

الباب التاسع

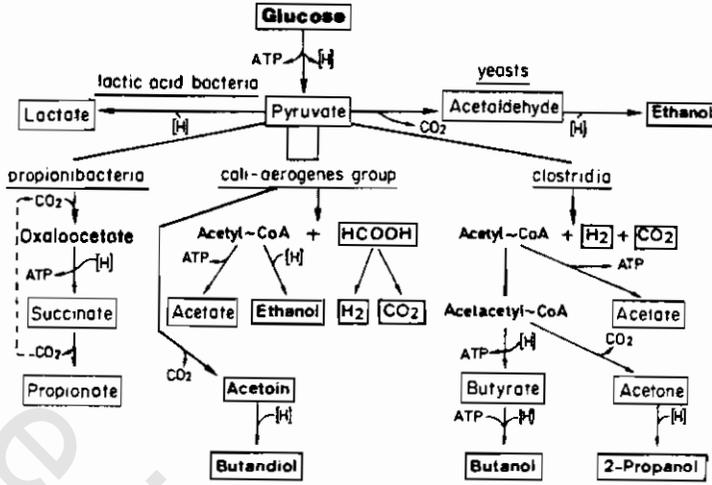
التخميرات

Fermentations

obeikandi.com

١.٩ مقدمة عامة

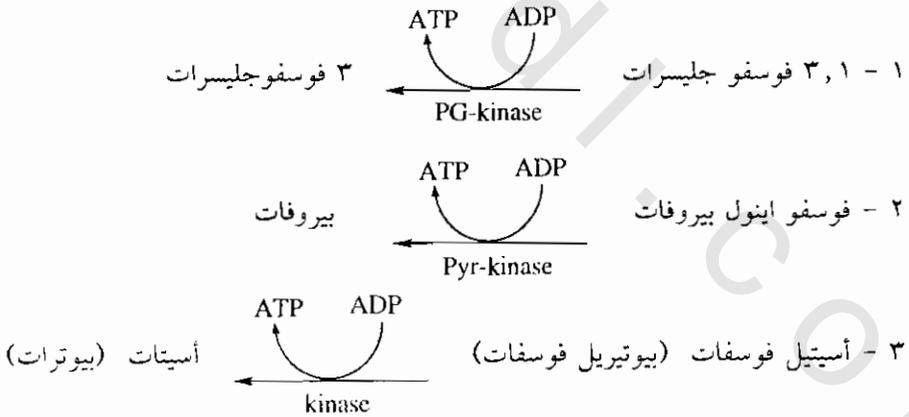
- التخمر عملية أيضية بهدف إعادة تخليق الطاقة وفيها تستخدم نواتج الهدم العضوية «كمعطى» وأيضا «كمستقبل» للايدروجين (أو للالكترون)، أى ليس لئلاكسجين أو بدائله (التترات - الكبريات . . . الخ) دور هنا كما قال باستير "La Fermentation est la via sans l'air" هو الحياة بدون هواء .
- وخطوات التخمر عبارة عن نزع الأيدروجين (dehydrogenation) حيث ينتقل الأيدروجين إلى عامل مساعد مثل NAD^+ أو $NADP^+$ والميكروبات التى 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 - بيوتيرات - سكسينات - أسيتات - بيوتانول - أسيتون - بيوتاندول - بروبانول - كآه - يد . وبناء على الناتج النهائى السائد - من الناحية الكمية - تقسم التخمرات إلى تخمر كحولى - تخمر لاكتيكي - تخمر الفورميك . . . وهكذا .
- ومعظم الميكروبات التى تقوم بعملية التخمر لا هوائية حتمية ولكن بعضها لاهوائية اختيارية وتستطيع النمو فى غياب أو وجود الأكسجين وفى هذه الميكروبات الاختيارية يُشبهُ الأكسجين التخمر ويشجع التنفس . وتعتبر النواتج النهائية لعملية التخمر صفة تقسيمية لمجموعة البكتريا التى تنتجها ويظهر الرسم التالى ملخص مصغر للتفاعلات وللمركبات الوسطية والنهائية الناتجة من تخمر البيروفات وأهم الميكروبات التى 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 :

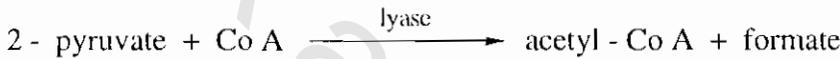
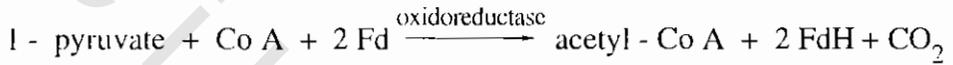


وأغلب الميكروبات التي تقوم بعملية التخمر تستخدم التفاعلين الأول والثاني كما أنها تستخدم البيروفات أو المركبات المشتقة من أسيتيل كوانزيم A كمستقبل للأيدروجين وينتج أثناء تخمر الجلوكوز واحد إلى أربع جزيئات ATP .

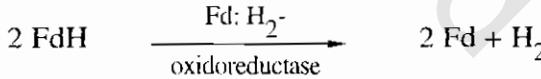
أما التفاعل الثالث فيتميز بسهولة تكوين أسيتيل فوسفات من السكريات الخماسية والسادسية مثل الزيليلوز ٥- فوسفات ، الفركتوز ٦- فوسفات في وجود phosphoketolase وأيضاً من أسيتيل كوانزيم A بواسطة phosphotransferase (EC 2.3.1.8) .



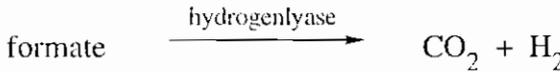
● ميكانيكية انطلاق H_2 (المادة العضوية كمعطي للأيدروجين). تستطيع الميكروبات اللاهوائية أكسدة البيروفات إلى أسيتيل كوانزيم A بطريقتين :



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 الثانى (Enterobacterial type) والذى 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 البيروفات إلى أسيتيل كوانزيم A تنطلق من الخلية بدون صعوبة .

هذا بعكس الأيدروجين الناتج أصلاً من dehydrogenation للهيدروجين - جليسرول أسهيد -3- فوسفات في شكل $NADH_2$ والذي يجب نقله إلى مستقبل عضوي - فوسفات - لتغيير من البكتيريا تحوير هذا الـ H_2 في وجود إنزيم $NADH_2 : Fd$ oxidoreductase المعادلة:



وحيث أن التفاعل السابق تضمن تغيراً إلى جهد أكسدة واختزال أكثر سلبية (من $E_0 - 320mV$ لمركب $NADH_2$ إلى $E_0 - 420 mV$ لمركب Fd) فإن المعادلة لا تميل باتجاه انطلاق الأيدروجين. ولهذا فالميكروبات التي لها القدرة على إنتاج H_2 من $NADH_2$ يمكنها استخدام هذا الطريق عند تنميتها في بيئات مختلطة مع ميكروبات لها القدرة على استخدام جزئ H_2 ويعتبر هذا نوع من التكامل بين الميكروبات في الطبيعة وهذه البكتيريا القادرة على تحوير جزئ H_2 من $NADH_2$ (بالطريق السابق) يمكنها استخدام أسيتيل كوانزيم A كمستقبل للأيدروجين ويحوله إلى أسيتيل فوسفات ومنه يحصل على ATP بواسطة تفاعل الكينيز وبهذه الطريقة يمكنها أن تحصل حتى 4 جزيئات ATP من تخمير 1 مول جلوكوز ويعتبر الأسيتات هو الناتج النهائي.

٢.٩ تخمرات بكتريا حمض البروبيونيك

تقوم *Propionibacteria* بتخمير الجلوكوز أو اللاكتات تحت الظروف اللاهوائية مكونة حمض البروبيونيك. وهذه البكتيريا غير متجرتمة مختلفة الأشكال فهي كروية في سلاسل تحت الظروف اللاهوائية وعصوية تحت الظروف الهوائية. وهي توجد غالباً في معدة *rumen* الحيوانات مثل الأبقار والأغنام وتوجد أيضاً في الألبان والتربة ويمكن عزلها من بيئة أكتار محتوية على اللاكتات ومستخلص الخميرة وأهم أنواعها *Propionibacterium Veillonella alcalescens*, *P. pentosaceum*, *P. acnes*, *freudenreichii* , *Closteridium propionicum*, (*Micrococcus lactilyticus*) .

وجنس *propionibacterium* هو الممثل لهذه البكتيريا وهو عصويات موجبة لجرام غير متحركة غير متجرتمة ولا تنمو على البيئات الصلبة المعرضة للهواء. ونظراً لقدرتها على

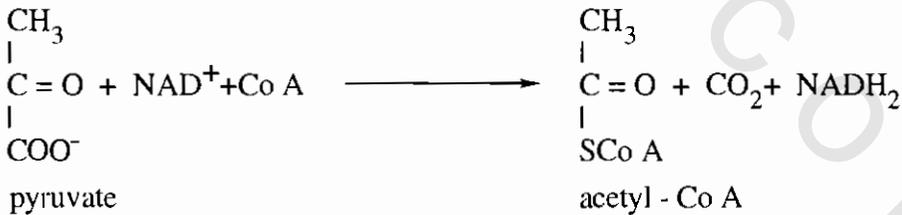
النمو وتخليق ATP تحت ظروف التخمر اللاهوائية فإنه ينظر إلى Propionibacteria على أنها لاهوائية حتمية إلا أنه فى الحقيقة فإن كل أعضاء بكتريا البروبيونيك تستطيع النمو تحت ظروف هوائية ولكن كمية الخلايا الناتجة تحت الظروف الهوائية أقل بكثير عنه تحت اللاهوائية ولهذا فإن Propionibacteria تعتبر فى الواقع microaerotolerant . وهى 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_٢ 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 .

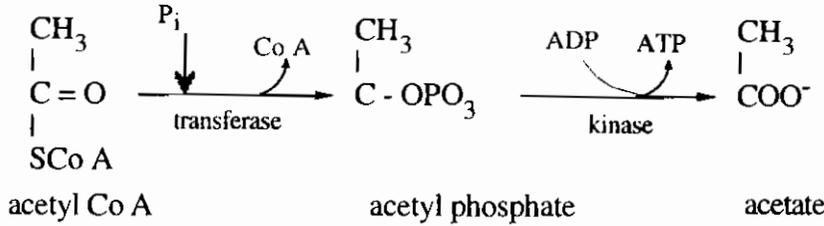
١.٢.٩ تكوين حمض البروبيونيك من الجلوكوز

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 بـ Ferricyto. b_١ (EC 1.2.2.2) وهو يختلف عن البيروفات ديهيدروجينيز المرتبط بـ 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) .

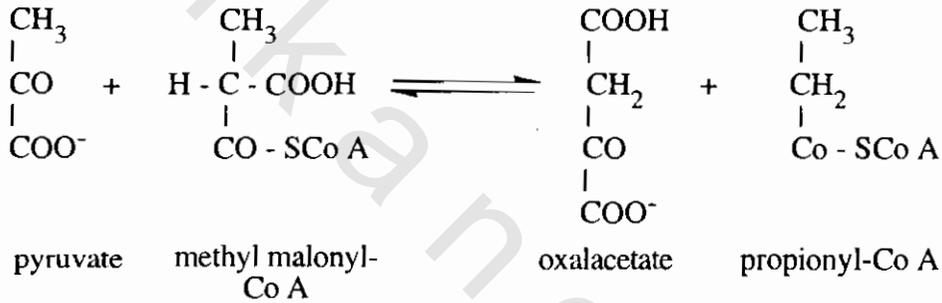


ثم يتحول أسيتيل كوانزيم A إلى أسيتيل فوسفات بملامسة إنزيم Phosphate acetyl transferase (EC 2.3.1.8) ويلى ذلك نقل مجموعة الفوسفات إلى ADP بمساعدة إنزيم acetyl kinase (EC 2.7.2.1) ويتكون ATP والأسيتات كما بالمعادلة التالية :

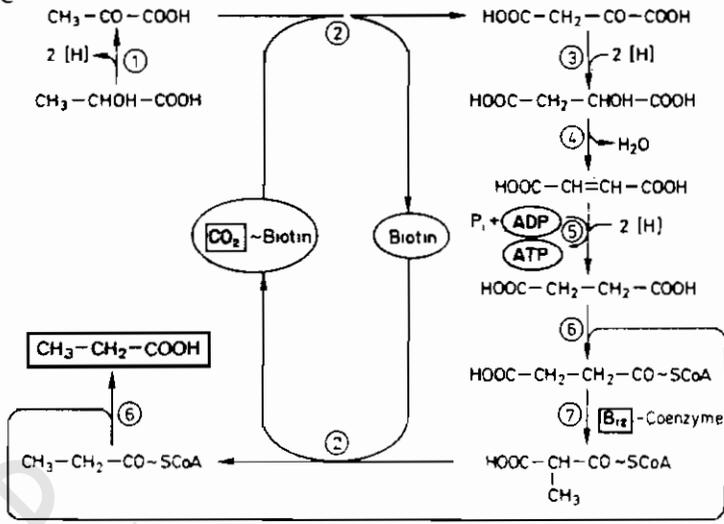


أما الاتجاه الثاني : وهو تكوين البروبيونات فهو دورة حلقية تبدأ من البيروفات أو من فوسفواينول بيروفات .

* بالنسبة للبيروفات : فإنها تسلك طريق ميثيل مالونيل كوانزيم A حيث يتحول البيروفات إلى أوكسال أسيتات بإضافة جزئ ك أ₄ 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 الأكسال أسيتات إلى المالات في وجود malate dehydrogenase (EC 1.1.1.gr.) (رقم ٣) ثم إلى الفيومارات بملامة 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 تنشط 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 بملامة إنزيم mutase (رقم ٧) والذي يرتبط بالمرافق الإنزيمي (Cyanocobalamin) Vit. B₁₂ . وهذا المركب الوسطى يفقد جزئ ك أ₄ - 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 تلخيص هذه التفاعلات والانزيمات المشاركة في الرسم التالي :



CoA-Transferase
 Ezymes: (1) lactate dehydrogenase; fumarate reductase (leading to re-generation of ATP by proton translocation); (6) CoA transferase; (2) methylmalonyl-CoA carboxytransferase; (3) malate dehydrogenase; (4) fumarase; (5) (7) methylmalonyl-CoA mutase.

شكل (٢.٩) : طريقة ميثيل مالونيل كوانزيم A لتكوين البروبيونات

ومما يجدر ذكره أثناء تفاعلات تكوين البروبيونات :

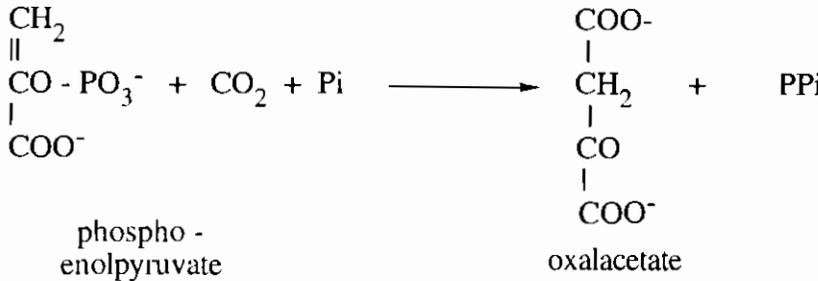
١ - انتقال مجموعتي CO_2 ، Co A رجعيًا من الناتج إلى البادئ بدون المرور بالصورة الحرة .

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 والأيزوليسوسين) يمكن تحويله (بإضافة ك أ_١) إلى ميثيل مالونيل - كوانزيم A ثم إلى سكسنيل - كوانزيم A في وجود إنزيم mutase المرتبط بـ $Co B_{12}$ 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 أ_١ + ٢ مول ATP من خطوة تحول الفيومارات إلى السكسينات .

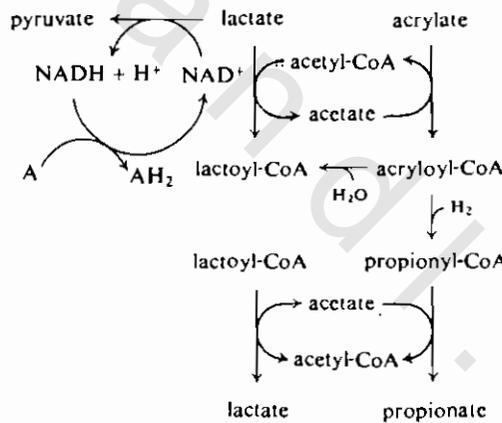
* أما بالنسبة لفوسفواينول بيروفات : فهو يتحول إلى أوكسال أسيتات في وجود إنزيم PEP-Carboxy kinase (EC 4.1.1.38) ثم يكمل الدورة كما سبق :



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 كوايزيم A إلى acryloyl - Co A بملاسة 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) .

وبإعادة Co A إلى الأسيئات فسي وجود propionyl - Co A transferase (EC 2.8.3.1) تتكون البروبيونات كنتاج نهائي .

