

الباب الثامن

التنفس الهوائى
تحولات الهيدروكربونات

Hydrocarbons metabolism

obeikandi.com

بعض المواد الكيميائية الثابتة والمعقدة التركيب مثل البارفينات ، الزيوت المعدنية ، المشتقات البترولية والمطاط يمكن أن تتحلل بيولوجياً. وعمليات هدم الهيدروكربونات عموماً هي عمليات أكسدة .

وتستخدم بعض الميكروبات المحللة للمركبات الهيدروكربونية مواد تفاعل مساعدة Co-substrates كمصدر للطاقة وفي نفس الوقت تؤكسد الهيدروكربونات أكسدة غير كاملة (خطوة أو خطوتين) وهذه الميكانيكية تسمى Co-oxidation أو Co-metabolism للهيدروكربونات وأهم أمثلتها التخلص من المخلفات الصناعية في محطات معالجة مياه الصرف باستخدام الحمأة المنشطة activated sludge .

وعموماً يتكون أثناء تحول الهيدروكربونات الأحماض الدهنية والتي تتعرض لعمليات أكسدة إضافية بطرق مختلفة (ألفا ، بيتا ، أوميغا) .

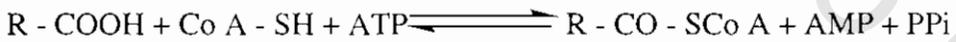
١.٨ طرق أكسدة الأحماض الدهنية

١.١.٨ الأكسدة من النوع ألفا - oxidation

وهي تحدث في الوضع أو ذرة الكربون رقم ٢ من السلسلة ونتيجة هذا التفاعل هو ك أ من الحمض الدهني معطياً odd - numbered fatty acid . والميكانيكية الحقيقية لهذا التفاعل ليست معروفة .

٢.١.٨ الأكسدة من النوع بيتا - oxidation

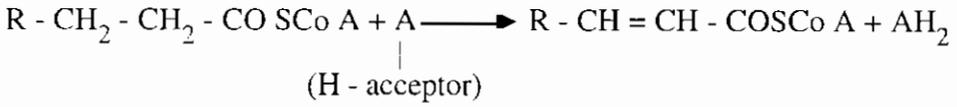
هذا النوع من الأكسدة هو الشائع والأكثر دراسة في الأحماض الدهنية وينتج عنه وحدات من الأسيتات (C₂) . والخطوة الأولى فيه هي عملة تنشيط الحمض الدهني بواسطة نقله transformation إلى Co A - thioester المقابل وذلك بلامسة إنزيم acyl - Co A synthetase (EC 6.2.1.3) .



وأشهر الأمثلة هو تكوين أسيتيل كوانزيم A ، برويونيل كوانزيم A .

أما الأحماض الدهنية ذات السلسلة الطويلة المشبعة فتتحول إلى :

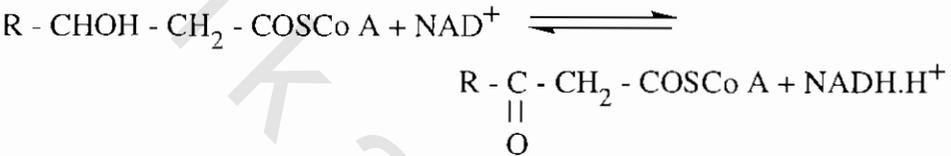
١ - الصورة الغير مشبعة بواسطة (EC 1.3.99.3) acyl. Co A dehydrogenase



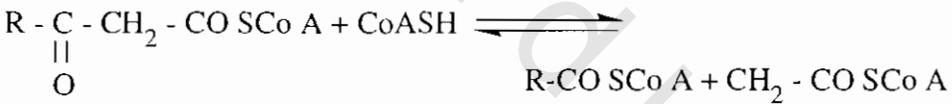
٢ - المركب الناتج (fattyacyl - Co A الغير مشبع) تحدث له عملية هدرجة بواسطة β - hydroxy acyl-Co A hydratase مكوّنًا β - hydroxy acyl-Co A للحمض الدهني المستخدم :



٣ - المركب الأخير يتأكسد بواسطة hydroxyacyl - Co A:NAD oxidoreductase بواسطة β - keto acyl - Co A ester إلى المقابل (EC 1.1.1.35) :



٤ - وأخيرًا يحدث تفاعل أنشقاقي thiolytic cleavage للمركب β - keto acyl ويتكون أسيتيل كوانزيم A ويقوم إنزيم thiolase (EC 2.3.1.16) بملامسة التفاعل :



٣.١.٨ الأكسدة من النوع (ميجا) oxidation - ω

ويتضمن تحول الحمض الدهني إلى مركباته الهيدروكسيلية والتي تتأكسد بعد ذلك إلى أحماض دى كربوكسيلية (ثنائية الكربوكسيل) وهذا النظام يحتاج استخدام نظام انتقال الالكترونات بالذات مع Cyt. P-450 أو Thioredoxin أو Cyt. C reductase المرتبط بـ NADP^+ يلاحظ هذا النوع من الأكسدة كنظام ذو وظائف متعددة أثناء تحول الهيدروكربونات .

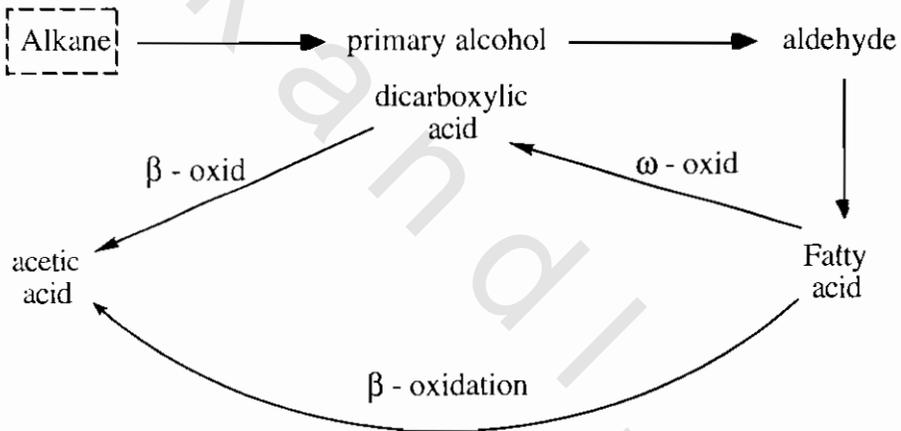
٢.٢.٨ الأكسدة من الطرفين Diterminal oxidation

قليل من البكتيريا تهاجم كلا نهايتي السلسلة مثل *Ps. aeruginosa* النامية على 2 - methyl hexane وينتج خليط من الأحماض .



ومازال هناك اعتقاد أن الميكروب يهاجم طرف واحد ثم الطرف الثاني وليس الطرفين في وقت واحد .

وسواء كانت الأكسدة من طرف واحد أو طرفين فإن الهجوم يقع على مجموعة الميثيل ويؤدي لتكوين الكحول المقابل ثم الألدريد ثم الحمض الدهني والأخير يتحلل بواسطة ω - ، β - oxidation .



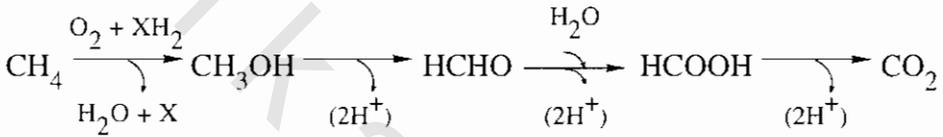
وعموماً فإنه يلزم لأكسدة مجموعة الميثيل وجود مجموعتين مختلفتين من المرافقات الانزيمية:

- في *pseudomonads* بواسطة rubredoxin كمنشط لـ O_2 .
- في *Corynebacterium* بواسطة Cyt. P-450 .
- أما أكسدة مجموعة الميثيلين فتحتاج بلا شك Cyt. P-450 .

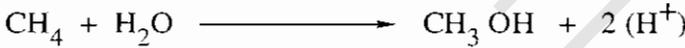
٣.٢.٨ أكسدة الميثان Methane oxidation

لا يُنظر للبكتريا التي تستخدم الميثان - كمصدر للكربون والطاقة - كأحد البكتريا المحللة للهيدروكربونات ولكن كمجموعة متخصصة جداً من البكتريا تستخدم المركبات. وحيدة الكربون . وتضمها مجموعة methylophilic bacteria التي تستخدم ايضا الميثانول ، الأحماض الأمينية الميثيلية ، داي ميثيل أستر ، الفورمالدهيد ، الفورمات بجانب الميثان وهي تقع في عدة أجناس مثل *Methylobacter* ، *Methylococcus* ، *Methylophilus* وتتميز بعدم قدرتها على اسخدام السكريات ، الأحماض العضوية أو الكحولات .

كيفية الحصول على الطاقة : تؤكسد الميكروبات الميثان إلى الميثانول ثم الفورمالدهيد ثم الفورمات وأخيراً إلى ك⁺ طبقاً للمعادلة .



والخطوة الأولى (أى أكسدة الميثان إلى ميثانول) تتضمن دخول جزئى أكسجين غازى (ليس من الماء) فى التفاعل وذلك فى وجود إنزيم methane oxygenase بينما XH_2 هو العامل المختزل . وهى تختلف عن التصور السابق بوجود hydroxylase الذى يتضمن دخول الماء فى تفاعله :



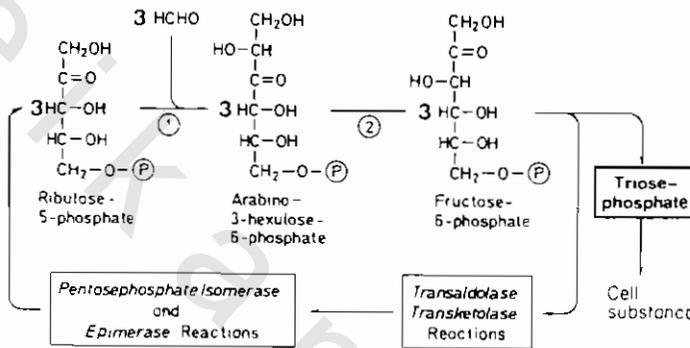
حيث لم يعزل بعد أحد من إنزيماته .

والخطوة الثانية (أكسدة الميثانول إلى الفورمالدهيد) ثبت أنها لا تعتمد على الكتاليز ولكن تتم بواسطة methanol dehydrogenase الذى يستخدم أحد مشتقات Pteridine (methoxatin) كمجموعة مرافقة بدلاً من الفلافوبروتين وتركيبه عبارة عن (PQQ) pyrroloquinoline quinone .

أما الخطوة الثالثة (أكسدة الفورمالدهيد إلى الفورمات) فتتم فى وجود إنزيم formaldehyde dehydrogenase مرتبط بـ NAD^+ (EC 1.2.1.1) ويحتاج إلى الجلوتاثيون المختزل (GSH) .

أما الخطوة الأخيرة (أكسدة الفورمات إلى ك أ₃) فتلامس بواسطة إنزيم *formate dehydrogeuase* (EC 1.2.1.2) مرتبط بـ NAD^+ .

تخليق مادة الخلية : يبدأ من الفورمالدهيد حيث يثبت من خلال دورة ريبولوز مونوفوسفات وخلالها يتحد الفورمالدهيد مع الريبولوز - 5 فوسفات مكوناً - 3 - arabino - phosphate (في وجود إنزيم *hexulose - 6 - P synthase*) والذي يتحول إلى الفركتوز - 6 - فوسفات (بملاسة *hexulose - 6P isomerase*) والآخر يعاد تحويله إلى البنتوزفوسفات كما في دورة كالفن .

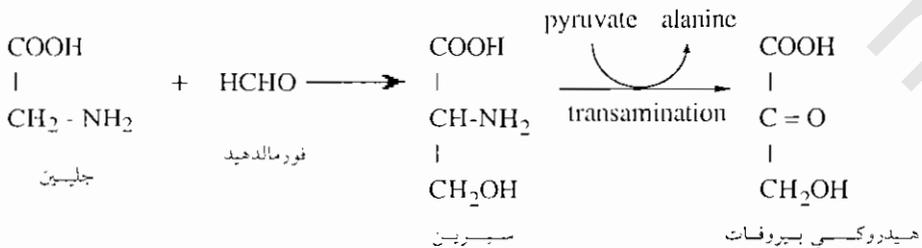


شكل (١.٨) : دورة الريبولوز مونوفوسفات لتثبيت الفورمالدهيد

نقلًا عن Strom et al. 1974

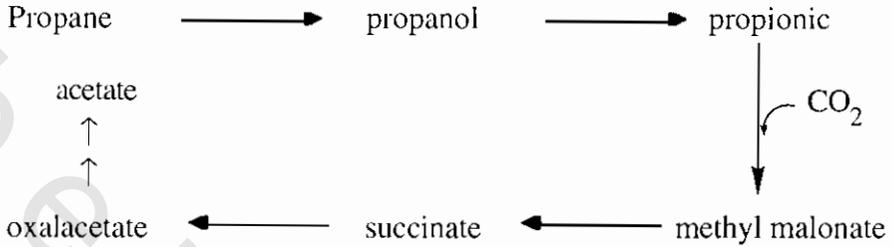
تمثيل المركبات C₂ من خلال دورة السيرين

تمت الدراسة في وجود ميكروبي *Hyphomicrobium X. . Pseudomonas M. A.* حيث يستقبل الجلوسين المركب أحادي الكربون - الفورمالدهيد - ويتكون السيرين بملاسة إنزيم *Serine hydroxymethyl transferase* (EC 2.1.2.1) ثم تحدث خطوة نقل مجموعة الأمين بين السيرين والبيروفات ويتكون الهيدروكسي بيروفات :

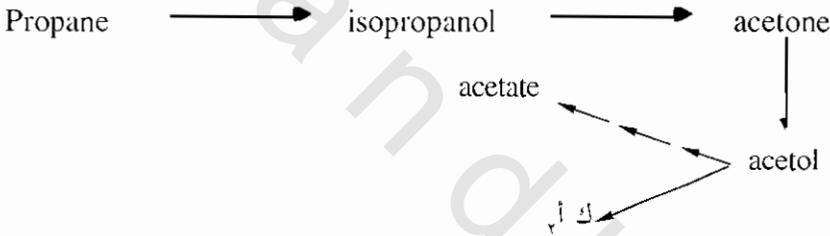


٤.٢.٨ أكسدة البروبان Propane oxidation

ويتم ذلك عن طريق الأكسدة الطرفية حيث يتأكسد البروبان إلى البروبانول ثم إلى البروبيونيك. وفي وجود *Brevibacterium sp. JOB 5* يمكن تحويل البروبيونيك إلى الأسيئات عبر ميثيل مالونات والسكسينات .



