



ΤΜΗΜΑ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«Αποκατάσταση ρυπασμένης άμμου από πετρελαιοειδή»

ΜΥΣΤΑΚΟΠΟΥΛΟΥ ΚΩΝ.ΝΙΚΟΛΙΝΑ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Καλογεράκης Νικόλαος, καθηγητής Π.Κ.(επιβλέπων)

Βενιέρη Δανάη, καθηγήτρια Π.Κ.

Πασαδάκης Νικόλαος, καθηγητής Π.Κ .

Χανιά-Οκτώβριος 2010

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στόχος της εργασίας είναι η εξέταση της αποτελεσματικότητας ορισμένων θρεπτικών ουσιών και παραγόντων βιοαποικοδόμησης στην βιοδιάσπαση πετρελαιοκηλίδων, με τη μέθοδο land farming. Η μέθοδος land farming είναι μια τεχνολογία βιοεξυγίανσης, κατά την οποία οι ρύποι εισάγονται στο έδαφος απ' όπου αναμένεται η βιοαποδόμηση τους από τους γηγενείς μικροβιακούς πληθυσμούς.

Η βιοαποικοδόμηση των πετρελαιοκηλίδων μπορεί να επιτευχθεί με τη χρήση κατάλληλων θρεπτικών υλικών (πηγές αζώτου και φωσφόρου) που στόχο έχουν την διέγερση των μικροοργανισμών που αναπτύσσονται στην διεπιφάνεια ύδατος-πετρελαίου. Ωστόσο η χρήση των ενίοτε υδατοδιαλυτών λιπασμάτων όπως είναι τα άλατα φωσφόρου και αζώτου παρουσιάζει το πρόβλημα της γρήγορης έκπλυσης τους μέσα στο θαλάσσιο περιβάλλον δημιουργώντας έτσι περαιτέρω περιβαλλοντικά προβλήματα. Για την αντιμετώπιση αυτού του προβλήματος χρησιμοποιήθηκαν λιπόφιλα φυσικά λιπάσματα τα οποία να είναι βραδείας διάλυσης έτσι ώστε να δρουν στην διεπιφάνεια ύδατος-πετρελαίου. Η δράση τους αυτή μπορεί να ενισχυθεί με τη χρήση επιφανειοδραστικών ουσιών βιολογικής προέλευσης (biosurfactants). Η σύζευξη των λιπόφιλων λιπασμάτων και των επιφανειοδραστικών ουσιών βοηθούν στην διασκόρπιση της πετρελαιοκηλίδας αυξάνοντας έτσι τη διεπιφάνεια ύδατος-πετρελαίου και συνεπώς την περιοχή δράσης των μικροοργανισμών. Οι βιολογικές αυτές επιφανειοδραστικές ουσίες προτιμώνται έναντι των χημικών διότι είναι πολύ λιγότερο τοξικές και πολύ ευκολότερα αποικοδομήσιμες. Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκαν 5 διαφορετικά δείγματα, έτσι ώστε να υπάρχει η δυνατότητα σύγκρισης της αποτελεσματικότητας των θρεπτικών.

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε εξετάζει τη μικροβιακή δραστηριότητα με την Ανάλυση του πιο Πιθανού Αριθμού (Most Probable Number) και ποσοτικοποιεί την απομάκρυνση των κορεσμένων υδρογονανθράκων και των πολυαρωματικών αρωματικών υδρογονανθράκων (PAHs) με τη χρήση GC-MS.

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο τμήμα Μηχανικών Περιβάλλοντος του Πολυτεχνείου Κρήτης το χρονικό διάστημα Οκτωβρίου 2009-Οκτωβρίου 2010 στο εργαστήριο Βιοχημικής Μηχανικής και Περιβαλλοντικής Βιοτεχνολογίας σχετικά με την αποκατάσταση ρυπασμένης άμμου με πετρελαιοειδή.

Για την πραγματοποίηση της παρούσας εργασίας θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου:

- Στον **κ. Καλογεράκη Νικόλαο**, Καθηγητή του Πολυτεχνείου Κρήτης και επιβλέποντα, για την επιλογή του θέματος, την άριστη συνεργασία που είχαμε, καθώς και για την συμπαράσταση του με τις συμβουλές αλλά και για την διόρθωση της εργασίας αυτής.
- Στην **κα. Βενιέρη Δανάη**, Καθηγήτρια του Πολυτεχνείου Κρήτης, για τον χρόνο που διέθεσε για την διόρθωση και εξέταση της εργασίας αυτής.
- Στον **κ. Πασαδάκη Νικόλαο**, Επίκουρου Καθηγητή του Πολυτεχνείου Κρήτης, για τις πολύτιμες συμβουλές και αμέριστη βοήθειά του κατά την εκπόνηση των πειραμάτων αυτών στο εργαστήριο Ανάλυσης Ρευστών και Πυρήνων Υπόγειων Ταμιευτήρων, καθώς επίσης και για τον χρόνο που διέθεσε για την διόρθωση και εξέταση της εργασίας αυτής.

Για την ολοκλήρωση της εργασίας αυτής συνέβαλαν επίσης και άλλοι συνεργάτες που θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά:

- Την υποψήφια διδάκτωρ του τμήματος Μηχανικών Περιβάλλοντος, **κα Νικολοπούλου Μαρία** για την καθοδήγηση και την πολύτιμη βοήθεια της στην εκπόνηση και ολοκλήρωση των πειραμάτων καθώς επίσης και για την άψογη συνεργασία που είχαμε.
- Την υπεύθυνη του εργαστηρίου Ανάλυσης Ρευστών και Πυρήνων Υπογείων Ταμιευτήρων, **κα. Χαμηλάκη Ελένη** για τη σημαντική συμβολή της στη διεκπεραίωση των πειραμάτων, καθώς και για την άψογη συνεργασία που είχαμε.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την οικογένεια μου, καθώς επίσης και την Αποστόλου Άντα, Ποθουλάκη Δέσποινα και Ρίβα Βάσω για την ψυχολογική υποστήριξη και πολύτιμη συμπαράσταση τους.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	7
1.1.ΙΣΤΟΡΙΑ ΤΟΥ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΥ	7
1.2. ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΥ.....	7
1.2.1.ΦΥΣΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΟΥ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΥ	9
1.3 ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΤΟΥ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΥ ΣΤΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ.....	10
1.3.1.ΔΙΕΡΓΑΣΙΕΣ ΓΗΡΑΝΣΗΣ(WEATHERING) ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΚΗΛΙΔΩΝ.....	10
1.4 ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΑ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΚΗΛΙΔΩΝ.....	13
1.5 ΣΥΝΕΠΕΙΕΣ ΡΥΠΑΝΣΗΣ ΑΠΟ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟ	15
1.5.1 Συνέπειες φυσικής μορφής.....	15
1.5.2 Συνέπειες βιολογικής μορφής	15
1.5.3 Επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου.....	16
1.6 ΤΡΟΠΟΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ ΤΩΝ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΚΗΛΙΔΩΝ....	16
1.6.1 Φυσικές μέθοδοι	16
1.6.2. Μη Χημικές Μέθοδοι	17
1.6.3 Χημικές Μέθοδοι.....	18
1.7 Η ΒΙΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗ (BIOREMEDIATION) ΩΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΥ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΚΗΛΙΔΩΝ.....	18
1.7.1 ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΤΗΣ ΒΙΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗΣ ΩΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΚΗΛΙΔΩΝ.....	20
1.8. ΜΕΘΟΔΟΣ LANDFARMING	21
1.9 ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΓΙΑ ΤΟΥΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥΣ ΒΙΟΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗΣ ΤΟΥ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΥ .	23
1.10 Περιβαλλοντικοί Παράγοντες που Επιδρούν στην Βιοαποικοδόμηση του Πετρελαίου	24
2.ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΩΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ.....	26

