

اصلاح زیستی آنتراسن در حوزه آبی جزیره سیری خلیج فارس با رویکرد اینمنی زیستی

* مژگان امتیازجو^۱

moz_emtyazjoo@yahoo.com

^۲ سیما صدیقی

^۳ مرجان امتیازجو

تاریخ پذیرش: ۲۶/۰۲/۸۶

تاریخ دریافت: ۱۴/۱۲/۸۵

چکیده

حوزه نفتی سیری واقع در خلیج فارس یکی از مناطق چهارگانه عملیات استخراج، پالایش و انتقال نفت است. این حوزه به لحاظ انجام عملیات یاد شده در معرض بارآلودگی نفتی و هیدروکربن های آروماتیک چند حلقه ای PAHs می باشد. در این تحقیق میزان GCMS توسط PAHs در ۱ ایستگاه انتخابی واقع در دو ترانسکت اندازه گیری شد. با توجه به وجود آنتراسن در بیشتر ایستگاه های تحقیقاتی میکروارگانیسم های تجزیه کننده آنتراسن از رسوبات جدا سازی شد. توان تجزیه کنندگی آن ها با استفاده از روش های تعبیه چاهک، اندازه گیری ذی توده با محیط کشت اختصاصی و همچنین آنالیز نمونه ها با GC انجام گرفت. میکروارگانیسم هایی که توان تجزیه زیستی آنتراسن را داشتند، توسط روش های معمول میکروبیولوژیک شناسایی گردیدند، این میکروارگانیسم ها عبارتند از:

Bacillus sp.PGI, Bacillus sp. PGII, Pseudomonas sp PGIII, Staphylococcus sp PGIII

واژه های کلیدی: تجزیه زیستی، آنتراسن، هیدرو کربن های آروماتیک چند حلقه ای (PAHs)، میکروارگانیسم، خلیج فارس.

۱- استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال- دانشکده علوم و فنون دریایی^{*} (مسئول مکاتبات)

۲- کارشناس ارشد آلودگی و حفاظت محیط زیست در دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال

۳- دکتری بیوتکنولوژی دانشگاه USM مالزی

مقدمه

گروه های مختلفی از PAHs می باشد، بنابراین سویه های مختلف میکروبی برای تجزیه آن ها مورد نیاز می باشد. میکروارگانیسم ها توسط واکنش های تنفسی هوایی و بی هوایی، تخمیر، کومتابولیسم و دهالوژنه کردن، PAHs ها را به ترکیبات کم ضررتر تبدیل و از آن ها به عنوان منبع کربن و انرژی استفاده می نمایند(۷، ۸، ۹).

در اکوسیستم های دریابی اکسید اسیون نوری، اکسیداسیون شیمیایی، متابولیزه شدن بیولوژیک از جمله فرآیندهای مهم ترانسفورماتیون PAHs می باشد. باکتری ها و قارچ ها، PAHs را به مشتقات دی هیدرو دی ال ها و کاتکول اکسید می نمایند.

اکسید اسیون های بعدی این مواد باعث تبدیل شدن آن ها به دی اکسید کربن و آب می شود (۱۰).

قدمت بررسی باکتری های تجزیه کننده نفت به مشاهدات Lehman & Neumann در سال ۱۸۹۶ بر می گردد. وی طی تحقیقات خود باکتری *Bacterium* را که از توان خوبی برای تجزیه برخوردار بود به عنوان باکتری تجزیه کننده معروفی نمود. در این راستا، Kaserer و Sohengen *Methanomonats* و *Bacillus hexacarbarborarum*، Stormer *methanica* که از خاک، جدا کردن، دست یافتند. همگام با پیشرفت تکنولوژی و ارایه ابزار و روش جدید، محققان با انجام مطالعات ژرف و گسترده، دامنه تحقیقات خود را گسترش داده، و به یافته های جدید دست یافتند، نظری نتایج تحقیقات محققینی که برای تجزیه میکروبی PAH ها، نقش دو گروه آزمیمی مونو و دی اکسیژنаз را که بسیار مهم می باشند، نشان دادند. بسیاری از ارگانیسم ها توانایی تخریب PAH ها را در حد متوسط دارا می باشند. شکاف آزمیماتیک حلقه های آروماتیک هم چنین کاتالیزور آن ها توسط دی اکسیژنаз می باشد (۱۱).

هدف از این تحقیق بررسی میکروارگانیسم های تجزیه کننده آنتراسن که یکی از PAH های موجود در حوزه نفتی جزیره سیری واقع در خلیج فارس می باشد، است. عملیات

اصلاح زیستی، بخشی از یک فن آوری به شمار می رود که از فرایندهای میکروبی جهت تبدیل آلوده کنندگان محیط زیست به محصولاتی با سمیت کمتر نظیر دی اکسید کربن، آب و نمک های آلی ساده بهره می برداشند. روش برای پاک سازی مواد دفعی مایع وجامد غیرسمی، آب های آلوده، مواد دفعی سمی زبان آور و آلودگی نفتی به کار می رود(۱). آنچه که این فرایند را به یک فرایند بسیار مهم در عرصه حفاظت از محیط زیست بدل می نماید، استفاده از میکروارگانیسم های بومی منطقه ای جهت حفظ اینمنی زیستی می باشد. اینمنی زیستی مبحثی نوین در علم را برای محققان و سازمان های ذی ربط می گشاید و در عین حال نوعی نگرانی عمیق و جدی را در دید عموم ایجاد می نماید.

