

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

مژگان امتیازجو^{۱*}

moz_emtyazjoo@yahoo.com

سیما صدیقی^۲

مرجان امتیازجو^۳

تاریخ پذیرش: ۸۶/۲/۲۶

تاریخ دریافت: ۸۵/۱۲/۱۴

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 بار آلودگی نفتی و هیدروکربن های آروماتیک چند حلقه ای PAHs می باشد. در این تحقیق میزان PAHs توسط GCMS در ۸ ایستگاه انتخابی واقع در دو ترانسکت اندازه گیری شد. با توجه به وجود آنتراسن در بیشتر ایستگاه های تحقیقاتی میکروارگانسیم های تجزیه کننده آنتراسن از رسوبات جداسازی 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 . میکروارگانسیم هایی که توان تجزیه زیستی آنتراسن را داشتند، توسط روش های معمول میکروبیولوژیک شناسایی گردیدند، این میکروارگانسیم ها عبارتند از:

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

واژه های کلیدی: تجزیه زیستی ، آنتراسن ، هیدرو کربن های آروماتیک چند حلقه ای (PAHs) ، میکروارگانسیم ، 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 دریا دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال

۳- دکتری بیوتکنولوژی دانشگاه USM مالزی

مقدمه

گروه های مختلفی از PAHs می باشد، بنابراین سوپه های مختلف میکروبی برای تجزیه آن ها مورد نیاز می باشد.

میکروارگانسیم ها توسط واکنش های تنفسی هوازی و بی هوازی، تخمیر، کومتابولیسم و دهاالوژنه 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 دریایی اکسیداسیون نوری، اکسیداسیون شیمیایی، متابولیسم شدن بیولوژیک از جمله فرآیندهای مهم ترانسفورماسیون PAHs می باشد. باکتری ها و قارچ ها، PAHs را به مشتقات دی هیدرو دی ال ها و کاتکول اکسید می نمایند.

اکسیداسیون های بعدی این مواد باعث تبدیل شدن آن ها به دی اکسیدکربن 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 fluorescence* را که از توان خوبی برای تجزیه برخوردار بود به عنوان باکتری تجزیه کننده معرفی نمود. در این راستا Kaserer و Sohengen به باکتری *Methanomonats methanica Bacillus hexacarbarborarum* , Stomer که از خاک، جدا کردند، 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، نظیر نتایج تحقیقات محققینی که برای تجزیه میکروبی PAH ها، نقش دو گروه آنزیمی مونو و دی اکسیژناز را که بسیار مهم می باشند، نشان دادند. بسیاری از ارگانسیم ها توانایی تخریب PAH ها را در حد متوسط دارا می باشند. شکاف آنزیماتیک حلقه های آروماتیک هم چنین کاتالیزور آن ها توسط دی اکسیژناز می باشد (۱۱).

هدف از این تحقیق بررسی میکروارگانسیم 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 برد. این روش برای پاک سازی مواد دفعی مایع و جامد غیرسمی، آب های آلوده، مواد دفعی سمی زیان 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 میکروارگانسیم های بومی منطقه ای جهت حفظ ایمنی زیستی می باشد. ایمنی 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.

ایمنی زیستی (Biosafety cleanhnhng 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 ایمنی زیستی بسیار متنوع بوده و طیف گسترده آن عرصه های مختلف علمی و فنی را در برمی گیرد. لذا بهره برداری از میکروارگانسیم 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 (۶، ۵).

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

به مدت ۲ ساعت با همزن مخلوط شد. تشکیل کریستال های آنتراسن گویای ایجاد یک محلول اشباع می باشد. برای جداسازی میکروارگانسیم های تجزیه کننده آنتراسن از محیط کشت فاقد منبع کربن $ONR7\alpha$ با فرمول زیر استفاده شد:

محلول A:

$NaHCO_3$ ، Na_2SO_4 ۲/۹۸ g ، $NaCl$ ۲/۷۹ g ، $NaBr$ ۸۳ mg ، H_3BO_3 ۲۷ mg ، ۳۱ mg ، NaF ۲/۶ ، KCl mg ۰/۷۲ g ، NH_4Cl mg ۰/۲۷ ، Na_2HPO_4 ۸۹ g

محلول B:

$MgCl_2 \cdot 2H_2O$ ۱۱/۱ g ، $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ ۱/۴ mg ، $SrCl_2 \cdot 6H_2O$ ۲۴ g

محلول C:

$FeCl_2 \cdot 4H_2O$ 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 سابرو دکستروز آگار کشت داده شد.

