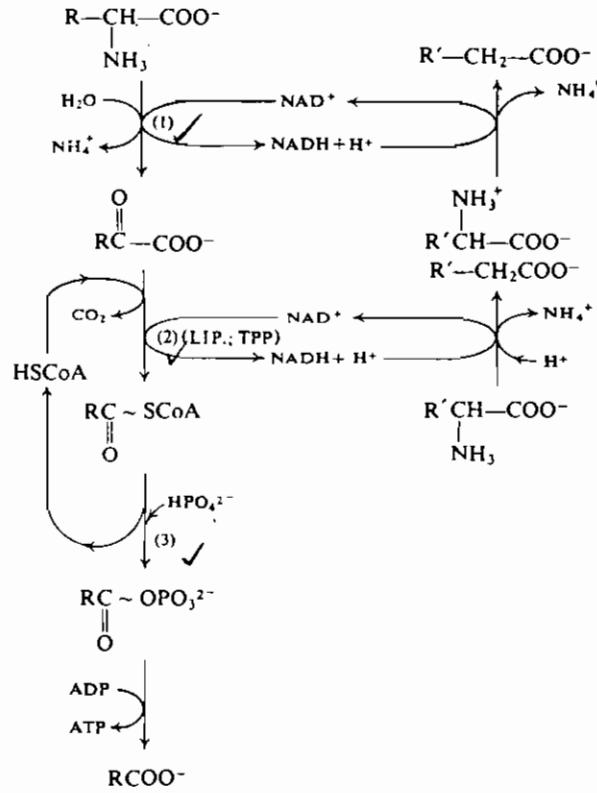
reductase .



والخطوة الأخيرة يمكن أن تكون مستقلة تماماً عن خطوة الأكسدة الأولى . أما خطوة الأكسدة فعلى العكس فهي تستخدم multi enzyme system كما في شكل ٩ - ٢١ الذي يوضح الميكانيكية العامة لتفاعل ستكلاند .

علمًا بأن الإنزيمات الرئيسية الثلاث المشاركة في تفاعل ستكلاند هم :

- ١ - amino acid dehydrogenase system .
 - ٢ - Keto acid dehydrogenase system - ∞ في وجود lipamide ، TPP ، HSCoA كعوامل مساعدة .
 - ٣ - amino acid reductase system .
- وتنتج الطاقة من تفاعلات phospho transferase عند مستوى مادة التفاعل مثل acetate ← phosphoacetyl



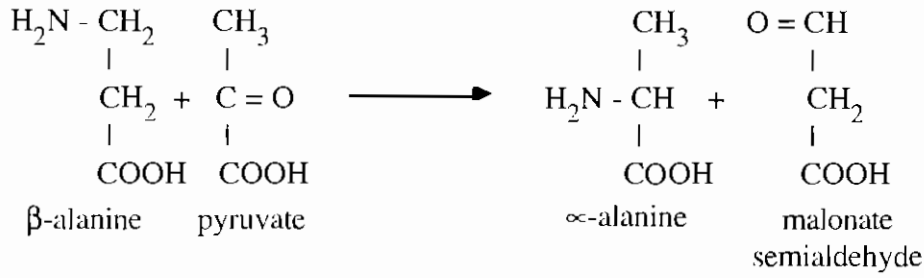
شكل (٩. ٢١) : تفاعل ستكلاند Stickland والإنزيمات الرئيسية الثلاث المشاركة فيه

٣.٧.٩ تحولات الأحماض الأمينية مع أحماض كيتونية

١.٣.٧.٩ تحول الألائين alanine

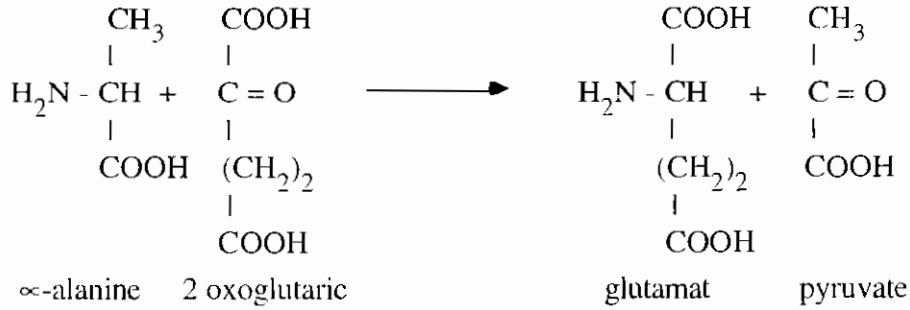
يستطيع ميكروب *Cl. propionicum* تحويل الألائين إلى البروبيونيك مستخدماً تفاعل ستكلاند وتلعب البيروفات دوراً وسطياً هاماً في دورة الهدم كما يلي :

١ - نقل مجموعة الأمين لحمض β - alanine إلى البيروفات لتكوين α - alanine ،
مالونات سمي الدهيد في وجود إنزيم (EC 2.6.1.18) amino transferase .