وفي دراسة باستخدام إنزيم isocitrate lyase لوحظ أن البروبان لا يتأكسد حتى بالطريق الطرفي ولكن عبر أيسوبروبانول والاسيتون إلى الأسيول ومنه إلى الأسيئات ، ك^٤ . ووجود الأسيئات يشجع تكوين الإنزيم السابق .



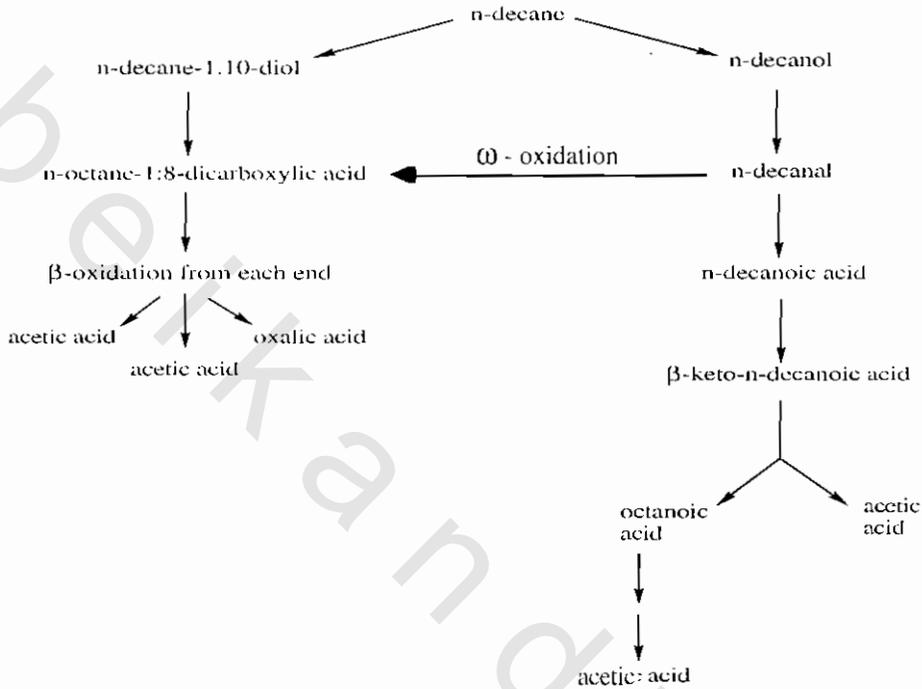
٥.٢.٨ أكسدة الديكان n - Decane oxidation

يتأكسد n. Decane بواسطة *Mycobacterium rhodochrous* وبعض أفراد Pseudomonads إلى n-Decanol والذي يتحلل في وجود alcohol & aldehyde dehydrogenases إلى حمض n-Decanoic ثم يحدث β - oxidation والناتج النهائي حمض الخليك وهناك دورة بديلة يحدث فيها ω - oxidation ، ∞ أولاً للديكان حيث يتكون المركب الوسطى أوكتان ١ : ٨ ثنائي الكربوكسيل ثم يتبعها β - oxidation له حتى مستوى حمض الخليك والاكساليك .

وكلا الدورتين يمكن أن يلتقيا معاً بالأكسدة (نوع أوميغا) للمركب ديكانول مكوناً

أوكتان ١ : ٨ ثنائي الكربوكسيل كما بالرسم التالي (شكل ٨-٣)

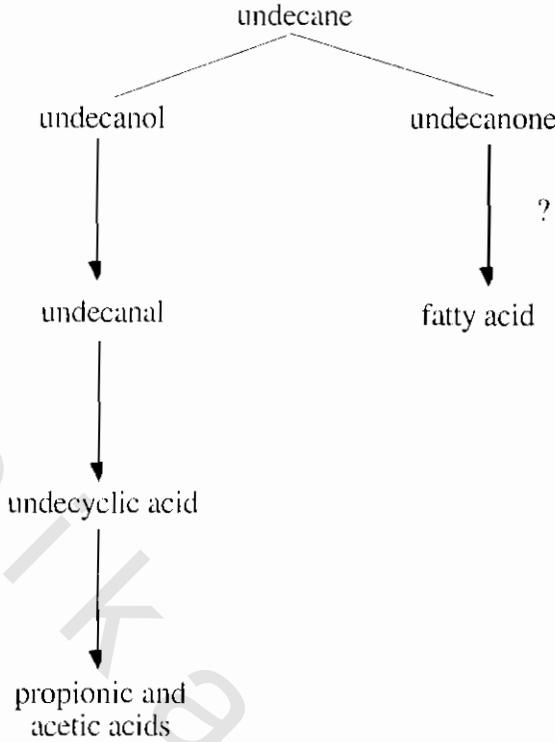
وطبيعة الناتج النهائي تعتمد على الألكان إذا كان فردي (add) أو سلسلة . فلاكسدة (بيتا) للألكان من النوع odd بعد الوصول إلى الحمض الدهني تعطى أسيتات وبرويونات في β -oxidation أو أسيتات ومالونات في α -oxidation ومازالت هناك دراسات على الديناميكية الحرارية لهذه العمليات .



شكل (٣.٨) : أكسدة n - Decane بواسطة الميكروبات

٦.٢.٨ أكسدة المركبات الغير ديكانيّة Undecane oxidation

يستطيع ميكروب *Pseudomonas sp. H* المعزول من بحر الشمال بواسطة killinger (1970) وهو متحمل للملوحة العالية أكسدة الهيدروكربونات (Undecanes) وذلك بالأكسدة الطرفية يتبعها β -oxidation والناتج النهائي أحماض الأسيك والبرويونيك . وهناك أكسدة تحت طرفية ينتج عنها undecanome ومازالت تحولاته إلى الأحماض الدهنية غير معلومة (شكل ٨-٤ التالي) .



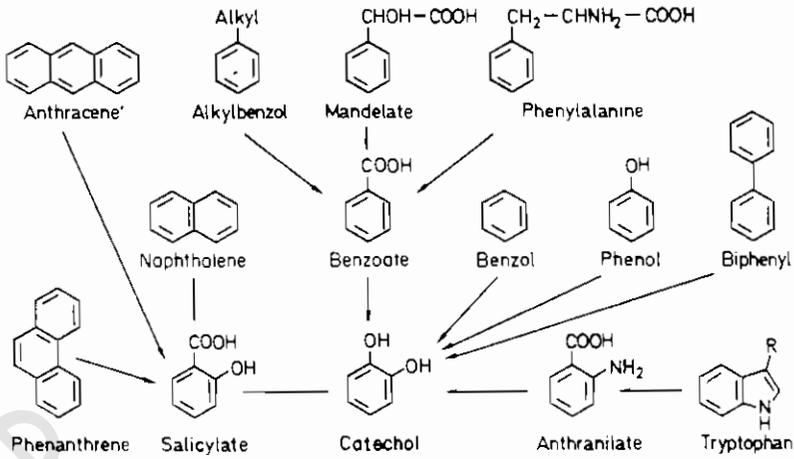
شكل (٤.٨) : أكسدة مركبات undecane

٣.٨ أكسدة الهيدروكربونات الحلقية Aromatic Hydrocarbons

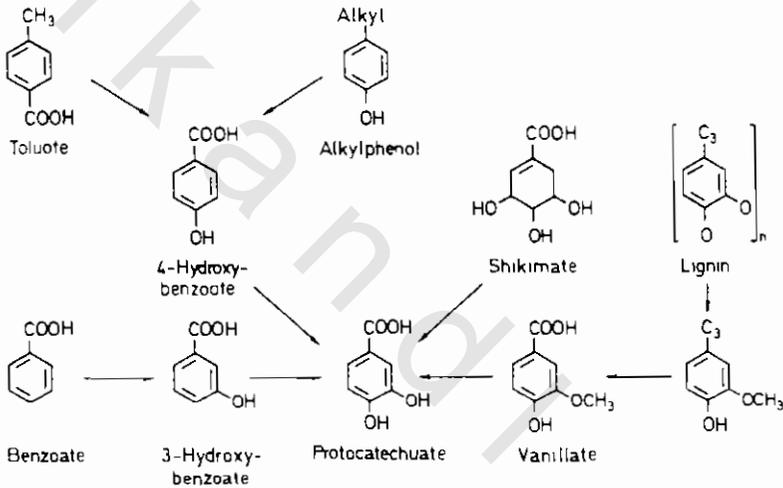
حظيت أكسدة وهدم الهيدروكربونات الحلقية باهتمام كبير في العقود الأخيرة وبرغم ازدياد المعلومات المتاحة من تحولات المركبات الحلقية إلا أن الأمر اقتصر على عدد محدود من البكتريا وبالذات التابعة لجنس *Pseudomonas* وتشير الأبحاث الحديثة إلى إمكانية هدم المركبات الحلقية تحت الظروف اللاهوائية ولكن ميكانيكية ذلك لم تتضح بعد .

١.٣.٨ الإعداد لكسر الحلقة Preparation of ring cleavage

تتحول أغلب الهيدروكربونات الحلقية بالأكسدة إلى واحد من مركبين وسطين أساسيين قبل كسر الحلقة وهما Protocatechuate ، Catechol ، كما بالرسم التالي :

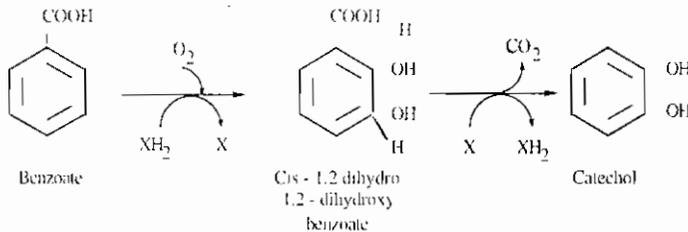


شكل (٥.٨) : طرق هدم المركبات الأروماتية المؤدى إلى Catechol

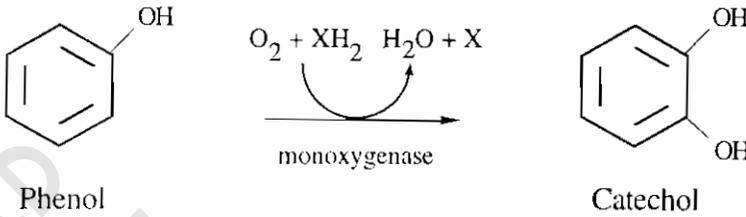


شكل (٦.٨) : طرق هدم المركبات الأروماتية المؤدى إلى protocatechuate

وفي كل الأحوال فإن مجموعة الهيدروكسى تدخل إلى الحلقة . ويمكن تفسير تكوين مركب Catechol (٣,١ دى هيدروكسى بنزين) اللازم قبل كسر الحلقة كما فى المعادلة التالية :



ويلازم هذا التفاعل إنزيم benzoate 1,2 dioxygenase (EC 1.13.99.2) حيث يدخل جزئ O_2 أولاً إلى الحلقة ويعقب ذلك عمليتي نزع الأيدروجين ونزع ك هـ ليتكون الكاتيكول. أما المركبات الفينولية فيلازمها إنزيم phenol - 2 - monooxygenase حيث تدخل إحدى ذرتي O_2 للحلقة والأخرى تختزل إلى الماء .



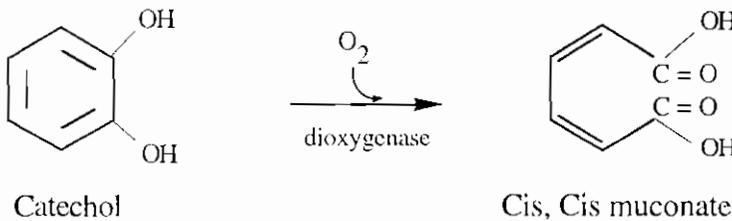
والمجاميع الاستبدالية الموجودة على الحلقة الأروماتية يتم التخلص منها عادة - ولكن ليس دائماً - قبل كسر الحلقة فمثلاً مجاميع النيترو ، السلفونات ، الكلورو يحل محلها مجموعة هيدروكسى. أما السلاسل الجانبية الأليفاتية فيمكن تقصيرها أو حتى التخلص منها بعدة طرق أو تظل على اتصالها بالحلقة .