٣.٩ تخمرات بكتريا الكلوستيريديم المحلله للسكريات

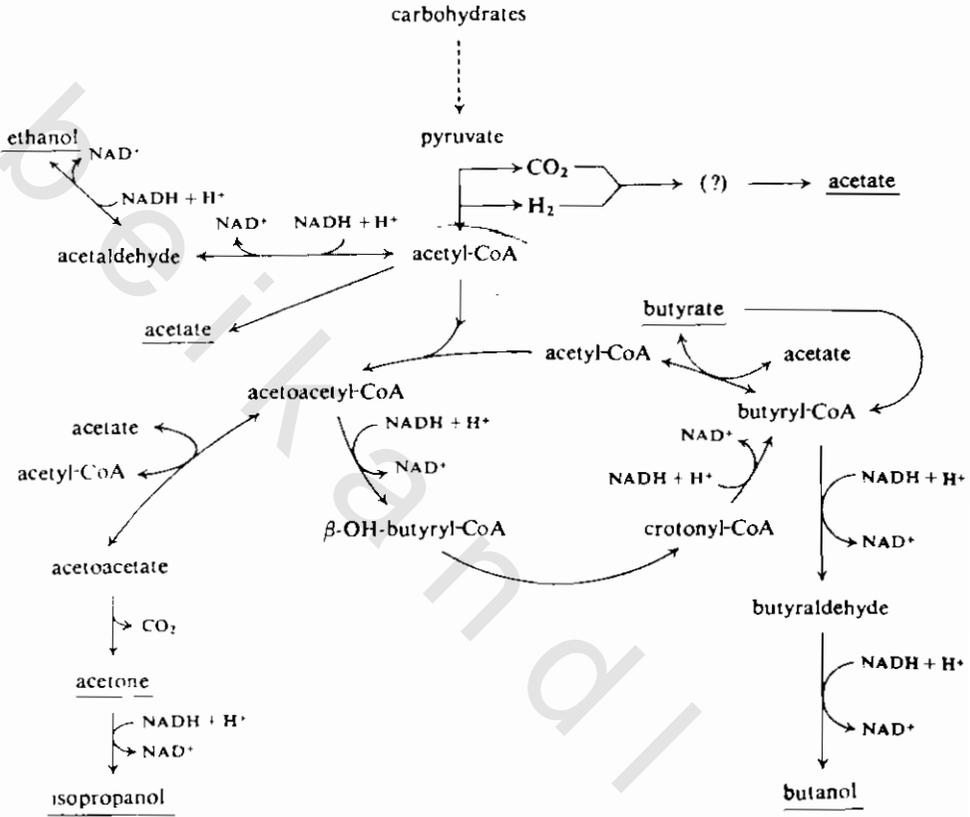
Saccharolytic Clostridia

يقوم عدد كبير من البكتريا التابعة لجنس *Clostridium* بعملية تخمر الكربوهيدرات منتجة أحماض (الأسيتات، البيوترات، اللاكتات) وكحولات (الايذوبروبانول، الايثانول، البيوتانول) وكيونات (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 داخلية ونواتج نهائية

Clostridium species	Substrates	Fermentation products
(1) Butyric acid formation		
<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
(2) Butanol formation		
<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, acetoin, ethanol, CO ₂ , H ₂
(3) Propionic acid formation		
<i>C. propionicum</i>	alanine, threonine	acetate, propionate, CO ₂
(4) Caproic acid formation		
<i>C. kluyveri</i>	ethanol - acetate - CO ₂	caproate, butyrate, H ₂
(5) Stuckland reaction		
<i>C. botulinum</i>		
<i>C. histolyticum</i>	proteins, amino acids	acetate, lactate
<i>C. sporogenes</i>		NH ₃ , H ₂
<i>C. stucklandi</i>		
(6) Presence of special metabolic pathways		
<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. aciduri</i>	urea, xanthine	acetate, formate, CO ₂ , NH ₃

ويمكن تلخيص التفاعلات المختلفة لتخمر الجلوكوز بواسطة الميكروبات التابعة لمجموعه Saccharolytic clostridia كما بالرسم (٤-٩) .



شكل (٤.٩) : تكوين الأسيئات ، الأستون ، والبيوترات ، البيوتانول والإيثانول

بواسطة Saccharolytic clostridia نقلاً عن Doelle, 1975

ويتبع جنس *Clostridium* تقسيمياً عائلة Bacillaceae وهي كائنات موجبة لجرام والخلايا الخضرية عضوية الشكل وهي متجربة 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 تحتوي على مشتقات الهيم (سيتوكروم ، كتاليز) وأغلبها ميزوفيليه (الحرارة المثلى ٣٠ - ٤٠ م)

وبعضها ثرموفيليه (حتى 70° م) وتنمو في pH متعادل أو قلوى وتثبط بالحموضة العالية كما في السيلاج والسلامى .

١٠.٣.٩ تكوين الأستات

أول خطوة هو تحويل البيروفات إلى أستيل كوانزيم A . ولقد سبق شرح ذلك تحت الظروف الهوائية حيث يحتاج لإنزيم (EC 1.2.4.1) Pyruvate dehydrogenase مع Lipolate ، الثيمين بيروفوسفات (TPP) . ولكن تحت الظروف اللاهوائية توجد ٣ تقنيات لذلك :

- ١ - بيروفات \leftarrow أستيل كوانزيم A أو أستيل فوسفات مع تكوين ك_٢ أ_٢ .
يد_٢ وعدم استخدام الفورمات كمركب وسطي .
- ٢ - بيروفات \leftarrow 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 \leftarrow أستالدهيد ، ك_٢ أ_٢ مباشرة .

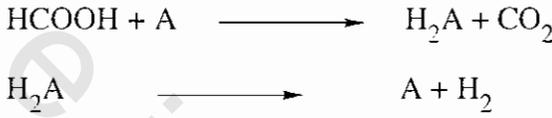
ويلاحظ أن نظام (٣) هو السائد في الخمائر والنباتات الراقية أما نظام (١) فيميز clostridia بينما نظام (٢) فيميز Enterobacteraceae . كما أن نظام (١) . (٢) يحتاجان TPP ، Co A

وحيث أنه في Enterobacteria تدخل الطاقة المخزنة في رابطة الثيول أستر لمركب أستيل كوانزيم A (CH₃ - CO~SCo A) إلى حيز الاستخدام بواسطة تفاعلين :



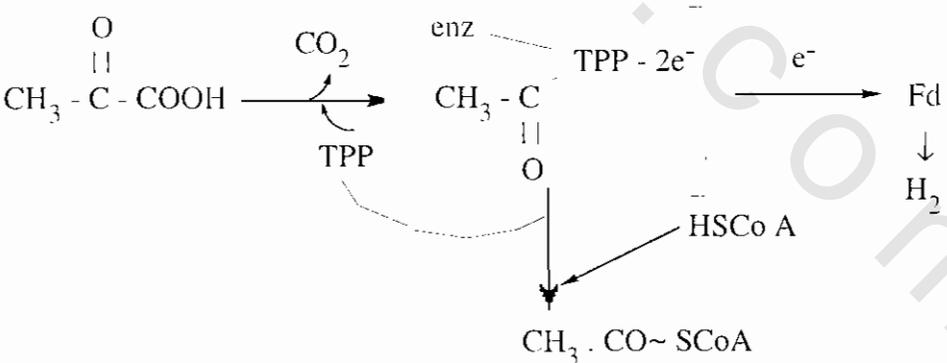
ويلامس التفاعل الأول إنزيم phosphate acetyl transferase (EC 2.3.1.8) بينما يلامس التفاعل الثاني إنزيم acetate kinase (EC 2.7.2.1) والناتج هو الأستات فإنه يتضح أن كل ١ مول أستات متكون يقابله تخليق ١ مول ATP . وهذا النظام الأيضي يعتبر طريقه مبسطة لتحلل البيروفات إلى الأستات مع إنتاج ٢ مول أستات من ١ مول 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 أنطلاق 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 النزيم formic hydrogenase فى خطوتين :



والمركب A (H-accepter) معروف بأنه فيردوكسن (Fd) والإنزيمات المشاركة هى Formale hydrogenase ، Formale dehydrogenase (EC 1.2.2.1) (EC 1.12.7.1) على الترتيب . ولكن نظراً لأنه لم يثبت بعد وجود الفورمات فى *Clostridia* فقد حاول Valentine سنة 1964 حل هذه المشكلة بعدم اعتبار الفورمات كمركب وسطى وافترض تفاعل خاص بهذه الميكروباتسمى :

"Clostridial type of pyruvate decarboxylation" حيث يقوم إنزيم pyruvate dehydrogenase. (EC 1.2.2.2) أو إنزيم Pyruvate synthase (EC 1.2.7.1) بتنزع ك أ₄ من البيروفات وتكوين معقد من الثيمين بيروفوسفات والأسيتيل والإنزيم كما بالرسم ومنه ينتقل الألكترون إلى Fd .



شكل (9.5) : عملية نزع ك أ₄ من البيروفات من النوع Clostridial Type

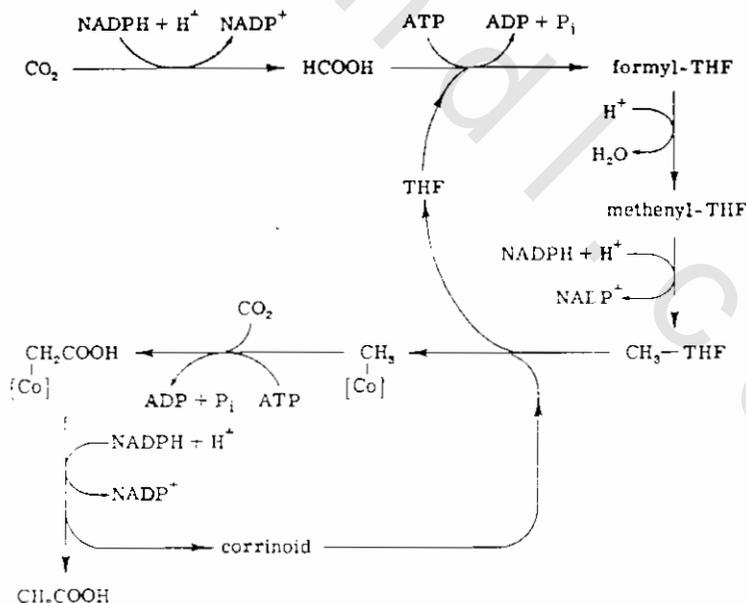
ويعاد أكسدة الفيروكسين المختزل بواسطة (EC 1.12.7.1) Fd-hydrogenase ويتكون جزئ H_2 أما معقد (الإنزيم - TPP - الأستيل) فيهاجم بواسطة phosphate acetyl transferase (EC 2.3.1.8) في وجود Co A ويتكون أستيل كوانزيم A . وهذا الاحتياج لـ Co A صفة مميزة لتحويل أو نزع ك أ_١ من البيروفات في Clostridia بعكس نظام formate - pyruvate في Enterobacteria حيث لا يوجد مثل هذا الاحتياج لـ Co A . وثبت أن Co A يلعب دوراً تنظيمياً في تشييط تحول البيروفات فعلاً في Clostridia .

وتوجد ميكانيكيتين لتحويل ك أ_١ إلى جزئ أسيتات ثالث :

١ - التحول المباشر من ك أ_١ إلى الأسيتات .

٢ - التحول الغير مباشر من ك أ_١ إلى الأسيتات عبر ketovalerates ∞ .

الطريق المباشر : أول خطوة هي تكوين الفورمات من ك أ_١ وذلك بملامسة formate dehydrogenase المرتبط بـ $NADPH_2$ والمعزول من *Cl. thermoaceticum* وبرغم أن هذا الاختزال يميل بقوة اتجاه ك أ_١ ، ولذا $NADPH_2$ ولذا الفيروكسين يبدو ضرورياً لدفع التفاعل تجاه البيروفات التي تستخدم في هذه الحالة كمعطي لالكترون لاختزال ك أ_١ .



شكل (٥.٩) a : التحول المباشر لـ ك أ_١ إلى أسيتات بواسطة Clostridia

نقلًا عن (Poston et al, 1966)

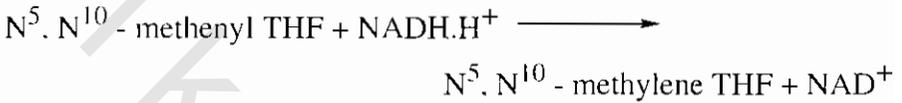
واختزال الفورمات إلى مجموعة الميثيل للأسيتات يتم بتأثير عدة إنزيمات أولها (THF) tetrahydrofolate synthetase (EC 6.3.4.3) حيث يتكون فورميل تتراهيدروفولات



الذى يختزل إلى ميثيل تتراهيدروفولات بملامسة إنزيم methenyl tetrahydrofolate cyclohydrolase (EC 2.5.4.9) وهو حساس جداً لـ PH حيث يفضل الظروف الحامضية .



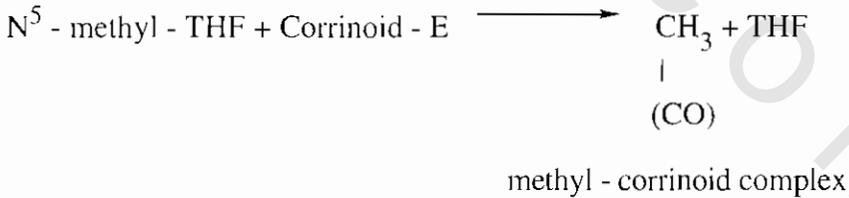
وفى وجود إنزيم methylene tetrahydrofolate dehydrogenase (EC 1.5.1.5) تختزل مجموعة methenyl - إلى methylene - .



وتختزل مجموعة methylene إلى مجموعة methyl فى وجود NADPH_2 dehydrogenase مكوناً ميثيل تتراهيدروفولات .



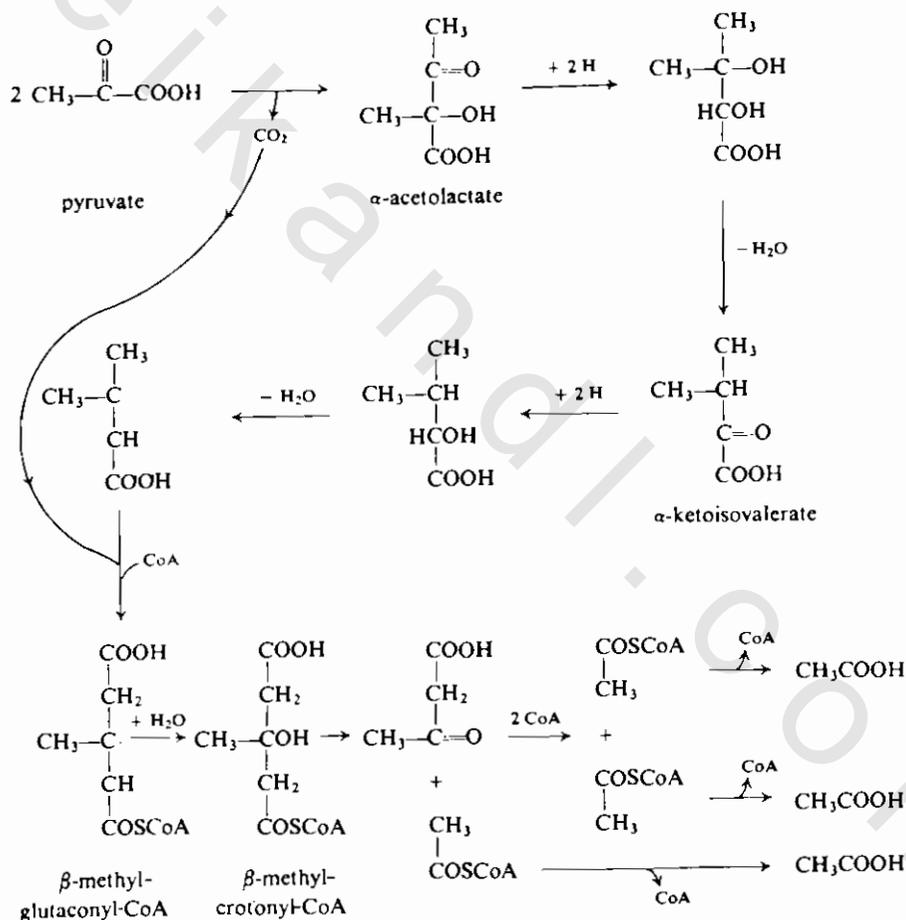
وابتداء من هذا المستوى تعتمد الدورة على وجود أو غياب Corrinoids فى الكائن . فى غيابه تستمر الدورة بإدخال الجلوسين عبر السيرين والبيروفات إلى الأسيتات أما فى وجود corrinoids كما فى ميكروب *Cl. thermoacetikum* تنتقل مجموعة الميثيل إلى reduced corrinoid مكوناً معقد بروتيني methyl corrinoid وينفصل THF .



وهذا المعقد يتحد مع ك أ هـ من البيروفات (عملية Transcarboxylation) مكوناً

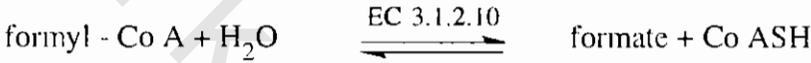
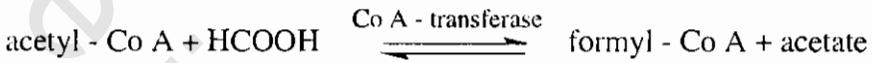
Carboxymethyl corrinoid الذى ينشق فى وجود NADPH.H^+ مكوناً الأسيئات ،
Corrinoid المختزل الذى يعاد استخدامه مرة أخرى .

الطريق الغير مباشر : يتحول البيروفات إلى ∞ - اسيتو لاكتات (بالتكثيف
وينزع ك ∞) كما بالرسم والذى يتحول إلى المركب الكيتونى ∞ - ketoisovalerate
(المركب الوسطى key فى السلسلة) والذى يتحول بتثبيت ك ∞ فى وجود
كوانزيم A إلى β - methyl - glutaconyl - Co A والذى ينشق إلى أوكسال أسيتات
وأسيثيل كوانزيم A ثم إلى الأسيئات كما بالرسم التالى :



شكل (٦.٩) : التحول الغير مباشر (ك ∞ إلى الأسيئات)

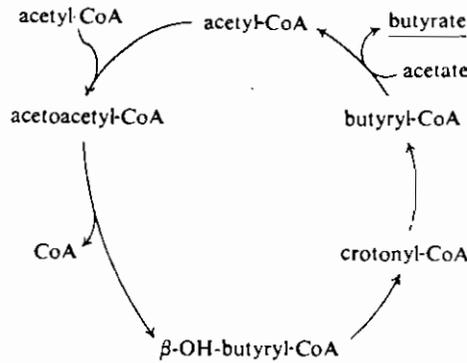
ويتضح من الرسم كيفية تكوين ٣ مول أستيات لكل مول من الجلوكوز (= ٢ بيروفات) هذا في حالة عدم تكون الفورمات في تحولات الجلوكوز بواسطة *Cl. thermoaceticum*. أما ميكروب *Cl. kluyveri* فإنه يمتلك إنزيم Formyl - Co A hydrolase (EC 3.1.2.10) كجزء من Phosphate acetyl transferase (EC 2.3.1.8) ولهذا يبدو الميكروب قادراً على تكوين الأستيات بالأسلوب التالي (يشبه Enterobacterial type).



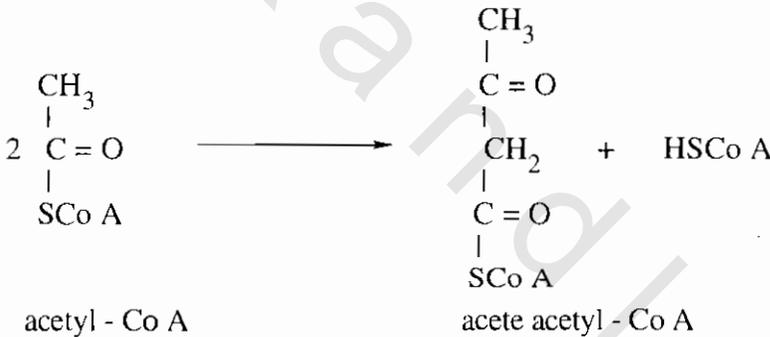
وهذه الفروق في طرق التحول الأيضى هامة جداً في تقسيم البكتريا التابعة لجنس *Clostridium*.