ويمكن استعادة مادتي التفاعل الأولتين بواسطة نظامين مختلفين كما هو مبين بشكل ٩-٢٢ :

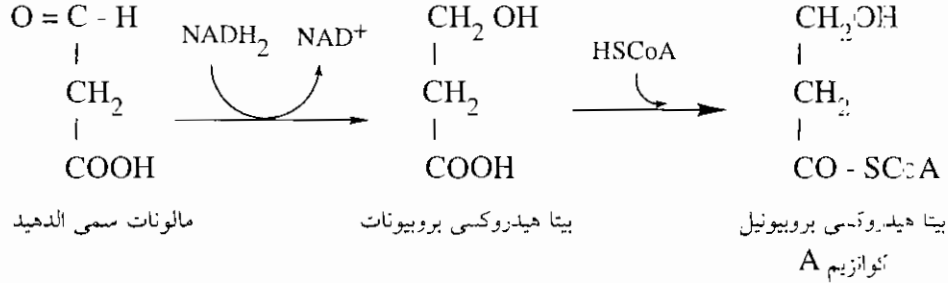
٢ - استعادة البيروفات وذلك بعملية نقل مجموعة الأمين من الألفا الأين إلى ٢- أوكسو جلوتارات لتكوين البيروفات والجلوتاميك .



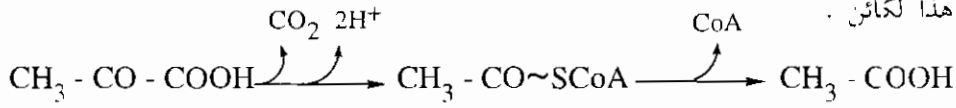
ثم أخيراً وفي وجود إنزيم (EC 1.4.1.2) glutamate DH تتأكسد الجلوتامات إلى أوكسوجلوتارات على حساب اختزال NAD^+ إلى NADH.H^+ وبذلك تكتمل الدورة الأولى من دورتي تحول β -alanine .

٣ - استعادة β -alanine وتكوين حمض البروبيونيك حيث تختزل NADH.H^+ الناتجة

من التفاعل السابق مركب «المالونات سمي الدهيد» إلى بيتا - هيدروكسي - بروبيونات
والإنزيم المسئول هو (EC 1.1.1.59) hydroxy propionate dehydrogenase
والمركب الأخير يتحول في وجود CoA إلى هيدروكسي بروبيونيل كوانزيم A .



وبلاحظ أن CoA المطلوب لهذا التفاعل يأتي من تحلل البيروفات إلى أسيتات بواسطة



ويستخدم 2H^+ (من التفاعل السابق) في اختزال هيدروكسي بروبيونيل كوانزيم A إلى
أكريلول كوانزيم A والذي يسير في اتجاهين مختلفين .