(Biosafety cleanhnng house)

دستورالعمل های ضروری برای حفظ محیط زیست و تنوع زیستی، از اثرات زیانبار و احتمالی موجودات زنده دست ورزی شده ژنتیکی (LMO:Living modified organisms) و (GMO: Gene modified organisms) را که در محیط به صورت خواسته یا ناخواسته رها سازی می گردد، شامل می شود. دستورالعمل های اینمنی زیستی بسیار متنوع بوده و طی گستردگی آن عرصه های مختلف علمی و فنی را در برمی گیرد. لذا بهره برداری از میکروارگانیسم های تجزیه کننده منطقه ای که در ردیف LMO و GMO مطرح نگردد، در پاکسازی محیط زیست از اهمیت ویژه ای برخوردار می باشد(۴، ۳، ۲).

هیدروکربن های آروماتیک چند حلقه ای (PAHs) دسته ای از ترکیبات نفتی هستند که باعث ایجاد برخی تاثیرات بیولوژیک می شوند. این تاثیرات شامل سمیت شدید، جهش زایی، نقص جنین، اختلال در فعالیت غدد درون ریز هستند (۵، ۶).

این گروه از ترکیبات پس از ورود به محیط های آبی، عموماً از ستون آب خارج و جذب رسوبات اعمق دریا می شوند. هر نمونه نفتی از نظر ترکیبات متفاوت بوده و حاوی

به مدت ۲ ساعت با همزن مخلوط شد . تشكیل کریستال های آنتراسن گویای ایجاد یک محلول اشباع می باشد . برای جداسازی میکروارگانیسم های تجزیه کننده آنتراسن از محیط کشت فاقد منبع کربن ONR7α با فرمول زیر استفاده شد :

محلول A :

NaHCO₃ ، Na₂SO₄ ۲/۹۸ g ، NaCl ۲/۷۹ g ، NaBr ۸۳ mg ، H₃BO₃ ۲۷ mg ، ۳۱ mg ، NaF ۲/۶ ، KCl mg ۰/۷۲ g • NH₄Cl mg ۰/۲۷ ، Na₂HPO₄ ۸۹ g

محلول B :

MgCl₂,H₂O ۱۱/۱ g CaCl₂,2H₂O ۱/۴ mg SrCl₂,6H₂O ۲۴ g محلول C :

FeCl₂,4H₂O ۲ g

در حجم ۱ لیتر تهیه و پس از اتوکلاو در ۵۰ درجه سانتی گراد با هم مخلوط می شوند. در صورت نیاز به نوع جامد این محیط کشت از ۱۲ گرم آگار در لیتر استفاده گردید(۱۳) آنتراسن در مرحله قبل از جامد شدن محیط کشت پس از اختلاط محلول ها به هم اضافه می گردد. هم زمان ۵ گرم از رسوب در محیط کشت Marine broth و سابروودکستروزآگار کشت داده شد.

پس از رشد، باکتری ها و قارچ ها کاملا خالص سازی گردید. سپس بذر پاشی میکروبی با سویه های جدا شده که در محیط کشت تازه شباهنگ رشد یافته بودند، انجام شد. پتانسیل تجزیه پذیری کلنی های رشد یافته با روش چاهک گذاری و رشد بر سطح محیط کشت ONR7α مورد سنجش قرار گرفت. هم چنین با استفاده از روش سنجش ذی توده، میزان جذب توسط اسپکتروفوتومتر در طول موج ۴۸۰ نانومتر اندازه گیری و نتایج با GC مورد بررسی قرار گرفت (۱۳). میکروارگانیسم هایی که بیشترین توان تجزیه آنتراسن را داشتند، مشخص شد. این میکروارگانیسم های بر سطح نوترپینت آگار انتقال یافته و مجموعه بررسی های مورفولوژیک بر روی

اکتشاف و استخراج نفت در پیرامون جزیره سیری صورت گرفته و نفت خام پالایش شده اولیه به جزیره جهت انتقال هدایت می گردد. طی این عملیات و همچنین نقل و انتقال و بارگیری مقدار زیادی نفت به اکوسیستم راه یافته که عامل آلودگی منطقه ای نیز می باشد.

مواد و روش ها

از آن جا که هدف اصلی این پژوهه جداسازی باکتری های تجزیه کننده هیدروکربن های چند حلقوه ای آراماتیک غالب در منطقه می باشد، نمونه برداری از رسوب توسط دستگاه ون وینگر انجام شد. بدین لحظه ۸ ایستگاه پیرامون جزیره سیری که ۵ تای آن ها در راستای یک ترانسکت و ۳ ایستگاه در ترانسکت دیگر بود، تعیین و نمونه برداری انجام شد که مختصات ایستگاه ها در جدول ۱ و موقعيت منطقه نمونه برداری در شکل ۱ ارایه گردیده است. انتخاب ایستگاه ها بر اساس عملیات استخراج نفت در اطراف جزیره سیری وهم چنین تردد کشتهای نفت کش در این منطقه می باشد . نمونه های رسوب در دو سری از ظروف جمع آوری گردید. بخشی از آن در ظروف از قبل تمیز شده با نرمال هگزان و حرارت دیده جمع و فریز گردید و بخش دیگر در ظروف استریل جمع آوری و در دمای ۴ درجه سانتی گراد به آزمایشگاه انتقال یافت (۱۲).