٢٠٣٠٩ تكوين البيوترات Butyrate

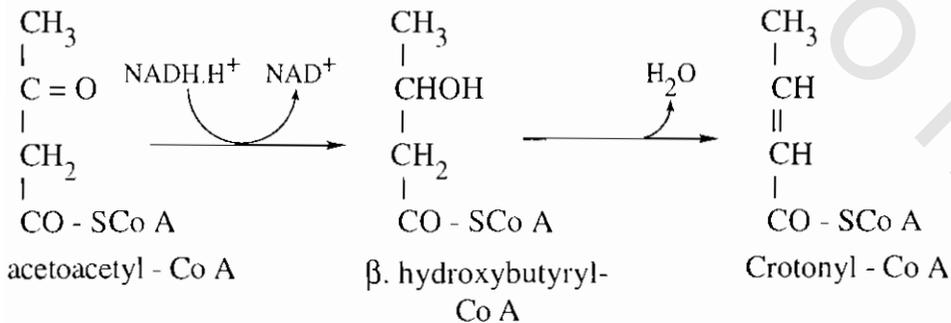
تستطيع بكتريا Soccharolytic clostridia تخمير الجلوكوز إلى حمض البيوتريك ويعتبر المركب الوسطى (أستيل كوانزيم A) نقطة البداية، لأنه لو نظرنا من زاوية تكوين الطاقة فإن تكوين الأستيات كنتاج نهائى وحيد ليس مقنعاً أو كافياً لصعوبة إعادة أكسدة NADH.H^+ إذا انخفض pH وأصبح الوسط حامضياً. ولهذا ليس غريباً أن نجد في Clostridia ميكانيكية حلقيه مشابهة لما في propionibacteria. وهذه الميكانيكية تؤدي لتكوين حمض البيوتريك - الأقل حموضة بكثير عن الأستيات - 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 : acetyl transferase أو حديثاً Thiolase (EC 2.3.1.9) ويتحرر جزيء Co A .



والخطوة التالية هي اختزال أسيتو أسيتيل كوانزيم A إلى بيتا - هيدروكسي بيوتيريل كوانزيم A مع أكسدة NAD^+ إلى NADH.H^+ . وتلامس هذا التفاعل إنزيم β -hydroxy butyryl - Co A dehydrogenase (EC 1.1.1.30) ويعقب ذلك خروج



جزئى ماء dehydration ويتكون Crotonyl-Co A وذلك بملاسة

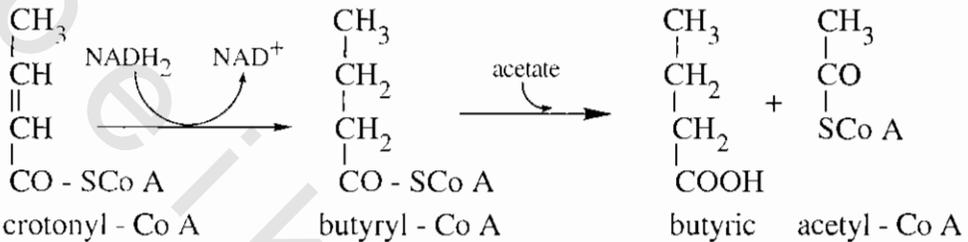
إنزيم Crotonase (EC 4.2.1.17) أو حديثاً enoyl - Co A hydratase .

والخطوة الأخيرة هى خطوة اختزال ثانية فى 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 الأسيئات بملاسة - butyryl

Co A synthetase (EC 6.2.1.2) ويتكون البيوتيريك وأستييل كوانزيم A الذى يعاود



الدخول فى الدورة مرة أخرى أو يستعمل لتكوين ATP بواسطة phosphate acetyl

acetate kinase ، transferase كما سبق شرحه فى تكوين الأسيئات .

٣.٣.٩ تكوين الأسيئون ، الأيزوبروبانول ، البيوتانول ، الإيثانول

يستطيع العديد من Saccharolytic clostridia التى تخمر الكربوهيدرات إلى

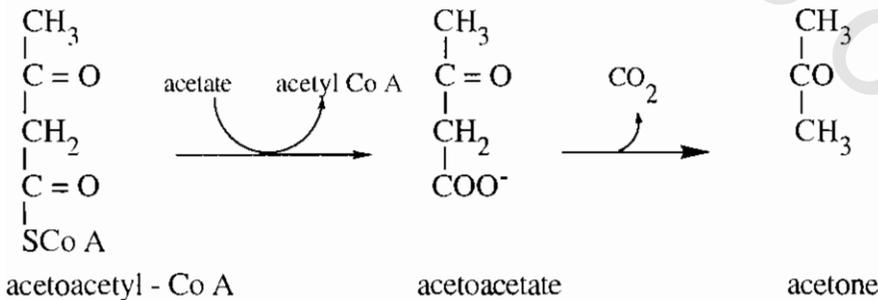
البيوتيريك أن تغير نظامها إلى إنتاج الأسيئون أو حول البيوتيريك المتكون إلى البيوتانول

وذلك فى حالة انخفاض pH البيئة عن ٤ بسبب حموضة البيويريك .

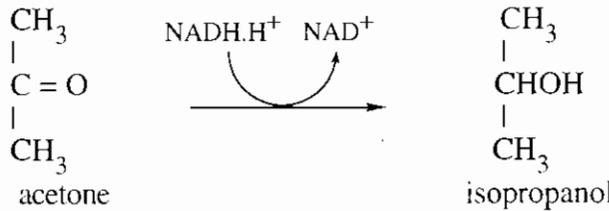
فميكروب *Cl. acetobutylicum* يقوم بتحويل الأسيئو أستييل كوانزيم A إلى أسيئو

أسيئات بواسطة Co A - transferase ثم بواسطة إنزيم acetoacetate decarboxylase

(EC 4.1.1.4) يتكون الأسيئون .

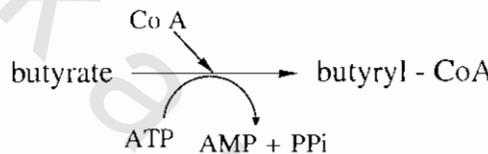


ويستطيع ميكروب *Cl. butylicum* فقط مواصلة اختزال الأسيتون بواسطة إنزيم isopropanol dehydrogenase (EC 1.1.1.80) إلى الأيزوبروبانول ولكنه لا يستطيع تكوين الميثانول .

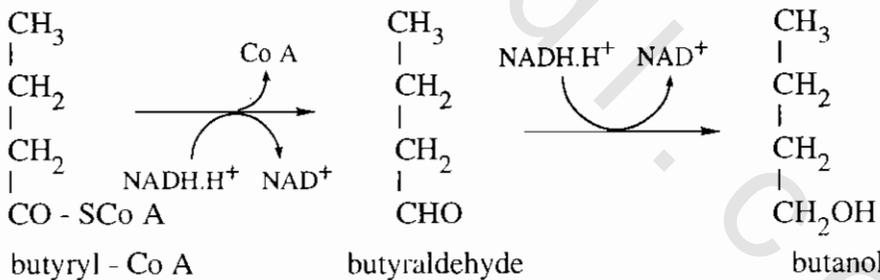


أما اختزال البيوتيريك إلى البيوتانول فيتم في ثلاث خطوات :

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 .



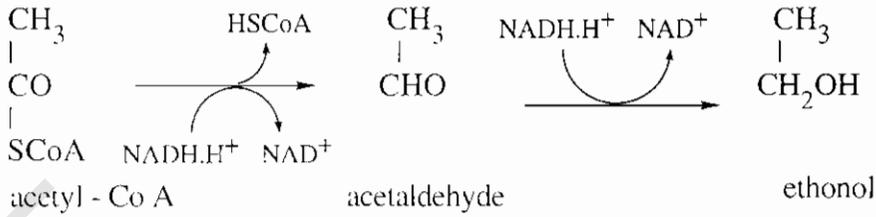
الخطوة الثانية : اختزال البيوتيريل كوانزيم A إلى بيوتيرالدهيد ويلامس التفاعل إنزيم butyraldehyde dehydrogenase (EC 1.2.1.10) ويفرد Co A .



الخطوة الثالثة هي اختزال الألددهيد 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 الذى يختزل الأستالدهيد إلى الإيثانول .



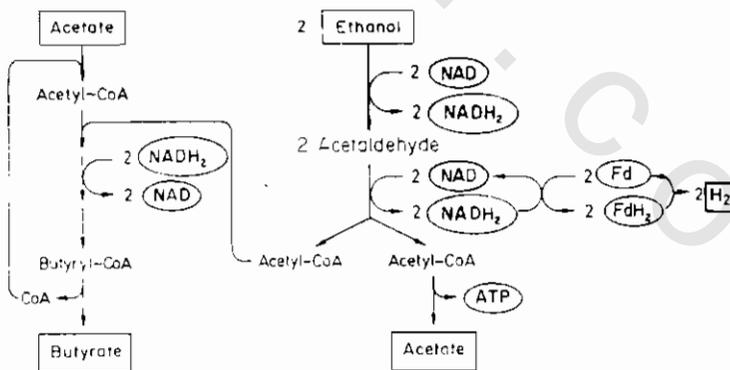
٤.٣.٩ تكوين اللاكتات

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 فى وسط غذائى به نقص فى عنصر حديد .



٥.٣.٩ تكوين البيوتيريك من الإيثانول والاسيتات

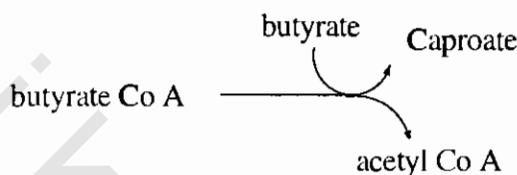
يستطيع ميكروب *Cl. kluyveri* النمو على بيئة إيثانول - أسيتات منتجاً البيوتيرات . حيث يتأكسد الإيثانول إلى الأستالدهيد ثم إلى أسيتيل كوانزيم A ويتكون القوة المختزلة NADH.H^+ كما بالرسم .



شكل (٨.٩) : تكوين البيوتيرات أثناء تخمر الإيثانول والاسيتات بواسطة *Cl. kluyveri*

وإذا أضيفت الفوسفات إلى البيئة يلاحظ تكون أسيتيل فوسفات (الذى يستغل فى تكوين ATP) والنتاج النهائى هو الأسيتات أما Co A المنطلق يعاد استخدامه فى أكسدة الألدهيد .

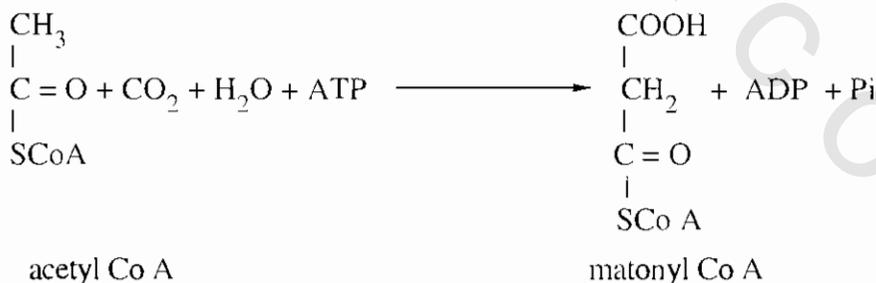
- أما فى حالة عدم إضافة فوسفات فإن أسيتيل كوانزيم A يرتبط بدورة إنتاج البيوتيريك حيث يتكون أسيتو أسيتيل كوانزيم A ثم هيدروكسى بيوتيريل كوانزيم A ثم البيوتيريل كوانزيم A .
- فى حالة زيادة الإيثانول فى البيئة فإن الميكروب السابق ينتج caproate بدلاً من البيوتيرات كنتاج رئيسى للتخمر حيث تحل البيوتيرات محل الأسيتات فى التفاعل الأخير (transferase reaction) وتكون Caproate وأسيتيل كوانزيم A .

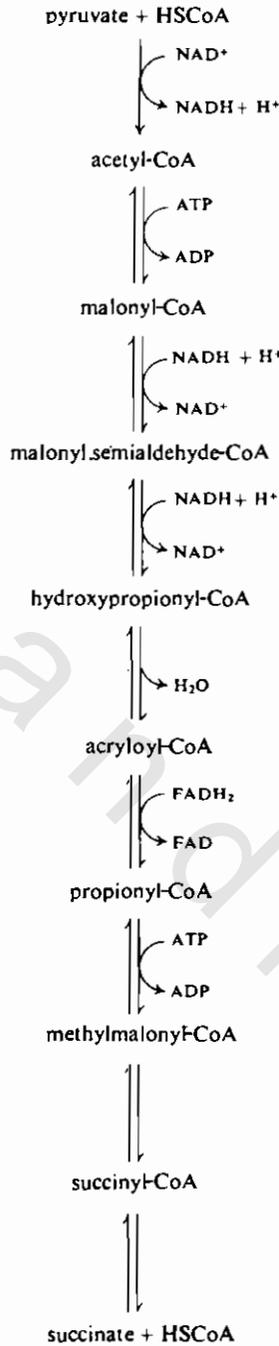


٦.٣.٩ تكوين السكسينات

يقوم ميكروب *Cl. kluyveri* بدوره تخمر أخرى منتجا السكسينات كنتاج نهائى أساسى ويوضح الرسم التالى كيفية التفاعل كما هو مبين فى شكل (٩-٩) .

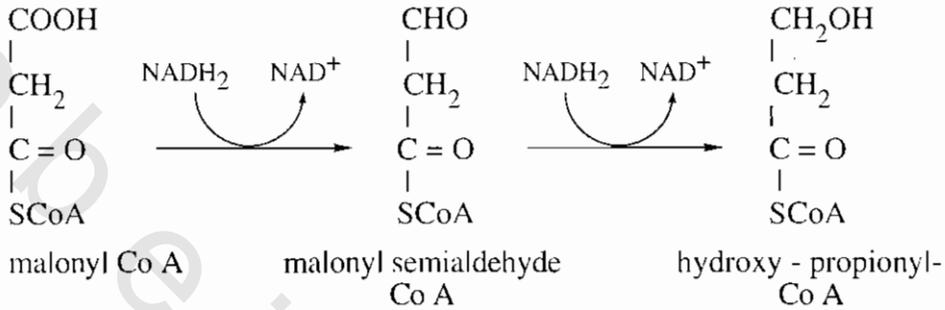
ولقد شُرح سابقاً تكوين أسيتيل كوانزيم A من البيروفات. ثم يقوم إنزيم - acetyl Co A carboxylase (EC 6.4.1.2) بإدخال ك_٢ ، يد_٢ آ إلى الأسيتيل كوانزيم A مكوناً مالونيل كوانزيم A وهذا التفاعل يعتمد على وجود ATP ويحتاج البيوتين ، Mn^{++} مثل كل تفاعلات تثبيت ك_٢ .



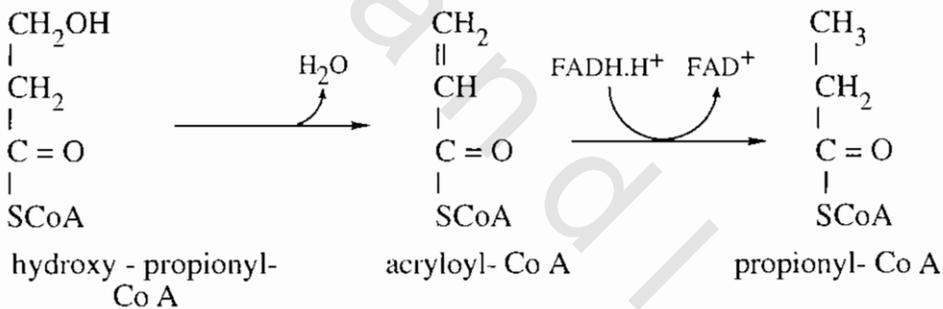


شكل (٩.٩) : تكوين السكسينات من البيروفات بواسطة *Cl. kluyveri*.

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 برويونيل كوانزيم A .



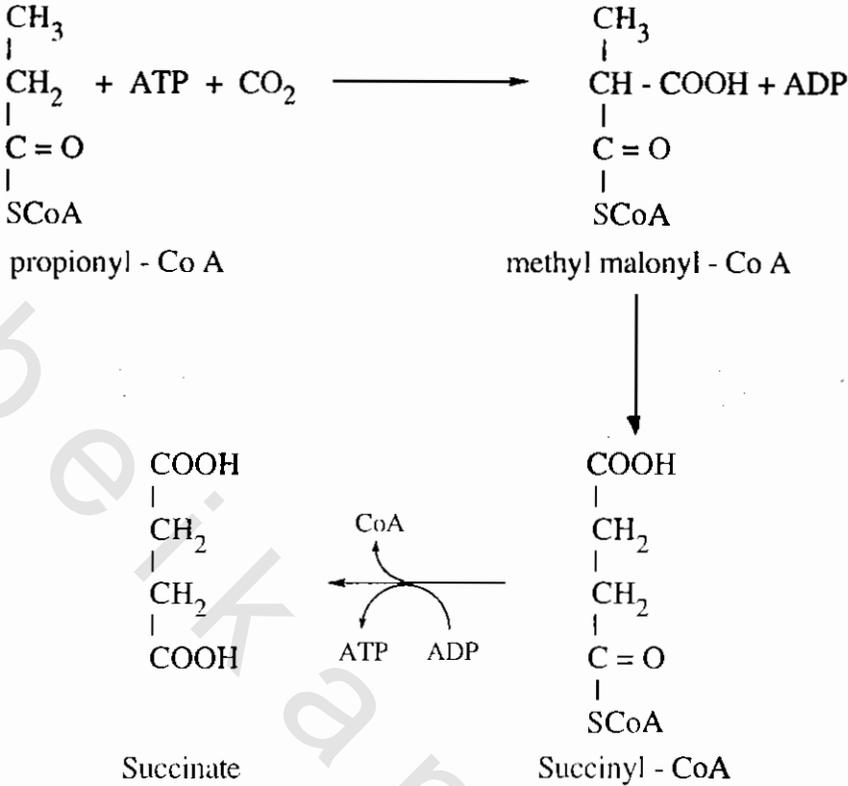
وبعملية نزع جزئ ماء في وجود إنزيم enoly - Co A hydratase (Ec 4.2.1.17) يتكون acryloy Co A والذي يختزل في وجود FADH.H^+ (كمعطي للأيدروجين) إلى برويونيل كوازيم A .