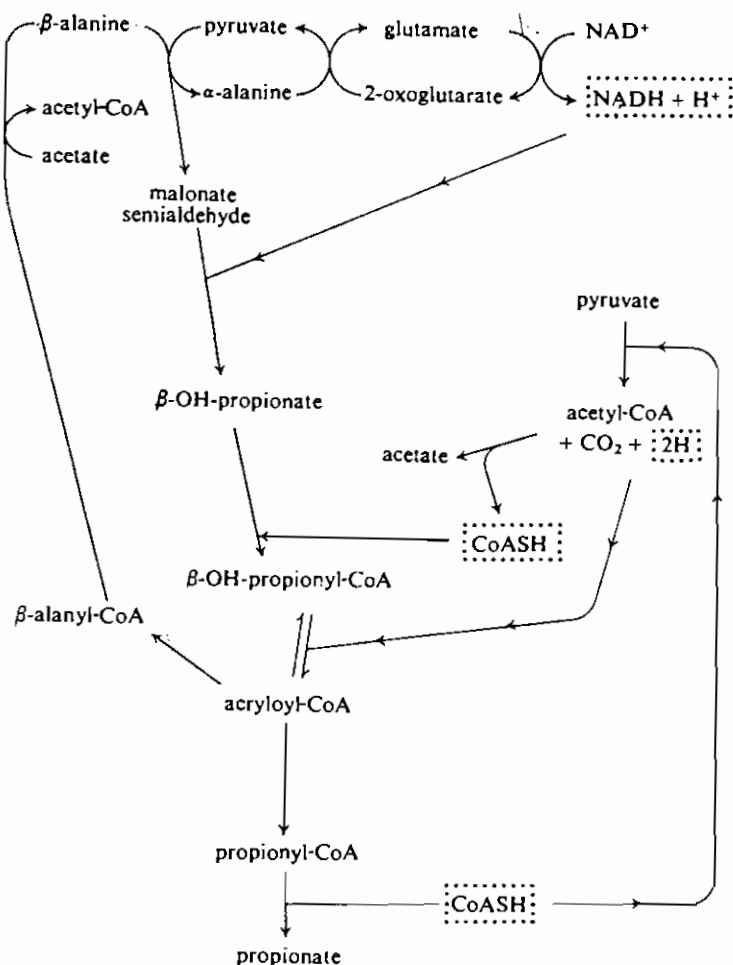
أ - تكوين بيتا - الأليل كوانزيم A (β-alanyl CoA) بمساعدة إنزيم aminase
(EC 4.3.1.6) ومنه يستعاد β-alanine بواسطة عملية acylation (تكوين الأستيل
إنزيم A) بملاسة إنزيم CoA - transferase .

ب- يتحول إلى بروبيونيل كوانزيم A ثم البروبيونيك وهو يشبه التفاعل الذي تقوم به
بكتريا حمض البروبيونيك propionibacteria .

وأهمية البيروفات في سلسلة التفاعلات هذه تبرز في الآتي :

١ - نزع مجموعة الأمينو من b-alanine بعملية transamination .

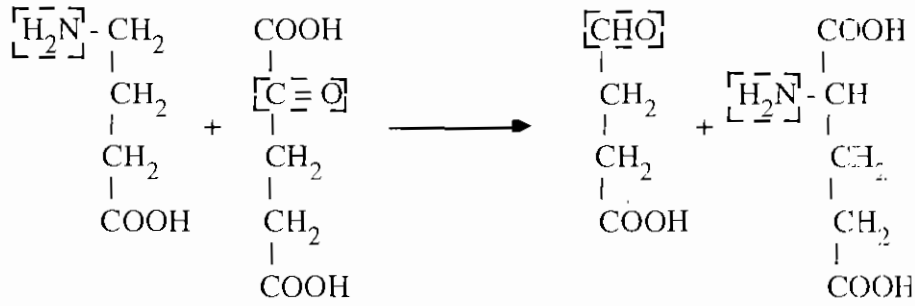
٢ - هدم dissimilation هيدروكسي بيوتيرات .



شكل (٢٢.٩) : تحولات الآئين بواسطة *Cl. propionicum*

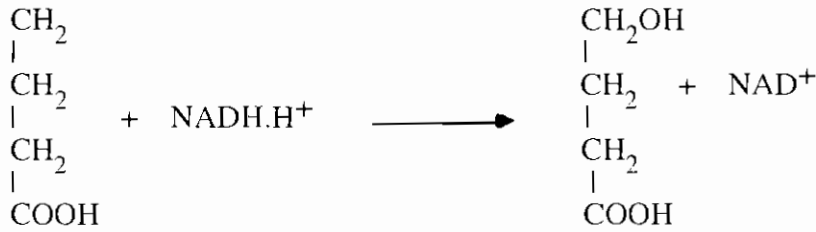
٢.٣.٧.٩ تحولات امينو بيوتيرات aminobutyrate metabolism

ويتميز ميكروب *Cl. aminobutyricum* بالقيام بذلك والخطوة الأولى عبارة عن تفاعل ستكلاند (أكسدة - اختزال) حيث يتحول أمينو بيوتيريك إلى سكسينك سمي الدهيد بملاسة إنزيم aminobutyrate aminotransferase (EC 2.6.1.19) كما يتضح من المعادلات التالية :