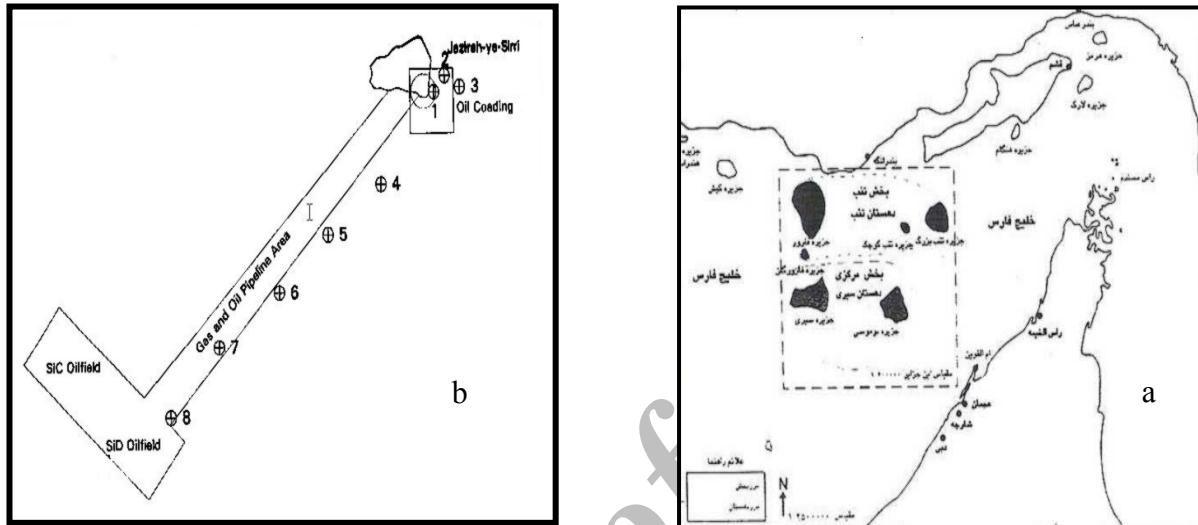
نمونه های سری اول پس از خشک شدن در سرما (Freeze dry) به وسیله سوکسله استخراج و به کمک نیتروژن تغليظ شد و در نهایت پس از برش بر روی رسوبات با GC-MS با هگزان و دی کلرومتان عصاره حاصله با دستگاه با ستون DB-۵ ، نوع یونیزاسیون EL ، طول ستون mm ۰/۲۵ با گاز حامل هلیوم مورد بررسی قرار گرفتند (۱۲).

برای جدا سازی میکروارگانیسم های تجزیه کننده، آنتراسن از نمونه های سری دوم و از محیط کشت فاقد منبع کربن استفاده شد.

با توجه به میزان حلایت محدود آنتراسن به میزان ۵۹ ppb ابتدا محلول اشباع از آنتراسن تهیه گردید. برای رفع این مشکل ۵ گرم آنتراسن در ۱۰۰۰ میلی لیتر آب دی ایونایز

در مقابل نمک های مختلف با غلظت های مختلف، نیترات، نیتریت، سیانید، کاتالاز، اکسیداز، کواگولاز، ژلاتیناز استفاده از قندهای مختلف نظیر گلوکز، مالتوز، لاکتوز، ساکارز، سوکروز، ترhaloz جهت شناسایی کامل تر به کار گرفته شد.

میکروارگانیسم ها وکلني آن ها صورت گرفت . این بررسی ها شامل شکل، اندازه، رنگ، واکنش در مقابل رنگ آمیزی و آرایش میکرو ارگانیسم ها و در مورد کلنی شامل شکل، اندازه، رنگ، بلندی، ارتفاع، لبه و شفافیت بود. پس از بررسی های این مرحله ، واکنش های فیزیولوژیک و بیوشیمیابی شامل واکنش



شکل ۱- نمای کلی منطقه نمونه برداری (a) موقعیت ایستگاه های نمونه برداری در پیرامون جزیره سیری - خلیج فارس (b)

میکروارگانیسم ها در آنالیز با GC از غلظت آنتراسن در محیط کاسته بودند (شکل ۳).

این میکرو ارگانیسم ها عبارتند از:

Bacillus sp.PGI , *Bacillus sp. PGII* , *Pseudomonas sp PGIII*, *Staphylococcus sp PGIII*

بحث

اصلاح زیستی (bioremediation) یکی از فرایندهای بسیار مهم در حذف یا کاهش آلینده های زیست محیطی می باشد. در فرایند استخراج و انتقال نفت، به طور عموم بخش عمدی ای از نفت به محیط وارد می شود که آلان ها جزء تجزیه پذیر ترین مواد موجود در نفت به روش های بیولوژیک و رزین و آسفالتین از جمله ترکیبات بسیار مقاوم در آن می باشد.