2.1 ΕΠΙΛΟΓΗ ΘΡΕΠΤΙΚΩΝ	26
2.2.ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ ΓΙΑ ΤΙΣ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ:	27
2.2.1.ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΜΕΘΟΔΩΝ ΓΙΑ ΤΙΣ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ	28
2.2.2 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ ΓΙΑ ΤΙΣ ΧΗΜΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ	29
2.2.3 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΜΕΘΟΔΩΝ ΓΙΑ ΤΙΣ ΧΗΜΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ	30
3.ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	37
3.2 ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΗ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ.....	37
3.2.1 Δομή του πειράματος	37
3.2.2.ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ	39
4.ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ	40
4.1 CONTROL	40
4.1.1 ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	40
4.1.2 ΧΗΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	41
4.2 NPK1	43
4.2.1 ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	43
4.2.2. ΧΗΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	44
4.3 NPK2	46
4.3.1. ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	46
4.3.2. ΧΗΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	47
4.4 ULR1	49
4.4.1. ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	49
4.4.2. ΧΗΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	50
4.5 ULR2	52
4.5.1. ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	52
4.5.2. ΧΗΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	53
5. ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΑ ΟΛΩΝ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ	55

5.1. ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΒΑΣΕΙ ΤΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ.....	55
5.2. ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΒΑΣΕΙ ΤΩΝ ΑΛΚΑΝΙΩΝ	56
6.ΣΥΝΟΛΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	57
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	63

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1.ΙΣΤΟΡΙΑ ΤΟΥ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΥ

Η λέξη «πετρέλαιο» προέρχεται από την Ελληνική λέξη πέτρα και τη λατινική Oleum, που σημαίνει «λάδι» . Χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από το Γερμανό ορυκτολόγο Agricola το 1556. Το πετρέλαιο είναι ορυκτό που αποτελεί κυρίως μείγμα υδρογονανθράκων και άλλων οργανικών ενώσεων φυσικής προέλευσης. Στην υγρή του μορφή είναι ελαιώδες και εύφλεκτο, έχει χαρακτηριστική οσμή, είναι αδιάλυτο στο νερό και ελαφρύτερο από αυτό. Η ακριβής του σύσταση παρουσιάζει μεγάλη ποικιλία, ανάλογα με την περιοχή άντλησής του, ενώ συχνά στις υπόγειες κοιλότητες που βρίσκονται τα κοιτάσματά του συναντάται και φυσικό αέριο. Τα κύρια συστατικά του είναι αλκάνια (παραφίνες), κυκλοεξάνια (ναφθένια) και αρωματικοί υδρογονάνθρακες και σε μικρότερες ποσότητες οξυγονούχες, αζωτούχες και θειούχες ενώσεις(Βογιατζής Γ. ,2007).

1.2. ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΥ

Το πετρέλαιο είναι ένα εξαιρετικά σύνθετο μίγμα κυρίως υδρογονανθράκων και άλλων ενώσεων άνθρακα και υδρογόνου, που περιέχουν επιπλέον άζωτο, οξυγόνο, θείο και άτομα μετάλλων. Τα σημεία βρασμού των συστατικών του πετρελαίου ξεπερνούν τους 1000°C, ενώ ο αριθμός των ατόμων άνθρακα φτάνει τα 80-100 στα μόρια των συστατικών. Η σύσταση του πετρελαίου παρουσιάζει έντονες διαφοροποιήσεις ανάλογα με την προέλευση και την ηλικία του. Τα συστατικά του πετρελαίου και των κλασμάτων του μπορούν να ταξινομηθούν σε δυο βασικές ομάδες ενώσεων, τους υδρογονάνθρακες και τις ετερο-ενώσεις. Οι υδρογονάνθρακες περιλαμβάνουν μόνο άνθρακα και υδρογόνο, ενώ οι ετερο-ενώσεις περιλαμβάνουν επιπλέον θείο, άζωτο, οξυγόνο, βανάδιο, νικέλιο ή σίδηρο. Ο γενικός χημικός τους τύπος είναι $C_nH_{2n+z}X_aY_bZ_c$, στον οποίο τα X,Y,Z είναι τα ετερο-άτομα, z είναι το έλλειμμα του υδρογόνου, και a, b, c είναι ο αριθμός των ετερο-ατόμων.

Οι υδρογονάνθρακες μπορούν να υποδιαιρεθούν στους ακόλουθους τύπους ομάδων:

1. Ακυκλικά αλκάνια (παραφίνες), διακλαδισμένα ή ευθείας αλυσίδας, με γενικό τύπο C_nH_{2n+2} .
2. Κυκλικά αλκάνια (ναφθένια). Αυτά περιλαμβάνουν έναν (μονο-ναφθένια) ή περισσότερους (πολυ-ναφθένια) κορεσμένους δακτύλιους ατόμων άνθρακα. Μπορούν να έχουν μια ή περισσότερες αλυσίδες (διακλαδισμένες ή ευθείες) ενωμένες στο δακτύλιο.

Οι ναφθενικοί δακτύλιοι περιλαμβάνουν συνήθως πέντε ή έξι άτομα άνθρακα. Ο γενικός τους τύπος είναι: C_nH_{2n} για τα μονο-ναφθένια, C_nH_{2n-2} για τα δι-ναφθένια κ.ο.κ.

3. Αλκένια (ολεφίνες), διακλαδισμένα, ευθείας αλυσίδας ή κυκλικά. Το ακατέργαστο πετρέλαιο και τα προϊόντα που προέρχονται από αυτό μέσω απόσταξης γενικά δεν έχουν ολεφίνες. Αντίθετα τα προϊόντα που λαμβάνονται από διαδικασίες όπως θερμική ή καταλυτική διάσπαση υδρογονανθράκων, μπορεί να περιέχουν μεγάλες ποσότητες ολεφινών. Ο γενικός τους τύπος είναι: C_nH_{2n} για μονο-ολεφίνες, C_nH_{2n-2} , για δι-ολεφίνες ή ναφθενικές μονο-ολεφίνες κ.ο.κ.