٢.٣.٨ كسر الحلقة Ring cleavage

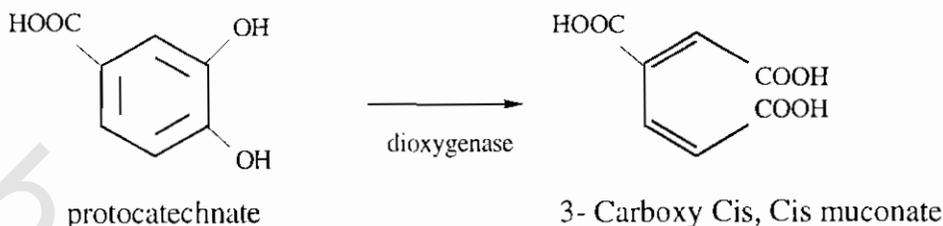
يلازم كسر الحلقة إنزيم dioxygenase الذى يقوم بإدخال جزئ O_2 للحلقة ويحدث ذلك الكسر بأحد طريقتين :

Ortho or intradiol cleavage (I)

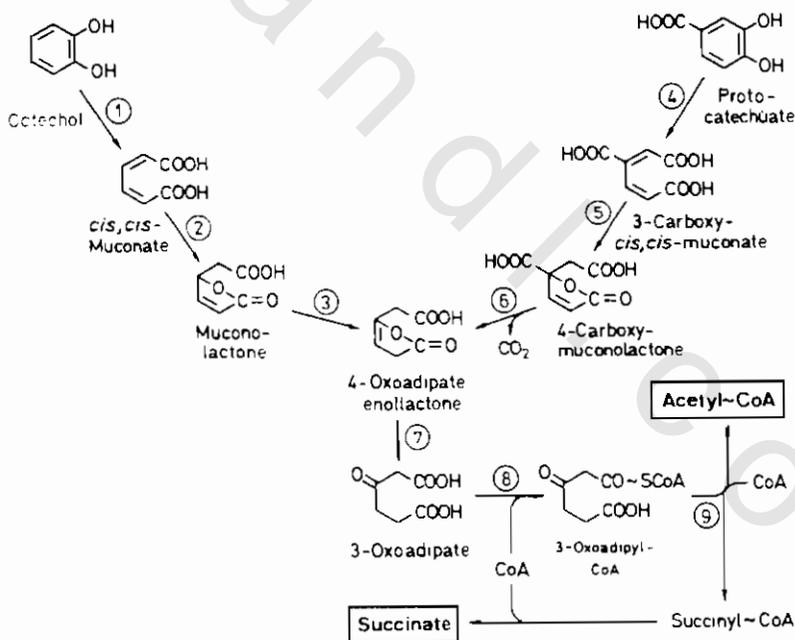
وأهم الميكروبات التي تقوم به *Ps. putida* ، *Acinetobacter calcoaceticus* ، *Alcaligenes eutrophus* ويحدث الكسر بين ذرتي كربون متجاورتين عليهما مجموعتي هيدروكسى وينشق Catechol بواسطة إنزيم Catechol - 1,2 - dioxygenase (ortho - pyro - catechase) (EC 1.13.11.1) .



أما مركب Protocatechuate فينشق في وجود إنزيم - 3,4 - protocatchuate dioxxygenase (EC 1.13.11.3) مكونا ٣ - كربوكسى cis, cis ميكونات كمايلي .



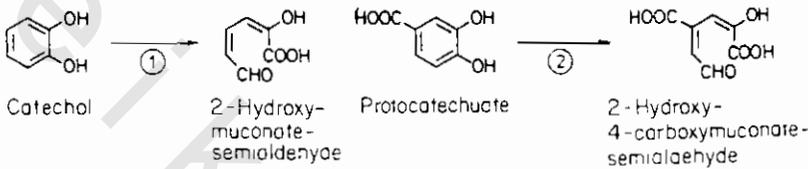
وكلا المركبين الناتجين من كسر الحلقة يواصلان تحولهما عبر المركب الوسطى المعروف 3- oxoadipate والأخير ينشط بواسطة Co A - transferase وينقسم إلى سكسينيل كوانزيم A ، أسيتيل كوانزيم A اللذان يدخلان في الدورات المعروفة مثل TCA . ويمكن تلخيص تفاعلات كسر الحلقة الأروماتية بطريقة ortho وتحولات 3- oxoadipate pathway في الرسم التالي :



شكل (V. A) : كسر الحلقة بطريقة ortho-cleavage وتحولات 3-oxoadipate pathway

Meta or extradiol cleavage (II)

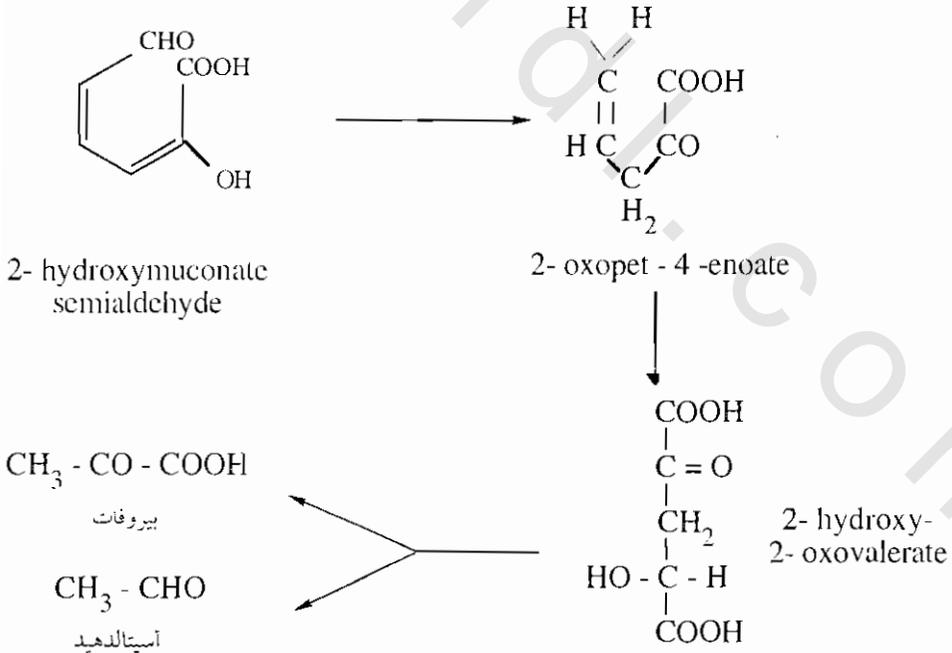
يحدث الكسر بين ذرة كربون عليها مجموعة هيدروكسي وأخرى مجاورة لها لا تحمل مجموعة هيدروكسي ويلاصق التفاعل بواسطة dioxygenases والمركب الناتج من الكاتيكول هو ٢ - هيدروكسي - ميكونات سمي الدهيد والإنزيم المسئول هو Catechol - 2,3 - dioxygenase (meta pyrocatechase) . أما المركب الناتج من protocatechuate فهو ٢ - هيدروكسي - ٤ - كربوكسي ميكونات سمي الدهيد وذلك بملاسة إنزيم protocatechuate 4,5 dioxygenase (EC 1.13.11.8) .



شكل (٨.٨) : كسر الحلقة بطريقة meta cleavage

ومشتقات الميكونات سمي الدهيد الناتجة تدخل في الدورات المعروفة عبر البيروفات

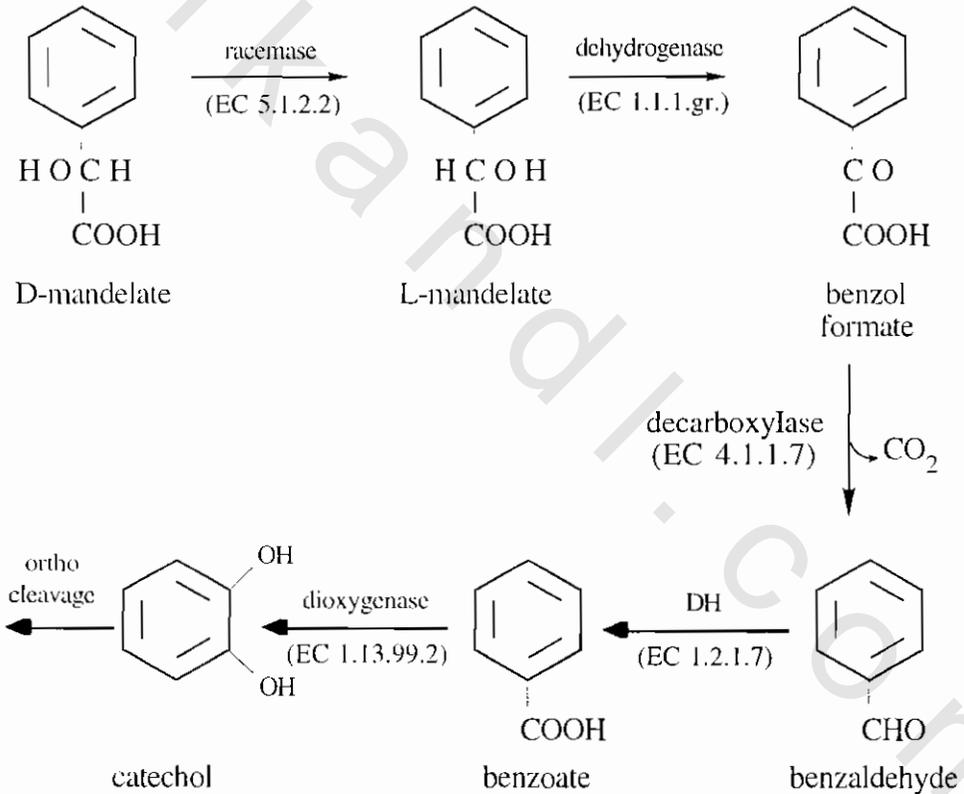
والأستالدهيد كما يلي :



وتحديد إفراز الإنزيمات المستولة عن الانشقاق سواء ortho أو meta تلعب الظروف البيئية النامي فيها الميكروب وكذا مرحلة النمو البكتيري دوراً هاماً فيه . وفي بعض pseudomonads يرتبط هدم المركبات الحلقية عبر catechol بكسر الحلقة بطريقة ortho بينما المهذومة عبر protocatechuate يستخدم طريقة meta لكسر الحلقة ولكن لا يعتبر ذلك تعميماً .

٣.٣.٨ تحول D - Mandelate

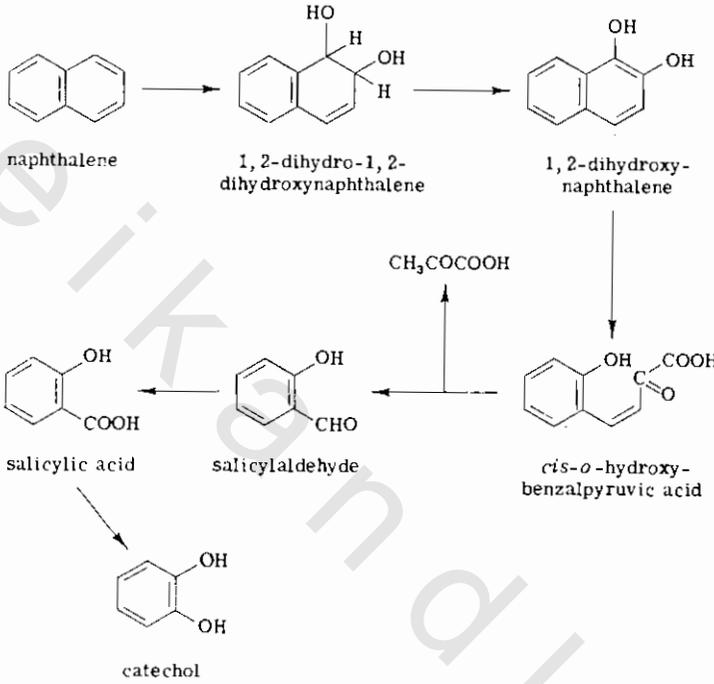
يدخل هذا المركب في سلسلة من تفاعلات الهدم حتى يصل إلى Catechol والذي يدخل بدوره في ortho cleavage وينتهي بتكوين β - ketoadipate ومنه إلى الأستيل كوانزيم A والسكسينات .



شكل (٩.٨) : تحولات D-mandelate لتوضيح ortho - cheavage حلقة البنزين

٤.٣.٨ تحول النفثالين Naphthalene

لوحظ ذلك فى عدد من ميكروبات التربة مثل *Psudomonas denitrificans* ، *Achromobacter sp.* ، *Ps. fluorescens* . ويمثل salicylate ، catechol المركبات الوسطية فى سلسلة هدم حلقتى النفثالين .