ثم يتم تثبيت جزئ ك أ الثاني في وجود البيوتين ، Mn^{++} ، ATP بملاسة إنزيم propionyl - Co A carboxylase (EC 6.4.1.3) ويتيح ميثيل مالونيل كوانزيم A والذي يتحول بدوره إلى سكسينيل كوازيم 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) .

وما 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 متجشمة 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 - المتجة للأحماض mixed acid producer ويمثلها *E. coli* (MR +, VP -).
- ٢ - المتجة للبيوتاندول butanediol ويمثلها *Aerobacter aerogenes* (MR -, VP +).
- ٣ - المتجة للجليكول ثلاثي الميثيلين ويمثلها *Citrobacter freundii*.

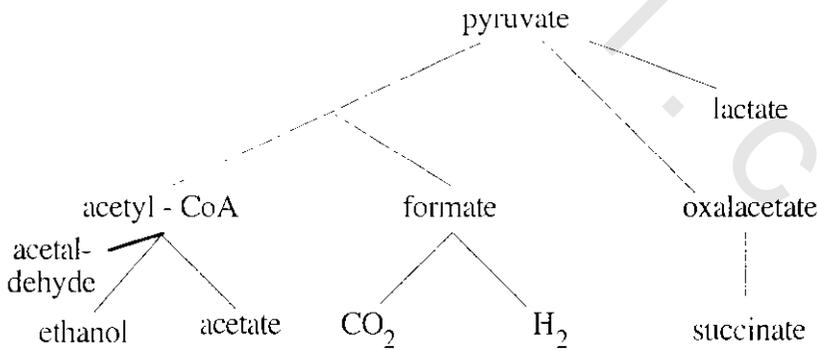
جدول (٩ - ٢) : الفرق فى التركيب النوعى والكمى للنواتج المتكونة بواسطة المجموعتين المنتجة للأحماض والمنتجة لليبوتاندول .

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
Laetate $\text{CH}_3 - \text{CHOH} - \text{COOH}$	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 .

$$3 - \text{مولات الفورمات} = \text{مولات (الإيثانول + الأسيتات)}$$

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 :

$$\boxed{\text{مولات (الإيثانول + الأسيتات)} = \text{مولات (الفورمات + H}_2)}$$

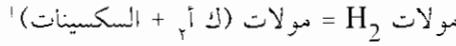
أما إذا أخذ ك A_p فى الاعتبار فيحتمل أن بعض ك A_p (الذى أشتق من الفورمات) أنه يستهلك فى إنتاج السكسينات بمعدل 1 مول ك A_p لكل 1 مول سكسينات .

مولات ك A_p من الفورمات = مولات ك A_p المستهلك فى السكسينات + مولات ك A_p 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 .



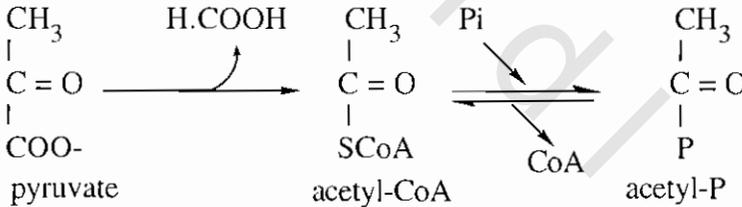
وميكانيكية هذا التفاعل يطلق عليها phosphoroclastic split إذا كان الناتج الفورميك

أو thioclastic split إذا كان الناتج ك أ_٢ + يد_٢ .

وفي كلا الحالتين فهما وجهان لعملة واحدة وsynonymous والمركبان الوسيطيان acetyl

phosphate acetyl transferase ، - CoA في حالة توازن بواسطة

(EC 2.3.1.8) .



ولقد عُرِلَ الإنزيم السابق وحددت صفاته وثبت أنه :

allosteric enzyme يُنشط بواسطة البيروفات ويثبط 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

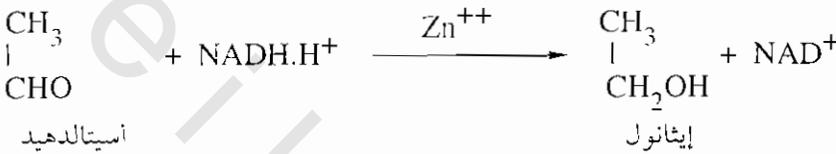
وجود aldehyde dehydrogenase (EC 1.2.1.10) .



وليسست 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 الكحوليات الأولية والثانوية .

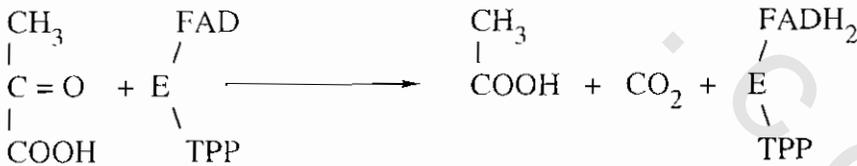


وأثناء تكوين الإيثانول من البيروفات يعاد تكوين ٢ مول من NADH₂ لكل مول إيثانول .

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 .

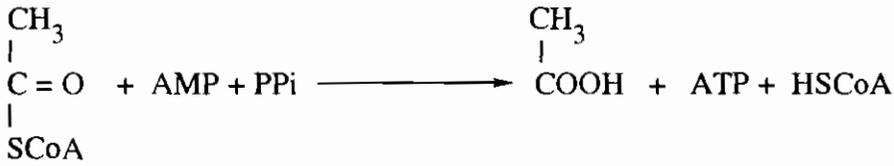


* الطريقة الغير مباشرة :

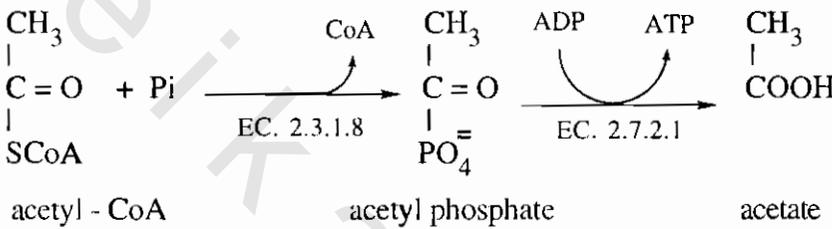
أ - بملاسة إنزيم acetyl - CoA hydrolase (EC 3.1.2.1) ولا ينتج عن ذلك طاقة .



ب - بلامسة إنزيم acetyl - CoA synthetase (EC 6.2.1.1) ويكون جزئ ATP ولكن يحتاج هذا التفاعل إلى AMP ، بيروفوسفات .

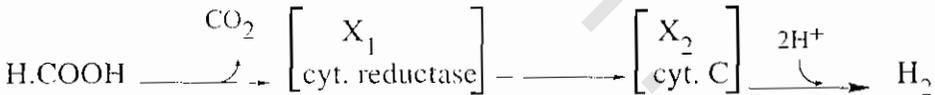


ج - وهي أكثر الطرق استخداماً في *E. coli* وانتاجاً للطاقة ويلاصها إنزيم phosphate acetate kinase (EC 2.7.2.1) وكذا إنزيم acetyl transferase (EC 2.3.1.8)



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) ذاتب والآخر DH (dehydrogenase) مرتبط بالغشاء في وجود حوامل لالالكترون وسطية غير معروفة وليكن X₁ ، X₂ .



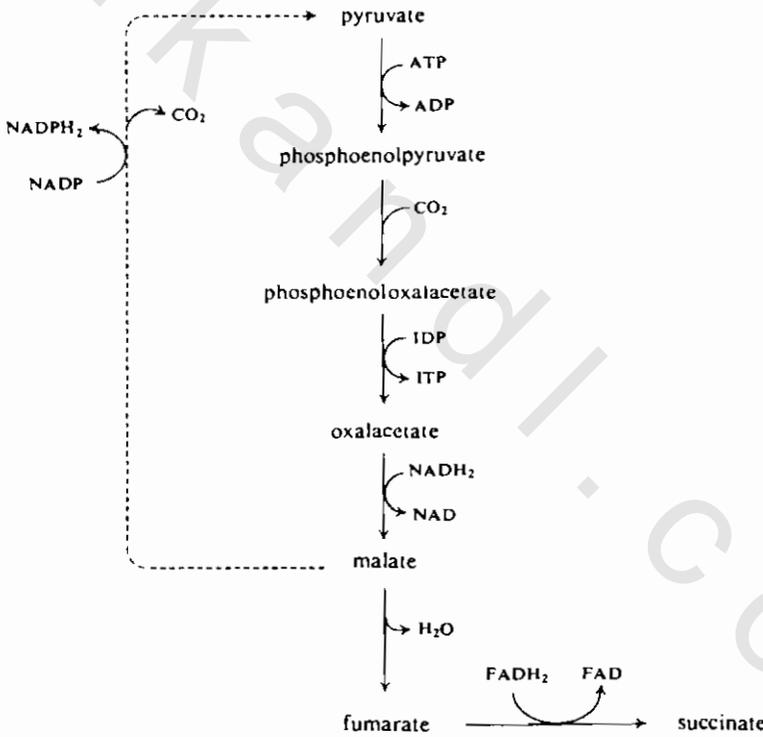
وهناك دلائل تشير إلى أن X₂ هو سيتوكروم من النوع C ذو جهد أكسدة واختزال منخفض (Em = - 225 mV) وهذا السيتوكروم يتكون فقط بواسطة بكتريا الكلوليفورم أثناء النمو اللاهوائي . وطبقاً لهذا فإن X₁ يحتمل أن تقوم بوظيفة cyt. C reductase . ولقد بذلت جهود كثيرة لتحديد الفيروكسين (Fd) في الميكروبات اللاهوائية الاختيارية بعد اكتشافه في Clostridia ولكن كانت النتائج سلبية مما أدى للاعتقاد أن هناك فروق نوعية في المرافقات المشاركة في 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⁺ و H_2 ولكن هناك الكثير من البكتريا ليس لها القدرة على هدم الفورمات وبالتالي يتراكم كنتاج نهائي مثل *Serratia* ، *Proteus* ، *Shigella* ، *Salmonella* .

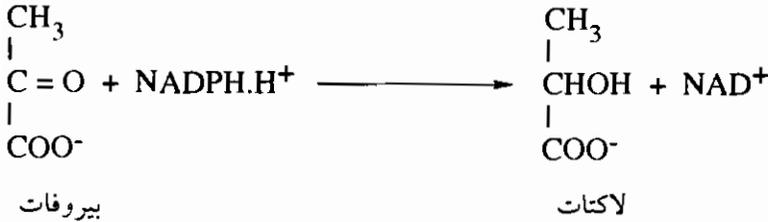
٥.١.٤.٩ تكوين السكسينات

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 (٩ . ١) : تكوين السكسينات من البيروفات

بواسطة بكتريا عائلة *Enterobacteraceae* مستعملاً دورة TCA العكسية



ويلاحظ أن كمية اللاكتات المتكونة تتفاوت حسب الميكروب فمثلاً *Serratia kielenensis* تحول نصف البيروفات إلى لكتات بينما لا تتكون اللاكتات إطلاقاً بواسطة *Aerobacter aerogenes* وكذا تتفاوت كمية اللاكتات حسب ظروف النمو للكائن .

٢.٤.٩ الميكروبات المنتجة للبيوتاندول Butanediol

١.٢.٤.٩ تكوين الأستيون Acetoin

توجد ٣ طرق لتكوين الأستيون من البيروفات بواسطة الميكروبات كما هو موضح في الشكل (١١.٩) .

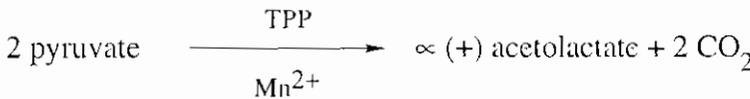
الأولى : في الخمائر وتعتمد على التكوين المباشر للأستيتالدهيد من البيروفات يعقبه Carboligase reaction مكوناً الأستيون .

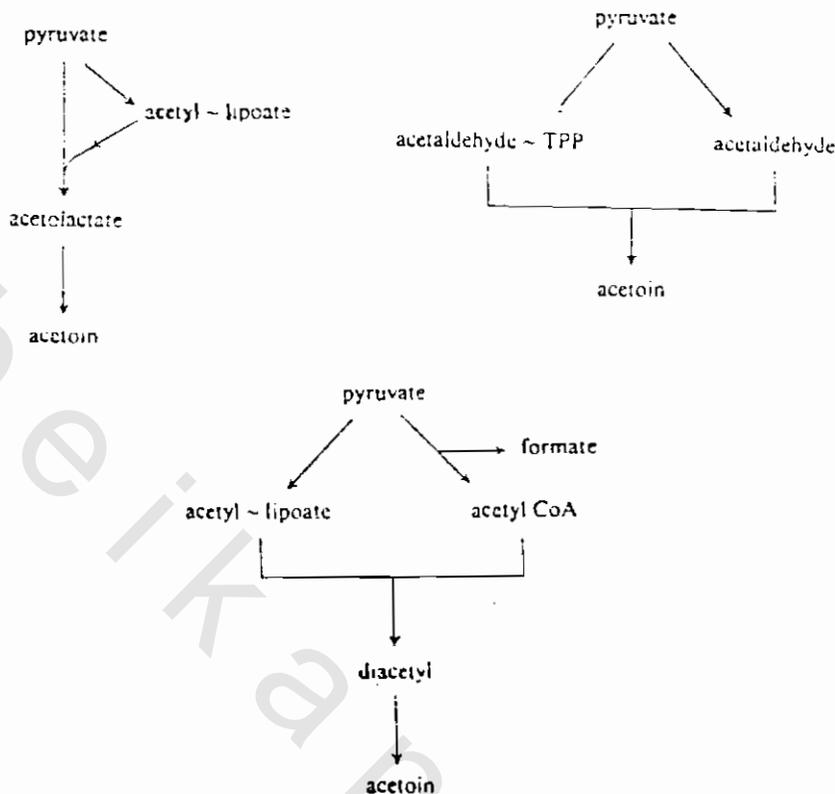
الثاني : تكوين الأستيون عبر الأستيتولاكتات .

الثالث : يستخدم diacetyl كمركب وسطي لتكوين الأستيون .

* بالنسبة لتكوين الأستيون من الأستيتولاكتات

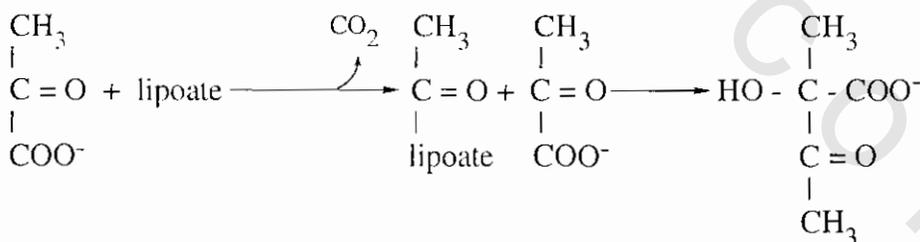
لا تحتوى ميكروبات *Aerobacter aerogenes* ، *Bacillus subtilis* ، *Streptococcus faecalis* ، *Clostridium acetobutylicum* على نظام نزع ك⁺ أم (decarboxylase) ولا تستطيع إنتاج الأستيتالدهيد ولذلك يفترض وجود إنزيم واحد فقط مسئول عن نزع ك⁺ أم من البيروفات ونقل الألددهيد وتكوين مركب وسطي ثابت هو acetolactate - ∞ وهذا الإنزيم هو acetolactate synthase (EC 4.1.3.18) . والمعادلة الإجمالية له :





شكل (١١.٩) : التصورات الثلاث لتكوين الأستيون من البيروفات

وتفسير ذلك هو تكوين acetyl lipoate وينطلق ك CO_2 من البيروفات بواسطة pyruvate DH (EC 1.2.4.1). وهذا «الأسيتات المنشط» يتحد مع جزيء ثان من البيروفات لتكوين الأستيلولاكتات.



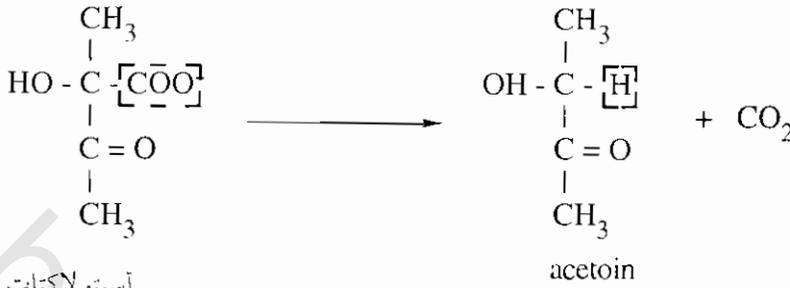
بيروفات

أستيل ليبوات

أستيلولاكتات

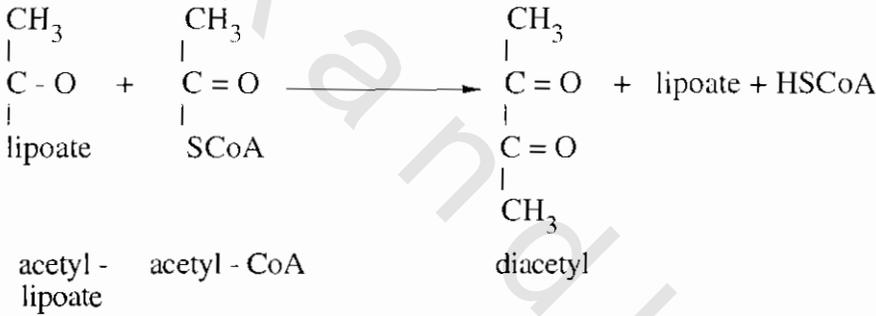
ثم يقوم إنزيم acetolactate DH (EC 4.1.1.5) بنزع CO_2 من الأستيلولاكتات

مكونا الأستيتوين acetoin .