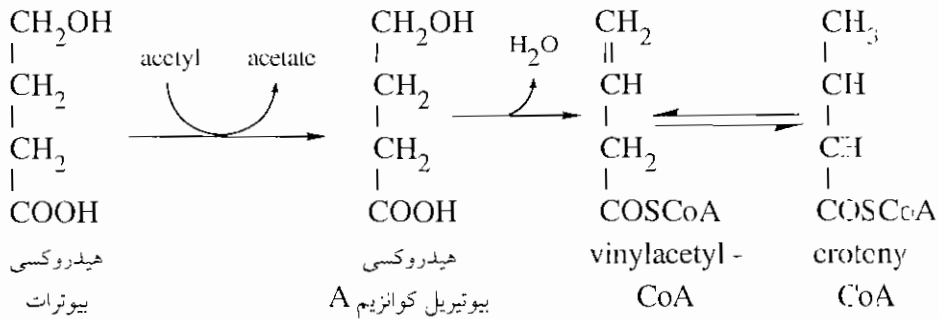
أمينوبيوتيرات ٢-أوكسوجلوكونات سكسينك سمي الدهيد -جلوتامات

ثم يختزل السكسينات سمي الدهيد إلى هيدروكسي بيوتيرات بواسطة إنزيم Hydroxy butyrate DH في وجود NADH.H^+ .



سكسينات سمي الدهيد هيدروكسي بيوتيرات

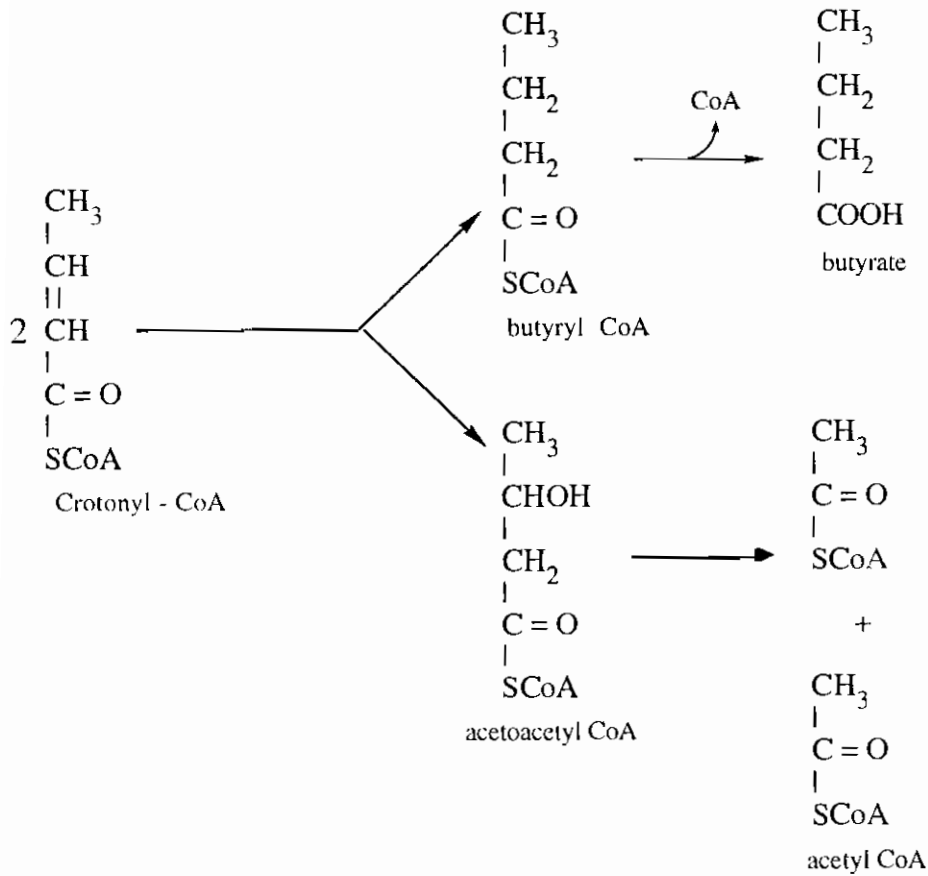
أما الجزء الثاني من التفاعل فيبدأ بتفاعل CoA transferase حيث يتحول هيدروكسي بيوتيرات إلى هيدروكسي بيوتيريل كوانزيم A وأستيل كوانزيم A إلى أستات .