4. Αλκύνια με γενικό τύπο C_nH_{2n-2} . Σπάνια συναντώνται στα πετρελαϊκά μίγματα.

5. Αρωματικά, που περιέχουν τουλάχιστον ένα βενζολικό δακτύλιο. Μπορούν να έχουν μια ή περισσότερες αλυσίδες ή ναφθενικούς δακτυλίους, ενωμένα με τον βενζολικό δακτύλιο. Μόρια που περιέχουν ένα βενζολικό δακτύλιο ονομάζονται μονο-αρωματικά, αυτά με δύο αρωματικούς δακτυλίους δι-αρωματικά κ.ο.κ. Ο γενικός τους τύπος είναι C_nH_{2n-6} για μονο-αρωματικά με αλκυλική υποκατάσταση κ.ο.κ.

Σε μοριακό επίπεδο τα αλκάνια, αλκένια, αλκύνια και κυκλοαλκάνια και τα αρωματικά συστατικά διαφέρουν στον τύπο των δεσμών μεταξύ γειτονικών ατόμων άνθρακα. Τα αρωματικά μόρια έχουν δομή δακτυλίου, είναι επίπεδα και συμμετρικά ως προς τα νέφη των ηλεκτρονίων πάνω και κάτω από το επίπεδο του μορίου. Τα ηλεκτρόνια αυτά συμμετέχουν ταυτόχρονα σε πολλαπλούς δεσμούς και αυτό προσδίδει στο μόριο χημική σταθερότητα. Οι δεσμοί στους οποίους τα άτομα του άνθρακα μοιράζονται ηλεκτρόνια μόνο με γειτονικούς άνθρακες χαρακτηρίζονται ως αλειφατικές δομές. Τα μόρια είναι ουσιαστικά ελεύθερα να περιστρέφονται γύρω από αυτούς τους δεσμούς και με αυτό τον τρόπο οι αλειφατικές δομές μπορούν να πάρουν πολλές διαφορετικές διαμορφώσεις στο χώρο.

Οι πετρελαϊκοί υδρογονάνθρακες εμφανίζουν ομόλογες σειρές. Κάθε μέλος των σειρών ονομάζεται ομόλογο και διαφέρει από τα γειτονικά μέλη των σειρών από μια επαναλαμβανόμενη μονάδα, όπως για παράδειγμα η ομάδα $-CH_2$. Μέσα στις ομόλογες σειρές μεταβάλλονται οι φυσικές ιδιότητες των ενώσεων με τον αριθμό των ατόμων άνθρακα.

Για παράδειγμα, για κάθε άτομο άνθρακα που προστίθεται στην αλυσίδα κανονικών αλκανίων, αυξάνεται το σημείο βρασμού περίπου $20^\circ C$.

Ένα άλλο χαρακτηριστικό των πετρελαϊκών υδρογονανθράκων είναι ότι έχουν μεγάλο αριθμό ισομερών. Τα ισομερή είναι ενώσεις που έχουν τον ίδιο μοριακό τύπο αλλά διαφέρουν στις δομικές διαμορφώσεις. Γενικά, όσο ο αριθμός ανθράκων αυξάνεται, ο αριθμός των πιθανών ισομερών αυξάνεται εκθετικά. Ένα αλκάνιο με έξι άτομα άνθρακα έχει πέντε πιθανά ισομερή. Αυξάνοντας τον αριθμό των ανθράκων σε δέκα, αυξάνεται ο αριθμός των πιθανών ισομερών σε 75. Ο μεγάλος αριθμός των ισομερών ενώσεων στα πετρελαϊκά μίγματα εξηγεί τον μεγάλο βαθμό πολυπλοκότητάς τους (Πουλάκης Π., 2008).

1.2.1.ΦΥΣΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΟΥ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΥ

Φυσικές ιδιότητες του πετρελαίου που επηρεάζουν τη συμπεριφορά του στο περιβάλλον και τις επιλεγμένες στρατηγικές αντιμετώπισης και καθαρισμού των πετρελαιοκηλίδων περιλαμβάνουν:

1. Πυκνότητα:

Δύο τύποι εκφράσεων της πυκνότητας του πετρελαίου χρησιμοποιούνται συχνά: η ειδική πυκνότητα (specific gravity) και η πυκνότητα (API gravity) του American Petroleum Institute (API). Η ειδική πυκνότητα (specific gravity) είναι ο λόγος της μάζας μιας ουσίας στη μάζα του ισοδύναμου όγκου του νερού σε μια συγκεκριμένη θερμοκρασία. Η πυκνότητα API (API gravity) ορίζει αυθαίρετα μια τιμή 10 για το καθαρό νερό στους 10 °C (60F). Η πυκνότητα API (API gravity) μπορεί να υπολογιστεί από την ειδική πυκνότητα χρησιμοποιώντας τον τύπο:

$$API\ Gravity(o)=141.5/(specific\ gravity(16^{\circ}C/60^{\circ}F))-131.5$$

Τα πετρέλαια με μικρές πυκνότητες ή χαμηλές ειδικές πυκνότητες έχουν υψηλές API πυκνότητες. Το αργό πετρέλαιο έχει ειδική πυκνότητα με εύρος από 0,79 έως 1,00 (ισοδύναμες API πυκνότητες από 10 έως 48) (Clark and Brown, 1977). Η πυκνότητα πετρελαίου είναι ένας σημαντικός δείκτης της σύνθεσης πετρελαίου που χρησιμοποιείται συχνά για να προβλέψει την κατάληξη της πορείας του στο νερό.

2. Ιξώδες:

Το ιξώδες είναι η ιδιότητα ενός ρευστού που περιγράφει πώς αντιστέκεται σε μια αλλαγή στη μορφή ή τη μετακίνηση. Όσο χαμηλότερο ιξώδες έχει ένα ρευστό, τόσο ευκολότερα ρέει. Το ιξώδες του πετρελαίου συσχετίζεται με τη σύνθεσή του και την θερμοκρασία περιβάλλοντος. Αποτελεί ένα σημαντικό δείκτη του ρυθμού εξάπλωσης της πετρελαιοκηλίδας.

3. Σημείο Ροής (Pour Point):

Το σημείο ροής ενός πετρελαίου είναι η θερμοκρασία στην οποία γίνεται ημιστερεό ή σταματά να ρέει. Το σημείο ροής του αργού πετρελαίου κυμαίνεται από -57 °C έως 32 °C. Είναι ένα άλλο σημαντικό χαρακτηριστικό όσον αφορά την τύχη του πετρελαίου και τις στρατηγικές καθαρισμού.