نتایج

در بررسی کیفی PAHs به کمک GC-MS هیدروکربن های پلی آروماتیک مختلف در رسوبات ۸ ایستگاه نمونه برداری شناسایی شد.(جدول ۲ و شکل ۲). نتایج حاصل از مجاورت آنتراسن و میکروارگانیسم های جداسده از رسوبات پیرامون جزیره سیری در روش سنجش ذی توده با استفاده از سنجش جذب ۲۴ و ۴۸ ساعته با اسپکتروفوتومتر مشخص گردید که ۱۷ جنس از میکروارگانیسم ها از توان جذب بالایی برخوردارند (جدول ۳) . از بین این میکروارگانیسم ها ۴ جنس از آن ها شاخص تربوئند و در روش چاهک گذاری نیز بیشترین رشد پیرامون چاهک های آنتراسن را ایجاد نموده و در سطح محیط کشت ONRTα پس از ۲۰ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد ایجاد کلنی با هاله شفاف نموده بود. این گروه از

منطبق بر تحقیق حاضر است. علاوه بر موارد فوق در نتایج نیز توان نجزیه کنندگی *Pseudomonas* به ویژه سویه های *P.paucimobilis- P. Saccharophila - G3, p15 VTI, P. cepacia -C5 ,P.putida , P.fluorescens , P.stutzeri , P. vesicularis , P. testosterone* محرز گردیده است (۱۸،۲۰، ۲۱، ۲۲).

خانواده *Bacillaceae* به دلیل داشتن آنزیم های متعدد توان بالقوه ای در حذف آلاینده های نفتی به ویژه *Bacillus PAHs* دارا می باشند (۶). توان تجزیه کنندگی *B.thermolevorans* در *B. cereus , sp* به ویژه ، نتایج تحقیقات محققانی نظیر ذوالفاری در سال ۱۳۸۴ ، *Abou seoud* و *Aitken* در سال ۱۹۹۸ و همکاران در سال ۲۰۰۳ ، *Maachi* اشاره فراوان گردیده است که با نتایج تحقیق حاضر هم خوانی دارد (۲۱،۲۳،۲۴) .

با توجه به ورود *PAHs* از طریق صنایع مختلف نظیر داروسازی ، پلاستیک سازی ، حشره کش ها، رنگ ها و غیره و هم چنین با توجه به سلطان زایی این ترکیبات تبدیل آن ها به ریز مجموعه های ساده تر از اهمیت بالایی برخوردار می باشد (۲۵) .

به لحاظ این که حذف زیستی آلاینده ها رویکرد در جهت حفظ محیط زیست می باشد، بنابر این باید توجه نمود که از میکروگانسیم هایی که در کلیه ایستگاه ها بصورت مشترک توانمندی خود را جهت حذف آنتراسن نشان داده است جهت فرمولاسیون و کاربری نهایی می توان استفاده کرد.

اما ترکیبات آромاتیک به ویژه هیدروکربن های چند حلقه ای آروماتیک در حد میانه این دو مجموعه از لحاظ تجزیه زیستی قرار دارند. اهمیت این گروه از ترکیبات به لحاظ سمیت بالا و تمایل به تجمع زیستی می باشد، به همین دلیل است که بررسی تجزیه پذیری این گروه از ترکیبات از اهمیت زیادی برخوردار است. از میان میکروگانسیم های گوناگونی که قادر به تجزیه آنتراسن باشند می توان به جنس های :

Pseudomonas , Alkaligenese , Mycobacterium , Sphingomonas , Cycloclasticus , Desulfobacterium اشاره نمود که توسط محققان مختلف نظیر Schoeng و همکاران در سال ۱۹۸۵ ، Wiltshire و Walker در سال ۱۹۵۳ ، Awata و همکاران ۱۹۹۸ به دنیای علم معرفی شدند (۱۴،۱۵،۱۶). همچنین از باکتری *Vibrio* می توان به گونه های متعددی اشاره نمود که توان تجزیه این گروه از ترکیبات را دارد. البته در بین اعضای خانواده انتروباکتریا سه نیز توانایی تجزیه ترکیبات *Moraxella sp* آромاتیک مشاهده شده است. *Mycobacterium sp* جدا شده از رسوبات دریایی نیز این توانمندی را به ویژه در مورد نفتالن و پیرن دارند . (۱۷،۱۸،۱۹)

از مهم ترین باکتری های تجزیه *Pseudomonas* کننده ترکیبات آروماتیک است. این باکتری قادر به استفاده از ترکیبات مذکور و تبدیل آن ها به دی اکسید کربن و انرژی می باشد (۱۳). در بررسی مقایسه ای نتایج تحقیق حاضر با *Pseudomonas* نتایج سایر محققان ملاحظه می گردد که به عنوان سویه تجزیه کننده ترکیبات آروماتیک در اکوسیستم ها و شرایط مختلف، معرفی شده است که این