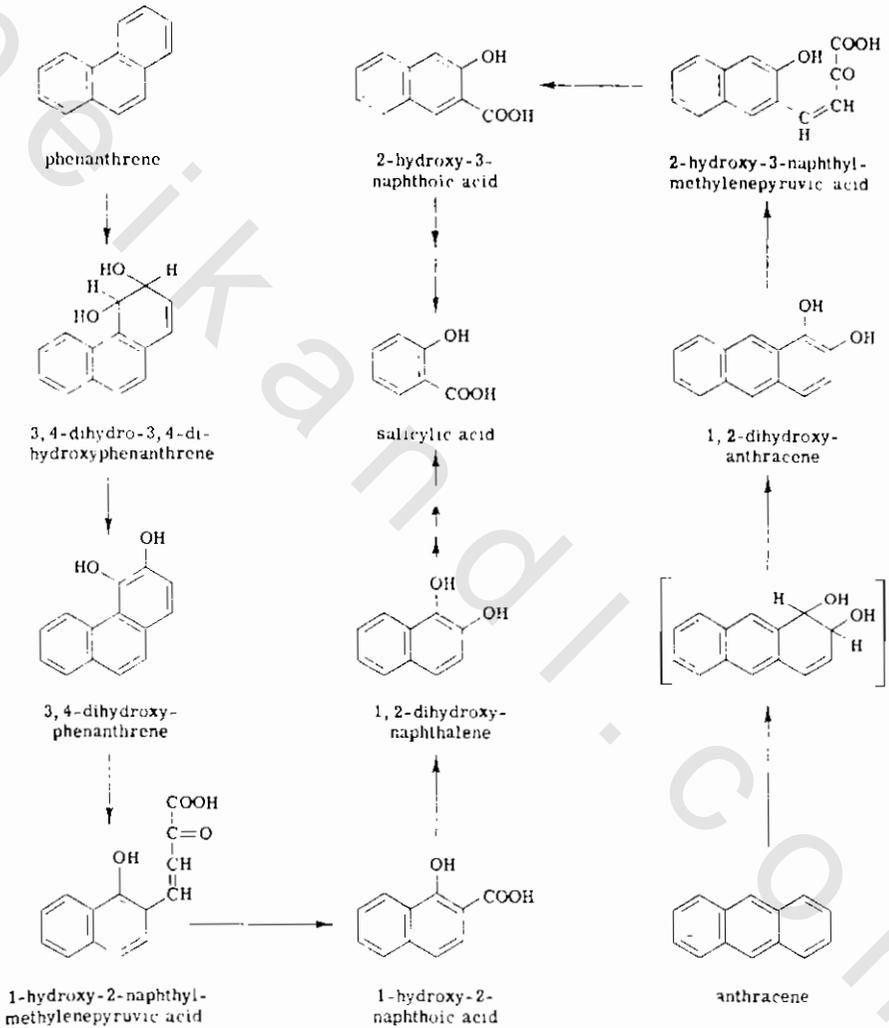
شكل (٨. ١٠) : أكسدة النفثالين بواسطة Pseudomonads

نقلًا عن Davis & Evans سنة ١٩٦٤

والخطوة الأولى هى أكسدة النفثالين إلى ١,٢ دى هيدروكسى نفثالين وعند هذا المستوى تنكسر الحلقة الأولى ويتكون Cis - o - hydroxy benzal pyruvate الذى ينشق إلى ساليسيل الدهيد + البيروفات فى وجود aldolase . وبعملية أكسدة يتحول الأخير إلى حمض السليسيليك الذى يحدث له عملية نزع ك^٢ مصحوبة بالأكسدة ويتحول إلى كاتيكول ويلاصق الخطوة الأخيرة إنزيم Sulicylate 1-mono oxygenase (EC 1.14 . 13.1) ويتحول الكاتيكول إلى β - keto adipate ويكمل تحوله كما سبق .

anthracene & phenanthrene ٥.٣.٨

وهما مركبان ثلاثى الحلقات تستطيع ميكروبات *Flavobacterinm* sp. هدمها بكسر الحلقات واحده وراء الأخرى فى نظام يشبه أكسدة النفتالين السابق ويلعب حمض السيليسليك دور المركب الوسطى فى عملية الهدم .

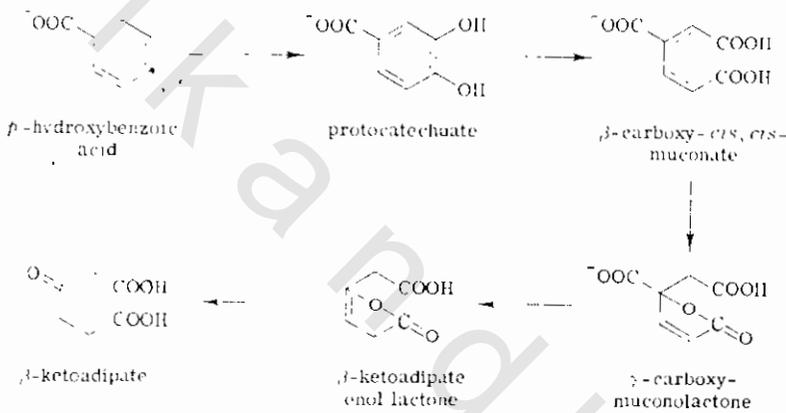


شكل (١١.٨) : تحولات anthracene , Phenanthrene

نقلأ عن Fernely et al, 1964

٦.٣.٨ تحول هيدروكسي بنزوات P - Hydroxy benzoate metabolism

بعض الهيدروكربونات التي تستخدم دورة β - ketoadipate تستعمل *protochatechuate* بدلاً من *Catechol* كمركب وسطي للتفاعل مثل الهيدروكسي بنزوات الذي درس في العديد من البكتيريا مثل *Ps. putida*, *Moraxella calcoacetica* حيث يهاجم المركب بعملية هدرجة في الوضع ٣ لانتاج *protocatechuate* (٣, ٤) دي هيدروكسي بنزوات) بعلامة إنزيم *4-hydroxy benzoate 3- monooxygenase* (EC 1.14.13.2).

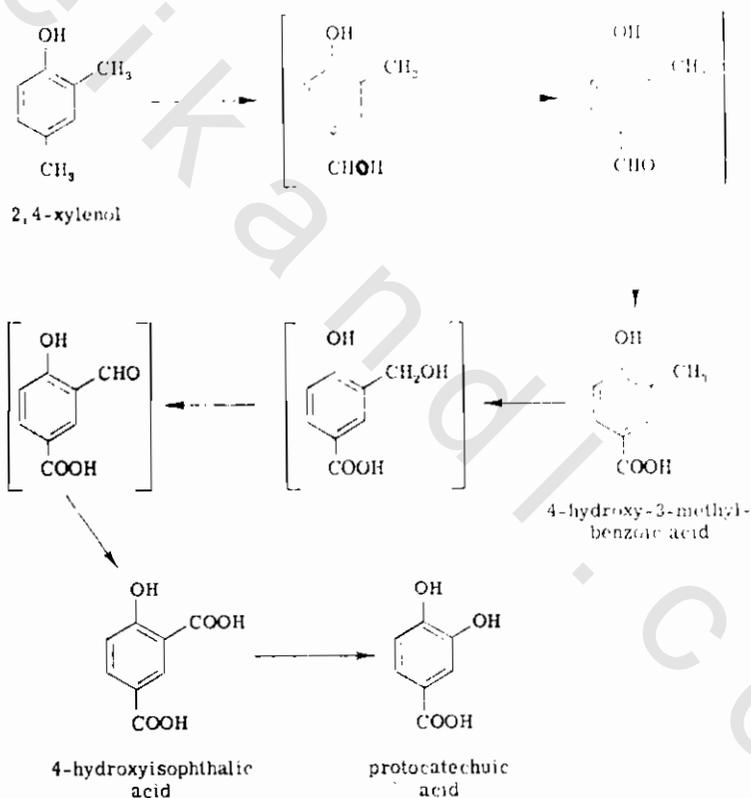


شكل (١٢.٨) : تحولات هيدروكسي بنزوات في *Pseudomonas putida*

والخطوة الثانية هي أكسدة *Protocatechuate* بطريقة *ortho* ويتكون ٣ - كربوكسي *Cis, Cis* ميكونات ويعقب ذلك عملية *lactonization* حيث يتكون ٤ - كربوكسي ميكونولاکتون في وجود إنزيم *Cycloisomerase* (EC 5.5.1.2).
وبنزع ك أ، يتكون β - ketoadipate lactone بمساعدة إنزيم *carboxy muconolactone decarboxylase* (EC 4.1.1.44) ومن المركب الأخير يتكون β - ketoadipate.

٧.٣.٨ تحول الزيلينول 2,4-Xylenol

درس ذلك في fluorescent pseudomonads حيث تتحول مجموعة الميثيل في الوضع بارا para إلى هيدروكسيل ثم إلى الكربوكسيل ويعرف المركب الوسطى الناتج بحمض ٤- هيدروكسي ٣- ميثيل البنزويك. والجزء التالي من الهدم يتم تحويل مجموعة الميثيل الثانية بنفس الأسلوب مكوناً ٤- هيدروكسي آيسوفيثاليك. والذي يتحول إلى Protocatechuate حيث يدخل في ortho - cleavage منتهياً إلى β - ketoaipate كما بالرسم التالي :

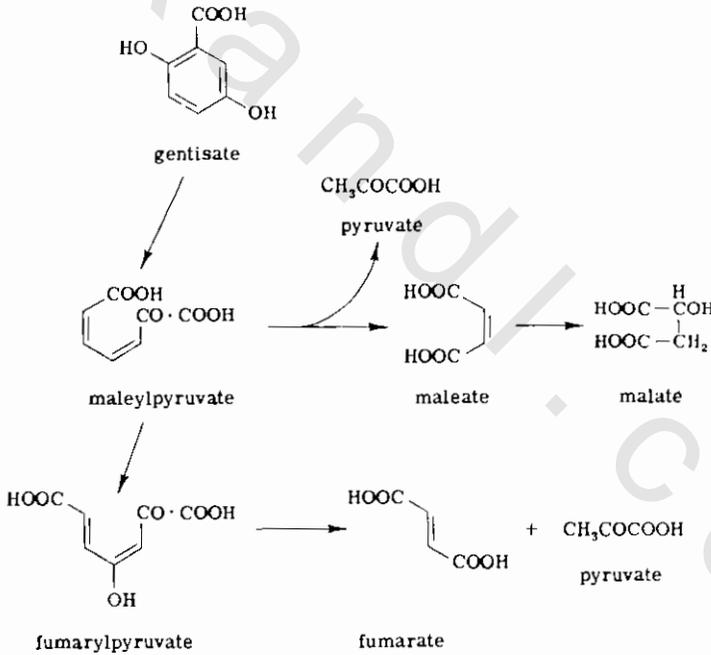


شكل (١٣.٨) : تحولات ٢, ٤ الزيلينول بواسطة أحد سلالات *Pseudomonas* نقلاً عن Chapman & Hopper, 1968

٨.٣.٨ تحول Gentisate

بالإضافة إلى Catechol ، Protocatechuete يبرز Gentisate كمركب وسطي في تحولات الهيدروكربونات قبل الدخول فسي تفاعلات كسر الحلقة وبالأخص أثناء نمو *Ps. acidovorans* على هيدروكسي بنزوات الذي يتأكسد بتأثير إنزيم 6-hydroxylase إلى gentisate وهو إنزيم متخصص في ذرة الكربون رقم ٦ (أما 4-hydroxylase المتخصص في الوضع ٤ فينتج عنه protocatechuete كما لوحظ ذلك في *Ps. testosteroni*).

ويتأكسد Gentisate بواسطة gentisate 1,2 dioxygenase (EC 1.13.11.4) إلى ماليل بيروفات (كسر الحلقة) وبعملية isomerization يتحول إلى فيوماريل بيروفات وهذه الخطوة تحتاج تركيز عالى من الجلوتاثيون المختزل (GSH) ولذا يشك في حدوثها بواسطة *Ps. acidovorans* ويستطيع الميكروب تحويل ماليل بيروفات إلى ماليت maleate والبيروفات وبالهدرجة يتحول الماليت إلى مالات .



شكل (١٤.٨) : تحولات Gentisate بواسطة أحد سلالات *Pseudomonas*

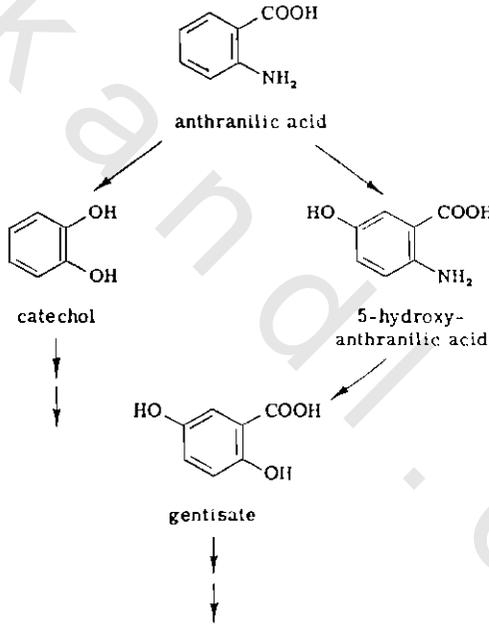
نقلًا عن lack, 1959

وهناك بعض السلالات من *Pseudomonas* التي تستطيع بالفعل تحويل ماليل بيروفات إلى نظيرة الأيسوميري نيوماريل بروفات ويعقب ذلك تحلل مائي إلى الفيوماريك ثم إلى البيروفيك .

ويستعمل *gentisate pathway* أثناء أكسدة *m-cresol* حيث يتحول الأخير إلى ٣- هيدوكسي بنزوات أولاً قبل تكوين *Gentisate* بنفس الطريقة يتحول *2,5 xylenol* إلى ٤ - ميثيل جيتسات .