4. Διαλυτότητα στο νερό:

Η διαλυτότητα του πετρελαίου στο νερό είναι εξαιρετικά χαμηλή και εξαρτάται από τη χημική σύνθεση του εν λόγω πετρελαϊκού υδρογονάνθρακα καθώς και τη θερμοκρασία. Για ένα χαρακτηριστικό αργό πετρέλαιο, η διαλυτότητα είναι περίπου 30 mg/L. Τα πιο διαλυτά τμήματα του πετρελαίου είναι οι χαμηλού μοριακού βάρους αρωματικές ουσίες όπως το βενζόλιο, το τολουόλιο και το ξυλόλιο. Αυτή η ιδιότητα είναι σημαντική όσον αφορά τη τύχη του πετρελαίου, την τοξικότητα του πετρελαίου και τις διεργασίες βιοεξυγίανσης.

Άλλες σημαντικές φυσικές ιδιότητες του πετρελαίου είναι το σημείο ανάφλεξης, η πίεση ατμού, η επιφανειακή τάση και η προσκόλληση (adhesion).

1.3 ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΤΟΥ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΥ ΣΤΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ

1.3.1.ΔΙΕΡΓΑΣΙΕΣ ΓΗΡΑΝΣΗΣ(WEATHERING) ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΚΗΛΙΔΩΝ

Το αργό πετρέλαιο αποτελείται από ελαφριούς και βαριούς υδρογονάνθρακες συμπεριλαμβανόμενων ασφατενίων, πισσών, και βιτουδιενίων(bitumen).Όταν χυθεί πετρέλαιο στην επιφάνεια της θάλασσας ,δημιουργείται μια σειρά φυσικοχημικών και βιολογικών διεργασιών που έχει σαν συνέπεια την πλήρη διασπορά και οδηγούν με αργό ρυθμό (στην περίπτωση που έχουμε ελαφριά κλάσματα πετρελαίου ο ρυθμός είναι σχετικά γρήγορος) στη σχεδόν πλήρη αποκατάσταση του θαλάσσιου περιβάλλοντος.Επομένως με το πέρασμα του χρόνου,το μίγμα υδρογονανθράκων της πετρελαιοκηλίδας υπόκειται σε σημαντικές αλλαγές ως προς τη σύνθεση του και ονομάζεται γήρανση (weathering process) του πετρελαίου.

1.3.1.1 ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ

Τα πετρελαιοειδή, γενικά διαχωρίζονται σε εμμένοντα (persistent) και μη εμμένοντα (non persistent), ανάλογα με τις φυσικές και χημικές διεργασίες που καταγράφονται κατά την εισαγωγή τους στο θαλάσσιο περιβάλλον. Εμμένοντα θεωρούνται εκείνα τα πετρελαιοειδή τα οποία, λόγω της χημικής τους σύστασης, όταν διαρρέουν στην θάλασσα αποικοδομούνται με αργούς ρυθμούς και εξαπλώνονται, με αποτέλεσμα την ανάγκη λήψης άμεσων μέτρων για την καταπολέμηση της επακόλουθης ρύπανσης. Αντιθέτως, τα μη εμμένοντα κατά την είσοδο τους στο θαλάσσιο περιβάλλον, υπόκεινται, σε φυσικό διασκορπισμό ή εξατμίζονται γρήγορα και δεν είναι πάντα απαραίτητο να ληφθούν μέτρα για την καταπολέμηση τους.

Οι φυσικοχημικές μεταβολές των πετρελαιοειδών είναι οι εξής:

Εξάπλωση (spreading): Το πλέον προφανές χαρακτηριστικό του πετρελαίου που διαρρέει στην επιφάνεια της θάλασσας είναι η τάση του να διασκορπίζεται οριζόντια, κάτω από τη δράση των συνδυασμένων δυνάμεων βαρύτητας, ιξώδους και επιφανειακής τάσης. Κατά κανόνα, επικρατεί αρχικά η βαρύτητα, επηρεαζόμενη από το ιξώδες του πετρελαίου. Ύστερα από λίγες ώρες το πάχος του πετρελαίου μειώνεται κατά πολύ και η επιφανειακή τάση διαδέχεται τη βαρύτητα σαν κύρια δύναμη εξάπλωσης. Τυπικά, το πετρέλαιο που διαρρέει σε νερό θα σχηματίσει ένα λεπτό φιλμ, το εσωτερικό τμήμα του οποίου έχει μεγαλύτερο πάχος απ' ότι στις άκρες. Τα περισσότερα είδη αργού πετρελαίου εξαπλώνονται σε στρώμα πάχους περίπου 0,3 mm εντός χρονικού διαστήματος 12 ωρών. Σε περίπτωση που δεν υπάρχουν άλλες επιδράσεις, η εξάπλωση συνεχίζεται έως ότου το πετρέλαιο σχηματίσει στρώμα πάχους από 0,5 μικρά (1 μικρό = 103 χιλιοστά).

Εξάτμιση (evaporation): Η διεργασία αυτή λαμβάνει χώρα μέσα σε λίγες ώρες από τη διαρροή και τα πλέον πτητικά κλάσματα μίας πετρελαιοκηλίδας χάνονται στην ατμόσφαιρα με ρυθμό που καθορίζεται από την ταχύτητα του ανέμου, τη θερμοκρασία και τον τύπο του πετρελαίου. Όταν η θάλασσα είναι ταραγμένη ο ρυθμός εξάτμισης αυξάνεται, γιατί διευκολύνεται η απώλεια πετρελαίου από τις κορυφές των κυμάτων, υπό τη μορφή σταγονιδίων.

Οι μεγάλες ταχύτητες του ανέμου και οι υψηλές θερμοκρασίες αυξάνουν επίσης τους ρυθμούς εξάτμισης. Το υπόλοιπο πετρέλαιο που παραμένει στη θάλασσα έχει μεγαλύτερη πυκνότητα και ιξώδες σε σχέση με το αρχικό. Στις περισσότερες κηλίδες αργού πετρελαίου χάνεται μέχρι το 40% του όγκου τους κατά τις πρώτες 48 ώρες, ενώ το βαρύ πετρέλαιο που περιέχει λίγες πτητικές ενώσεις θα παρουσιάσει χαμηλότερου επιπέδου εξάτμιση ακόμη και μετά από αρκετές ημέρες. Τα ελαφρά προϊόντα διύλισης, όπως η βενζίνη, η κηροζίνη και το πετρέλαιο ντίζελ εξατμίζονται σχεδόν τελείως μέσα σε διάστημα ωρών, δημιουργώντας κίνδυνο πυρκαγιάς σε κλειστές περιοχές, όπως τα λιμάνια.

Διάλυση (dissolution): Οι απώλειες από τη διάλυση είναι σχετικά μικρές, αφού οι περισσότεροι υδρογονάνθρακες από τους οποίους αποτελείται το πετρέλαιο παρουσιάζουν μικρή διαλυτότητα στο νερό της θάλασσας. Τα συστατικά του πετρελαίου, που μπορούν να διαλυθούν στο νερό, απομακρύνονται μέσω της εξάτμισης, η οποία κατά κανόνα προηγείται της διάλυσης. Στην πραγματικότητα, όσο αλμυρότερη είναι η θάλασσα (όπως συμβαίνει στη Μεσόγειο), τόσο ασθενέστερη είναι η διάλυση.