جدول ۱- مختصات جغرافیایی ایستگاه های نمونه برداری در خلیج فارس

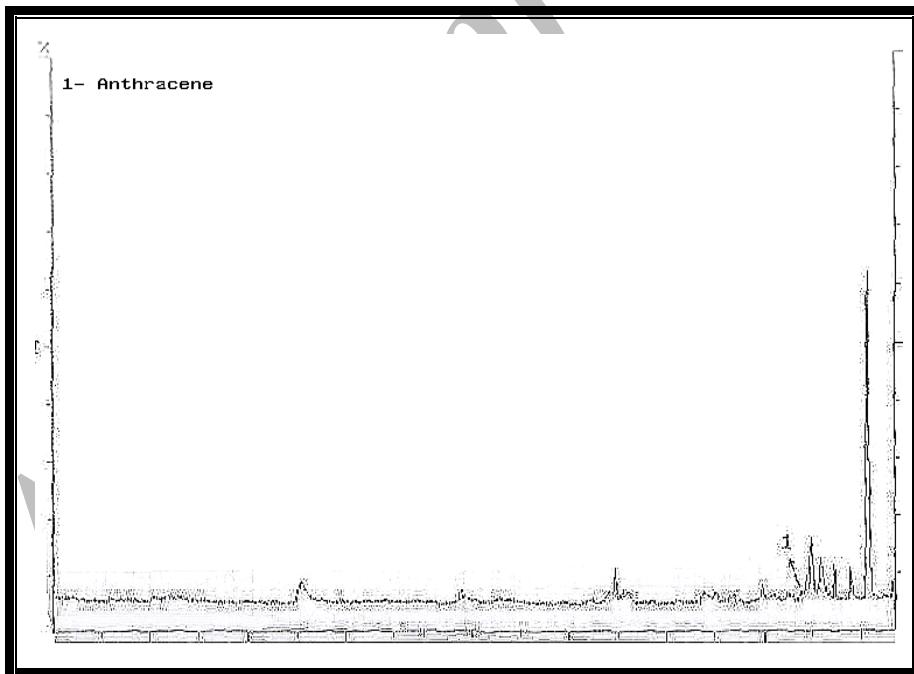
| شماره ایستگاه | طول جغرافیایی ° | عرض جغرافیایی ° |
|---------------|-----------------|-----------------|
| ۱ | ۵۴° ۳۳' ۴۱" | ۲۵° ۵۴' ۷۵" |
| ۲ | ۵۴° ۳۴' ۰۲" | ۲۵° ۵۴' ۹۲" |
| ۳ | ۵۴° ۳۴' ۴۶" | ۲۵° ۵۵' ۱۴" |
| ۴ | ۵۴° ۳۰' ۱۳۳" | ۲۵° ۵۰' ۵۴۵" |
| ۵ | ۵۴° ۲۷' ۳۴۴" | ۲۵° ۴۸' ۷۳۷" |
| ۶ | ۵۴° ۲۴' ۵۶۹" | ۲۵° ۴۶' ۴۱۴" |
| ۷ | ۵۴° ۲۱' ۱۰۰" | ۲۵° ۴۴' ۵۴۴" |
| ۸ | ۵۴° ۱۸' ۰۰۵" | ۲۵° ۴۲' ۱۵۶" |

جدول ۲- نتایج اندازه گیری کیفی PAHs به کمک GC-MS

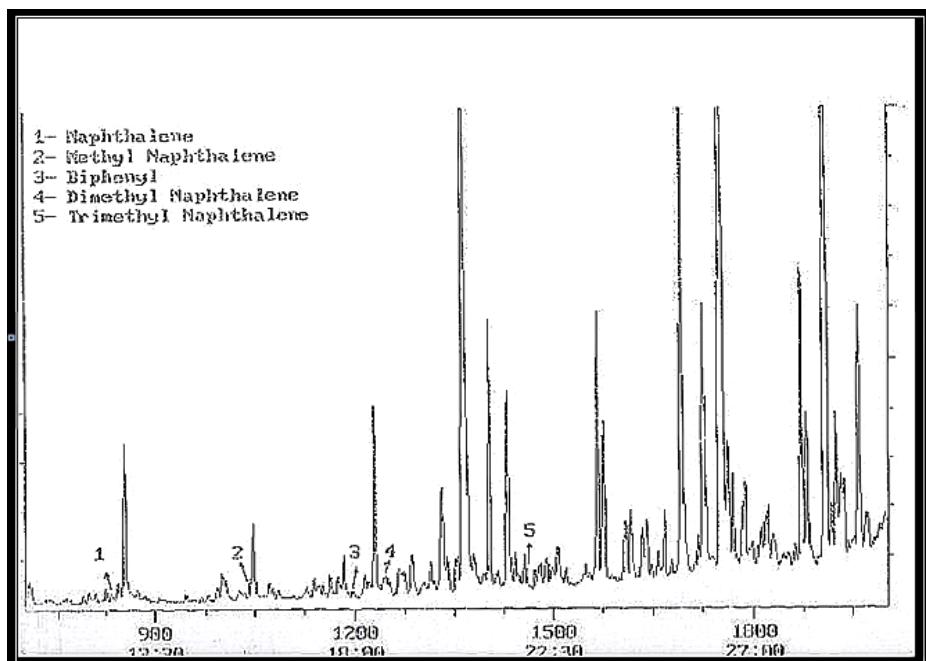
| شماره ایستگاه | نام ترکیب |
|---------------|---|
| ۱ | آنتراسن ، فلورانتن ، بنزو (آ) آنتراسن ، بنزو آلفاپیرن ، بنزو جی اچ ای پریلین |
| ۲ | بنزو آلفاپیرن ، بنزو جی اچ ای پریلین |
| ۳ | آنتراسن، بنزو آلفاپیرن ، بنزو جی اچ ای پریلین فلورانتن، تری متیل نفتالین ، دی متیل نفتالین |
| ۴ | نفتالین، تری متیل نفتالین، دی متیل نفتالین، آنتراسن، بنزو آلفاپیرن، بنزو جی اچ ای پریلین، فلورانتن |
| ۵ | نفتالین، تری متیل نفتالین، دی متیل نفتالین، آنتراسن، بنزو آلفاپیرن، بنزو جی اچ ای پریلین، فلورانتن، بی فنیل، متیل نفتالین |
| ۷ | تری متیل نفتالین، دی متیل نفتالین، بنزو آلفاپیرن، بنزو جی اچ ای پریلین، فلورانتن، متیل نفتالین |
| ۸ | آنتراسن ، فلورانتن ، بنزو (آ) آنتراسن، بنزو آلفاپیرن ، بنزو جی اچ ای پریلین |