٩.٣.٨ تحولات Anthranilic acid

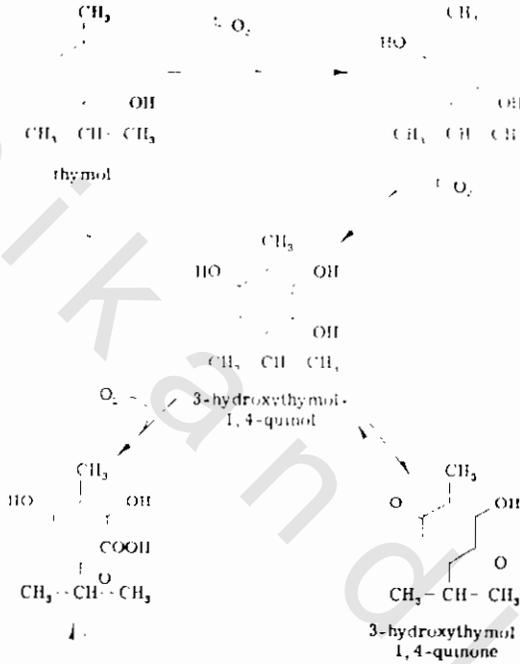
يمكن أن يتحول عن طريقين أما تكوين المركب الوسطى *Catechol* أ، المركب الوسطى *gentisate* .



شكل (٨.١٥) : تحولات anthranilic بواسطة *Nocardia* نقلاً عن Cain سنة ١٩٦٨
ويقوم بذلك ميكروب *Nocardia opaca* ويبدو أن تكوين catechol هو الأسلوب السائد والإنزيم المسئول هو 5-hydroxylase حيث يقوم بنزع مجموعة الأمين واستبدالها بمجموعة الهيدروكسيل في الوضع 5 .

١٠.٣.٨ تحولات الثيمول Thymol

ويعتبر أبرز مثال لأسلوب meta cleavage لكسر الحلقة الأروماتية حيث يستطيع ميكروب *Ps. putida* تحويل الثيمول إلى أيسوبيوترات ، أسيتات ، ٣ - أوكسو بيوترات كنواتج نهائية للتفاعل. وكيفية ذلك أن الثيمول يتعرض للأكسدة مرتين لتكوين ٣ - هيدروكسي ثيمول ١ ، ٤ - كينول الذي يتحول بسهولة في التربة إلى الكينون المقابل ذو اللون الأرجواني .



شكل (١٦.٨) : تحولات الثيمول بواسطة *Ps. putida* نقلا عن

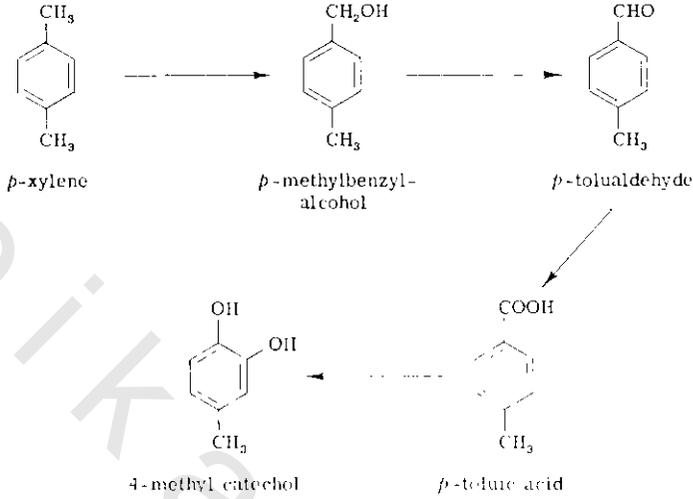
Chamberlain & Dagley, 1968

أما حلقة البنزين في quinol فتكسر في وجود dioxygenase ويكمل الهدم حتى النواتج النهائية (أيسو بيوترات ، أسيتات) السابق ذكرها .

١١.٣.٨ تحولات P-xylene

وهو يشبه تحول 2.4 xylenol السابق وصفه في فقرة ٧.٣.٨. حيث تستطيع بعض سلالات *Pseudomonas* أكسدة إحدى مجموعتي الميثيل إلى *P. toluic acid* مروراً بالكحول والألدهيد المقابل ثم تحدث عمليتي hydroxylation ، decarboxylation ويتكون ٤ - ميثيل كاتيكول.

أما الجزء الثاني من التفاعل (كسر الحلقة) فتختلف عن xylenol حيث تنشق الحلقة بأسلوب meta cleavage إلى ٢ - هيدروكسي ٥ - ميثيل ميكونات سمي الدهيد والذي يتحول بدوره إلى 2-oxopent - 4 - enoate ومنه إلى البيروفات والاسيتالدهيد .



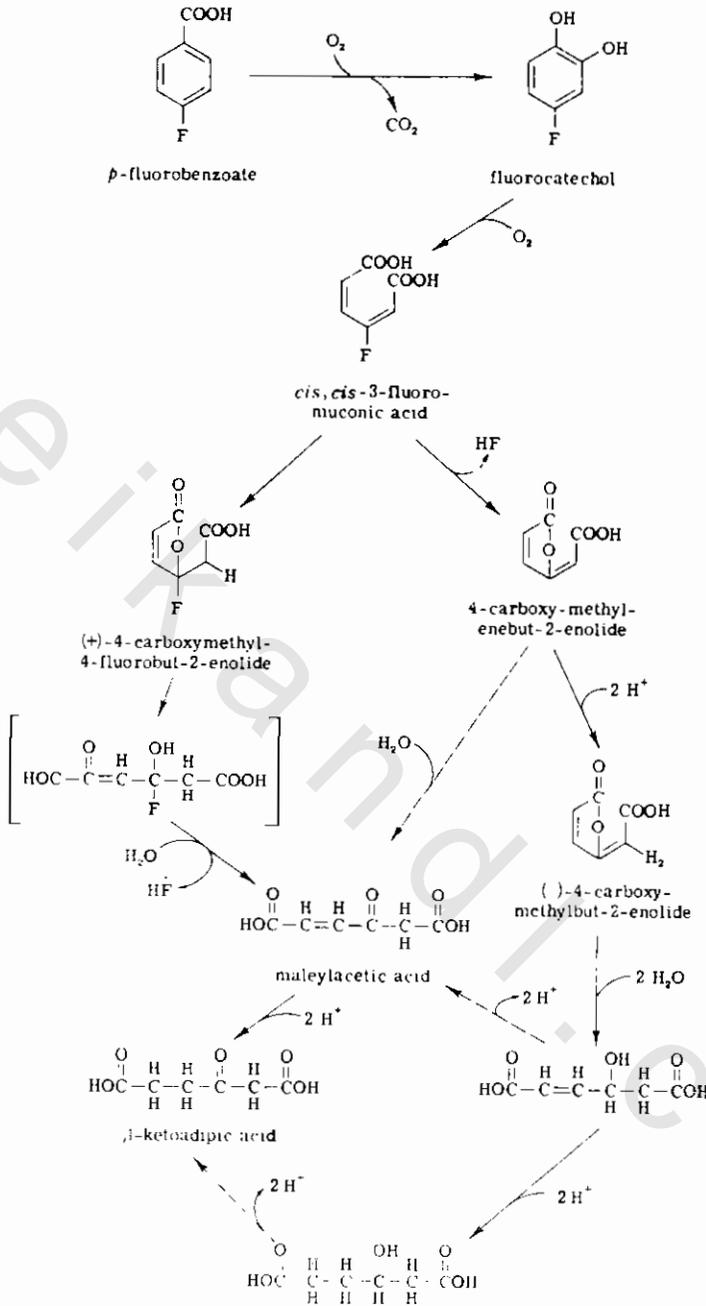
شكل (١٧.٨) : تحولات P-xylene نقلا عن Davis et al, 1968

٤.٨ تحولات الهيدروكربونات الحلقية المالوجينية

Halogenated aromatic Hydrocarbons

وهي مركبات سامة جداً ولا يعرف الكثير عن تحولاتها ويعتبر ميكروب *Nocardia erthropolis* من الميكروبات القليلة التي درست والقادرة على تحويل نيتروبنزوات ، فلوروبنزوات ، فلوروبروتو كاتيكاوت .

ويرجع التأثير السام غالباً إلى تكوين فلوروسترات المثبط القوي لدورة TCA . ويتبع هدم النيتروبنزوات ، الفلوروبروتو كاتيكاوت طريق protocatechuate والناتج النهائي هو الأسيئات (أو الفلورواميئات) والسكسينات . أما مركبي ٢ أو ٤ - فلوروبنزوات فيتبعاً طريق catechol والناتج النهائي هو الفلورواميئات والسكسينات للمركب الأول أو الأسيئات والفلوروسكسينات للمركب الثاني . وبالنسبة لمركب P-florobenzoate فيتحول عبر الطريقتين (الكاتيكاول، البروتوكاتيكاوت) والاختلاف يحدث في خطوة انطلاق (خروج) الفلوريد فقط . والمهم في ذلك أن الفلور يخرج قبل تكوين β -keto adipate والدخول في دورة TCA كما بالرسم التالي :



شكل (١٨.٨) : تحولات P - فلوروبنزوات بواسطة Pseudomonads

عن Harper & Blakley (1971)

٥.٨ تحولات الأحماض الكربوكسيلية الفينوكسي الكيل

Phenoxyalkyl carboxylic acids

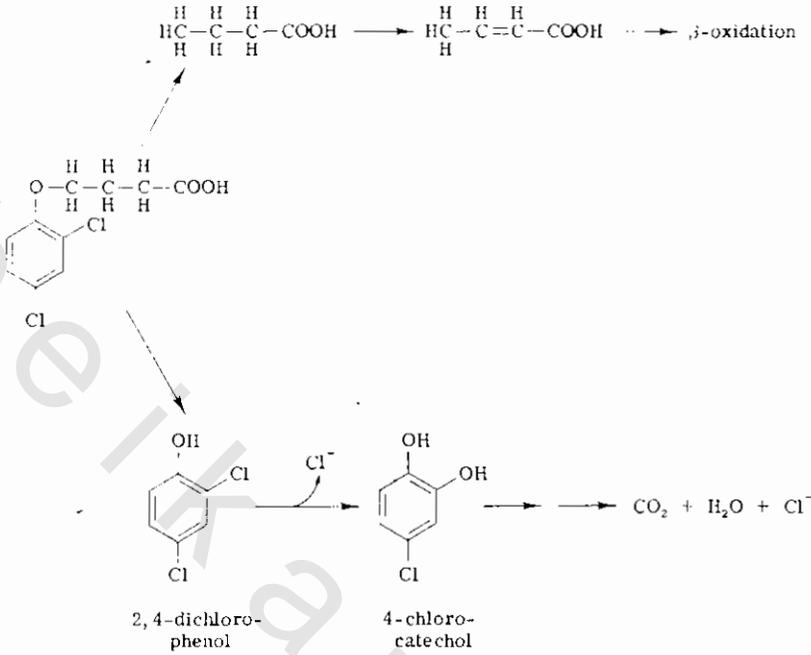
أصبح التخلص من المبيدات وملوثاتها هو موضوع الساعة. ويتركز (PCR) Pest con- (tol research الحالى على ايجاد مركبات عضوية تتحكم فى الافات الحشرية والأمراض النباتية سواء بكتريا أو فطرية أو فيروسية. وقابلية هذه المبيدات على التحلل ذو أهمية طبقية نظراً لسمية هذه الكيماويات للإنسان والحيوان.

وتتحطم معظم المبيدات أو يتخلص من سميتها بأساليب وتقنيات مختلفة فى التربة وأغلبها ينصب على النشاط البيولوجى biological degradation . ومعظم المبيدات المقاومة للتحلل هى هيدروكربونات مكلورة مثل DDT ، chloradane ، aldrin ، phenoxy herbicides ، dieldrin مثل 2.4 D . أى أن البناء أو التركيب الكيماوى للمبيد يؤثر على مقاومة التحلل persistence ومعدل التحول ويمكن الرجوع لكثير من المراجع فى هذا الصدد مثل Audus 1964 ، Gripps 1971 . . . الخ .

والميكانيكية العامة لأكسدة الأحماض الكربوكسيلية الفينوكسي الكيلية مازالت محل تساؤل ! فالبعض يفترض أن aliphatic moiety لهذه الأحماض تتحول بواسطة β - oxidation وتشير دراسات على تحلل ٤,٢ داي كلوروفينوكسي البيوترات بواسطة *Flarobacterium* إلى حدوث التحلل بواسطة كسر رابطة الأستر بدلاً من β - oxidation للأحماض الدهنية. وهذا الكسر لرابطة الأستر يؤدي إلى تكوين ٤,٢ داي كلورو فينول وحمض البيوتيريك والأول تحدث له عملية dehalogenation عند الوضع ortho والنتائج هو 4-chlorocatechol قابل للتحلل الكامل مع احتمال تكون - Cis, Cis chloro muconic acid . وعموماً توجد طريقتين لتحول الأحماض الكربوكسيلية الفينوكسي الكيلية :

١ - تستخدم أساساً بواسطة *Nocardia sp* وتشمل الأكسدة (β) للسلاسل الأليفاتية وتؤدي لتكوين مركبات وسطية phytotoxic من المركبات الأصلية .

