

رابعاً : التفاعلات الإنزيمية الميكروبية

الدرس العملي الثامن عشر

دراسة النشاط الإنزيمي للبكتيريا

Study of Enzymatic Activity of Bacteria

• تحليل النشا Starch Hydrolysis:

جزئ النشا عبارة عن وحدات من الجلوكوز ترتبط مع بعضها في سلسلة مستقيمة أو متفرعة برابطة جليكوسيدية ، ونظراً لكبر حجم جزئ النشا ولعدم قابليته للذوبان في الماء فإن البكتيريا لا تستطيع استخدامه ، وهناك من الميكروبات ماله القدرة على إفراز إنزيمات الأميليز amylase (الذي كان يعرف سابقاً باسم إنزيم الدياستيز) التي تحلل جزئ النشا إلى نواتج هي الدكستريانات ، والمالتوز ، والجلوكوز . وتستخدم قدرة الميكروبات على تحليل النشا في تعريفها.



- لاحظ تكون هالة شفافة نتيجة تحليل النشا حول مستعمرة الميكروب المحلل للنشا (A) ، بينما بقية البيئة تظهر بلون أزرق (B)

• التحليل المائي للكازين Casein hydrolysis :

الكازين هو الجزء البروتيني الأساسي في اللبن ، وهو عبارة عن فوسفوبروتين، ويوجد الكازين في اللبن كمعلق غروي يعطى للبن اللون الأبيض غير الشفاف ، وتحلل بعض الميكروبات الكازين - من خلال عملية تسمى في بعض الأحيان الببتنة - peptonization إلى مشتقات قابلة للذوبان وأكثر شفافية من الكازين ، ويتم ذلك بإفرازها للإنزيمات المحللة للكازين . ويفيد التعرف على قدرة ميكروب ما على تحليل الكازين في تعريف هذا الميكروب.



- لاحظ وجود منطقة رائقة حول النمو الميكروبي نتيجة لتحليل الكازين

• التحليل المائي (الإسالة) للجيلاتين (Gelatin liquefaction) :

- الجيلاتين عبارة عن مادة بروتينية ، تحضر من الكولاجين Collagen (أحد مكونات النسيج الضام والأوتار في الحيوانات). ويتحلل الجيلاتين - ومن ثم يفقد قدرته على التصلب ويصبح سائلاً - بواسطة إنزيم الجيلاتينيز gelatinase الذي تفرزه كثير من الميكروبات خارج خلاياها، وفي العادة يعتبر الميكروب المحلل للجيلاتين محلل للبروتين proteolytic. وعموماً يفيد إختبار تحليل الجيلاتين في تعريف الميكروبات.



- لاحظ تجمد الجيلاتين في الأنبوبة العليا نتيجة عدم قدرة الميكروب على تحليله ، بينما يلاحظ إسالته في الأنبوبة الثانية لقدرة الميكروب على التحليل

• التحليل المائى للدهون Lipids Hydrolysis :

تستطيع بعض الميكروبات تحليل الدهون مثل الجليسيريدات الثلاثية triglycerides إلى أحماض دهنية وجليسرول ، وذلك لإفرازها إنزيم الليبيز lipase ، وينتج عن ذلك ترنخ الزيوت والدهون وفسادها حيث يؤدي تكون الأحماض الدهنية إلى ظهور الطعم والرائحة التزنخية ، ولذلك يجب العمل على تجنب وجود مثل هذه الميكروبات فى المواد الدهنية المحفوظة باختلاف أنواعها . ويهدف هذا التدريب إلى التعرف على بعض الميكروبات وتشخيصها من خلال قدرتها على تحليل الدهون من عدمه.

• التحليل المائي للسليولوز Cellulose Hydrolysis :

جزئ السليولوز عبارة عن وحدات عديدة من الجلوكوز (β -glucose)، وعند إرتباط وحدتين من سكر الجلوكوز يتكون سكر السلوبيوز cellobiose، ثم بارتباط وحدات سكر السلوبيوز معاً يتكون جزئ السليولوز، وتحلل بعض الميكروبات السليولوز في خطوتين، أولاً إلى سلوبيوز، وثانياً إلى الجلوكوز طبقاً للمعادلة الآتية:

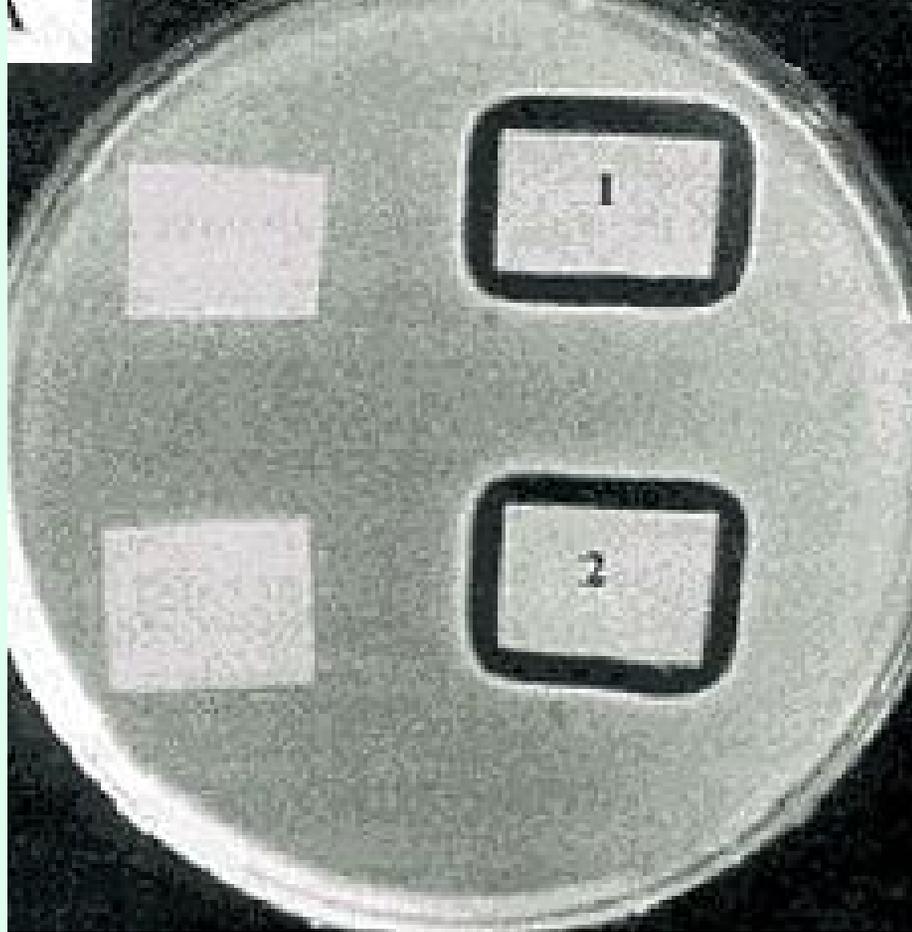
سليولوز ← سلوبيوز ← ٢ وحدة جلوكوز

وتقسم الميكروبات المحللة للسليولوز إلى :

١- ميكروبات هوائية aerobes (تحلل السليولوز إلى جلوكوز ثم CO_2 و H_2O وأنشطها ميكروب *Cytophaga sp.*).

٢- ميكروبات لا هوائية anaerobes (تحلل السليولوز إلى أحماض عضوية و CO_2 و H_2O و CH_4 ومن أمثلتها ميكروب *Cl. dissolvans*).

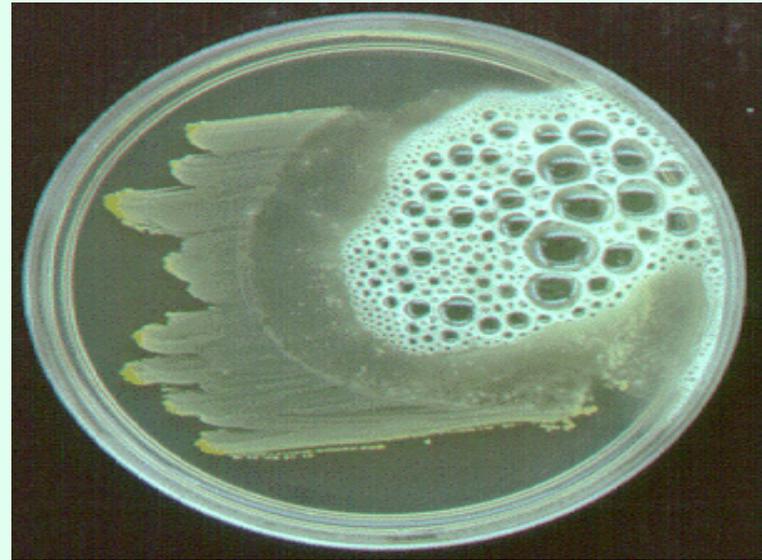
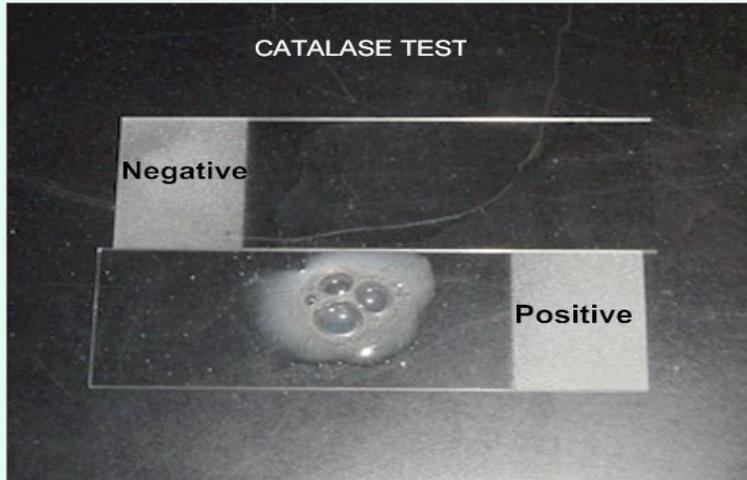
تحليل السليلوز هوائياً