Βιοαποικοδόμηση (biodegradation): Η βιοαποικοδόμηση του πετρελαίου από βακτηρίδια που ζουν στη θάλασσα, συμβάλλει σημαντικά στη μετατροπή του πετρελαίου σε οξειδωμένα προϊόντα. Ο ρυθμός αποικοδόμησης εξαρτάται από τη θερμοκρασία, τις θρεπτικές ουσίες, την ύπαρξη οξυγόνου καθώς και τον τύπο πετρελαίου. Επειδή τα βακτηρίδια είναι ενεργά στη διαχωριστική επιφάνεια πετρελαίου/νερού, ο ρυθμός αποικοδόμησης αυξάνεται όταν σχηματίζονται λεπτές μεμβράνες ή σταγονίδια διασκορπισμένου πετρελαίου σε μεγάλη επιφάνεια. Τα ελαφρότερα κλάσματα αποικοδομούνται γρηγορότερα απ' ό,τι τα κλάσματα μεγαλύτερου μοριακού βάρους. Οι πλέον ευνοϊκές θερμοκρασίες για μικροβιακή ανάπτυξη είναι άνω των 25° C. Κάτω των 5° C οποιαδήποτε ανάπτυξη σταματά. Η διαλυτότητα του οξυγόνου στο θαλασσινό νερό είναι χαμηλή (6 έως 8 mg ανά λίτρο) σε σύγκριση με τις ποσότητες που απαιτούνται για την πλήρη οξείδωση των υδρογονανθράκων: 3 έως 4 mg οξυγόνου ανά mg υδρογονάνθρακα για μετατροπή σε CO₂ και H₂O.

Γαλακτωματοποίηση(emulsification):

Πετρέλαιο στο νερό: Αν η ροή στην επιφάνεια του νερού είναι τυρβώδης, το πετρέλαιο είναι δυνατόν να διασπασθεί σε σταγονίδια που αιωρούνται στο νερό. Τότε η κηλίδα δεν επηρεάζεται από τον άνεμο και μπορεί να επανασχηματισθεί σε κάποια απόσταση από την περιοχή όπου πραγματοποιήθηκε η αρχική διαρροή.

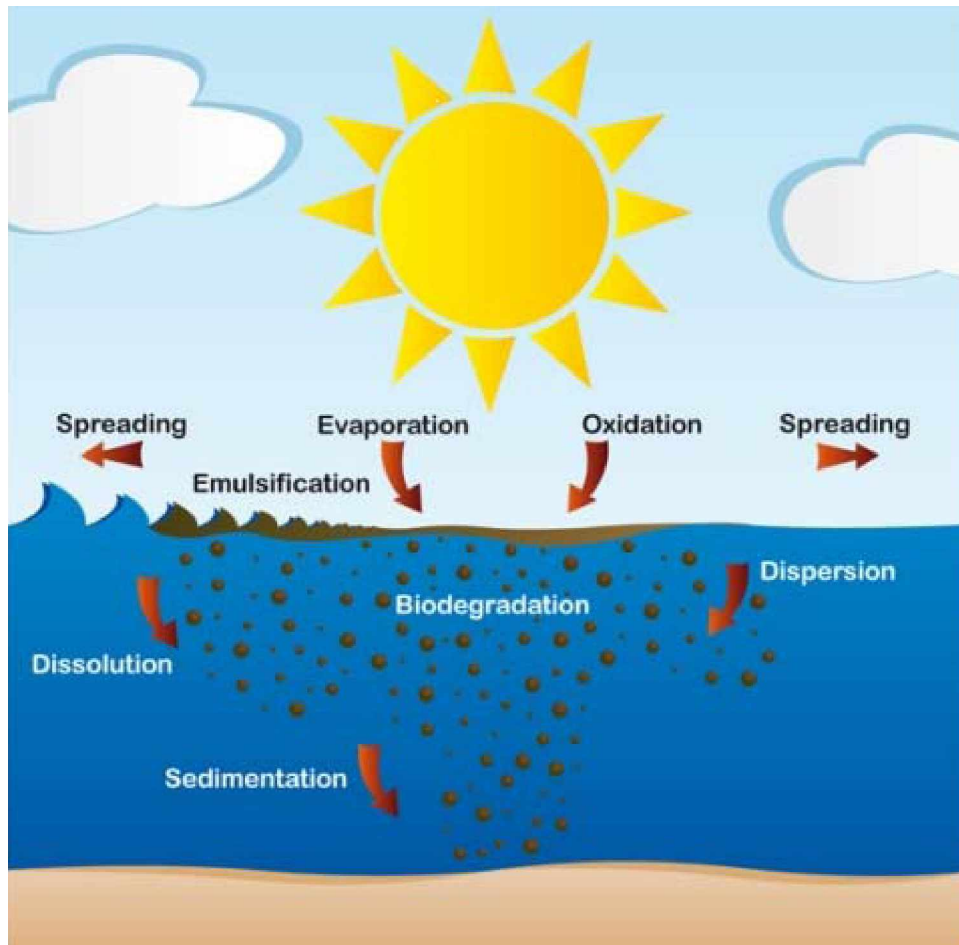
Νερό στο πετρέλαιο: Ο εν λόγω τύπος γαλακτώματος μπορεί να σχηματισθεί εντός ολίγων ωρών και περιέχει μέχρι 90% νερό. Επομένως η πυκνότητα και το ειδικό βάρος αυξάνουν καθώς επίσης και οι όγκοι που θα πρέπει να καταπολεμηθούν και να ανακτηθούν. Ο σχηματισμός των γαλακτωμάτων μεγαλώνει μέχρι και στο δεκαπλάσιο τον όγκο του ρύπου, επιβραδύνει, τις υπόλοιπες διαδικασίες της γήρανσης και τον μετασχηματίζει σε μορφή που μοιάζει να είναι περισσότερο στερεή παρά υγρή. Πρόκειται λοιπόν για την πλέον δυσάρεστη εξέλιξη ρύπανσης από πετρελαιοειδή στη θάλασσα και αυτήν που δυσχεραίνει περισσότερο το έργο των μηχανισμών αντιμετώπισης.