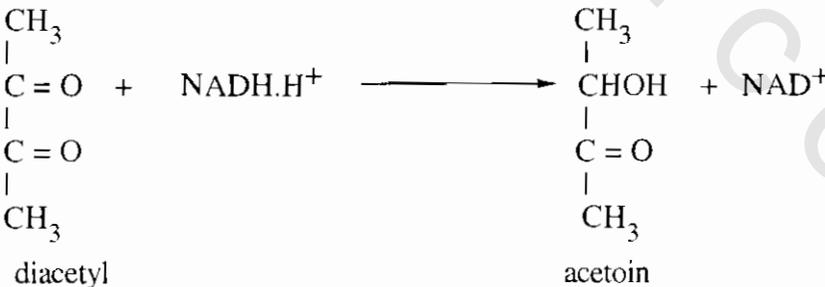


** تكوين الأستيتوين من داي أسيتيل Diacetyl

كما سبق شرحه يُكوّن الكائن أسيتيل ليبونات بمساعدة pyruvate DH (EC 1.2.4.1) . وفي نفس الوقت يُكوّن أسيتيل كوانزيم A بطريقة phosphoroclastic (or thioclastic) split يتحد كلا الأستيات المنشطة ويكونا diacetyl .



ثم يقوم إنزيم Acetoin dehydrogenase (EC 1.1.1.5) باختزال داي أسيتيل إلى أسيتوين .

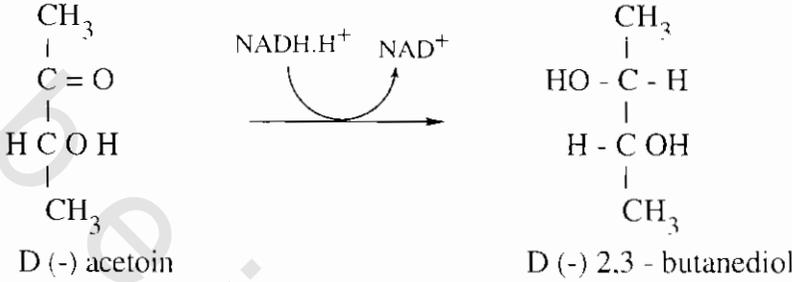


والتفاعل الأخير أكثر اقتصاداً لأن الكائن يستعمل الإنزيمات الموجودة لتكوين أسيتيل كوانزيم A .

٢.٢.٤.٩ تكوين البيوتاندول من الأستيون

يقوم إنزيم butanediol DH (EC 1.1.1.4) باختزال الأستيون سواء كان

(+) L ، (-) D إلى البيوتاندول .



ولقد ثبت وجود عدد من butanediol dehydrogenases متخصصة حسب الصورة الأيزوميرية التي تحولها فمثلاً ميكروب *B. polymyxa* يكون 2,3 butanediol DH 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 (EC 5.1.2.4) acetoin racemase 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 :

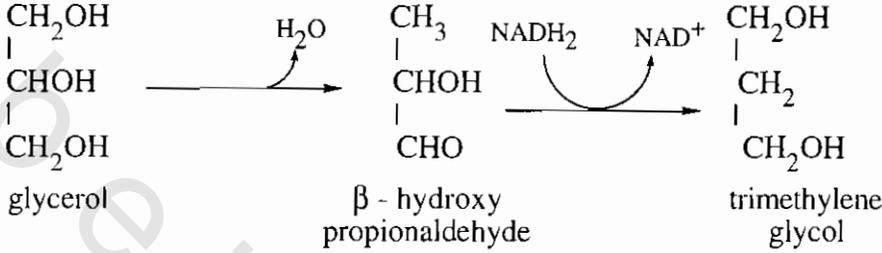


ويبدو أن تكون البيوتاندول يعتمد على pH حتماً فإذا ارتفع فوق 6.3 فإن حمض الأستيك وحمض الفورميك يتراكان بينما يتوقف تكوين ك_أ ، يد_أ ، أستيون ، البيوتاندول . أما إذا قل عن 6.3 pH يتحول النظام لإنتاج الأستيون والبيوتاندول .

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. mucosa* ، *N. denitrificans* ، *N. flara* ، بينما لا ينتج بواسطة البعض الآخر مثل *N. Cinera* ، *N. animalis* .

٣.٤.٩ الميكروبات المنتجة للجليكول ثلاثى الميثيلين Trimethylene glycol

يستطيع بعض أعضاء Enterobacteraceae تحويل الجليسيرول إلى جليكول ثلاثى الميثيلين أو إلى جليسرلددهيد ٣- فوسفات مثل ميكروبي *Citobacter freundii* ، *Aero- bacter aerogenes* .



وهذه العملية تبدو غير مرتبطة بتحويلات الكربوهيدرات ولكن تلاحظ فقط فى وجود الجليسيرول .

وبعض الميكروبات مثل *E. coli* ، *Acetobacter suboxydans* يستطيع أكسدة الجليسيرول إلى دى هيدروكسى أسيتون فوسفات كما شرح فى الباب الخامس ويشير هذا التفاعل الأيضى إلى العلاقة القوية بين *E. coli* ، *acetic acid bacteria* .

٤.٤.٩ تنظيم تحولات الكربوهيدرات فى 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 المتكون بالتخمر وهذه الظاهرة تعرف بتأثير الاكسجين "oxygen" or "Pasteur" effect .

فتحت الظروف الهوائية تقوم الميكروبات بأكسدة الجلوكوز كاملاً إلى ك^٢ أ ، يد^٢ أ وتغطى فرق جهد الأكسدة والاختزال (- 0.3 to + 0.8 V) باستخدام سلسلة انتقال الالكترونات المرتبطة بانتاج الطاقة وأغلب الإنزيمات التنفسية مرتبطة بالغشاء. أما أثناء التخمر اللاهوائى فإن الميكروبات تستخدم المركبات العضوية كمستقبل للالكترون ولا تملك نظام سلسلة انتقال الالكترون وإنما انطلاق ٢ جزئى ATP فى خطوة تحول جليسرلددهيد 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 الألكترون . وعلى سبيل المثال إنزيم 2 oxoglutarate dehydrogenase يتفاوت تأثيره بالأكسجين . وبدونه (ظروف لاهوائية) يستخدم *E. coli* طريق الهدم الاختزالي لتكوين السكسينات ثم الأوكسوجلوكونات 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 تتعدل 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 إما هوائياً أو لاهوائياً تحت ظروف غذائية مختلفة وجود ٣ عوامل تؤثر على تخليقها الحيوى :

- أ - وجود أو غياب الأكسجين Parteur effect .
- ب- التأثير السلبي 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 .

٥.٩ 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 تثيل سكر اللاكتوز . وأماكن أنتشارها فى الطبيعة : فى المياه والأراضى وأساساً فى الألبان ومنتجاتها وفى معدة وأمعاء الإنسان والحيوان .

ونظراً لإنتاجها كميات كبيرة من حمض اللاكتك لا بد من إضافة منظم buffers لبيئة النمو عادة كربونات الكالسيوم فتظهر مستعمراتها محاطة بهالات رائحة (شفافة) على سطح الآجار . وهي سهلة العزل على البيئات المتخصصة . كما يمكن اعتبار كثير من منتجات الألبان «كمزارع نقية طبيعية» مثل اللبن الحامض ، العجين الحامض (acid dough) ، sauer kraut ، السيلاج .

١.٥.٩ تخمر الجلوكوز

تقسم lactobocillaceae تبعاً لقدرتها على تخمير الجلوكوز إلى لاكتات ٩٠٪ (أى ١,٨ مول لاكتيك لكل ١ مول جلوكوز) وتعرف بـ homofermentative أو إلى نواتج أخرى بجانب اللاكتات وتعرف Heterofermentative كما بالجدول التالى :

Cocci	Rods
<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 inulinus</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>

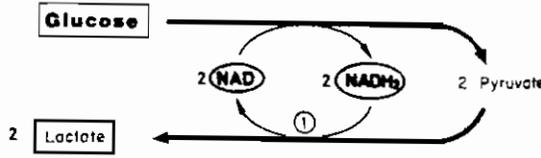
جدول (٢.٩) : تقسيم بكتريا حمض اللاكتيك حسب الشكل ونوع التخمر

Homofermentative Lactobacteria ١.١.٥.٩

وهي تحول الجلوكوز عبر دورة EMP حيث تحتوي على جميع إنزيماتها بما فيها aldolase وتستخدم H_2 الناتج من تحول جليسرلدهيد ٣ - فوسفات إلى ٣,١ داي فوسفو جليسرات لاختزال البيروفات إلى لاكتات كما هو مبين في شكل (٩-١٢) .

ويحدد التخصص النوعي stereospecificity لإنزيم لاكتات ديهيدروجينيز وكذا وجود أو غياب إنزيم Lactate racemase نوع الأيزومير الناتج إذا كان D (-) ، A ، L (+) ، DL .

ويمكن فقط لجزء ضئيل من البيروفات أن تحدث له عملية نزع ك أ_١ decarboxylation ويتحول إلى الأستات 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 مستجة أقل من ٨,١ مول لاكتات لكل ١ مول جلوكوز (أقل من ٩٠٪) وبالإضافة لذلك يتكون الإيثانول ، أسيات جليسرول ، مانيتول ، ك أم كما هو موضح في الشكل (٩-١٣) وتوجد عدة أنواع من تقنيات التخمر (نوع - Hetero) :

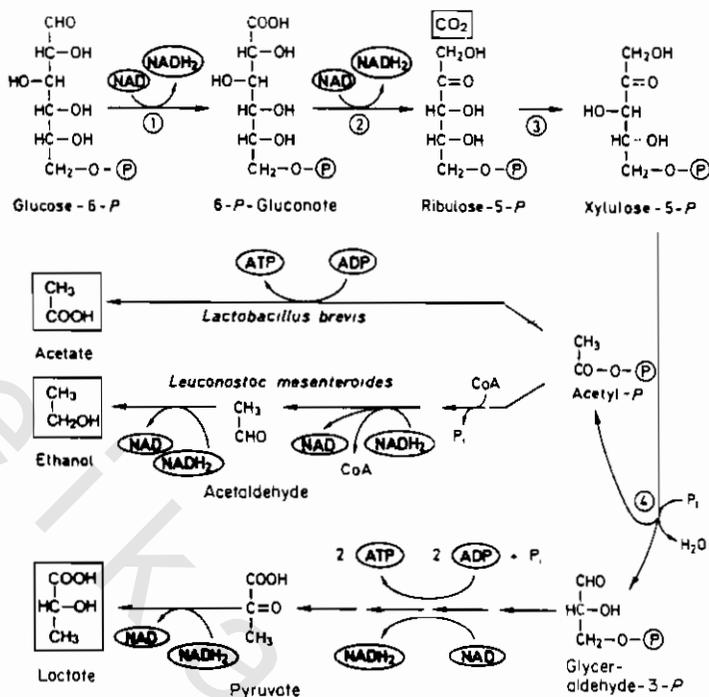
١ - *Leuconostoc type* - حيث يتكون ٨,١ مول من اللاكتيك ، ١ - ٢,٢ مول أسيات ، ٩,٩ مول ك أم ، ٨,٨ مول إيثانول ، ٢,٢ - ٤,٤ مول جليسرول والأخير يتكون تحت ظروف خاصة .

٢ - *Peptostreptococcus type* - حيث ينتج اللاكتيك ، بروبيونيك فقط .

٣ - *Butaric producer type* - وتشمل كل البكتريا التي تنتج اللاكتيك والبيوتاريك كنتاج 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 أنشغافي في وجود إنزيم phosphoketolase والثيمين بيروفوسفات مكوناً فوسفواسيتيل والجليسرالدهيد ٣ - فوسفات . ويتحول الاسيتيل فوسفات إلى الاسيتات بواسطة acetate kinase مع فسفرة ADP كما في ميكروب *L. brevis* أو يختزل إلى الإيثانول عبر اسيتيل كوانزيم A والاسيتالدهيد كما في ميكروب *Leuconostoc sp.*



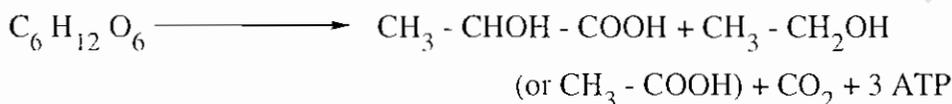
Enzymes: (1) glucose-6-phosphate dehydrogenase; (2) phospho-gluconate dehydrogenase; (3) epimerase; (4) phosphoketolase. Acetylphosphate is either converted to acetate by acetate kinase with

phosphorylation of ADP (*L. brevis*) or reduced to ethanol (*L. mesenteroides*). Oxidation of glyceraldehyde phosphate is by the usual fructose-bisphosphate pathway.

شكل (١٣.٩) : 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 :

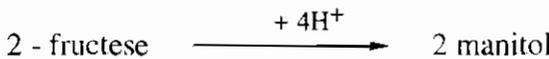
- ١ - obligate homofermenters تحتوى fructose diphosphate aldolase (EC 4.1.2.13) ولا تحتوى جلوكوز ٦ - فوسفات ديهيدروجينيز (EC 1.1.1.49) ولا فوسفو جلوكونات ديهيدروجينيز (EC 1.1.1.43) .
- ٢ - Obligate Heterofermenters وتحتوى إنزيمات الديهيدروجينيز السابقة ولكن لا تحتوى FDP - aldase .
- ٣ - Facultative Homofermenters. تحتوى الثلاث إنزيمات معاً وتستطيع استخدام كلا النظامين .

ويتحكم فى نوع التخمر اللاكتيكي عوامل عديدة :

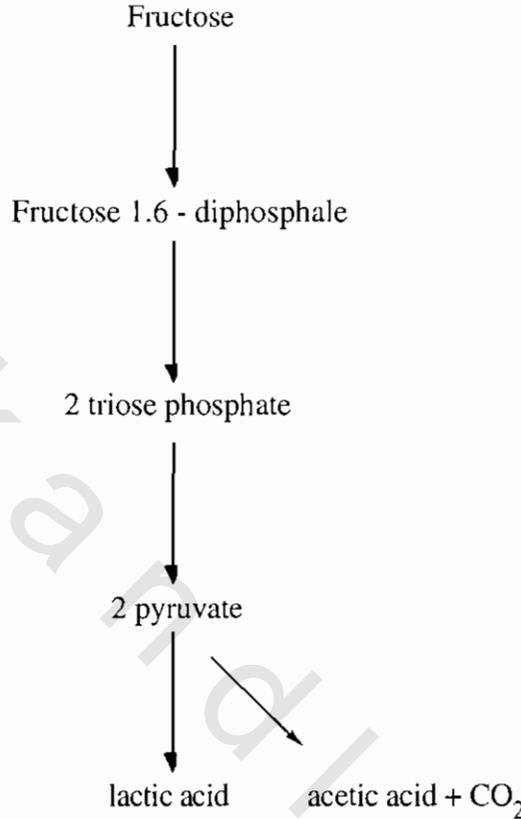
- ١ - الظروف البيئية مثل الحرارة ، pH .
- ٢ - المرافقات الإنزيمية المصاحبة لإنزيمات الدهيدروجينيز الداخلة فى العملية من حيث استخدام NAD ، FAD .
- ٣ - المركب الوسطى فركتوز داى فوسفات حيث يؤثر مباشرة على Lactate DH بصفة خاصة فى Streptococci .
- ٤ - تأثير الأكسجين على معدل تحول الجلوكوز إلى اللاكتيك وعلى 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 الأستيك بينما الميكروب الأول لا ينتج المانيتول وينتج اللاكتيك والأستيك 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

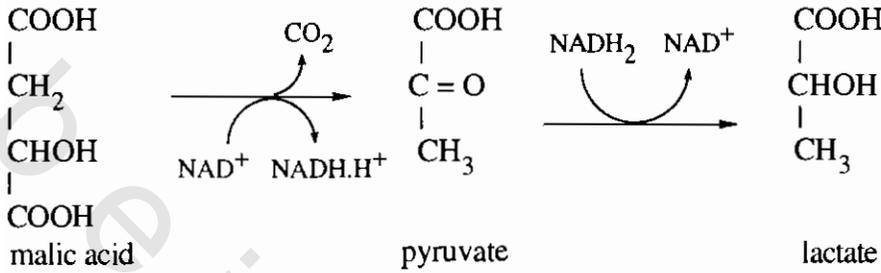
وبدلاً من استخدام ٣ مول فركتوز كمصدر للكربون يمكن استخدام الجلوكوز والفركتوز
بنسبة ١ : ٢ لتوفير الفركتوز وتكوين المانيتول .



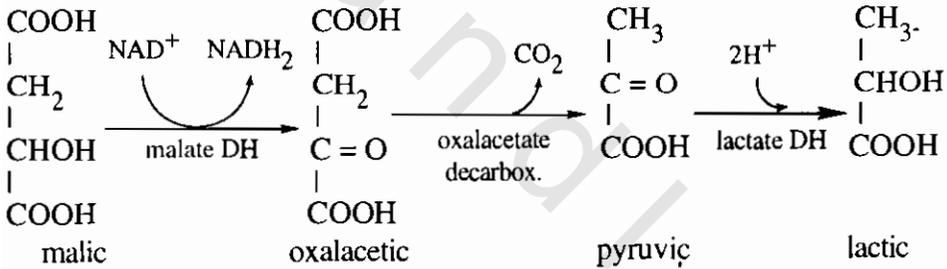
٣.٥.٩ تخمر المالات

يستطيع عدد ضخم من بكتريا حمض اللاكتيك تحويل حمض المالك إلى اللاكتيك
وهذا ذو أهمية تجارية كبيرة في صناعة النبيذ ويعرف بـ malolactic fermentation

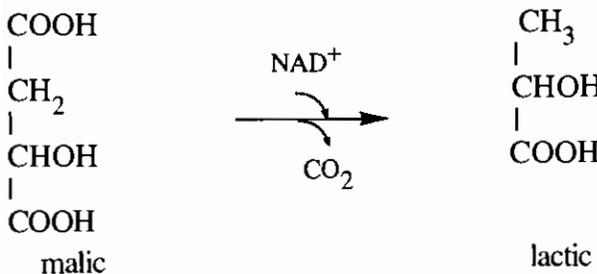
والميكانيكية الحقيقية لتحويل المالك ما زالت غير مستقرة فكان يعتقد لمدة طويلة أن المالك تحدث له عملية نزع ك أ ه إلى البيروفات مصحوبة بنزع الايدروجين بواسطة malic DH مرتبط بـ NAD^+ (EC 1.1.1.38) ويعقبه اختزال البيروفات إلى اللاكتات بواسطة lactate dehydrogenase كما بالمعادلة :



وهناك ميكانيكية أخرى وهى تتضمن خطوة dehydrogenation يعقبها خطوة decarboxylation ويتكون الأكسال أسيتات كمركب وسطى بين المالك والبيروفات وقد عزل الأكسال أسيتات فعلا من *L. plantarum* ويلاس 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 .