٢ - كسرا رابطة الأستر بالأكسدة وتتم غالباً بواسطة *Flauobacterium sp* وتؤدي للتخلص من المجموعات الاستبدالية الجانبية وبالتالي من سمية مبيدات الأعشاب . (كما يظهر ذلك من الرسم التالى) .

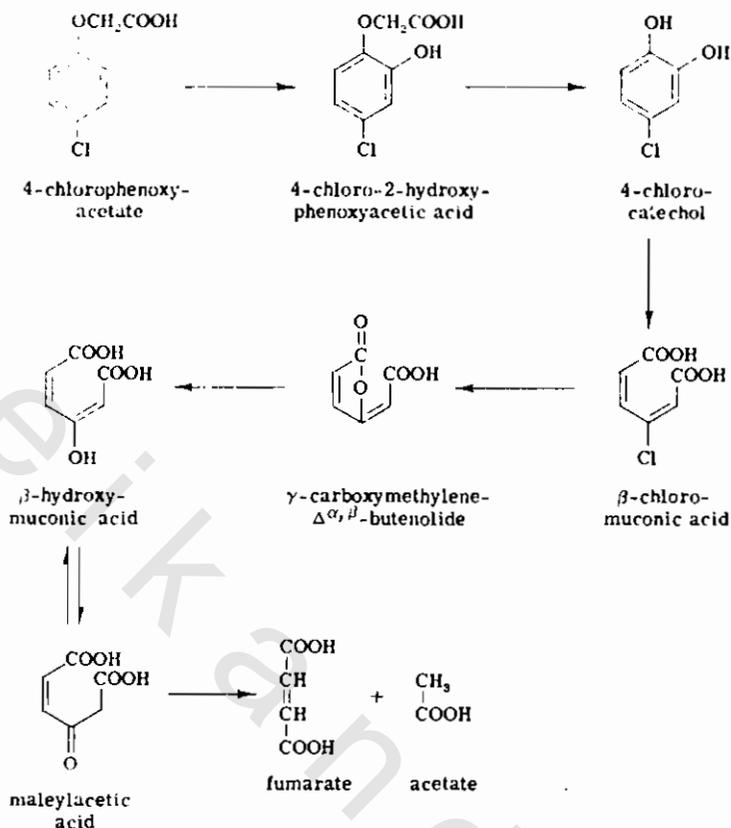


شكل (١٩.٨) : تصور عام للاكسدة الأولية للأحماض الكربوكسيلية الفينوكسي الكيلية
 نقلاً عن Mac Rae et al., 1963

١.٥.٨ تحولات ٤-كلوروفينوكسي أسيتات 4-Chlorophenoxy acetic acid

يستعمل مييد الحشائش الهرموني ٤ - كلوروفينوكسي أسيتات مع ٢, ٤ داي كلورو فينوكسي أسيتات، ٤ - كلورو - ٢- ميثيل فينوكسي أسيتات بنجاح في مجال وقاية النبات وأصبح واسع الانتشار عالمياً .

وتستطيع كثير من الميكروبات مهاجمة هذه المبيدات وتحليلها ولكن بدرجات مختلفة مثل *Corynebacterium sp.* ، *Nocardia coeliaca* ، *Flavobacterium aquile* ، *Mycoplana sp.* ، *Arthrobacter sp.* ، *Achromobacter sp.* ، *Pseudomonas NCIB 9340* ، وهناك نوع واحد من *Arthrobacter* ، *Pseudomonas* يستطيع هدم ٤- كلوروفينوكسي أسيتات بالكامل إلى الفيورمارات والاسيتات كما بالرسم التالي :



شكل (٨. ٢٠) : محولات ٤- كلوروفينوكسى أسيتات بواسطة الميكروبات

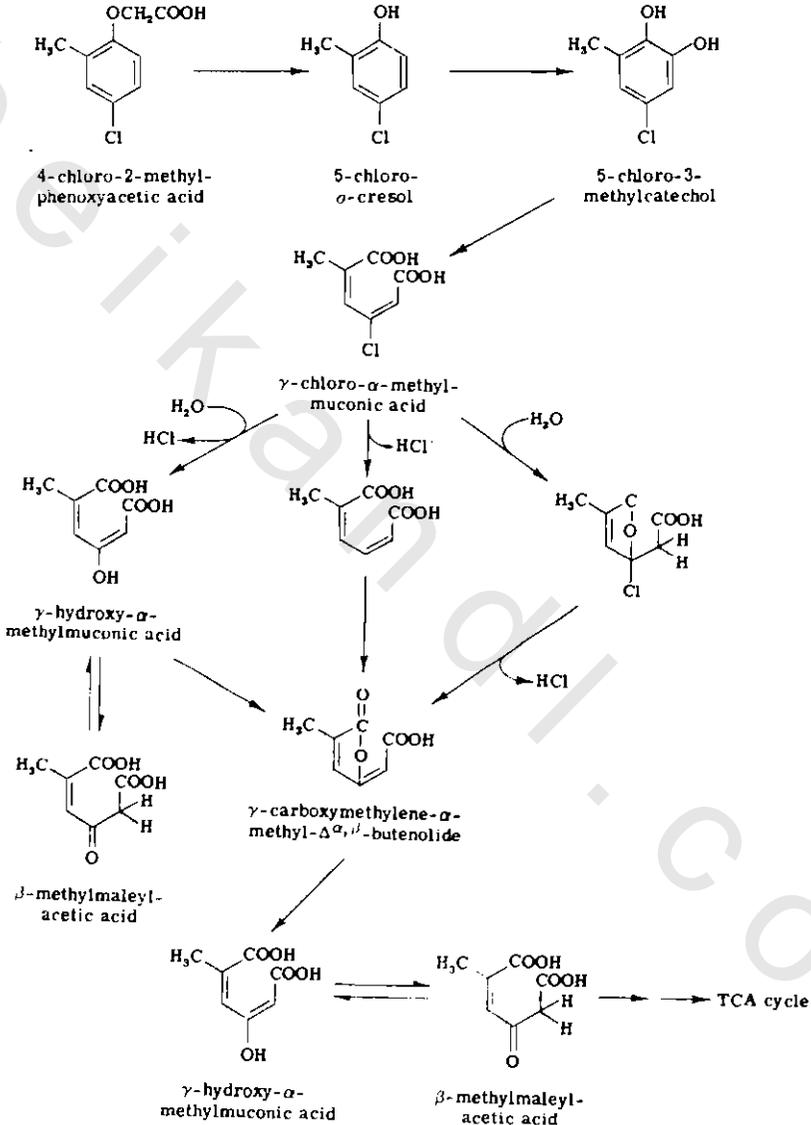
نقلًا عن Evans, et al, 1971

حيث يبدأ التحلل بعملية hydroxylation (إدخال OH-) للحلقة الأروماتية في الوضع ortho وتكون ٤- كلورو -٢- هيدروكسى فينوكسى أسيتات. ثم تكسر رابطة الأستر ويتكون glyoxylate ، ٤- كلورو كاتيكون الذى يدخل فى ortho - cleavage للحلقة مكونًا β- كلوروميوكنات الذى يفقد أيون الكلوريد (Cl⁻) فيما يسمى dehalogenation ويتحول بعملية lactonization إلى اللاكتون المقابل أى ٨- كربوكسى ميثيلين بيوتانوليد وهذا اللاكتون يتحول سريعًا إلى ماليل أسيتات ثم إلى الفيومارات والأسيتات .

٢٠٥.٨ تحول ٤-كلورو -٢- ميثيل فينوكسى أسيتات

وهو أكثر ثباتًا فى التربة من ٢, ٤ داي كلوروفينوكسى أسيتات . والخطوة الأولى هى كسر رابطة الأستر واستبدالها بمجموعة هيدروكسى مكونًا ٥-كلورو -٥- كريسول + الجليوكسالات ثم تحدث عملية hydroxylation فى الوضع ortho مكونًا ٥- كلورو -٣- ميثيل كاتيكون

وهذه الخطوة تختلف في الترتيب عن المركب السابق ٤- كلورو فينوكسي أسيتات . والخطوة التالية هي كسر الحلقة بطريقة ortho - cleavage ويتكون ٨-كلورو - ∞ - ميثيل ميكونات الذي يفقد أيون الكلوريد dehalogenation بواحد من ٣ طرق (كما بالرسم) مع عملية lactonization (تكوين اللاكتون المقابل والنتيجة ٨ - كربوكسي ميثيلين - ∞ - ميثيل بيونوليد والذي يتحول بدوره إلى ميثيل ماليل أسيتات ومنه إلى دورة TCA .



شكل (٢١.٨) : تحولات المبيد العشبي الهرموني : ٤- كلورو - ٢- ميثيل فينوكسي أسيتات

بواسطة ميكروبات التربة - نقلاً عن Gaunt & Evans, 1971

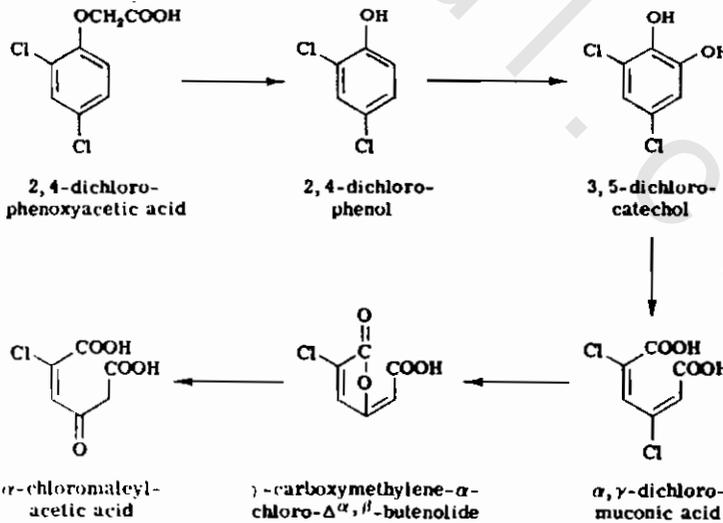
٣.٥.٨ تحول ٤,٢ داي كلورو فينوكسى أسيتات

Orthophenoxy acetate (2,4 D)

يشبه سابقه فى خطوات الهدم الأولى من حيث كسر رابطة الأستر واستبدال السلسلة الجانبية بمجموعة الهيدروكسى ليعطى ٤,٢ داي كلوروفينول ، جليوكسالات. ثم يقوم ميكروبي *Pseudomonas* NCIB 9340 ، *Arthrobacter* sp. بعملية hydroxylation فى الوضع ortho مكوناً ٥,٣ داي كلورو كاتيكول ثم يحدث كسر الحلقة بطريقة ortho مكوناً ∞ ، لداى كلورو ميكونات. (بينما يستطيع ميكروبي *Flarobacterium peregrinum* ، *Achromobacter* sp. تحويل ٤,٢ داي كلوروفينول إلى ٤- كلورو كاتيكول ثم إلى ٤- كلوريد ميكونات) .

على أى حال مركب ∞ ، لداى كلوروميكونات تحدث له عمليتي dehalogenation ، lactonization (نزع أحد أيونات Cl⁻ مع تكوين اللاكتون المقابل) والنتائج تكوين ٨- كربوكسى ميثيلين -∞- كلورو بيوتانوليد والذى يتحول إلى كلورو ماليل أسيتات. وتعتمد نواتج هدم هذا المركب على المرحلة التى يطرد فيها أيون الكلوريد المتبقى - فإذا طرد Cl⁻ أثناء مهاجمة كلورو ماليل أسيتات فإنه يتحول إلى 3- keto adipic السكسينات .

- أما إذا ظل Cl⁻ فى الجزئ فإن كلورو ماليل أسيتات يتحول إلى 2, chloro-4- keto adipic الذى يتحول إلى الكلورو سكسينات ثم السكسينات أى ينطلق (Cl⁻) فى آخر خطوة بالتفاعل .