ثم يتكون المركب الغير مشبع فينيل أستيل كوانزيم A بتأثير إنزيم dehydrase وهو يوجد في توازن مع كروتونيل كوانزيم A بملاسة isomerases .

والمركب الوسطي Crotonyl - CoA تحدث له عملية dismutation حيث يختزل ١ مول إلى بيوتيريل كوانزيم A بينما يتأكسد مول آخر إلى أستيو أستيل كوانزيم A

والإنزيم المسئول عن الاختزال هو butyryl - CoA DH (EC 1.3.99.2) والذي يتحول إلى الناتج النهائي (حمض البيوتيريك) بينما يفصل الأستيو أستيل كوانزيم A إلى ٢ مول أستيتيل كوانزيم A في وجود acetyl - CoA transferase (EC 2.3.1.9) ويعاد دخول أستيتيل كوانزيم في الدورة في خطوة (CoA transferase) السابقة والطاقة الكلية الناتجة هي ١ مول ATP لكل ٢ مول أحماض أمينية تم تخمرها ومول آخر من تحول Crotonyl - CoA إلى butyryl - CoA .



مع تحيات د. سلام حسين عويد الهلالي

<https://scholar.google.com/citations?>

[user=t1aAacgAAAAJ&hl=en](https://scholar.google.com/citations?user=t1aAacgAAAAJ&hl=en)

salamalhelali@yahoo.com

<https://www.facebook.com/salam.alhelali>

[https://www.facebook.com/groups/
/Biothesis](https://www.facebook.com/groups/Biothesis)

[https://www.researchgate.net/profile/
/Salam_Ewaid](https://www.researchgate.net/profile/Salam_Ewaid)

07807137614



أسئلة للمراجعة

- ١ - المقصود باصطلاح «التخمير» Fermentation ؟
- ٢ - اشرح كيفية تكون حمض البروبيونيك بواسطة جنس *Propionibacterium* .
- ٣ - ماهى أهمية تفاعل transcarboxylation المكتشف بواسطة Swick & Wood, 1961 ؟
- ٤ - اشرح الأنواع المختلفة لتحلل البيروفات تحت الظروف اللاهوائية .
- ٥ - ما الفرق بين التحول المباشر وغير مباشر لـ ك^٢ أ^٢ إلى الأسيتات ؟
- ٦ - اشرح الأسباب الأساسية فى تقسيم Enterobacteriaceae إلى ٣ مجاميع رئيسية تبعاً لتفاعلات الأيضية ونواتج التفاعل .
- ٧ - اشرح phosphoroclastic split للبيروفات .
- ٨ - اشرح نوعية التفاعل formic hydrogenlyase وأهميته فى تقسيم البكتريا .
- ٩ - ماهو الفرق بين تكوين السكسينات لاهوائياً بواسطة *Cl. kluyveri* ، ومجموعة ؟ Enterobacteria
- ١٠ - ماهو تفاعل Voges - Proskauer ؟
- ١١ - اشرح الطرق المختلفة المؤدية لتكوين البيروفات من الأسيتون .
- ١٢ - ماهو المقصود بـ Pasteur effect ، Cabtree effect و ماهو الفرق بينهما ؟
- ١٣ - ما الفرق بين Homo - and Heterofermentation فى بكتريا حمض اللاكتيك ؟
- ١٤ - اشرح تخمر malolactic .
- ١٥ - ماهو الفرق بين نظام انتقال الالكترونات فى lactic bacteria ، *E. coli* ؟
- ١٦ - اشرح الفروق الأساسية بين التحولات الهوائية والتخمير للأحماض الأمينية .
- ١٧ - اشرح تفاعل ستكلاند ودور الإنزيمات الثلاث الرئيسية فيه ؟

- ١٨- ما المقصود بعملية dismutation للمركب الوسطى Crotonyl - CoA ؟
- ١٩- قارن فى جدول بين الميكروبات والإنزيمات المشاركة فى التفاعلات ونواتج التحول لكل من الأرجينين - جليسين - السيرين - الثيونين - الاليسين .
- ٢٠- أذكر مثالا لتحول زوج من الأحماض الامينية وآخر لتحول أحد الأحماض الامينية المفردة مع حمض كيتونى مع ذكر الميكروبات التى تقوم بالتفاعل والإنزيمات المشاركة فيه .