Φώτο-οξείδωση (oxidation): Η χημική αντίδραση των υδρογονανθράκων με το οξυγόνο καλείται οξείδωση. Η αντίδραση αυτή γίνεται στην επιφάνεια και λαμβάνει χώρα ταχύτερα, όταν το πετρέλαιο εξαπλωθεί σε λεπτή μεμβράνη. Η υπερϊώδης ακτινοβολία από το φως του ηλίου επιταχύνει την οξείδωση και κάτω από ιδανικές συνθήκες μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την επίδραση των καιρικών συνθηκών σε ποσοστό μέχρι 1% του πετρελαίου που διέρρευσε ανά ημέρα. Λόγω της ταχείας μείωσης της διείσδυσης του φωτός σε στρώματα πετρελαίου μεγάλου πάχους, οι επιπτώσεις της φωτοοξείδωσης παρουσιάζονται σε κηλίδες μικρού πάχους ή στο επιφανειακό στρώμα κηλίδων μεγάλου πάχους. Οι επιπτώσεις αυτού μπορούν να ευνοούν ή να εμποδίζουν την περαιτέρω ανάπτυξη της ρύπανσης. Τα πετρέλαια που οξειδώνονται με τη δράση του φωτός γενικά θεωρούνται περισσότερο διαλυτά και διασκορπίζονται καλύτερα στο θαλασσινό νερό και επομένως είναι βιοαποικοδομήσιμα. Σε βαρέα πετρέλαια ή σε εκείνα που έχουν χάσει τα ελαφρά συστατικά τους, η φωτοοξείδωση ευνοεί τις αντιδράσεις πολυμερισμού που εμποδίζει το χειρισμό αυτών των πετρελαίων και την τελική αποικοδόμησή τους.

Βύθιση και κατακάθιση (sedimentation and sinking): Η εξάτμιση και γαλακτωματοποίηση καθώς και η αύξηση της πυκνότητας που θα προκύψει μπορεί να βοηθήσει στη βύθιση της κηλίδας. Συχνά, η αιτία της βύθισης είναι η προσκόλληση ιζημάτων και άλλων οργανικών ουσιών ή και άμμου σε ρηχές θάλασσες με αμμώδη βυθό. Η βύθιση είναι επίσης δυνατή όταν παρατηρείται σημαντική πτώση της πυκνότητας των επιφανειακών νερών, όπως π.χ. παρατηρείται στις εκβολές ποταμών.

Κίνηση: Ο μηχανισμός της επιφανειακής κίνησης του πετρελαίου υπό την επίδραση του ανέμου δεν είναι πλήρως γνωστός, αλλά έχει υπολογιστεί εμπειρικά ότι το πετρέλαιο κινείται κατά την κατεύθυνση του ανέμου με ταχύτητα που είναι περίπου το 3% της ταχύτητας του ανέμου. Όταν υπάρχουν επιφανειακά ρεύματα, θα προστεθεί στην πιο πάνω ταχύτητα και η ταχύτητα του ρεύματος (Νικολοπούλου Μ., 2005).

Οι παραπάνω φυσικοχημικές διεργασίες του πετρελαίου, όταν αυτό διαρρέει στο θαλασσινό νερό, απεικονίζονται στην Εικόνα 1.

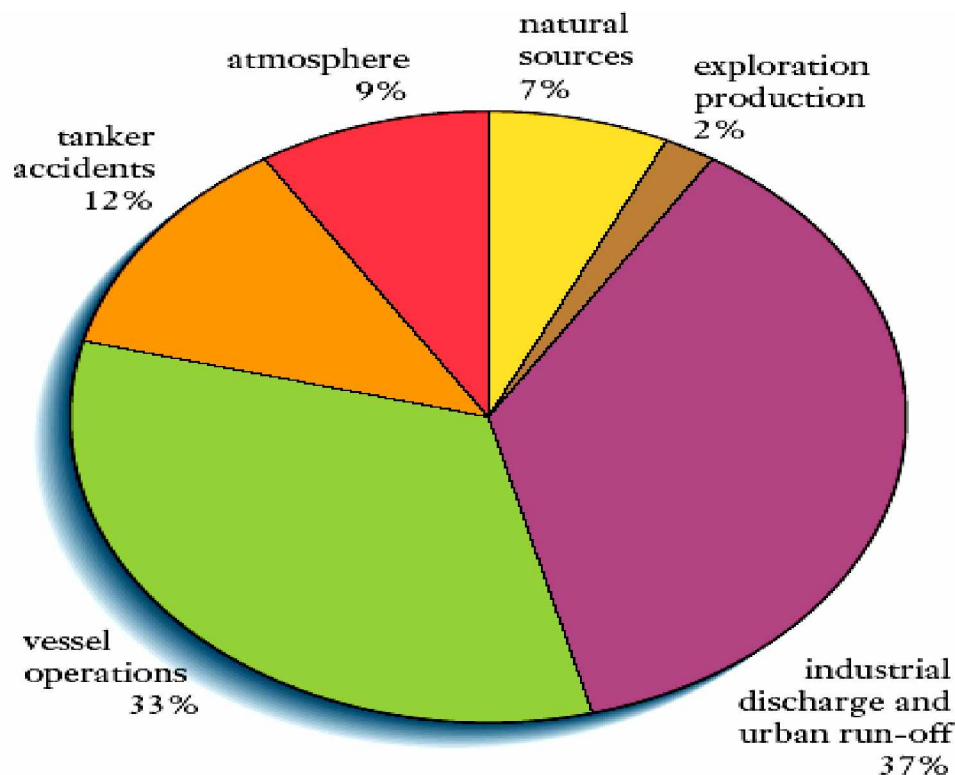


Εικόνα 1: Φυσικοχημικές μεταβολές πετρελαιοειδών.

1.4 ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΑ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΚΗΛΙΔΩΝ

Η σύγχρονη κοινωνία συνεχίζει να στηρίζεται στη χρήση των υδρογονανθράκων πετρελαίου προκειμένου να καλύψει τις ενεργειακές της ανάγκες. Παρά τις πρόσφατες τεχνολογικές προόδους, τα ατυχήματα με πετρελαιοκηλίδες αργού πετρελαίου και των ραφιναρισμένων προϊόντων του εμφανίζονται σε συχνή βάση κατά τη διάρκεια των διεργασιών εξαγωγής, μεταφοράς, αποθήκευσης, ραφινάρισματος και διανομής. Υπολογίζεται ότι μεταξύ 1,7 και 8,8 εκατομμυρίων μετρικών τόνων πετρελαίου που απελευθερώνεται στο υδάτινο περιβάλλον κάθε έτος, εκ των οποίων πλέον του 90% συσχετίζεται άμεσα με τις ανθρώπινες δραστηριότητες συμπεριλαμβανομένης της σκόπιμης διάθεσης αποβλήτων. Αντίθετα με την κοινή αντίληψη, μόνο το 12% του πετρελαίου που απελευθερώνεται στο υδρόβιο περιβάλλον προέρχεται από ατυχήματα δεξαμενόπλοιων. Οι πιο ρυπασμένες περιοχές είναι ο Ευρωπαϊκός Ατλαντικός, το Αγγλικό Κανάλι και η Γαλλική ακτή στη

βορειοδυτική Ισπανία καθώς τα περισσότερα ευρωπαϊκά πλοία διαπλέουν από αυτές τις περιοχές. Ειδικότερα στην κορυφή των θαλάσσιων τραγωδιών τα τελευταία χρόνια βρίσκεται η πετρελαιοκηλίδα που προκάλεσε το πλοίο Prestige το 2002 στις Ισπανικές ακτές (Fernandez –Alvarez P. et al, 2006).