پس از رشد، باکتری ها و قارچ ها کاملاً خالص سازی گردید. سپس بذر پاشی میکروبی با سویه های جدا شده که در محیط کشت تازه شبانه رشد یافته بودند، انجام شد. پتانسیل تجزیه پذیری کلنی های رشد یافته با روش چاهک گذاری و رشد بر سطح محیط کشت $ONR7\alpha$ مورد سنجش قرار گرفت. هم چنین با استفاده از روش سنجش ذی توده، میزان جذب توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۸۰ نانومتر اندازه گیری و نتایج با GC مورد بررسی قرار گرفت (۱۳). میکروارگانسیم هایی که بیشترین توان تجزیه آنتراسن را داشتند، مشخص شد. این میکروارگانسیم های بر سطح نوترینت 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 پروژه جداسازی باکتری های تجزیه کننده هیدروکربن های چند حلقه ای آروماتیک غالب در منطقه می باشد، نمونه برداری از رسوب توسط دستگاه ون وینگراب انجام شد. بدین لحاظ ۸ ایستگاه پیرامون جزیره سیری که ۵ تا 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 موقعیت منطقه نمونه برداری در شکل ۱ ارائه گردیده است. انتخاب ایستگاه ها بر اساس عملیات استخراج نفت در اطراف جزیره سیری و هم چنین تردد کشتی های 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).

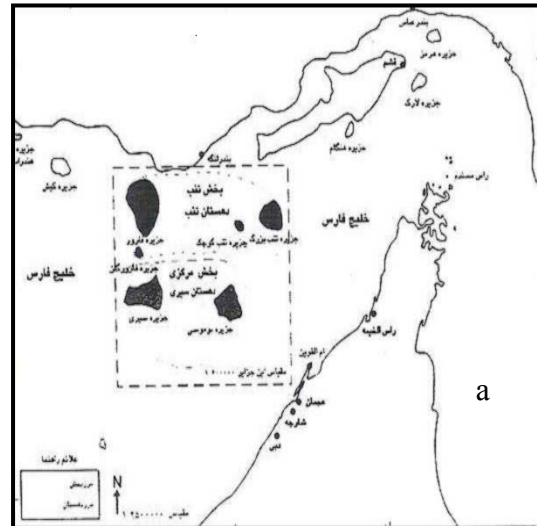
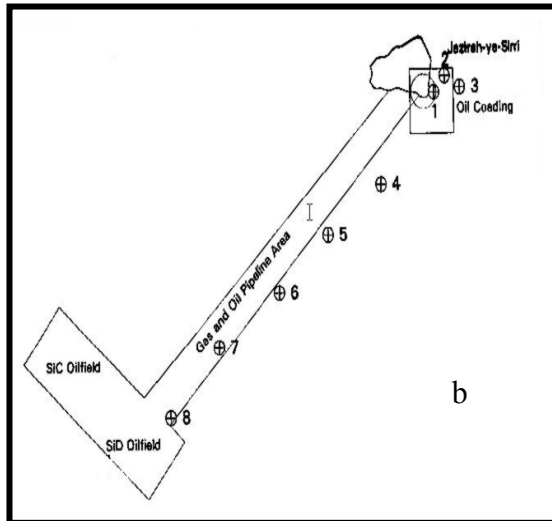
نمونه های سری اول پس از خشک شدن در سرما (Freeze dry) به وسیله سوکسله استخراج و به کمک نیتروژن تغلیظ شد و در نهایت پس از برش بر روی رسوبات با هگزان و دی کلرومتان عصاره حاصله با دستگاه GC-MS با ستون DB-۵، نوع یونیزاسیون: EL، طول ستون mm ۰/۲۵ با گاز حامل هلیوم مورد بررسی قرار گرفتند (۱۲).