جدول ۳- میزان جذب سوسپانسیون باکتریایی در اصلاح زیستی آنتراسن

| جذب ۴۸ ساعته | جذب ۲۴ ساعته | کد باکتری | جذب ۴۸ ساعته | جذب ۲۴ ساعته | کد باکتری |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| ۰/۶۴۶۴ | ۰/۵۲۴۴ | ۱۰ | ۰/۶۶۵۰ | ۰/۶۹۱۷ | ۱ |
| ۱/۱۹۰۳ | ۰/۳۵۲۴ | ۱۱ | ۰/۲۵۵۱ | ۰/۲۴۱۸ | ۲ |
| ۰/۲۳ | ۱/۲۵ | ۱۲ | ۰/۴۰۰۶ | ۰/۳۴۱۲ | ۳ |
| ۰/۳۱۱۹۶ | ۱/۹۳۲۱ | ۱۳ | ۰/۲۲۱۹ | ۰/۲۵۷۱ | ۴ |
| ۰/۴۱۹۶۰ | ۱/۹۶۱۷ | ۱۴ | ۰/۳۸۱۸ | ۰/۴۶۰۴ | ۵ |
| ۰/۲۸۱۲ | ۱/۷۲۲۲ | ۱۵ | ۰/۲۵۲۵ | ۰/۳۱۴۴ | ۶ |
| ۰/۲۸۸۸ | ۱/۰۰۸۲ | ۱۶ | ۰/۲۰۲۱ | ۰/۳۵۹۵ | ۷ |
| ۰/۵۹۵۰ | ۱/۳۹۴۳ | ۱۷ | ۰/۴۴۲۳ | ۰/۴۴۰۱ | ۸ |
| | | | ۰/۴۷۰۷ | ۰/۲۷۴۱ | ۹ |



A

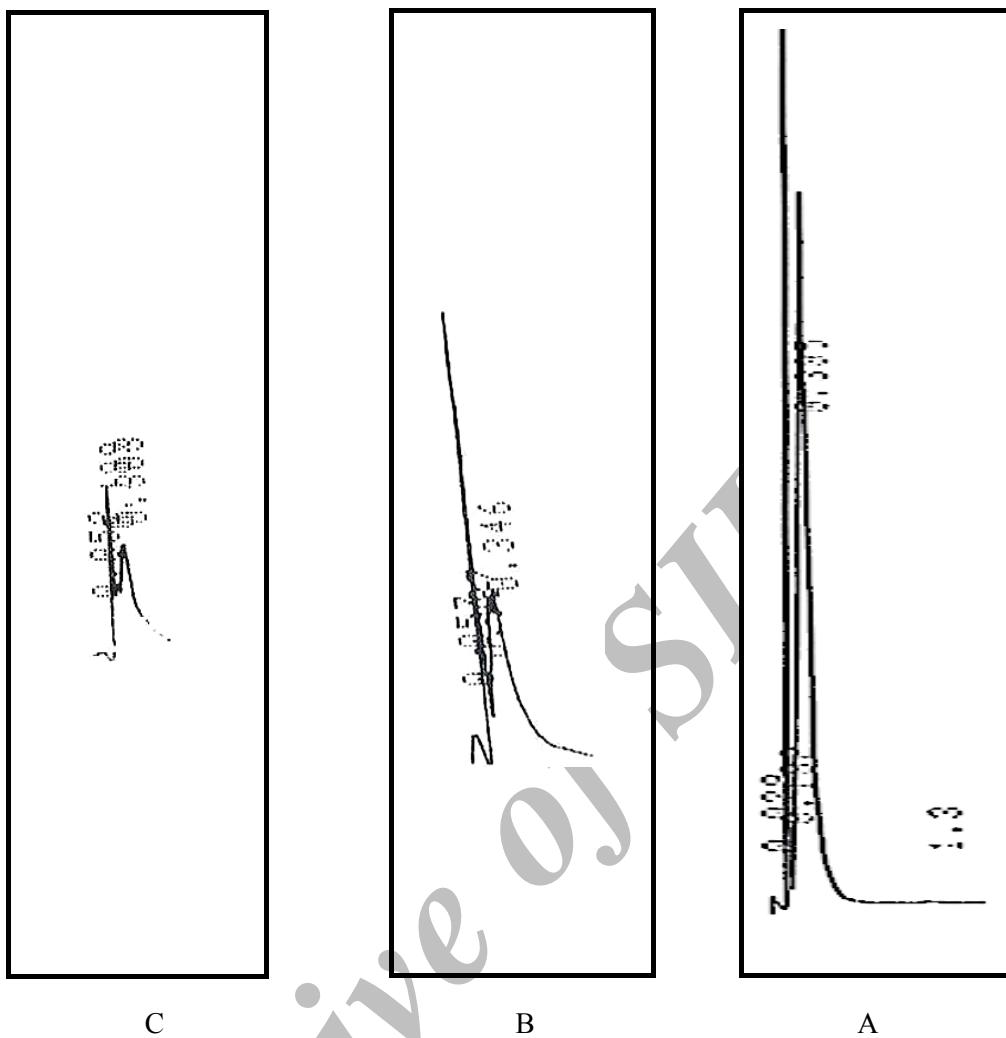


B

شکل ۲ - کروماتوگرام آنالیز دستگاهی GCMS هیدروکربن های چند حلقه ای آروماتیک در رسوبات