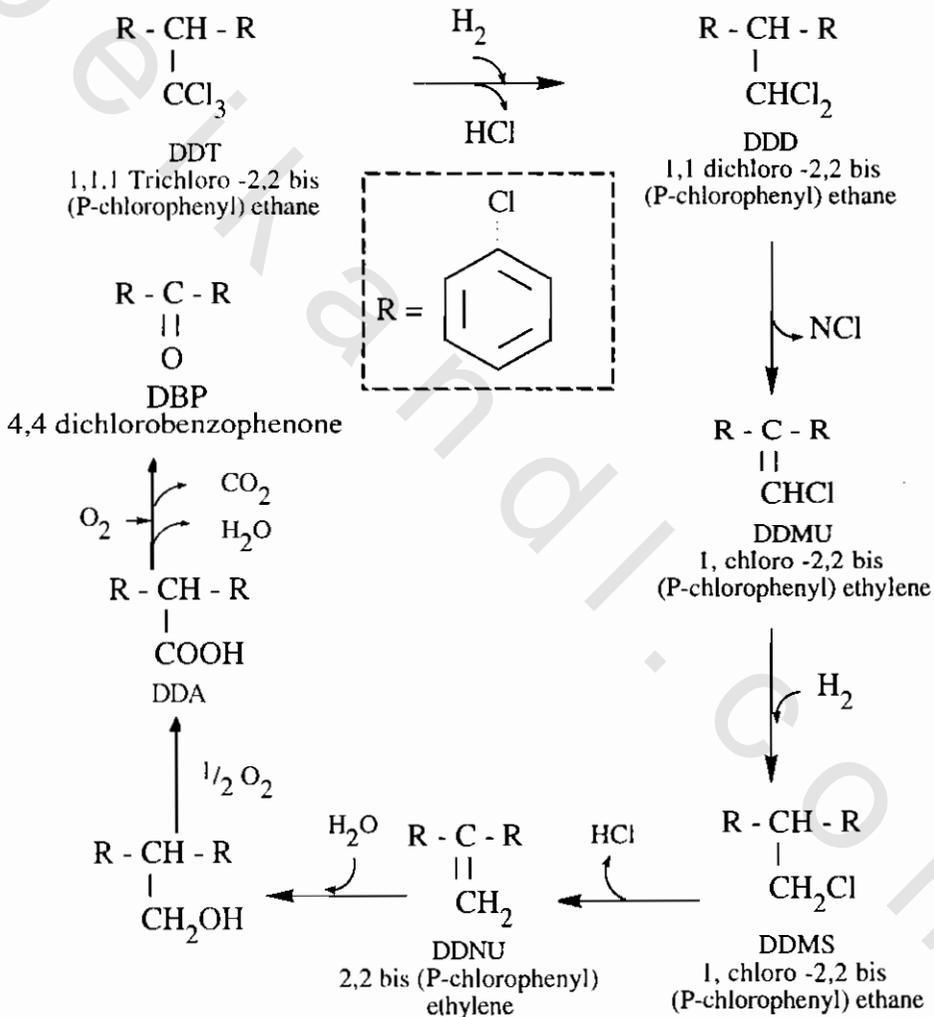


شكل (٢٢.٨) : تحول ٤,٢ داي كلوروفينوكسى أسيتات نقلاً عن Tiedje et al, 1969

٤.٥.٨ تحولات DDT ، DDD ، DDMS ، DDNU

هناك بعض المبيدات المعروفة يمكن هدمها ميكروبياً ولكن ميكانيكياً أو طريقة التحول لم تعرف بعد بالكامل .

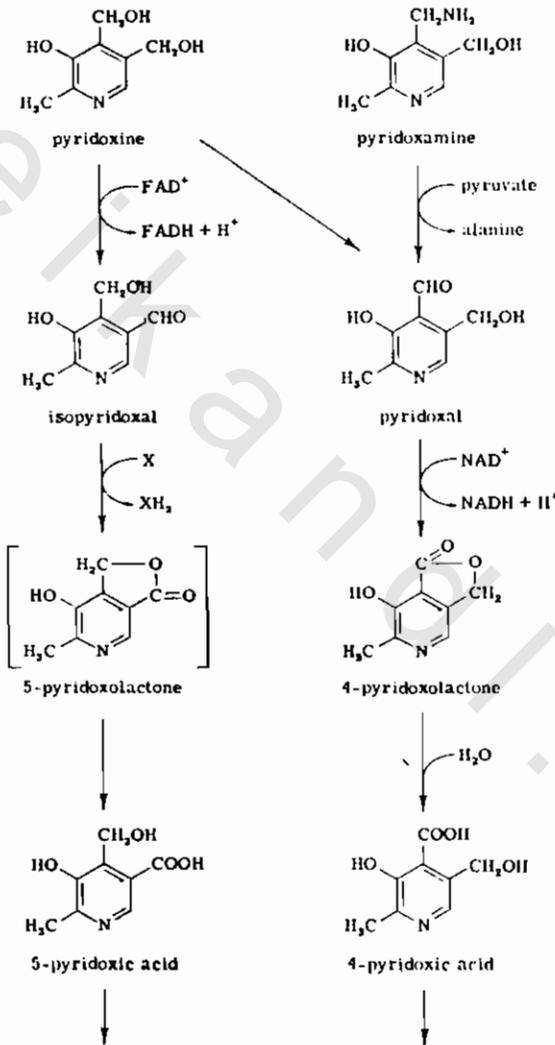
فمثلاً هدم مركب DDT (١,١,١ تراي كلورو - ٢,٢ bis - كلوروفينيل - إيثان) بواسطة *Aerobacter aerogenes* له ٧ ميكانيكيات على الأقل ويتركز الاهتمام الأساسي على أيونات الكلوريد لأنه لو تخلص منها سيؤدى للتخلص من سمية المبيد. ويتحول DDT أولاً إلى DDD (نفس التركيب السابق ولكن أيون كلوريد أقل) ثم يتابع التخلص من Cl^- .



شكل (٢٣.٨) : تحولات DDT ، DDD ، DDMS ، DDNU

٦.٥.٨ تحولات فيتامين B₆ (Pyridoxine)

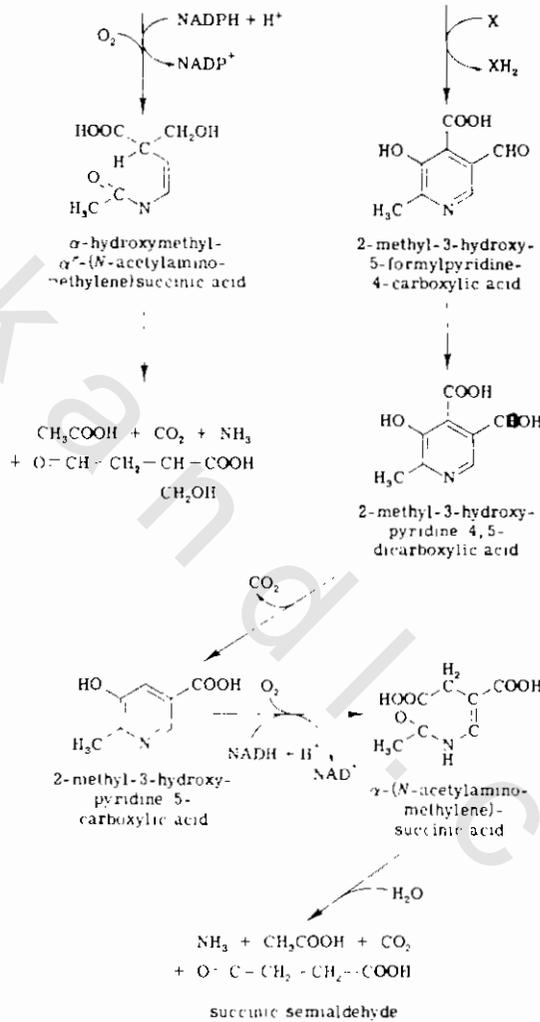
يُستخدم طريقان مختلفان لهدم فيتامين B₆ ويعتمد ذلك على وجود Pyridoxine أو Pyridoxamine كمصدر وحيد للكربون والطاقة .



شكل (٢٥.٨) : تحولات فيتامين B₆ (Pyridoxine) ، Pyridoxamine

بواسطة كائنات التربة (بقية الشكل بالصفحة التالية)

الطريقة الأولى هو تحول بيردوكسين بواسطة *Pseudomonas* ويشمل
 Pyridoxine 5-dehydrogenase (EC 1.1.99.9) المرتبط بـ FAD ويستعمل ٦,٢ داي
 كلورو أندوفينول كمستقبل للأيدروجين وينتج عنه isopyridoxal .



تابع شكل (٢٥.٨) : لتحولات فيتامين B₆ نقلاً عن Sparrow et al, 1969

ويوجد إنزيم آخر مختلف تماماً هو Pyridoxine 4- oxidase (EC 1.1.3.12) معزول من *Pseudomonas MA-1* يلامس تحول Pyridoxine إلى Pyridoxal وهو يستعمل كل من الأكسجين، دى كلورو أندوفينول كمستقبل للأيدروجين .

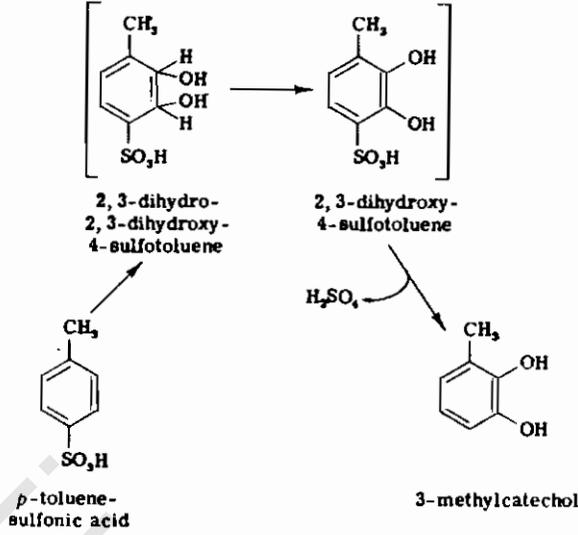
المهم أن أيسو بيردوكسال الناتج يتأكسد إلى 5- بيردوكسال أسيون والذى يتحول مباشرة إلى 5-pyridoxic acid وعند هذا المستوى من التفاعل يحدث كسر الحلقة بواسطة pyridoxate dioxygenase (EC 1.14.12.5) ويتكون أحد مشتقات السكسينك ومنه يتكون الاستيك، ك أ، الأمونيا، السكسينات سمي الدهيد كنواتج نهائية .

الطريقة الثانية وقد درست بتوسع أكبر . فالخطوة الأولى لتحول pyridoxamine هي نزع مجموعة الأمينو مكوناً Pyridoxal ومحولا البيروفات إلى الأنين . ويلى ذلك تكون 4-pyridoxolactone بملامسة إنزيم pyridoxal DH المرتبط بـ NAD^+ والأخير يتحول إلى حمض 4-pyridoxic فى وجود إنزيم pyridoxolacetonase (EC 3.1.1.27) والخطوة التالية هي أكسدة مجموعة الكحول فى 4 pyridoxic acid فى خطوتين متعاقبتين $(COOH \leftarrow CHO \leftarrow CH_2OH)$ مكوناً حمض 2- مثل 3- هيدروكسى بيريدين - 4, 5 دى كربوكسيليك ثم تنزع ك أ من الوضع 4 حتى يدخل فى تفاعل oxygenase cleavage لكسر الحلقة وينتج الفا - (أستيل أمينو مثلين) - سكسينات، والذى يتحول بدوره فى وجود hydrolase إلى النواتج النهائية (الأسيتات، ك أ، أمونيا، سكسينك سمي الدهيد) وبرغم أن كلا الدورتين المستخدمتين فى تحول فيتامين B₆ ذات إنزيمات inducible إلا أنه ليس معروفاً لآن إذا كانت Single or sequential induction .

٧.٥.٨ تحولات سلفونات التولوين P-toluene sulfonate

يستطيع العديد من أفراد Pseudomonads تحويل السلفونات الحلقية مثل سلفونات التولوين حيث تتحرر مجموعة السلفونات من الحلقة الأروماتية مع حدوث oxygenase reaction مكوناً 3-ميثيل كاتييكول يعقبه كسر الحلقة بطريقة meta ويتكون البيروفات والأسيتات كنواتج نهائية (شكل ٨-٢٦) .

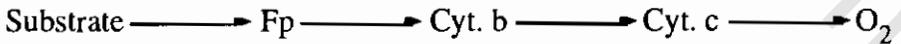
ويستطيع ميكروب *Alcaligenes* تحويل سلفونات الكيل البنزين بنفس الطريقة السابقة من حيث مهاجمة السلسلة الجانبية مكوناً مشتقات الكاتييكول قبل كسر الحلقة . ويستطيع *Ps. testosteroni* استخدام سلفونات البنزين كمادة نمو جديدة .



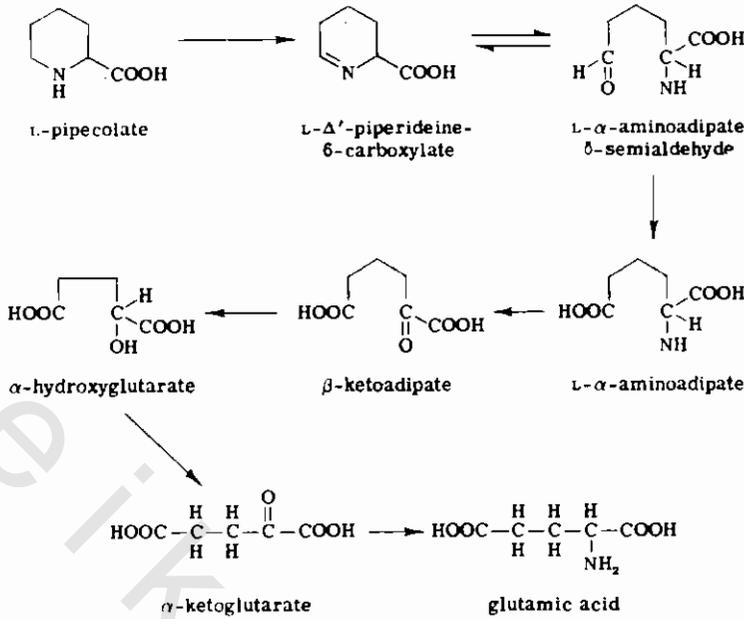
شكل (٢٦.٨) : تحولات P - toluene sulfonate (المراجع (Focht & Williams, 1970)

٨.٥.٨ تحولات البيبي كولات Pipecolate

يستطيع ميكروب *Ps. putida* القيام بهدم هذا المركب الحلقي المرتبط بمجموعة النيترو. والخطوة الأولى هي عملية أكسدة بيبي كولات إلى L-6-piperidine-6-carboxylate في وجود إنزيم pipecolate dehydrogenase (EC 1.5.99.3) يعقب ذلك تفاعل غير إنزيمي ينتج عنه L- α -aminoadipate semialdehyde (كسر الحلقة) والذي يتأكسد بدوره إلى L- α -aminoadipate (الالدهيد ← كربوكسيل) والخطوة الثالثة هي عملية نزع مجموعة الأمين ويتكون β -ketoadipate ومنه يتكون الفا هيدروكسي جلوتارات الذي يتأكسد إلى الفاكيتو جلوتارات بلامسة إنزيم oxidoreducase (EC 1.1.99.2) مرتبط بالغشاء الخلوي والمعروف بـ (*Ps. putida* - ETP) وهذا الإنزيم متخصص للايسومير (L) . وفي حالة استخدام O₂ كمستقبل نهائي للإلكترون فإن نظام انتقال الإلكترون يتبع :



والتفاعل الأخير يتضمن نقل مجموعة الأمين ويتحول الفاكيتوجلوتارات إلى حمض الجلوتاميك .