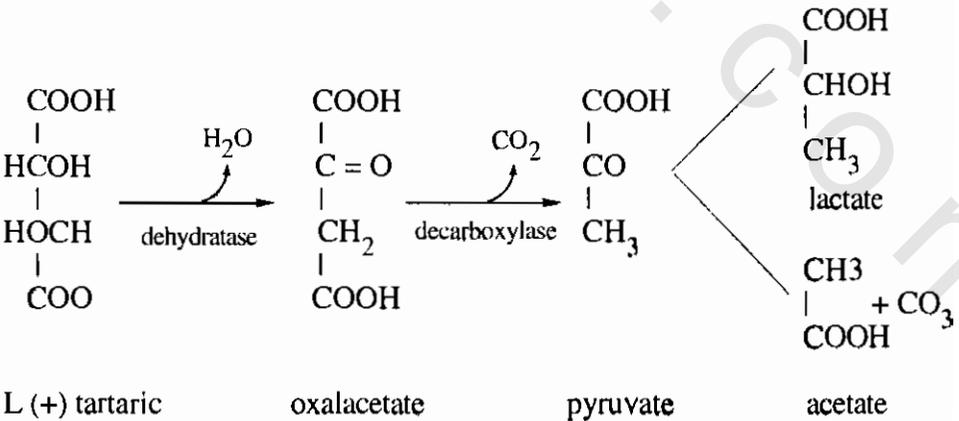
ويلاقي التصور الأخير تأييداً متزايداً حيث أظهرت دراسة الإنزيمات وتنقيتها إن lactate DH المرتبط بـ NAD^+ غير موجود في تخمر مالولالكتيك بواسطة *L. plantarum* . وهناك اعتقاد أن بعض الميكروبات تمتلك أكثر من ميكانيكية واحدة في نفس الوقت .

٤.٥.٩ تخمر الطرطريك Tartrate

أظهرت دراسة على ٧٨ سلسلة 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 ، ٥,٥ مول حمض الأسيتيك ، ٥,٥ مول حمض اللاكتيك . أما في حالة ميكروب *L. brevis* فيتكون ١,٣٣ مول ك أ ، ٢١,٦٧ مول أسيتيك ، ٣,٣ 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 المسؤل عن تكوين ك أ ، حمض الأسيتيك كما بالمعادلة التالية :



وقد ثبت أن نسبة $NAD^+ / NADH.H^+$ بالوسط النامي فيه الميكروب هي التي تحدد الناتج النهائى . ففي حالة وجود كمية عالية من $NADH.H^+$ يميل التفاعل إلى تكوين الأستيتك ، ك أ على حساب اللاكتيك والعكس إذا كانت نسبة NAD^+ عالية فإن التفاعل يميل تجاه تكوين اللاكتيك .

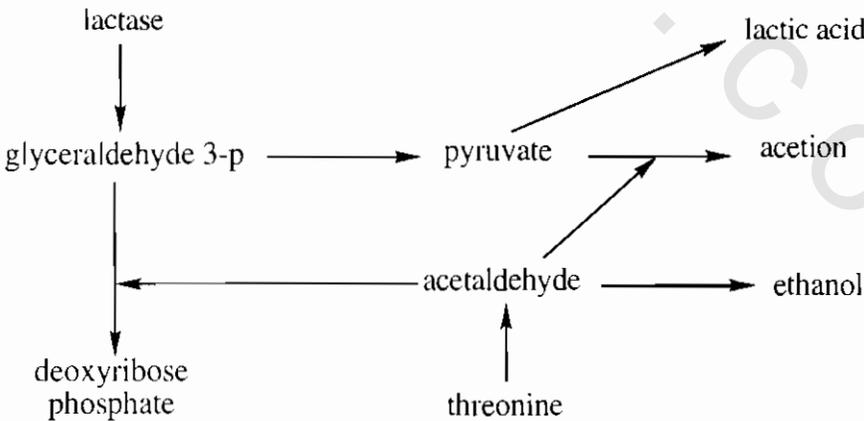
أما بالنسبة لميكروب *L. brevis* فيحول الطرطريك إلى بيروفات ثم إلى أستيتك ، ك أ ولا تسلك الطريقة الآخر لتكوين اللاكتيك برغم أنه يملك كلا الإنزيمين (+) *L. D (-) lactate DH* ، ولا يوجد تفسير لذلك ولقد ثبت أن إضافة الجلوكوز تؤثر على تحول الطرطريك بواسطة *L. plantarum* فقط ولا تؤثر بالنسبة لميكروب *L. brevis* وعلى أى حال فإن الجلوكوز يتحول قبل الطرطرات .

٥.٥.٩ تخمر اللاكتوز بواسطة N - streptococci

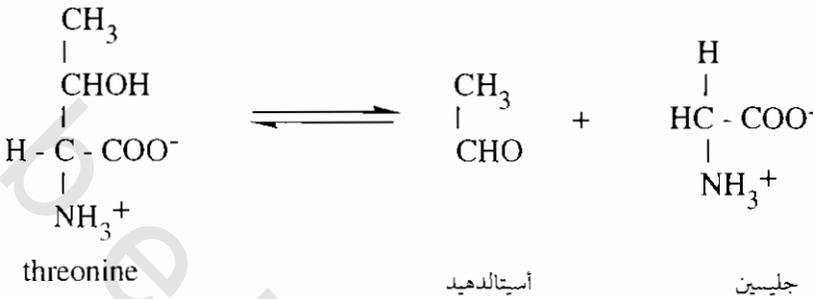
لوحظ أن مجموعة البكتريا المسماة *Streptococcus lactis* ، *S. diacetylactis* ، *S. exemoris* تستطيع تخمير اللاكتوز فى اللبن إلى اللاكتيك .

ويقوم إنزيم PEP - phosphotransferase بنقل اللاكتوز إلى داخل الخلية البكتيرية وهو يحتوى Factor III ولذا يشبه نظام Staphylococci (لاحظ ميكانيكية أنتقال الجلوكوز - الباب الخامس) .

وبعد دخول اللاكتوز للخلية فإن هذه الميكروبات تحوله فى 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 .

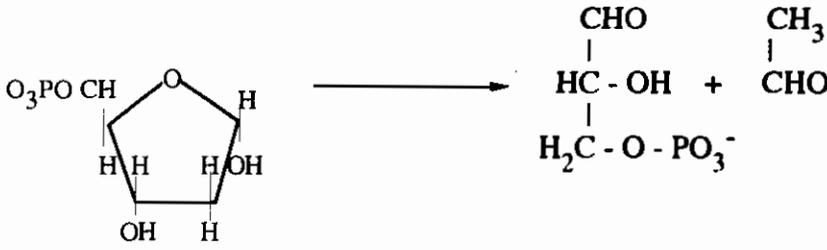


ولقد ذكر سابقاً فى فقرة (٣٠٥) طرق تحول الأستيتالدهيد الثلاث معتمداً على نوع الإنزيم المتوافر .

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 الأكسجين وأيضاً البيروكسيد فى التفاعل ويتكون H_2O_2 بملامسة إنزيم ديهيدروجينيز حيث يتأكسد NADH.H^+ بواسطة O_2 ويؤدى تراكم H_2O_2 بكميات كبيرة إلى تشييط النمو ويتفاوت نشاط الإنزيمين من سلالة إلى أخرى .

٦.٥.٩ تخمر ديزوكسى ريبوز Deoxyribose

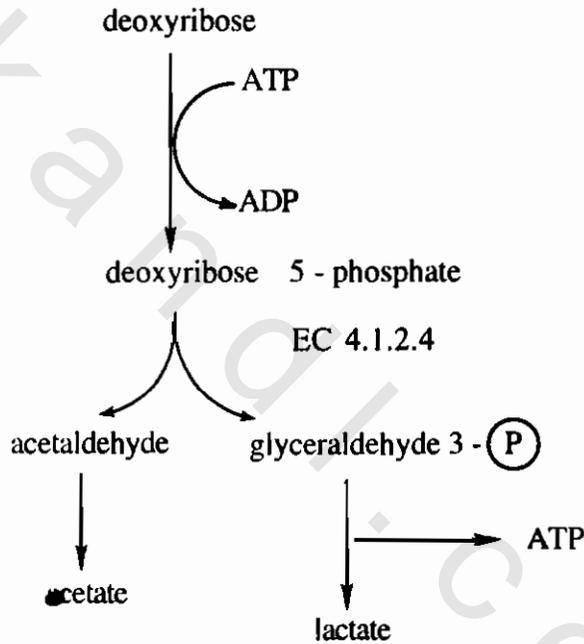
لا يحدث تحول لهذا السكر فى الخلايا النامية على الجلوكوز أو الأراينوز أو الزيلوز ولكن يحفز هدمه فى *L. plantarum* فى وجود خليط من الجلوكوز والديزوكسى ريبوز؛ حيث يحدث النمو على حساب الجلوكوز والإنزيم المسئول عن ذلك هو deoxyribo aldolase (EC 4.1.2.4) الذى يلامس تفاعل تحول ديزوكسى ريبوز ٥ - فوسفات إلى جليسرلدهيد ٣ - فوسفات والأستيتالدهيد .



ديزوكس ريبوز 5-فوسفات

أستالدهيد جليسرالدهيد 3-فوسفات

والجليسرالدهيد يتحول إلى اللاكتيك لأن *L. plantarum* يمتلك كل إنزيمات دورة EMP بينما يتحول الأستالدهيد إلى الأسيتات والطاقة الناتجة هي 1 مول ATP لكل مول ديزوكسي ريبوز متخمر .



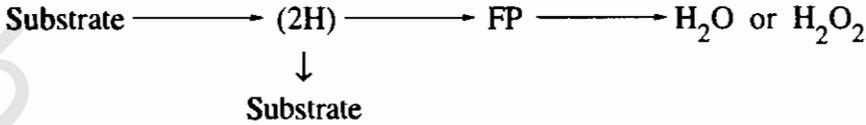
٧.٥.٩ تحول البيوتين Biotin degradation

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 .

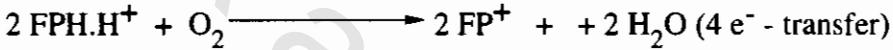
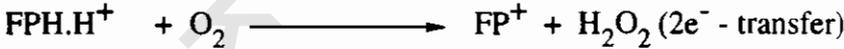
٦.٩ الفسفرة ونظام انتقال الالكترونات فى بكتيريا حمض اللاكتيك

Phosphorylation and electron transport system

تتميز عائلة Lactobacillaceae بخواصها التخمرية ويحتمل أحتوائها على سيتوكرومات ولكن لا تستخدمها لأن نظام تنفسها يعتمد أساساً على الفلافوبروتينات .

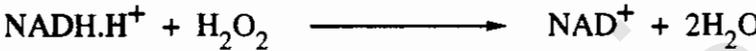


تحت الظروف اللاهوائية يستخدم مادة تفاعل (Substrate) اخرى كمستقبل للأيدروجين أما تحت الظروف الهوائية فيمر الالكترونون إلى الفلافوبروتين الذى يتفاعل بدوره مع الأوكسجين مكوناً الماء أو بيروكسيد الهيدروجين .



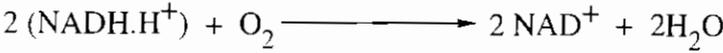
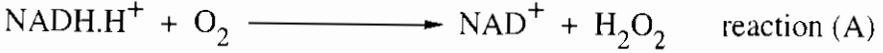
- ويشاهد نظام انتقال (2e-) غالباً أثناء أكسدة الجلوكوز فى معلق الخلايا لميكروب *L. delbruckii* أو *L- acidophilus* حيث لوحظ نسبة ١ : ١ بين استهلاك الأوكسجين وإنتاج بيروكسيد الهيدروجين .

- 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 كعوامل لمسيه ويعرف ذلك بـ Atypical peroxidases (بيروكسيداز غير نمطى) .

- والتأثير الموحد لإنزيمى FP-NAD peroxidase & FP - NAD dehydrogenase ينتج الأربعة الكترونات اللازمة فى خطوة اختزال الأوكسجين إلى الماء .



- ولهذا تستخدم بكتريا حمض اللاكتيك diaphoroses لتحويلها اللاهوائية بينما تستخدم oxidases and / or peroxidases لتحويلها 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 داى 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

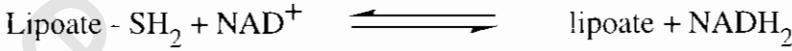
من السيوكروم والكتاليز ولكن تستطيع ملامسة اختزال هيدروجين بيروكسيد إلى الماء

فى وجود مواد مؤكسدة كمعطى للألكترون (تفاعل B) ومن أمثلتها الكحوليات ،

الجلوكوز ، الجليسرول ، اللاكتات ، الفركتوز .

ويعتبر هذا التفاعل نموذجًا لانتقال الإلكترون لاهوائيًا بين الفلافوبروتينات .

* **Dehydrogenase activity** : ذكر سابقًا 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 lipamide dhydrogenase (EC 1.6.4.3) الذى يلامس التفاعل العكسى وهذا الإنزيم عبارة عن فلافوبروتين .



أيضًا *S. faecalis* يحتاج حمض الليبوثيك لاختزال diacetyl والذى يتضمن acetyl - CoA كما سبق ذكره فى فقرة ١٠١٧ .

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 *Pediococcus* ، *Leuconostoc* عند تنميتها 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 أيضاً وزيادة تكوين الكتاليز إلى المستوى الموجود في المزارع النامية هوائياً .

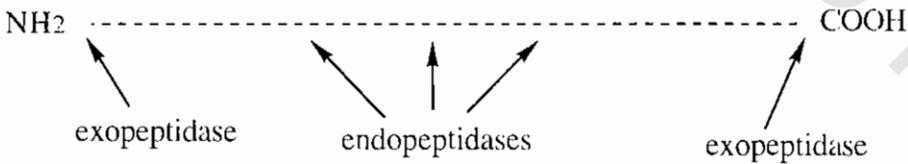
وبناء على تفاعل الكتاليز يمكن تقسيم Heterofermentative bacteric إلى مجموعتين الأولى سوجبة للكتاليز على الآجار العادي وآجار الدم والثانية موجبة لاختيار الكتاليز فقط على بيئة الدم .

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 والنتروجين والطاقة لكل من الميكروبات الهوائية واللاهوائية .

وابتذئات البروتينية الضخمة عادة موجودة خارج الخلية وميكانيكية مرورها عبر الغشاء الخلوي لا تعتمد فقط على الحجم - برغم أنه عامل مهم - ولكن أيضاً على مقدرة الخلايا على إفراز إنزيمات خارجية exoenzymes لتفتيت هذه الجزيئات خارجياً قبل دخولها بمساعدة permeases ثم إفراز الإنزيمات السداحلية عليها endoenzymes واستخدامها كوحيدات. بناء أو مواد للتخمر وتعرف الإنزيمات الخارجية التي 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 ينزع 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 Mg^{2+} ، Mn^{2+} ، Fe^{2+} .

ب- Carboxy peptidases التي تحلل الببتيدات من ناحية مجموعة الكربوكسيل الطرفية ($-COOH$) .

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 .

١.٧.٩ تحولات الأحماض الأمينية المفردة Single amino acid metabolism

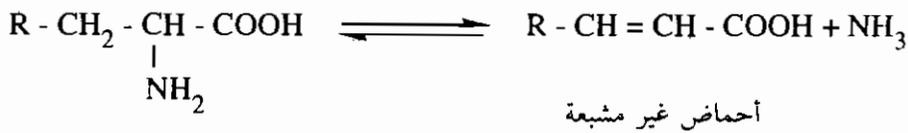
تم عملية نزع مجموعة الأمين deamination في البكتريا بعدة طرق تختلف حسب الإنزيمات التي يفرزها الميكروب والظروف البيئية .

١ - نزع الأمونيا بالأكسدة oxidative deamination والناتج أحماض كيتونية .



فلو كان الحمض الأميني هو الآمين فإن الناتج هو تراكم البيروفات .

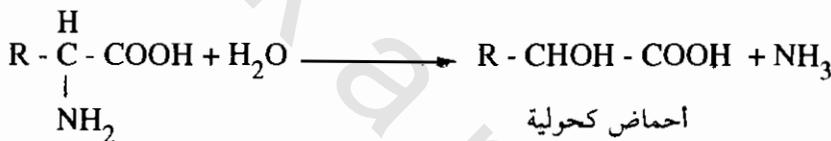
٢ - عدم التشبع desaturation deamination والناتج هو أحماض دهنية غير مشبعة .



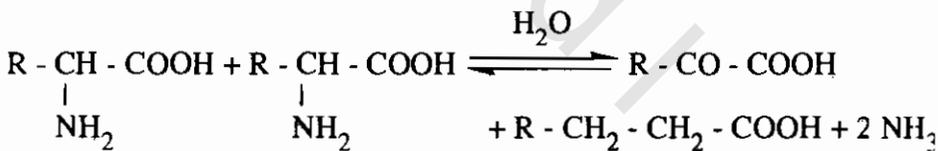
٣ - نزع الأمونيا بالاختزال reductive deamination والناتج هو الأحماض الدهنية المشبعة ويقوم بهذا التفاعل الميكروبات اللاهوائية الحتمية والاختيارية في وجود . dehydrogenases



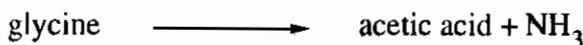
٤ - نزع الأمونيا بالتحلل المائي hydrolysis والناتج هو أحماض كحولية .



٥ - تفاعل أستكلاند Stickland reaction ويشمل تفاعل أكسدة واختزال لحمضين أميين في وقت واحد مع تكوين ٢ جزئ أمونيا .