جزیره سیری - خلیج فارس

A: کروماتوگرام ایستگاه ۱ B: کروماتوگرام ایستگاه ۵



شکل ۳- کروماتوگراف آنالیز دستگاهی GC تجزیه بیولوژیک آنتراسن از هیدروکربن های چند حلقه ای آروماتیک در رسبات خلیج فارس - جزیره سیری

A: کروماتوگرام نمونه شاهد

B: کروماتوگرام باکتری *Staphylococcus sp PGIII*

C: کروماتوگرام باکتری *Pseudomonas sp PGIII*

PAHs می باشد و تصور می شود که بیشتر PAHs در حالی که از نظر ساختمان مشابه هستند مانند فنانترن، آنتراسن، بنزن، نفتالین، پایرن . احتمالاً اکسیزنازهای آن ها نیز مشابه است. لذا مجموعه میکروارگانیسم های خالص سازی شده طیف وسیعی از آلایندهای محیطی را حذف می نمایند که از این نظر بسیار سودمند می باشد. با توجه به این که اکسیداسیون آنتراسن و فنانترن و بسیاری از PAH ها توسط

بین مجموعه های مورد نظر چهار سویه این توان را نشان دادند که عبارتند از :

Bacillus sp.PGI, Bacillus sp. PGII,
Pseudomonas sp PGIII, Staphylococcus sp PGIII

البته ، Ratledge ۱۹۹۱ ،

گزارش دادند (۲۱،۲۶،۲۷) میکروارگانیسم هایی که راه های تجزیه ای مشابه و اکسیزنازهای مشابه دارند قادر به تجزیه

تشکر و قدرانی

این طرح با حمایت مالی و اجرایی شرکت نفت فلات قاره امکان پذیر شد. در این راستا از مساعدت های ریاست محترم پژوهش و توسعه شرکت نفت فلات قاره، کارکنان محترم و زحمت کش جزیره سیری تشکر و قدرانی می گردد.

منابع

1. Pala,D.;Freier,D.,2002,Bioremediation of clay soil impacted by petroleum , Engenharia temica ,No:10 ,PP:29-32
2. مظاهري اسدی، م . و فا ، م ، ۱۳۸۳ ، ايمني زيستي برای همه، انتشارات موج سبز ، ۲۸ صفحه
3. امتیازجو، م. و قربانی نژاد، ا ..، ۱۳۸۳ ، ايمني زيستي در دریا و پروتکل کارتهینا، اولین همايش ملی ايمني زيستي ، کرج ، ايران ، صفحه ۳۲۳-۳۱۸
4. خوانساری، ن، ۱۳۸۰ ، کتوانسیون تنوع زیستی و پروتکل ايمني زيستي کارتهینا، سازمان حفاظت محیط زیست ، ۱۲۵ صفحه
5. امتیازجو ، م ، صدیقی، س، ماشینچیان مرادی، ع و رعایی، ع، ۱۳۸۲، برسی کمی وکیفی هیدروکربن های چند حلقه ای آروماتیک s PAH در رسوبات جزیره سیری، خلیج فارس مجله علوم و فنون دریایی، دوره دوم، شماره سوم، صفحات ۹-۱۵
6. Cocchieri ,R.A .; Arnese A., Minicucci, A., M .,1990,Polycyclic aromatic hydrocarbons in marine organisms from Italian central Mediterranean Coast , Mar. Pollut .Bull.,No:32 ,PP:21-15
7. Mihoko Y., Hideshige T.,2003,Study on the fate of petroleum -derived polycyclic aromatic hydrocarbons and the effect of chemical dispersant using anenclosed ecosystem ,mesocosm marine ,pollution bulletin,No:47, pp:105-113

باکتری ها و قارچ ها شبیه نفتالن است (۱۸،۱۹،۲۸) به نظر می رسد ساز و کار عمل میکروارگانیسم های مذکور در تجزیه آنتراسن نیز همانند نفتالین باشد. در این مسیر نفتالن توسط آنزیم نفتالن دی هیدروکسیلаз ایل دهیدروژناز ، تبدیل به سیس دی هیدروکسی او ۲ - دی هیدرونفتالین و ۱ و ۲ - دی هیدروکسی نفتالن می شود . این ماده تحت تاثیر آنزیمی ۱ و ۲ - دی هیدروکسی نفتالن اکسیژناز مانند کاتکول از خارج پیوند دی هیدرودیول شکسته می شود و سپس اورتوهیدروکسی بنزال پیرویک اسید تولید می کند در مرحله بعد سیس - ارتو - هیدروکسی بنزال پیرویک اسید حاصل با اخذ یک مولکول آب و از دست دادن یک اسید به سالیسیلات تبدیل می شود و دکربوکسیلاز منجر به کاتکول می شود. سپس کاتکول های حاصل از طریق شکست داخل دیول یا راه اورتو (B - کتوآدیپات) و یا از طریق شکست خارج دیول یا راه متا (α - کتوآدیپات) فراتر متابولیزه شده و مواد حد واسط کربن تولید می شود و سپس در چرخه کربن وارد شده و منجر به تولید CO_2 و H_2O از آن ها می شود .

حال با توجه به شباهت اکسیداسیون نفتالن و آنتراسن به نظر می رسد که شکست اولین حلقه از آنتراسن از طریق سیس دی هیدرو دیول ها انجام می شود که منجر به تولید نفتولپیک اسید می گردد و در نهایت وارد چرخه کربن می شود(۳۰،۲۹،۲۷).