المراجع

- 1 - Allen, S.H.G., Kellermeyer, R.W., Stjernholm, R. and Wood, H. G. (1964). Purification and properties of enzymes involved in the propionic acid fermentation. J. Bacteriol. 87 : 171.
- 2 - Barker, H. A. (1956). "Bacterial Fermentation" CIBA lectures in Microbial chemistry. Wiley, New York.
- 3 - Barker, H. A (1961). Fermentation of nitrogenous organic compounds in "The bacteria" (I.C Gunsalus and R. Y. Stanir, eds) Vol. 2 : 151. Academic Press, New York.
- 4 - Beck, W. S. and Ochoa, S. (1958). Metabolism of propionic acid in animal tissues. J. Biol. Chem. 232 : 931.
- 5 - Buckel, W. and Barker, H. A (1974). Two pathways of glutamate fermentation by anaerobic bacteria. J. Bacteriol. 117 : 1248.
- 6 - Chase, T. Jr., and Rabinowitz, J.C. (1968) Role of pyruvate and S - adenosyl methionine in activating the pyruvate - formate lyase of *E. coli*. J. Bacteriol. 96 : 1065.
- 7 - Collins, E. B., and Bruhn, J. C. (1970). Roles of acetate and pyruvate in the metabolism of *streptococcus diacetylactis*. J. bacteriol. 103 : 541.
- 8 - Dainty, R. H. and Pcel, T. L. (1970). Biosynthesis of amino acids in *Cl. pasterianum*. Biochem. J. 117 : 573.
- 9 - Davis, T. G. (1960). The lactobacilli. Progr. Ind. Microbiol. 2 : 3.

-
- 10- Doelle, H. W. (1975). "Bacterial metabolism" 2nd Ed. Academic press. New York.
 - 11- Dolin, M. (1961) Survey of microbial electron transport system. In "The bacteria" (I. C. Gunsalus and R. Y. Stainer, eds). Vol. 2 : 319. Academic press, New York.
 - 12- Dyer, T. K and Costilow, R. N (1968) Fermentation of ornithine by *Cl. stricklandii*. J. Bacteriol. 96 : 1617.
 - 13 - Faust, P. J. and Vandemart, P. J. (1970) phosphorylation coupled to $NADH_2$ oxidation with fumarate in *Streptococcus faecalis*. Arch. Biochem. Biophys. 137 : 392.
 - 14- Flesch, P. (1968). Morphologie, Stoffwechelpysiologie und Charakterisierung der Malic - Enzym - Aktiviat L-Äpfelsäure - abhanender Bakterien . Arch. Mikrobiol. 60 : 285.
 - 15- Garive, E. I. (1969). Lactic dehydrogenase of strains of genus *Leuconostoc*. T. Gen. Microbiol. 58 : 85.
 - 16- Goldfine, H. and Stadtman, E. R. (1960) propionic acid metabolism. J. Biol. chem. 235 : 2238.
 - 17- Gunsalus, I. C., Horecker, B. L. and Wood W.A (1955). Pathways of carbohydrate metabolism in microorganisms. Bacteriol. Rev. 19 : 79.
 - 18- Hardman, J. K and Stadtman, T. C. (1963), Metabolism of ω - amino acids III. Mechanism of conversion of amino butyrate to hydroxy butyrate by *Cl.aminobutyricum*.

- 19- Hartman, R. E. (1970) CO₂ fixation by extracts of *streptococcus faecalis* var. Liquefaciens. J. Bacteriol. 102 : 341.
- 20- Hetland, P., Bryn, K. and Stormer, F. C. (1971). Diacetyl (acetoin) reductase from *Aerobacter aerogenes*. Evidence for multiple forms of the enzyme. Eur. J. Biochem. 20 : 206.
- 21- Johns, A.T. (1951) The mechanism of propionic acid fermentation by propionobacteria. J. Gen. Microbiol. 5 : 337.
- 22- Klein, S. M. and sagers, R. D. (1966) Glycine metabolism. J. Biol. Chem. 241 : 206.
- 23- Krebs, H.A. and Eggleston, L. V. (1941) Biological synthesis of oxaloacetate from pyruvate and CO₂. Biochem. J. 35 : 676.
- 24- Lamanna, C. and Mallett, M.F. (1965) "Basic Microbiology - its biological and chemical background". Williams & Wilkins Baltimore, Maryland.
- 24- Mitruka, B. M. and Costilow, R.N (1967) Arginine and ornithine catabolism by *Cl. botulinum*. J. Bacteriol. 93 : 295.
- 25- Peynond, E., Lafon. Lafourcade, S. and Guimberteau, G. (1956) - L (+) - lactic acid and D (-) lactic acid in wines. Amer. J. Enol. Viticult 17 : 302.
- 26- Poston, T. M. kuratomi, k and stadtmann, E. R. (1966). The conversion of CO₂ to acetate. J. Biol. chem. 241 : 4209.
- 27- Rainbow, C. and Rose, A. H. (1963). "Biochemistry of industrial microorganisms. Academic Press. New York.