Εικόνα 2: Κύριες εισαγωγές πετρελαίου στο θαλάσσιο περιβάλλον
(International Petroleum Industry Environmental Conservation Association, 2000.)

Κατ'εκτίμηση 100.000.000 τόνοι, το ένα τρίτο της παγκόσμιας παραγωγής πετρελαίου που φορτώνεται ετησίως σε δεξαμενόπλοια, μεταφέρεται μέσω της Μεσογείου. Από αυτούς, κατ' εκτίμηση 330.000 τόνοι αποβάλλονται σκόπιμα σε αυτήν την κλειστή θάλασσα, ενώ τα ατυχήματα αποτελούν μια πρόσθετη πηγή ρύπανσης 1.000.000 τόνων ετησίως. Οι προκύπτουσες κηλίδες πετρελαίου ξεβράζονται στην ξηρά από τους ανέμους στις πυκνοκατοικημένες μεσογειακές ακτές. Παρά την υψηλή ευαισθησία των κρατών της Μεσογείου καθώς και της Ευρωπαϊκής Ένωσης σε ατυχήματα με πετρελαιοκηλίδες, βάση της υφιστάμενης βιβλιογραφίας οι προσπάθειες αντιμετώπισης των διαρροών πετρελαίου σε αυτήν την ευαίσθητη περιοχή είναι λιγοστές (Santas R.,et all., 1999).

1.5 ΣΥΝΕΠΕΙΕΣ ΡΥΠΑΝΣΗΣ ΑΠΟ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟ

1.5.1 Συνέπειες φυσικής μορφής

Μια μεμβράνη πετρελαίου απλωμένη στην επιφάνεια της θάλασσας εμποδίζει τις εναλλαγές μεταξύ αέρα και θάλασσας, οι οποίες είναι απαραίτητες για τους θαλασσίους βιολογικούς κύκλους. Επομένως:

1. Μειώνεται η ανανέωση του οξυγόνου.
2. Παρεμβάλλεται στις ακτίνες του ήλιου επιβραδύνοντας έτσι τη χλωροφυλλική σύνθεση.
3. Έχει σαν επακόλουθο την αύξηση της θερμοκρασίας και ευνοεί την ανάπτυξη μικροοργανισμών που καταναλώνουν οξυγόνο.

1.5.2 Συνέπειες βιολογικής μορφής

Οι συνέπειες του πετρελαίου στο περιβάλλον είναι ποικιλόμορφες και πολύπλοκες. Μερικές εμφανίζονται άμεσα, ενώ άλλες είναι μακροχρόνιες. Επιδρούν σε διαφορετικό βαθμό τόσο στο ζωικό όσο και στο φυτικό βασίλειο της θάλασσας. Στην περίπτωση αργών πετρελαίων, τα πλέον πτητικά συστατικά και οι αρωματικές ενώσεις είναι τα πλέον τοξικά. Για τα προϊόντα διύλισης οι πλέον επιβλαβείς επιπτώσεις, προέρχονται γενικά από προϊόντα τα οποία έχουν χαμηλό σημείο βρασμού. Για παράδειγμα η πετρελαιοκηλίδα 37.000 τόνων αργού πετρελαίου North Slope στον Prince William Sound, της Αλάσκας, από το δεξαμενόπλοιο *Exxon Valdez* το έτος 1989 οδήγησε στη θνησιμότητα χιλιάδων θαλασσοπουλιών και θαλάσσιων θηλαστικών, σε σημαντική μείωση του πληθυσμού πολλών οργανισμών και σε πολλές μακροπρόθεσμες περιβαλλοντικές επιδράσεις (Spies R.B., 1996).



Εικόνα 4: Συνέπειες των πετρελαιοκηλίδων

1.5.3 Επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου

Πέρα από τη δηλητηρίαση που προκαλείται από την παρατεταμένη εισπνοή προϊόντων πετρελαίου, η κατανάλωση ορισμένων θαλασσίων ζώων (ψάρια, οστρακόδερμα, οστρακοειδή) που ήλθαν σε επαφή με το πετρέλαιο είναι επικίνδυνη για τον άνθρωπο, λόγω σωρευτικών επιπτώσεων.

Τις περισσότερες όμως φορές, οι επιβλαβείς επιπτώσεις της ρύπανσης γίνονται έμμεσα αντιληπτές μέσω των οικονομικών και οικολογικών επιπτώσεων:

1. Ζημιά σε βιολογικές πηγές, θαλάσσια πανίδα και χλωρίδα και κατά συνέπεια εμπόδιση ορισμένων θαλάσσιων δραστηριοτήτων.
2. Υποβάθμιση χώρων αναψυχής με σοβαρότατες επιπτώσεις στον τουρισμό, που σε όλες σχεδόν τις χώρες της Μεσογείου, αποτελεί μείζονος οικονομικής σημασίας.
3. Μείωση της ποιότητας του θαλασσινού νερού με επιπτώσεις στις πολλαπλές χρήσεις του.

Παρόλα αυτά, επειδή το πετρέλαιο χρησιμοποιείται ευρέως και δεν είναι δυνατή η εξάλειψη όλων των ατυχημάτων, πρέπει να θεσπιστούν ουσιαστικά αντίμετρα για την αντιμετώπιση του προβλήματος.

1.6 ΤΡΟΠΟΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ ΤΩΝ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΚΗΛΙΔΩΝ

Οι στρατηγικές για την αντιμετώπιση των πετρελαιοκηλίδων επηρεάζονται πολύ από διάφορους παράγοντες, όπως ο τύπος του πετρελαίου, τα χαρακτηριστικά της πληγείσας περιοχής και περιστασιακά από τις πολιτικές εκτιμήσεις. Έχουν αναπτυχθεί διάφορες προσεγγίσεις και τεχνολογίες για τον έλεγχο των πετρελαιοκηλίδων στο θαλάσσιο περιβάλλον. Αυτές οι μέθοδοι έχουν αναθεωρηθεί και έχουν περιγραφεί εκτενώς σε διάφορα έγγραφα, όπως για παράδειγμα: *Options for Minimizing Environmental Impacts of Freshwater Spill Response (NOAA, 1992)*, and *Oil Spill Response in the Marine Environment (Doerffer, J.W, 1992)*.