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

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

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

میکروارگانیسم ها وکلنی 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 بیوشیمیایی 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 آلاینده های زیست محیطی می باشد. در فرایند استخراج و انتقال نفت، به طورعموم بخش عمده ای از نفت به محیط وارد می شود که آلکان 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 جداشده از رسوبات پیرامون جزیره سیری در روش سنجش ذی توده با استفاده از سنجش جذب ۲۴ و ۴۸ ساعته با اسپکتروفتومتر 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 تربودند و در روش چاهک گذاری نیز بیشترین رشد پیرامون چاهک های آنتراسن را ایجاد نموده و در سطح محیط کشت ONRT α پس از ۲۰ روز دردمای 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 تجزیه کنندگی *Pseudomonas* به ویژه سویه های *P. paucimobilis*- *P. Saccharophila – G3, p15 VT1*, *P. cepacia – C5*, *P. putida*, *P. fluorescens*, *P. stutzeri*, *P. vesicularis*, *P. testosterone* محرز گردیده است (۲۲، ۲۱، ۲۰، ۱۸).

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

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 سرطان 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 میکروارگانیسم 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 آروماتیک 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 میکروارگانیسم 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، Walker و Wiltshire در سال ۱۹۵۳، Awata و همکاران ۱۹۹۸ به دنیای علم معرفی شدند (۱۶، ۱۵، ۱۴). همچنین از باکتری *Vibrio* می توان به گونه های متعددی اشاره نمود که توان تجزیه این گروه از ترکیبات را دارا ند. البته در بین اعضای خانواده انتروباکتریاسه نیز توانایی تجزیه ترکیبات آروماتیک مشاهده شده است. *Moraxella sp*، *Mycobacterium sp* جدا شده از رسوبات دریایی نیز این توانمندی را به ویژه در مورد نفتالن و پیرن داراند (۱۹، ۱۸، ۱۷).

Pseudomonas از مهم ترین باکتری های تجزیه 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 نتایج سایر محققان ملاحظه می گردد که *Pseudomonas* 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

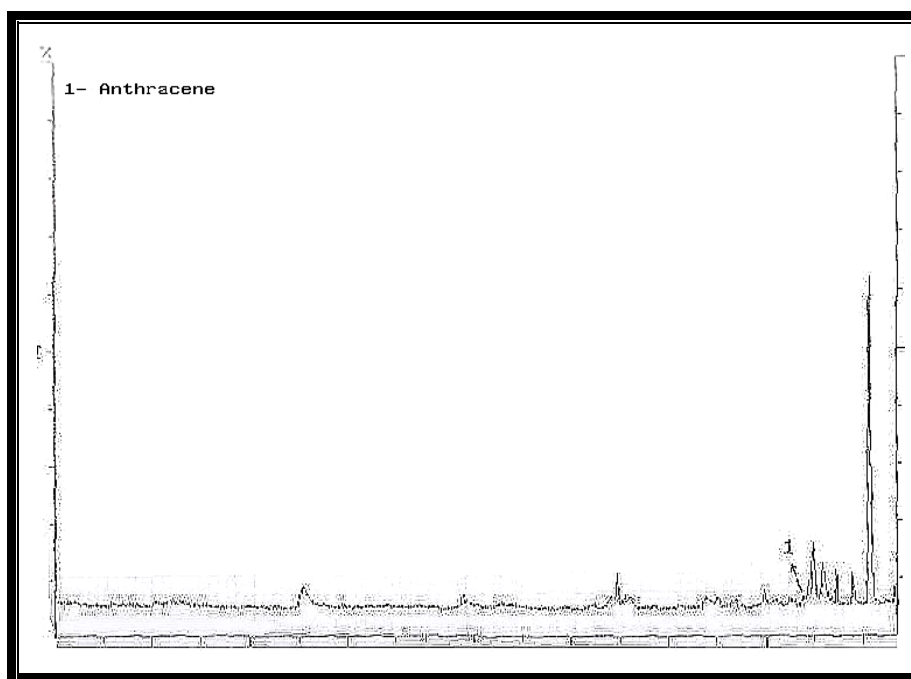
شماره ایستگاه	طول جغرافیایی °	عرض جغرافیایی °
۱	۵۴° ۳۳ ' ۴۱۰ "	۲۵° ۵۴ ' ۷۵۰ "
۲	۵۴° ۳۴ ' ۰۲۷ "	۲۵° ۵۴ ' ۹۲۱ "
۳	۵۴° ۳۴ ' ۴۶۶ "	۲۵° ۵۵ ' ۱۴۱ "
۴	۵۴° ۳۰ ' ۱۳۳ "	۲۵° ۵۰ ' ۵۴۵ "
۵	۵۴° ۲۷ ' ۳۴۴ "	۲۵° ۴۸ ' ۷۳۷ "
۶	۵۴° ۲۴ ' ۵۶۹ "	۲۵° ۴۶ ' ۴۱۴ "
۷	۵۴° ۲۱ ' ۱۰۰ "	۲۵° ۴۴ ' ۵۴۴ "
۸	۵۴° ۱۸ ' ۰۰۵ "	۲۵° ۴۲ ' ۱۵۶ "