-
- 28- Schlegel, H. G. (1986) : General Microbiology 6 th Ed. Cambridge Univ., Press. Cambridge, London.
- 29- St. German, E. R. (1953). The CoA - transferase system in *Cl. kluyveri*. J. Biol. chem. 203 : 501.
- 30- Stickland, L. H (1935). The oxidation of alanine by *Cl. sporogenes*. Biochem. J. 29 : 288.
- 31-Stickland, L. H. (1935). The reduction of glycine by *Cl. sporogenes*. Biochem J. 29 : 896.
- 32- Swick, R.W. and Wood, H. G. (1960) the role of transcarboxylation in propionic acid fermentation. Proc. Nat. Acad. Sci. 46 : 28.
- 33- Thauer, R. K. (1971). CO₂ - reduction to formate in *Cl. acidi - urici*. J. Bacteriol. 114 : 443.
- 34- Wood, W. A (1961). Fermentation of carbohydrates and related compounds. In "The bacteria". (I. C. Gunsalus and R. Y. Stanier, eds) vol. 2 : 59. Academic press. New York.

نبذة عن المؤلف

- * من مواليد القاهرة فى ١/٨/١٩٥٢ .
- * حصل على بكالوريوس العلوم الزراعية - تخصص اراضى - بمرتبة الشرف من كلية الزراعة - جامعة عين شمس - فى يونيو ١٩٧٤ .
- * حصل على ماجستير العلوم الزراعية - تخصص ميكروبيولوجيا زراعية - من جامعة عين شمس فى يوليو ١٩٧٨ .
- * حصل على دكتوراه العلوم البيولوجية - تخصص ميكروبيولوجيا اراضى من جامعة دودنهايم - شتوتجارت - المانيا فى يوليو ١٩٨٦ .
- * تدرج فى وظائف هيئة التدريس بقسم الميكروبيولوجيا بكلية زراعة عين شمس : معيدا (نوفمبر ١٩٧٤) - مدرس مساعدا (اكتوبر ٧٨) مدرسا (سبتمبر ١٩٨٦) استادا مساعدا (يناير ١٩٩٢) .
- * بعثت للحصول على الدكتوراه من المانيا الغربية فى الفترة من اغسطس ١٩٨١ إلى أغسطس ١٩٨٦ .
- * باحث زائر بمعهد معالجة مياه الصرف والمجارى بجامعة شتوتجارت فى الفترة من مارس ١٩٨٧ - فبراير ١٩٨٨ ومن يوليو - سبتمبر ١٩٩٠ بمنحة من هيئة التبادل العلمى الالمانى (DAAD) .
- * باحث زائر بالمعمل القومى لبحاث التربة بولاية ايوا الامريكية فى الفترة من نوفمبر ١٩٩١ - ابريل ١٩٩٢ بمنحة امريكية .
- * عضو جمعية الميكروبيولوجيا الامريكية برقم عضوية ٥٥٠٣٨٠٦١ .
- * عضو جمعية الميكروبيولوجيا التطبيقية المصرية .
- * مستشار محافظة القليوبية للبيئة (قرار وزارى رقم ٥٨٢ لسنة ١٩٩١) .
- * عضو لجنة التعليم والبعث العلمى بالأمانة العامة للحزب الوطنى .
- * شارك فى العديد من المؤتمرات الدولية والمحلية بابحاث منشورة وله ابحاث عديدة منشورة فى العديد من المجلات العلمية العالمية والمحلية .
- * متزوج وله بنتان وولد .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

رقم الأيداع : ٩٧ / ١٤٣٢٥



عربية للطباعة والنشر

7 & 10 شارع السلام أرض اللواء المهندسين

تليفون : 3256098 - 3251043

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com