- لاحظ ظهور تآكل في ورق الترشيح نتيجة تحلل السليلوز هوائياً

• الكشف عن إنزيم الكاتاليز :Catalase test:

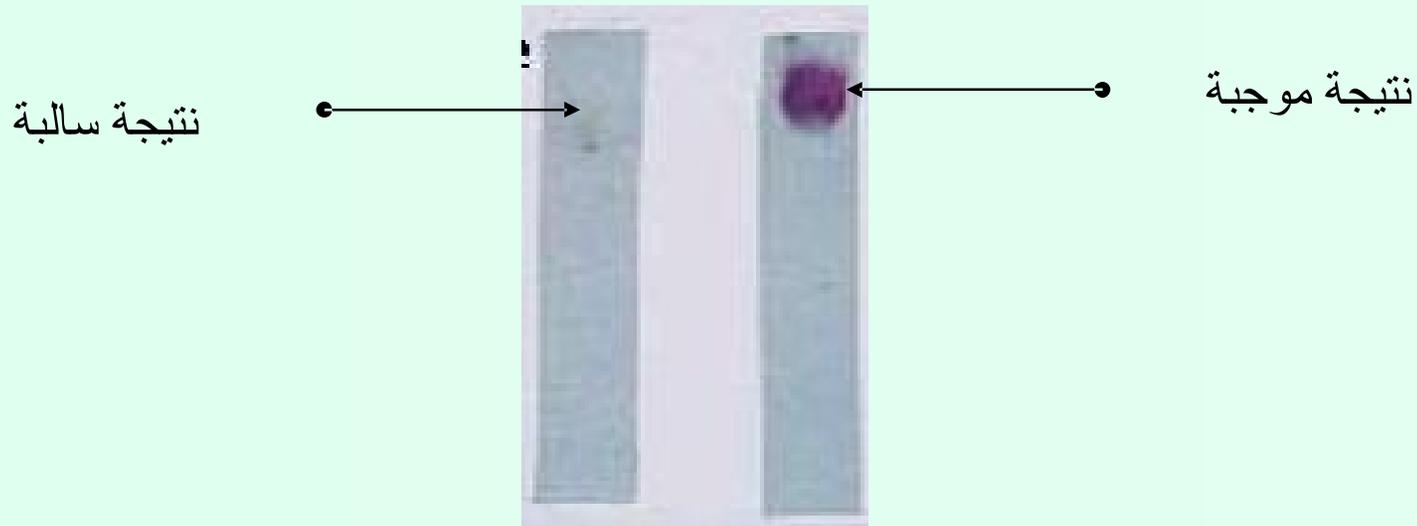
تحتوى الميكروبات الهوائية على إنزيم الكاتاليز ، وهو أحد إنزيمات التنفس، والذي يحفز تفاعل تحلل فوق أكسيد الهيدروجين H_2O_2 مع تحرير الأوكسجين ، كما فى التفاعل التالى :



- لاحظ تصاعد فقاعات بيضاء من غاز الأوكسجين
في حالة الميكروبات المنتجة لإنزيم الكاتاليز

• الكشف عن الأوكسيداز Oxidase test:

تستطيع بعض الميكروبات أكسدة بعض الأمينات العطرية مثل مركب P-aminodimethylaniline حيث تكون نواتج نهائية ملونة ، وتعتمد عملية الأكسدة هذه على نشاط إنزيم السيتوكروم أوكسيداز في هذه الميكروبات، ويفيد إختبار الأوكسيداز في تمييز البكتيريا المعوية (عائلة *Enterobacteriaceae*) والتي بصفة خاصة تتميز بأنها سالبة لإختبار الأوكسيداز ، وكذلك يفيد في عملية تعريف البكتيريا بصفة عامة.



- لاحظ ظهور اللون البنفسجي المزرق دليلاً على أن النتيجة موجبة في الجهة اليمنى ، بينما يغيب هذا اللون في حالة النتيجة السالبة على اليسار

يمكنك زيارة المواقع التالية على الشبكة الدولية للإتصالات

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

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

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

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

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