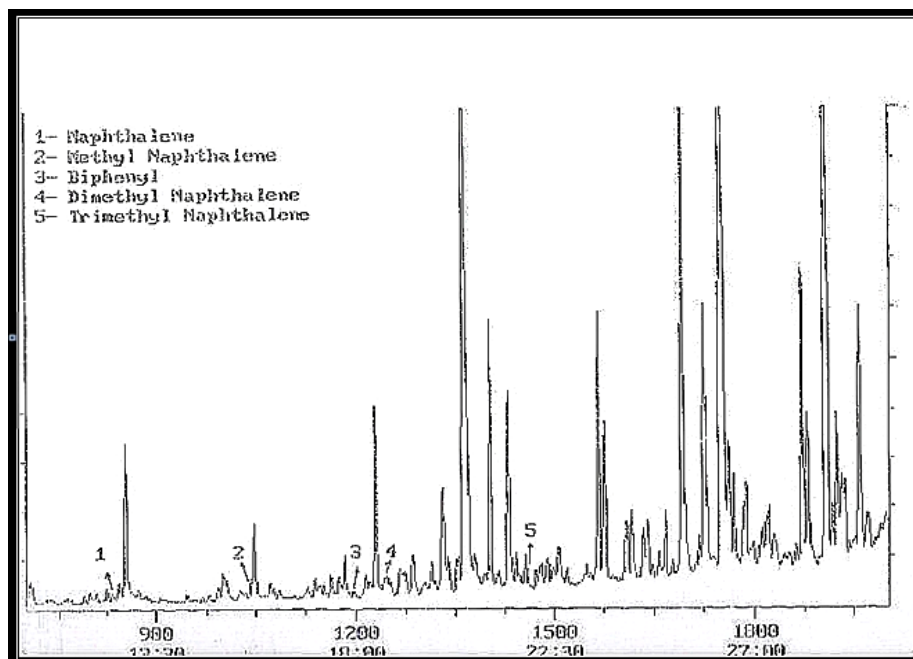
جدول ۲- نتایج اندازه گیری کیفی PAHs به کمک GC-MS

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

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	۰/۴۴۳۳	۰/۴۴۰۱	۸
			۰/۴۷۰۷	۰/۲۷۴۱	۹