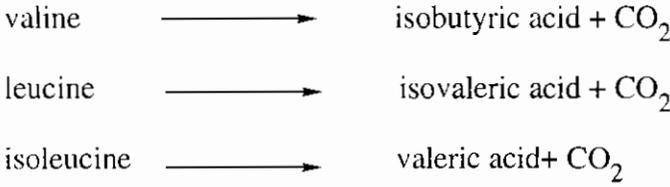


وقد أثبت ستكلاند سنة ١٩٣٥ التفاعلات والنواتج التالية :



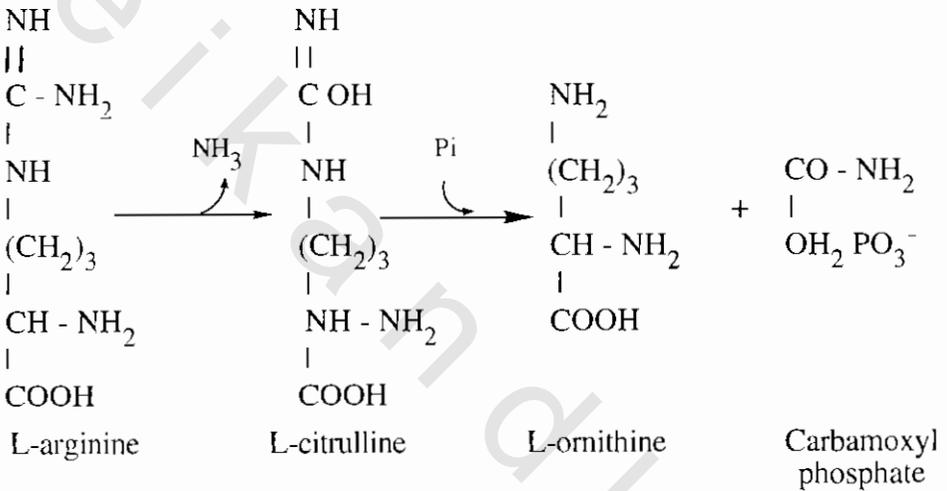
كما أضاف Cohen - Bazine et al (1948) التفاعلات والنواتج النهائية التالية في

سلطن *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 .

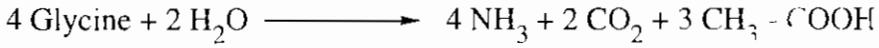


ومن الميكروبات التي تقوم بتحويل الأرجينين *Halobacterium Salinarum* ، *Cl. botulinum* .

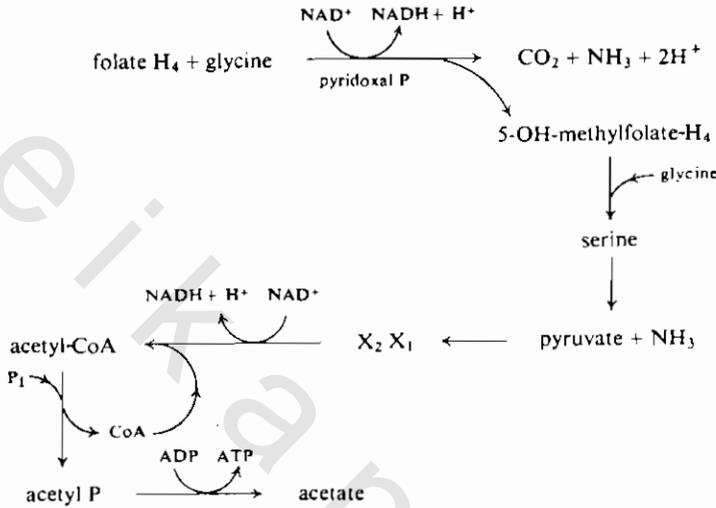
٢.١.٧.٩ تحولات الجليسين Glycine

الميكروبات اللاهوائية القادرة على تحويل الجليسين هي *Diplococcus glycinophilus* ،

Micrococcus anaerobius ، *M. variabilis* والمعادلة العامة للتحلل :

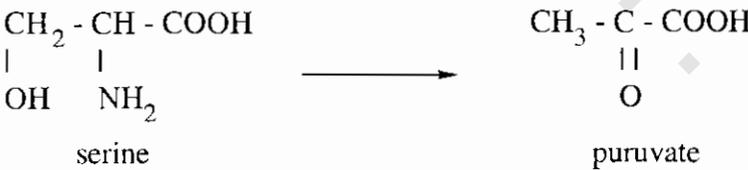


ويحتوى metabolic pathway للجليسين فى ميكروب *Diplococcus* مركبات ترايهدروفلولات THF ، بيردوكسال فوسفات ، NAD^+ ، الأستات والخطوة الأولى هى تفاعل أكسدة - اختزال حيث يتكون CO_3 ، NH_3 ، H_2 يعقبها دخول جزئ جليسين ثان .



شكل (١٥.٩) : تحولات الجليسين بواسطة الميكروبات اللاهوائية

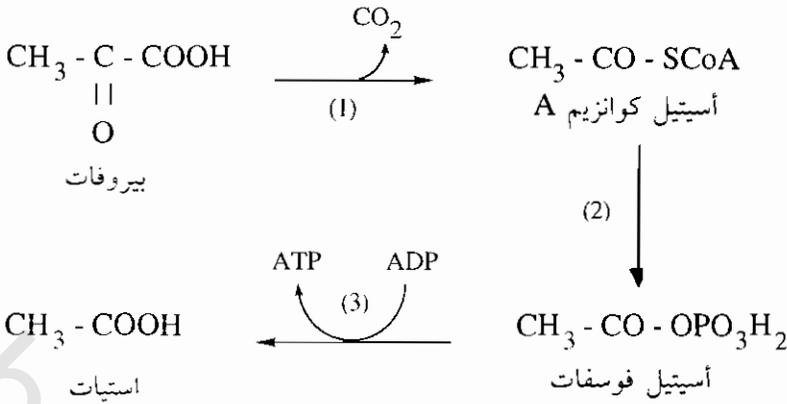
ويتكون السيرين ثم يلى ذلك عملية نزع مجموعة الأمين deamination لتحويل السيرين إلى البيروفات .



ويلى ذلك اختزال البيروفات إلى الأستات متضمنة Phosphoroclastic split مع تكوين أستيل كوانزيم A كمركب وسطى كما هو مبين بالمعادلات التالية :

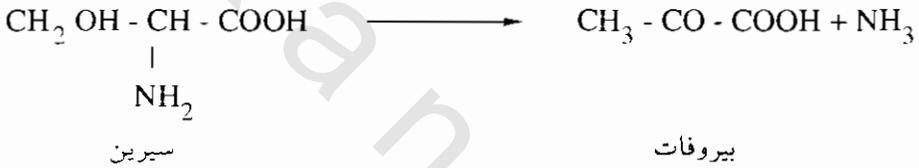
والإنزيمات المشاركة هى حسب أرقامها :

- 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

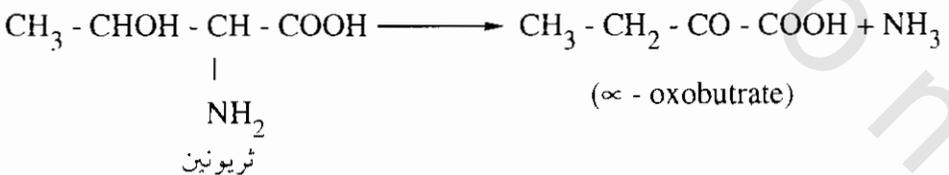
السيرين إلى البيروفات بواسطة البكتريا اللاهوائية وذلك في وجود Serine dehydratase (E.C. 4.2.1.13) وهو متخصص للأيسومر L-serine ولكن يتفاعل أيضاً مع L-threonine .



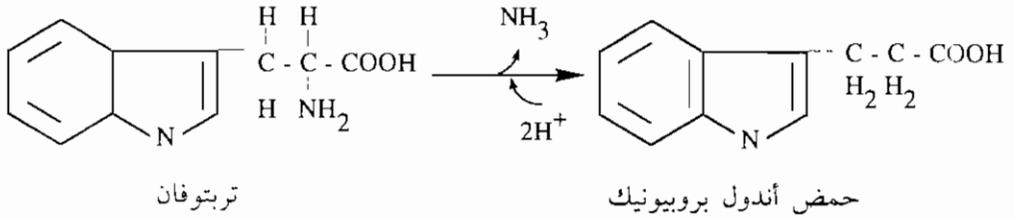
وفي هذه الحالة لا بد من وجود إنزيم آخر لتحويل D-serine ، D-threonine .

٤.١.٧.٩ تحولات الثريونين Threonine

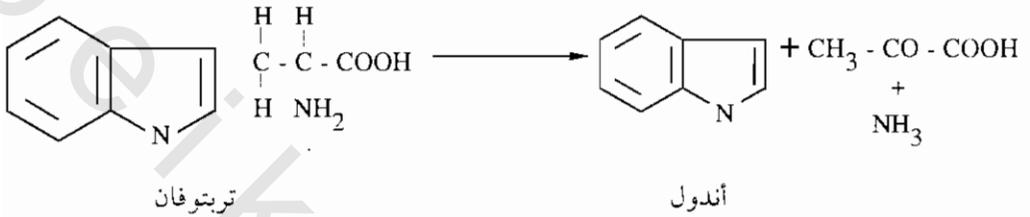
تقوم ميكروبات *M. lactilyticus* ، *M. aerogenes* ، *Cl. propionicum* ، *Cl. tetanomorphum* في وجود إنزيم threonine dehydratase (EC 4.2.1.16) بتحويل الثريونين وإنتاج الفا أوكسو بيوترات مع انطلاق الأمونيا .



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 .

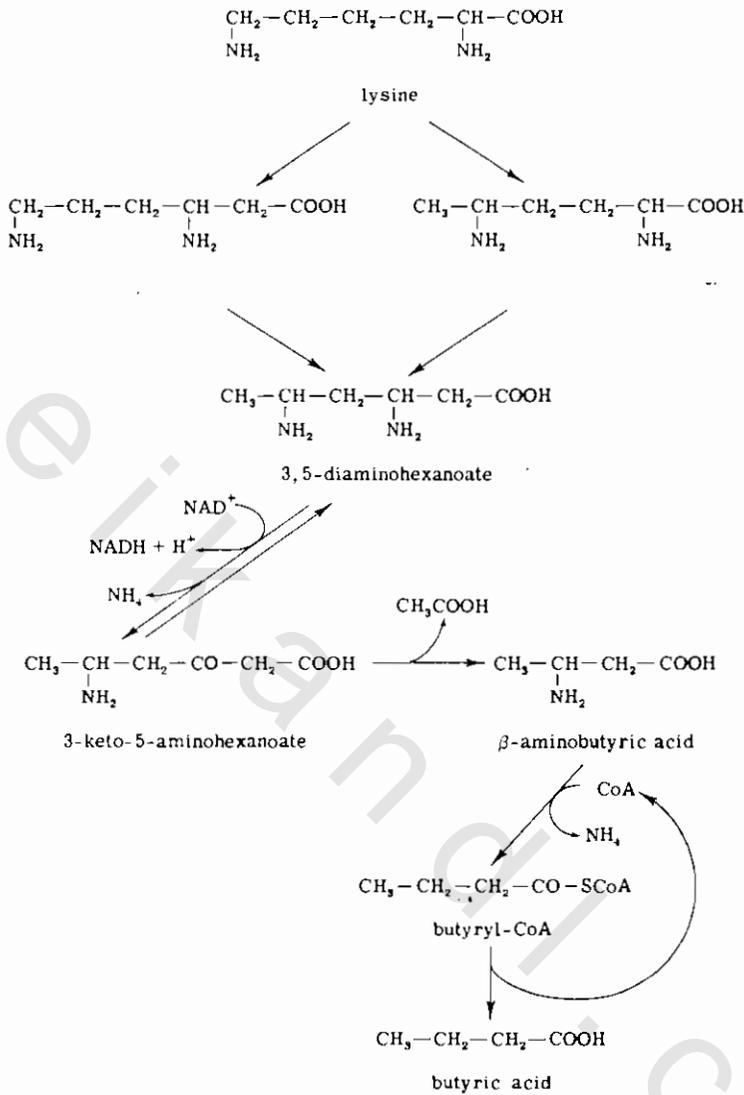


٦.١.٧.٩ تحولات الليسين Lysine

يستطيع ميكروب *Cl. sticklandii* استخدام الليسين كمصدر وحيد للكربون والطاقة .
والخطوة الأولى لمهاجمة اللسين هو تفاعل يعتمد على Cabamide حيث يحرك مجموعة الامين 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 وتحديث عملية نزع الأمونيا بالأكسدة مكوناً ٣- كيتو -٥- أمينو هكسانوات في وجود NAD^+ .

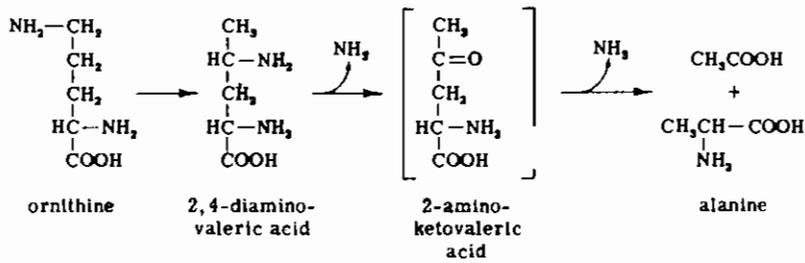
ويعقب ذلك thiolytic cleavage لتكوين الأستات وبيتا أمينو جلوتارات ثم عملية deamination ثانية في وجود CoA تؤدي لتكوين Butyryl-CoA وأخيراً عملية deacylation ينتج عنها حمض البيوتيريك كناتج نهائي مع تكوين ١ مول ATP .



شكل (١٧.٩) : تحولات الليسين في *Cl. sticklandii*

٧.١.٧.٩ تحولات الاورنيثين Ornithine

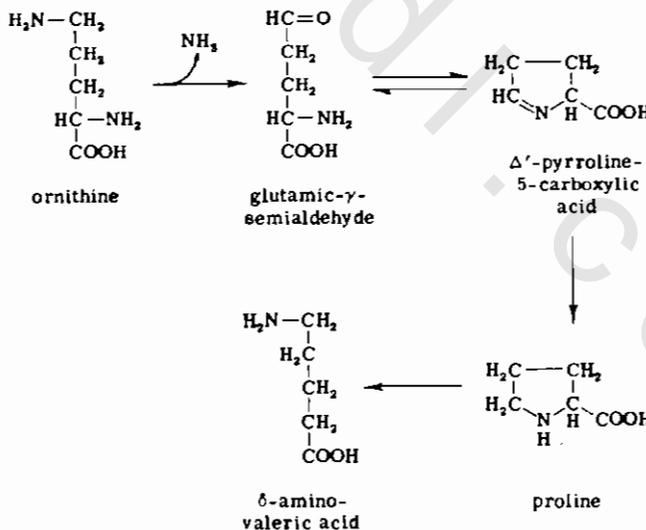
وهو يشبه تحول الليسين من حيث أن خطوة التفاعل الأولى عبارة عن أنشقاق يعتمد على Cabamide بين ذرة الكربون رقم ٣ ، ٤ في *Cl. sticklandii* ويتكون 2,4 diaminovalerate ثم يأخذ التفاعل مساره كما بالرسم ٩-١٨ .



شكل (٩. ١٨) : تحولات ornithine في *Cl. sticklandii*

أما ميكروب *Cl. botulinum* فإن تفاعلات تحوله تختلف تماماً عن سابقه حيث يتكون البرولين ، الفأمينو فاليرات كمركبات وسطية .

ويتحول الأورنيثين أولاً إلى جلوتاميك سمي الدهيد الذي يكون في حالة توازن مع Δ - pyrroline - 5- Carboxylic acid ويلاصق هذا التفاعل إنزيم 8 - 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 (٩. ١٩) : تحول الأورنيثين بواسطة *Cl. botulinum*

٢٠٧٠٩ تبولات زوج من الأحماض الأمينية 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 ويُدرف هذا بتفاعل "Stickland" حيث لا يستطيع حمض أميني بمفرده التحول ولكن رجيد زوج من الأحماض أحدهما يختزل والآخر يتأكسد فيحدث التحول سريعاً.

والبكتيريا التي تستخدم هذا النوع من التفاعل أغلبها يتبع proteolytic clostridia مثل *Cl. butyricum* ، *Cl. botulinum* ، *Cl. aerofotidum* ، *Cl. acetobutylicum* ، *Cl. sticklandii* ، *Cl. histolyticum* ، *Cl. sporogenes* ، *Cl. caproicum* ،

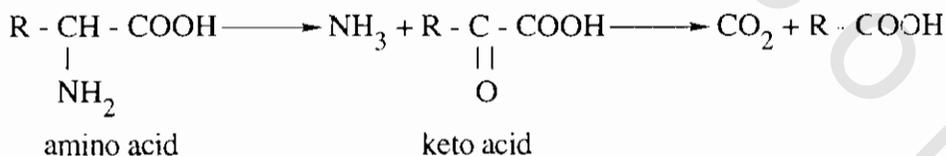
وتخشف ميكانيكية التفاعل طبقاً للأحماض المشاركة فيه فمثلاً الآين يتأكسد بينما الجيسين يختزل بينما في تفاعل آخر قد يختزل الآين. ولذا تقسم الأحماض الأمينية إلى ٣ مجاميع حسب مستوى أكسدة واختزال الأحماض الكيتونية المقابلة لها .

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 ، سيستين ، ميثونين ، أرجينين ، سترولين ، اورنيتين) .

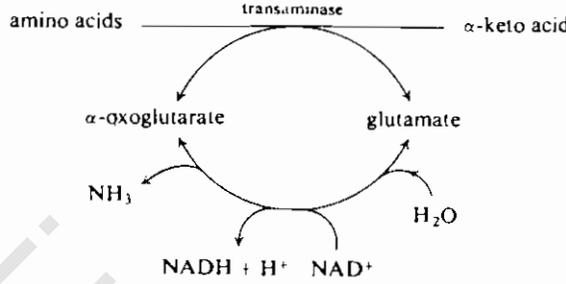
٣ - الأحماض الأمينية الأخرى ذات مستوى أكسدة أقل من keto acids - ∞ (هستدتين ، فينيل الآين ، تريوفان ، ثريوسين ، أسبارات ، جلوتاميك) .

ويتم أكسدة الأحماض الأمينية عبر الأحماض الكيتونية التي تحدث لها عملية نزع ك أم decarboxylation بعد ذلك .



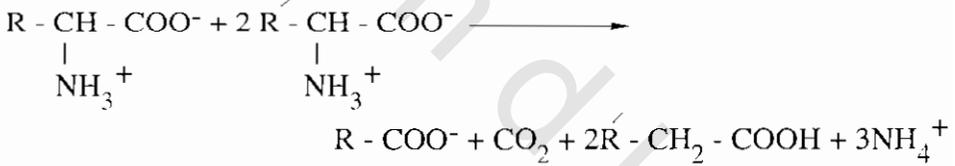
وأصبحت التفاعلات والتي لم تفسر تقنياتها بعد هي التي يشارك فيها أحماض المجموعة الأروية فوسن أما تفاعلات نزع الأمين بالأكسدة oxidative deamination مباشرة مثل glutamic dehydrogenation أو نقل مجموعة الأمين transamination يعقبها نزع مجموعة

الأمين بالأكسدة للحمض المتكون ويلاسر هذا التفاعل glutamic dehydrogenase (EC 1.4.1.2) . أما في ميكروب *Cl. saccharobutyricum* فإن أكسدة الآمين ، الفالين ، الليوسين لا تتم على حساب حمض أميني آخر ولكن على حساب أوكسوجلوتارات (حمض غير نيتروجيني) .