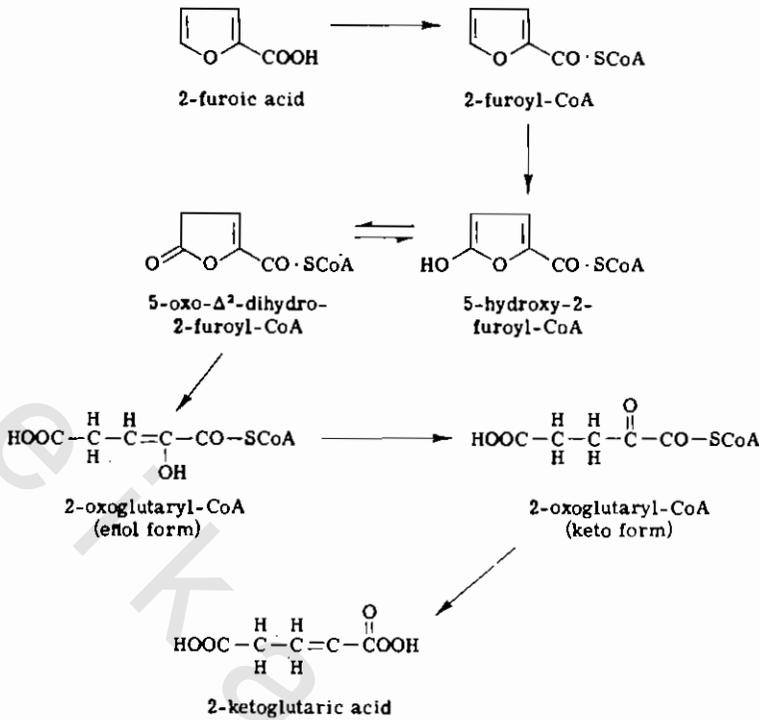
شكل (٢٧.٨) : تحولات L-pipecolate بواسطة *Ps. putida*

نقلًا عن Basso et al سنة ١٩٦٢

٩.٥.٨ تحويل Furoic acid -2-

ترجع أهمية هذا التحول لقيام الميكروبات بمهاجمة حلقة الفيروران Furan الهامة فى الأبحاث الأكلينيكية .

والخطوة الأولى هى تحول ٢- فيوريك أسيد إلى فيوريل كوانزيم A بملامسة إنزيم L-Furoyl- Co A synthetase . ويلى ذلك عملية إدخال (OH -) فى الوضع 5 ويكون ٥- هيدروكسى ٢- فيورويل كوانزيم A والذى يوجد فى حالة توازن مع نظيره الكيتونى 2-oxo- Δ^2 - dihydro -2- furoyl - Co A يتحول بواسطة إنزيم lactone hydrolase إلى الصورة الأينولية للمركب 2-oxoglutaryl - Co A ثم إلى الصورة الكيتونية لنفس المركب . وأخيراً بتأثير thiolester hydrolase يخرج Co A ويتكون الناتج النهائى 2-oxoglutarate كما هو موضح بالشكل التالى .



شكل (٢٨.٨) : تحولات 2-furoic acid (المراجع (1969) Trudgill)

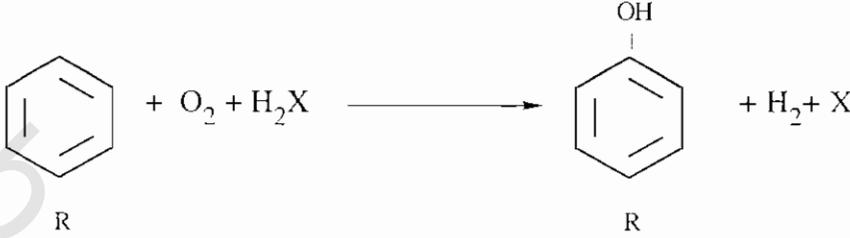
٦.٨ إنزيمات Oxygenases

هي مجموعة من الإنزيمات التي تلامس إدخال جزئ الأوكسجين إلى المركبات العضوية المختلفة وتم تعريفها بواسطة IUB بأنها الإنزيمات التي تلامس إضافة جزئ الأوكسجين عبر الرابطة المزدوجة بين ذرتي كربون. أي إضافة كلا ذرتي جزئ الأوكسجين إلى مادة التفاعل (وليس أي من الذرات المضافة مصدرها الماء المذيب). ولذا استعمل Hayaishi, 1966 اصطلاح dioxygenase لهذا النوع من الإنزيمات.



طريقة تأثير dioxygenase

ويتبع نفس المجموعة إنزيمات "hydroxylases" وهي إنزيمات تلامس أيضاً إضافة جزيء الأكسجين لمادة التفاعل ولكن ذرة واحدة فقط من جزيء الأكسجين تدخل لمادة التفاعل بينما الذرة الثانية تكون ماء ويمثل H_2X معطى الأيدروجين .



طريقة تأثير hydroxylase (mono oxygenase)

وقد استعمل Hayaishi سنة ١٩٦٦ اصطلاح monoxygenase لهذا النوع من الإنزيمات بينما يفضل Mason et al سنة ١٩٥٥ تسمية هذه الإنزيمات "mixed function oxidases" وهي تسمية قديمة وطويلة .

ويمكن فصل oxygenases عن oxidases بوضوح فالأخيرة إنزيمات تستعمل جزيء الأكسجين كمستقبل للإلكترون ولذا تكون H_2O_2 أو H_2O كنتاج ولا تدخل الأكسجين إلى مادة التفاعل .

- وتتشر إنزيمات oxygenases بصورة واسعة في الطبيعة فهي :
 - هامة في تفاعلات الهدم والتخليق بالذات المركبات الأروماتية حيث تعتبر الإنزيم الأول الذي ينقأ الهيدروكربونات الغير قابلة للتحلل مثل البنزين ، نفتالين إلى مركبات اليفاتية يمكن استخدامها في دورات التحولات الأيضية السائدة .
 - تؤكسد الألكان لتعطى أحماض دهنية التي تواصل تحويلها بواسطة β or ω - oxidation علماً بأنه لا يزال العديد من المركبات الحلقية لم يعرف بعد ميكانيكية تحولاتها .

أسئلة للمراجعة

- ١ - حدد الفروق بين الأكسدة alpha ، beta ، omega المتبعة فى أكسدة الأحماض الدهنية؟
- ٢ - ماهو الفرق بين الأكسدة diterminal ، menoterminal للألكان ؟
- ٣ - ما المقصود بالاصطلاح "mixed function oxidase" مقارنة بـ oxygenase ؟
- ٤ - أشرح كيفية إعداد الحلقة الأروماتية للكسر ؟
- ٥ - ما الفرق بين ortho & meta cheavage لحلقة البنزين ؟
- ٦ - ما المقصود بـ sequential induction لآى دورة تحلل ؟
- ٧ - أشرح الطريقتين المختلفتين لاستخدام الهيدروكربونات وصولا إلى β -keto adipate ؟
- ٨ - ماهو الفرق بين Catechol pathway ، gentisate ؟
- ٩ - أشرح الفرق بين تحولات الهيدروكربونات الأروماتية ، الأروماتية الهالوجينية .
- ١٠ - ماهى الميكانيكية المنظمة (المحددة) لتحولات هيدروكسى بنزوات بواسطة *Ps putida* ،
Acinetobacter calcoaceticus ، *Alcaligenes eutrophus* ؟
- ١١ - أشرح تحولات مييد الحشائش الهرموني ٢- ميثيل ٤- كلوروفينوكسى أسيتات والمييد الحشرى DDT ؟
- ١٢ - ناقش كيفية مهاجمة الميكروبات حلقة Furan ؟
- ١٣ - ما الفرق بين طريقة تأثير dioxygenase ، monooxygenase ؟

المراجع

- 1 - Audus, L. J. (1964). "The physiology and Biochemistry of Herbicides" Academic Press, New York.
- 2 - Barz, W and Stadtman, E. R. (1969). Bacterial degradation of riboflavin. Arch. Mitrobiol. 67 : 128.
- 3 - Basso, L. V., Rao, D. R. and Rodwell, V. W (1962). Metabolism of pipercolic acid in *Pseudomonas* species. J. Biol. Chem. 237 : 2239.
- 4 - Cain, R. B. (1968). Anthranilic acid metabolism by microorganisms. Antonie van leeuwenhoek; J. Microbiol Serol. 34 : 417.
- 5 - Chamberlain, E. M. and Dagley, S. (1968). The metabolism of thymol by *Pseudomonas*. Biochem. J. 110 : 755.
- 6 - Chapman, P.J. and Hopper, D.J. (1968). The bacterial metabolism of 2,4 - xylenol. Biochem. J. 110 : 491.
- 7 - Cripps, R. E. (1971). The microbial breakdown of pesticides. Soc. Appl. Bacteriol. Symp series, 1 : 255.
- 8 - Davies, J. I. and Evans, W.C. (1964). Oxidative metabolism of naphthalene by soil pseudomonads. The ring - fission mechanism. Biochem. J. 91 : 251.
- 9 - Davies, R. S., Hossler, F.E. and Stone R. W. (1968). Metabolism of p- and m- xylene by species of *Pseudomonas*. Can. J. Microbiol. 14 : 1005.
- 10- Evans, W. C., Smith, B. S., Moss, P. and Fernaley, H. N (1971) Bacterial metabolism of 4-chlorophenexyacetate. Biochem J. 122 : 543.

- 11- Fernley, H. N., Griffiths, E. and Evans, W.C. (1964). Oxidative metabolism of phenanthrene by soil bacteria. The initial ring fission step. *Biochem. J.* 91 : 15.
- 12- Focht, D.D. and Williams, F. D. (1970). The degradation of p- toluene sulfpnate by *Pseudomonas*. *Can. J. Microbiol* 16 : 309.
- 13- Gaunt, T. K. and Evans, W. C. (1971). Metabolism of 4- chloro -2- methyl phenoxyacetate by soil pseudomonads - Ring fission, Lactonizing and delactonizing enzymes. *Biochem. J.* 122 : 533.
- 14- Harper, D. B. and Blokley, E. R. (1971) The metabolism of p - fluorophynyl acetic acid by *Pseudomonas* sp. II The degradative pathway. *Can, J. Microbiol.* 17 : 645.
- 15- Hayaishi, O. (1966). Crystalline oxygenase of pseudomonads - *Bacteriol. Rev.* 30 : 720.
- 16- Killinger, A. (1970) Der Abbau von Undecan durch ein marines Bakterien. *Arch. Microbiol* 73 : 160.
- 17- Lack, L. (1959). The enzymic oxidation of gentisic acid. *Biochem Biophys. Acta* 34 : 117.
- 18- Mac Rae, I. C., Alexander, M. and Rovira, A. D. (1963). The decomposition of 4-(2,4 - dichlorophenoxy) butyric acid by *Flavobacterium* sp. *J. Gen. Microbiol.* 32 : 69.
- 19- Ornston, L.N. and stanier, R. Y (1966). The conversion of catechol and protocatechuate to β - ketoadipic acid by *Ps. putida*. *J. Biol Chem.* 241 : 3776.

- 20- Schlegel, H.G. (1986). General microbiology, 6th Ed., Cambridge Univ. Press, London.
- 21- Sparrow, L. G., Ho, P.P.K., Sundaram, T.K. Zach, D., Nyns, E. T. and Snell, EE. (1969) The bacterial oxidation of vitamin B₆. J. Biol. Chem. 244 : 2590.
- 22- Steenson, T. I. and Walker, N. (1956) observations on the bacterial oxidation of chlorophenoxy acetic acids. Plant & Soil 8 : 17.
- 23- Taylor, H. F. and Wain, R. L. (1962). Side chain degradation of certain ω - phenoxyalkane carboxylic acids by *Nocardia coeliaca* and other microorganisms isolated from soil. Proc. Roy. Soc. ser. B. 268 : 172.
- 24- Tiedje, H.M., Duxbury, J.M., Alexander, M. and Dawson, J. E. (1968), 2,4-D metabolism : Pathway of degradation of chlorocatechols by *Arthrobacter* sp. J. Agr. Food Chem. 17 : 1021.
- 25- Trudgill, P.W. (1969). The metabolism of 2-furoic acid by *pseudomonas* F2. Biochem. J. 113 : 577.
- 26- Vestal, T. R. and Perry, J. J. (1969). Divergent metabolic pathways for propane and propionate utilization by a soil isolate. J. Bacterial. 99 : 216.