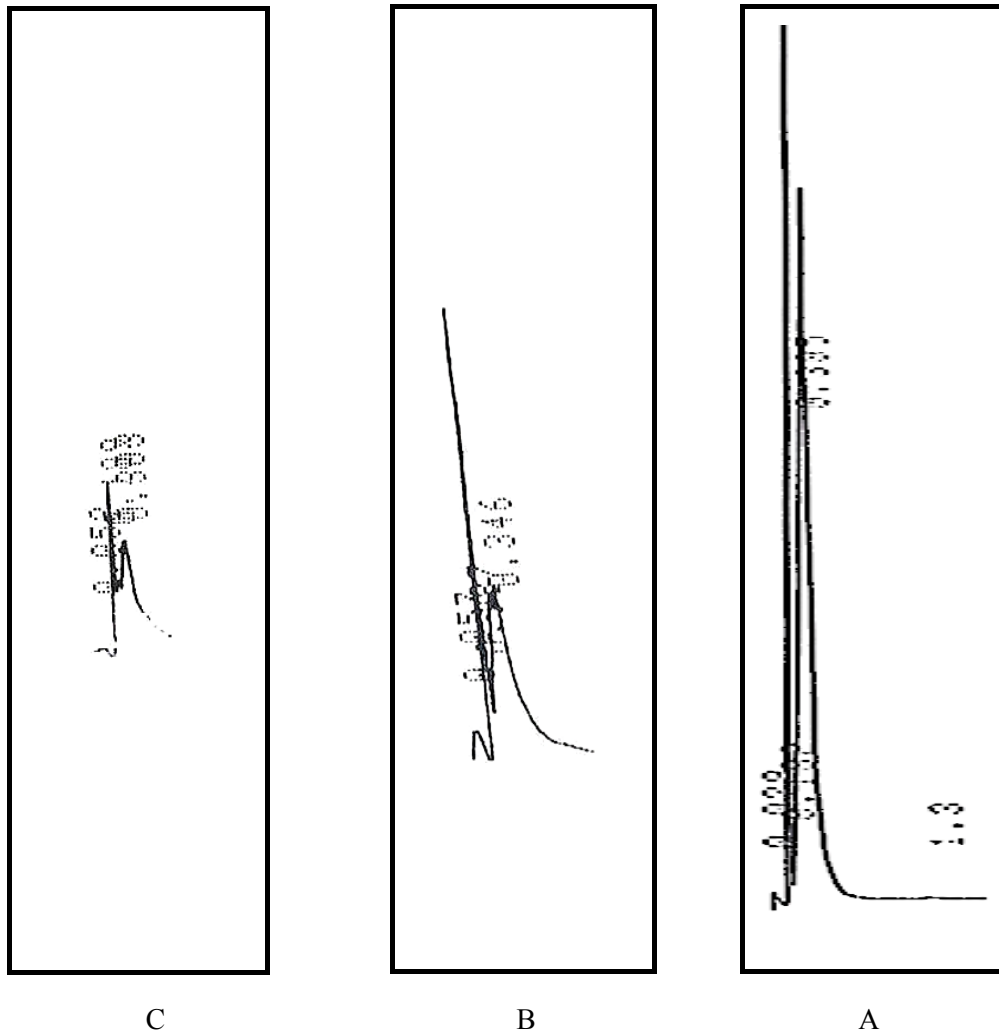


B

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

جزیره سیری - خلیج فارس

A: کروماتوگرام ایستگاه ۵ B: کروماتوگرام ایستگاه ۱



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

A: کروماتوگرام نمونه شاهد

B: کروماتوگرام باکتری *Staphylococcus sp PGIII*

C: کروماتوگرام باکتری *Pseudomonas sp PGIII*

PAHs می باشند و تصور می شود که بیشتر PAHs در حالی که از نظر ساختمان مشابه هستند مانند فنانترن، آنتراسن، بنزن، نفتالین، پیرن. احتمالاً اکسیژنازهای آن ها نیز مشابه است. لذا مجموعه میکروارگانیسم های خالص سازی شده طیف وسیعی از آلایند های محیطی را حذف می نمایند که از این نظر بسیار سودمند می باشند. 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, wright در سال ۱۹۹۱،

گزارش دادند (۲۱،۲۶،۲۷) میکروارگانیسم هایی که راه های تجزیه ای مشابه و اکسیژنازهای 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. مظاهری اسدی، م. و وفا، م.، ۱۳۸۳، ایمنی زیستی برای همه، انتشارات موج سبز، ۲۸ صفحه
3. امتیازجو، م. و قربانی نژاد، ا.، ۱۳۸۳، ایمنی زیستی در دریا و پروتکل کارتهینا، اولین همایش ملی ایمنی زیستی، کرج، ایران، صفحه ۳۲۳-۳۱۸
4. خوانساری، ن.، ۱۳۸۰، کنوانسیون تنوع زیستی و پروتکل ایمنی زیستی کارتهینا، سازمان حفاظت محیط زیست، ۱۲۵ صفحه
5. امتیازجو، م.، صدیقی، س.، ماشینچیان مرادی، ع و رعایی، ع.، ۱۳۸۲، بررسی کمی و کیفی هیدروکربن های چند حلقه ای آروماتیک PAHs در رسوبات جزیره سیری، خلیج فارس مجله علوم و فنون دریایی، دوره دوم، شماره سوم، صفحات ۹-۱
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 an enclosed 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 هیدرودی ال دهیدروناز، 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 دکربوکسیلاسیون اکسیداتیو سالیسیلات توسط آنزیم 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 CO₂ و H₂O 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 نفتوپیک اسید می گردد و در نهایت وارد چرخه کربن می شود (۲۷،۲۹،۳۰).

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 ایمنی زیستی 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. MacGillirray , 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. ذوالفقاری ، 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
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. kuwvait
 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
24. Aitken, M.D .; Stringfellow , W.T.; Nagel R. D.; Kazunga , C.; Chen , S. H

۲۸. مظاهریون، 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 phenantherene by the
fungus cunninghmella 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