ورود به چرخه کربن با تولید نهایی آب و دی اکسیدکربن همراه است که این خود حاکی از حذف آلودگی توسط میکروارگانیسم های بومی خلیج فارس منطقه حوزه نفتی سیری می باشد . در صورت استفاده از میکروارگانیسم های بومی این حوزه جهت حذف آلودگی PAHs بدون هر گونه دستکاری ژنتیک و انواع غیر بومی، می توان اظهار داشت اصول پایه ای ايمني زيستي برطبق پروتکل کارتهینا رعایت گردیده است .

- aromatic hydrocarbons, properties and environmental fate ,spring.1-10
17. Diaz , M ., Grigson , S ., 2000 , Isolation and characterization of novel hydrocarbon degrading euryhaline consortia from crude oil and mangrove sediments , Mar. Biotechnol , No: 2 , PP : 522-532
18. Hediund , B.P.; James , T.S., 2001, Vibrio cyclotrophicus sp . nov., Polycyclic aromatic hydrocarbons-(PAH) - degrading marine bacterium., J. Sys Evol. Microbial, No: 51, PP: 61- 66
19. MacGilliray , A.R; Shiaris , M. P., 1999, Microbial ecology of polycyclic aromatic hydrocarbons degradation in coastal sediment
20. Grimm, A. C.; Harwood, C.S., 1997, Chemotoxics of *Pseudomonas* sp. to polycyclic aromatic hydrocarbon , naphthalene , Applid and environmental microbiology , pp: 4111-4115
21. Abou seoud , M.; Maachi , R, 2003, Biodegradation of naphthalene by free and alginate entrapped *Pseudomonas* sp , Naturoforsch, Vol:58, P: 726-731
22. Samanta , S.K.; Singh , O.V. ; Jain , P.K., 2002 , polycyclic aromatic hydrocarbons : environmental pollution and bioremediation . Trends in biotechnology, Vol: 20, No: 6
۲۳. ذوالفاری ، آ.۱۳۸۴، بررسی پتانسیل تجزیه میکروبی نفت و پراکنده ساز های نفتی مورد استفاده در جزیره سیری و شناسایی طرح پلاسمیدی میکروب های تجزیه کننده آن ها، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال
24. Aitken, M.D .; Stringfellow , W.T.; Nagel R. D.; Kazunga , C.; Chen , S. H
8. Plotnikova ,E.G .;Altyntenseva ,O.V.,2001,Bacteria degraders of polycyclic aromatic hydrocarbons isolated from salt contaminated soil and bottom sediment in salt mining areas, Microbiology, No: 70 , PP :51-58
9. Bauer, J. , Douglas G.,1988,Effects of co-occurring aromatic hydrocarbon on individual polycyclic aromatic hydrocarbons in marine sediment, slurries ,No: 54, PP:1649-1654
10. Atlas ,R.,Bortha ,R. ,1972 ,Degradation and Mineralization of petroleum by two bacteria isolated from coastal water ,biotechnol Bioeng.No:14, PP:297-308
11. Cerniglia, C.E., 1984, Aromatic hydrocarbons: metabolism by bacteria, fungi and algae, in biochemical technology, Vol.3, P P: 116-125.
12. MOPAM, 1989, Manual of oceanographic observation and pollutant analysis Method, ROPME. kuwait
13. Pandey , G.; Gain , R.K., 2002, Marine views bacterial chemotaxis toward environmental pollution trans: role in bioremediation , Applid and environmental microbiology , Dec.2002, pp: 5789-5795
14. Wright ,J .D ., Ratledge ,C.,1991,Isolation of *Rhodotorula rubra* strains showing difference in degradation of aromatic compounds ,APP.,Microbial Biotechnol,Vol:35, PP:94-99
15. Walker, N., Wiltshire, G. H. , 1953 , The breakdown of naphthalene by a soil bacterium , gen microb , No : 8 , PP : 273- 279
16. Awata ,H.;Bates ,S. ;knaub ,D.; Popelka .,R. ,1998, Polynuclear

۲۸. مظاہریون، ف ، ۱۳۸۲ تجزیه بیولوژیکی هیدروکربن های آروماتیک چند حلقه ای توسط قارچ ها، مجموعه مقالات دومین همایش ملی بیوتکنولوژی
29. Corl ,E, Cerninglia ,C . , Eshenk ..,1995 ,Stereoselective metabolism of anthracene and phenanthrene by the fungus *cunninghamella elegans* APPI., Environ microbhal.,PP:119- 124
30. Sisler , F., Zobell , Z ., 1987, Microbial utilization of carcinogenic hydrocarbon , Science No: 106 , pp: 521-523
- , 1998, Characteristics of phenanthrene - degrading bacteria isolated from soils contaminated with Polycyclic aromatic hydrocarbon , J., Microbial , Vol: 44, PP: 743-752
25. Biegert, .,Fuchs,G.,1996,Polycyclic aromatic hydrocarbons ,Eur .,J .Biochem, No: 238 , PP : 661-668
26. Wright ,J .D ., Ratledge , C., 1991, Isolation of *Rhodotorula rubra* strains showing difference in degradation of aromatic compounds ,APP.,Microbial Biotechnol,Vol:35, PP:94-99
27. AshokT,B.,Saxena,S.,1995,Isolation and characterization of four Polycyclic aromatic hydrocarbon degrading bacteria from soil near and oil refinery APPI , Microbiol , NO:21,PP :246-253