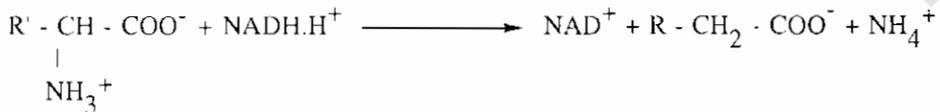


شكل (٩ . ٢٠) : تفاعلات de- and transamination في الميكروبات اللاهوائية

وقد وجد stickland سنة (1935) في مستخلص خلايا *Cl. sporogenes* التفاعل بين الجلوسين - 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 للالكترتون بملامسة إنزيم reductase .



والخطوة الأخيرة يمكن أن تكون مستقلة تماماً عن خطوة الأوكسدة الأولى . أما خطوة الأوكسدة فعلى العكس فهي تستخدم multi enzyme system كما في شكل ٩ - ٢١ الذي يوضح الميكانيكية العامة لتفاعل ستكلاند .

علماً بأن الإنزيمات الرئيسية الثلاث المشاركة في تفاعل ستكلاند هم :

١ - amino acid dehydrogenase system .

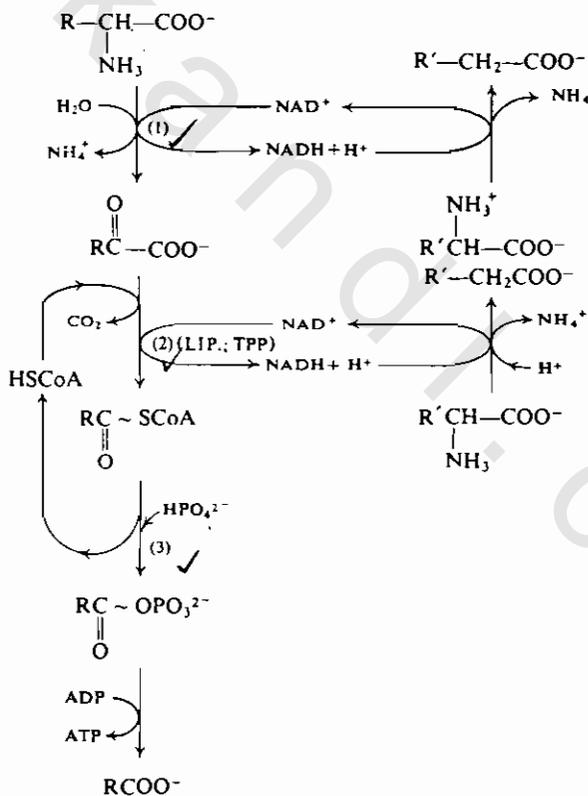
٢ - Keto acid dehydrogenase system - ∞ في وجود lipoamide ، TPP ،

HSCoA كعوامل مساعدة .

٣ - amino acid reductase system -

وتنتج الطاقة من تفاعلات phospho transferase عند مستوى مادة التفاعل مثل

phosphoacetyl ← acetate .



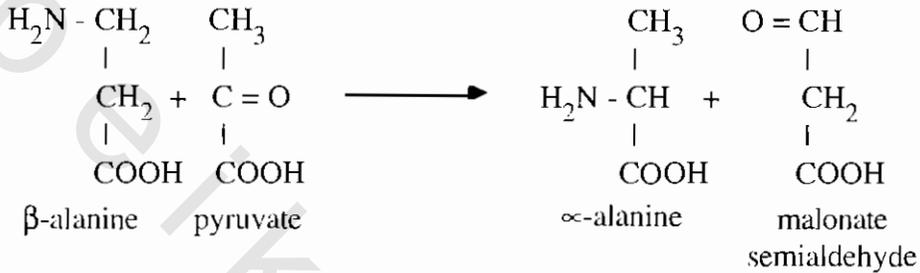
شكل (٢١.٤) : تفاعل ستكلاند Stickland والإنزيمات الرئيسية الثلاث المشاركة فيه

٣.٧.٩ تحولات الأحماض الأمينية مع أحماض كيتونية

١.٣.٧.٩ تحول الألانين alanine

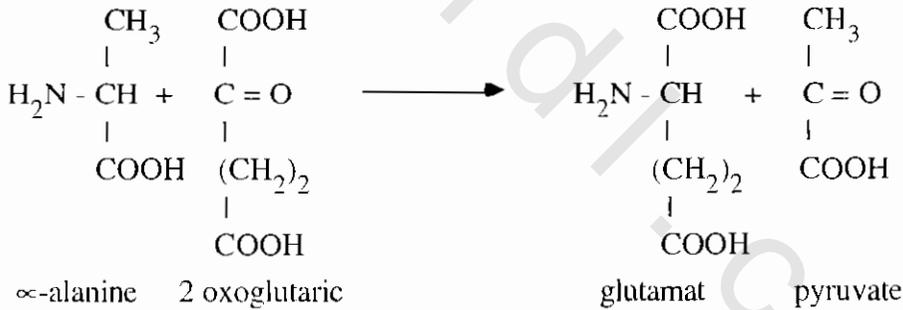
يستطيع ميكروب *Cl. propionicum* تحويل الألانين إلى البروبيونيك مستخدماً تفاعل ستكلاند وتلعب البيروفات دوراً وسطياً هاماً في دورة الهدم كما يلي :

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 :

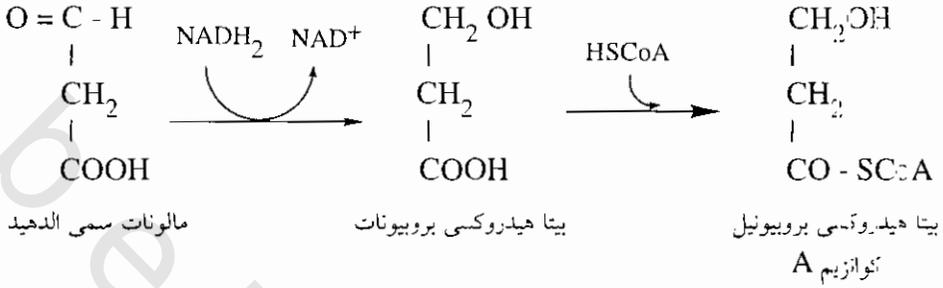
٢ - استعادة البيروفات وذلك بعملية نقل مجموعة الأمينو من الألفا الأين إلى ٢- أوكسو جلوتارات لتكوين البيروفات والجلوتاميك .



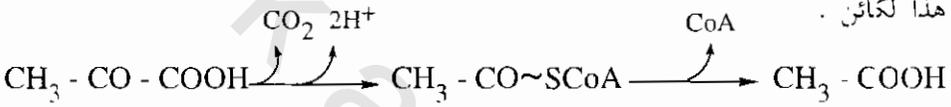
ثم أخيراً وفي وجود إنزيم glutamate DH (EC 1.4.1.2) تتأكسد الجلوتامات إلى أوكسوجلوتارات على حساب اختزال NAD^+ إلى NADH.H^+ وبذلك تكتمل الدورة الأولى من دورتي تحول β -alanine .

٣ - استعادة β -alanine وتكوين حمض البروبيونيك حيث تختزل NADH.H^+ الناتجة

من التفاعل السابق مركب «المالونات سمي الدهيد» إلى بيتا - هيدروكسي - برويونات و لانزيم المسئول هو hydroxy propionate dehydrogenase (EC 1.1.1.59) والمركب الأخير يتحول في وجود CoA إلى هيدروكسي برويونيل كوانزيم A .



وبلا نغظ أن CoA المطلوب لهذا التفاعل يأتي من تحلل البيروفات إلى أسيتات بواسطة هذا لكائن .



ويستخدم 2H^+ (من التفاعل السابق) في اختزال هيدروكسي برويونيل كوانزيم A إلى أكريلول، كوانزيم A والذي يسير في اتجاهين مختلفين .

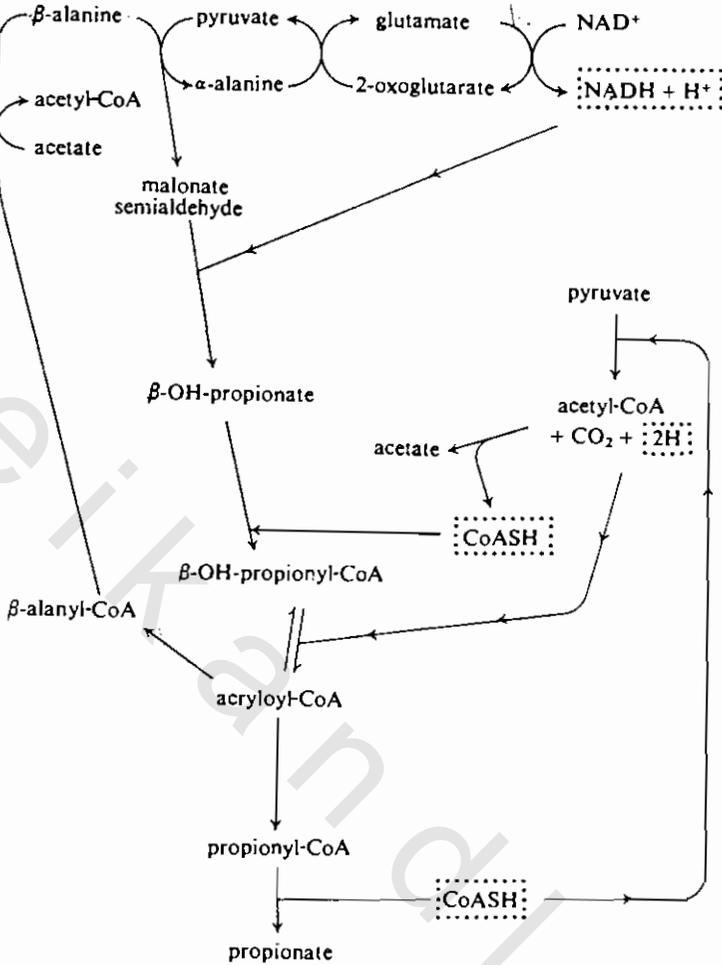
أ - تكوين بيتا - الأليل كوانزيم A (β-alanyl CoA) بمساعدة إنزيم aminase (EC 4.3.1.6) ومنه يستعاد β-alanine بواسطة عملية acylation (تكوين الأستيل إنزيم A) بملامسة إنزيم CoA - transferase .

ب- يتحول إلى برويونيل 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 .

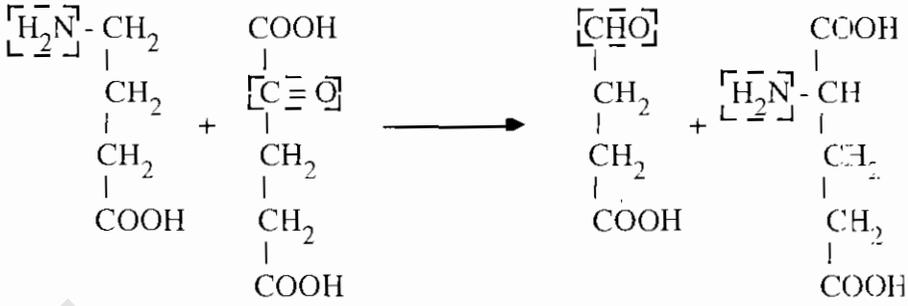
٢ - هدم dissimilation هيدروكسي بيوتيرات .



شكل (٩.٢٢) : تحولات الآمين 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 سكسينيك سمي الدهيد بملاسة إنزيم aminobutyrate aminotransferase (EC 2.6.1.19) كما يتضح من المعادلات التالية :



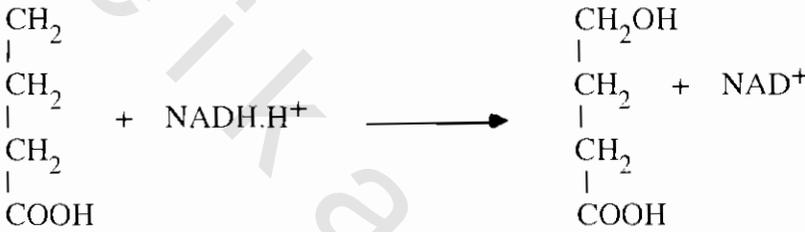
أمينوبيوتيرات

2-أوكسوجلوكونات

سكسينك سمي الدهيد

جلوتامات

ثم يختزل السكسينات سمي الدهيد إلى هيدروكسي بيوتيرات بواسطة إنزيم Hydroxy butyrate DH في وجود NADH.H^+ .

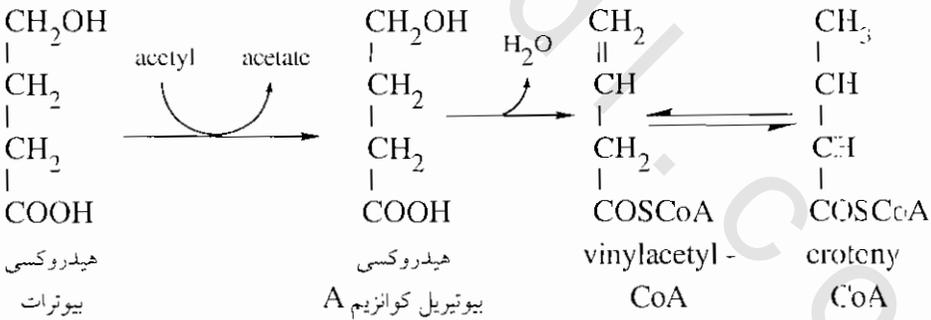


سكسينات سمي الدهيد

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 .



هيدروكسي بيوتيرات

هيدروكسي بيوتيريل كوانزيم A

vinylacetyl - CoA

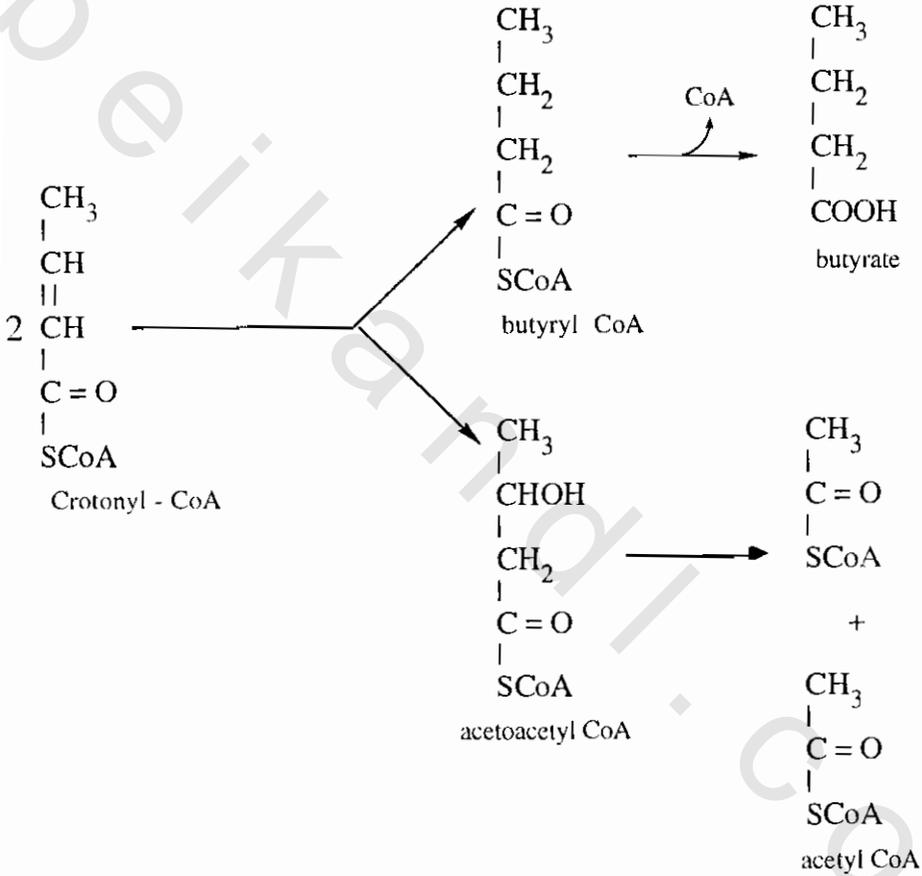
crotonyl CoA

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

1 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 يتفصل الأستيو أسيتيل كوانزيم A إلى ٢ مول أسيتيل كوانزيم A في وجود acetyl - CoA transferase (EC 2.3.1.9) ويعاد دخول أسيتيل 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 .



أسئلة للمراجعة

- ١ - ما 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 لفرق بين التحول المباشر وغير مباشر له ك أم إلى الأستات ؟
- ٦ - اشرح الأسباب الأساسية فى تقسيم Enterobacteriaceae إلى ٣ مجاميع رئيسية تبعاً لنتائج الاختبارات الإيضائية 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 الأستيتون .
- ١٢ - ما المقصود به 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 *E. coli* ، lactic bacteria ؟
- 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 الأرجينيين - جليسين - السيرين - الثيونين - الليسين .
- ٢٠- أذكر مثلاً لتحويل زوج من الأحماض الأمينية وآخر لتحويل أحد الأحماض الأمينية 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 diacetilactis*. *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, Stoffwechselfysiologie und Charakterisierung der Malic - Enzym - Aktivität L-Äpfelsäure - abhängeriger 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 formation 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. Lafourcude, 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- Sittman, 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 بنين، شمس فى يوليو ١٩٧٨ .
- * حصل على دكتوراه العلوم البيولوجية - تخصص ميكروبيولوجيا اراضى من جامعة دودنهيلم - شتوتجارت - المانيا فى يوليو ١٩٨٦ .
- * تدرج فى وظائف هيئة التدريس بقسم الميكروبيولوجيا بكلية زراعة عين شمس : معيدا (نوفمبر ١٩٧٤) - مدرس مساعدا (نوفمبر ٧٨) مدرسا (سبتمبر ١٩٨٦) استاذنا مساعدا (يناير ١٩٩٢) .
- * مبعوث، للحصول على الدكتوراه من المانيا الغربية فى الفترة من اغسطس ١٩٨١ إلى اغسطس 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 لابعاث 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 والبحث 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 .