1.6.1 Φυσικές μέθοδοι

Η φυσική βιοεξυγίανση (natural attenuation) είναι η μέθοδος όπου το πετρέλαιο αφήνεται να απομακρυνθεί ή να αποικοδομηθεί με φυσικά μέσα χωρίς να χρησιμοποιηθεί κάποιο άλλο μέτρο. Για μερικές πετρελαιοκηλίδες, είναι πιθανότατα πιο αποδοτικό οικονομικά και οικολογικά υγιές να αφεθεί η ρυπασμένη με πετρέλαιο περιοχή να ανακτηθεί φυσικά από το να γίνει επέμβαση σε αυτήν. Παραδείγματα τέτοιων περιπτώσεων είναι οι πετρελαιοκηλίδες σε μακρινές ή απρόσιτες τοποθεσίες όταν τα φυσικά ποσοστά απομάκρυνσης είναι γρήγορα, ή πετρελαιοκηλίδες σε ευαίσθητες περιοχές όπου οι ενέργειες καθαρισμού (cleanup actions) μπορούν να προκαλέσουν περισσότερη ζημιά παρά να επιφέρουν τα προσδοκώμενα θετικά αποτελέσματα. Πρέπει επίσης να σημειωθεί ότι όταν χρησιμοποιείται φυσική βιοεξυγίανση ως μέθοδος καθαρισμού, απαιτείται η εφαρμογή κατάλληλου προγράμματος παρακολούθησης έτσι ώστε να αξιολογείται η απόδοση της.

1.6.2. Μη Χημικές Μέθοδοι

Οι μη χημικές μέθοδοι συγκράτησης και αποκατάστασης του πετρελαίου αποτελούν την πρωταρχική επιλογή αντιμετώπισης στις Ηνωμένες Πολιτείες για τον καθαρισμό πετρελαιοκηλίδων στο θαλάσσιο περιβάλλον. Οι συνηθέστερες μη χημικές μέθοδοι περιλαμβάνουν:

1. **Booming and skimming**: Χρήση πλωτών φραγμών προκειμένου να συγκρατηθεί και να ελεγχθεί η μετακίνηση του επιπλέοντος πετρελαίου και χρήση εξαφριστών για να ανακτηθεί. Η περιβαλλοντική επίδραση της μεθόδου αυτής είναι ελάχιστη εάν ελέγχεται η κυκλοφορία του εργατικού δυναμικού καθαρισμού.
2. **Wiping with absorbent materials**: Χρήση υδροφοβικών υλικών για την απομάκρυνση του πετρελαίου από τη μολυσμένη επιφάνεια. Αν και η διάθεση των ρυπασμένων απορριμμάτων είναι ένα ζήτημα, η περιβαλλοντική επίπτωση αυτής της μεθόδου είναι επίσης περιορισμένη εάν η κυκλοφορία των πληρωμάτων καθαρισμού και η παραγωγή αποβλήτων ελέγχεται επαρκώς.
3. **Μηχανική απομάκρυνση**: Συλλογή και απομάκρυνση των ρυπασμένων επιφανειών με πετρέλαιο, και ιζημάτων χρησιμοποιώντας μηχανικό εξοπλισμό. Αυτή η μέθοδος πρέπει να χρησιμοποιηθεί μόνο όταν είναι απαραίτητο να αφαιρεθούν μικρά ποσά υλικών με πετρέλαιο. Η μηχανική απομάκρυνση δεν πρέπει να ληφθεί υπόψη στον καθαρισμό των ευαίσθητων βιότοπων ή όπου η διάβρωση είναι ζήτημα.
4. **Πλύση**: Έκπλυση του πετρελαίου που εμμένει κατά μήκος των ακτών στο νερό για συλλογή. Οι στρατηγικές έκπλυσης κυμαίνονται από χαμηλής πίεσης έκπλυση με κρύο νερό σε έκπλυση υψηλής πίεσης με καυτό νερό. Αυτή η μέθοδος, όταν χρησιμοποιείται ειδικά με υψηλή πίεση ή καυτό νερό, πρέπει να αποφεύγεται σε υγρότοπους ή σε άλλους ευαίσθητους βιότοπους.
5. **Sediment relocation and tilling**: Μετακίνηση του ρυπασμένου με πετρέλαιο ιζήματος από το ένα τμήμα της παραλίας σε άλλο ή με επιφανειακή κατεργασία του εδάφους (tilling) και ανάμιξη του ρυπασμένου ιζήματος προκειμένου να ενισχυθεί ο φυσικός καθαρισμός μέσω της διασποράς του πετρελαίου στην υδάτινη στήλη και την προώθηση της αλληλεπίδρασης μεταξύ του πετρελαίου και των ανόργανων σωματιδίων. Η επιφανειακή κατεργασία του εδάφους μπορεί να προκαλέσει διείσδυση του πετρελαίου βαθιά στα ιζήματα των ακτών. Οι πιθανές περιβαλλοντικές επιδράσεις από την απελευθέρωση του πετρελαίου και τα ρυπασμένα ιζήματα στα παρακείμενα υδάτινα στρώματα πρέπει επίσης να ληφθούν υπόψη.
In-situ burning: Το πετρέλαιο στην ακτή καίγεται συνήθως όταν βρίσκεται πάνω σε καύσιμο υπόστρωμα όπως η βλάστηση, η βιομάζα και άλλα κατάλοιπα. Η εν λόγω μέθοδος μπορεί να προκαλέσει σημαντική ατμοσφαιρική ρύπανση καθώς και σοβαρές επιπτώσεις στη χλωρίδα και πανίδα.

1.6.3 Χημικές Μέθοδοι

Οι χημικές μέθοδοι, ιδιαίτερα οι χημικές ενώσεις διασποράς, χρησιμοποιούνται συνήθως σε πολλές χώρες ως βασική επιλογή αντιμετώπισης. Για ορισμένες χώρες, όπως το Ηνωμένο Βασίλειο, όπου οι δύσκολες παράκτιες συνθήκες μπορούν να καταστήσουν τη μηχανική αντιμετώπιση προβληματική, οι χημικές ενώσεις διασποράς αποτελούν την αρχική επιλογή (Prince, R. C, *et al.*, 1994). Σημειώνεται ωστόσο ότι οι χημικές μέθοδοι δεν έχουν χρησιμοποιούνται εκτενώς στις Ηνωμένες Πολιτείες λόγω της διαφωνίας σχετικά με την αποτελεσματικότητά τους και υποψιών περί τοξικότητας και μακροπρόθεσμων περιβαλλοντικών επιπτώσεών τους. Σημαντικοί υφιστάμενοι υπάρχοντες χημικοί παράγοντες είναι οι ακόλουθοι:

1. **Χημικές ενώσεις διασποράς**: παράγοντες διασποράς (dispersing agents), που περιέχουν επιφανειοδραστικά ενεργές ουσίες, χρησιμοποιούνται για να αφαιρέσουν το επιπλέον πετρέλαιο από την υδάτινη επιφάνεια για να το διασκορπίσουν στην υδάτινη στήλη προτού το πετρέλαιο φθάσει και μολύνει την ακτή. Η πρακτική αυτή χρησιμοποιείται για να μειωθούν οι τοξικές επιδράσεις του πετρελαίου με τη διάλυση του σε κατώτατες συγκεντρώσεις και να επιταχυνθεί ο ρυθμός βιοδιάσπασης του με την αύξηση της αποτελεσματικής περιοχής επιφάνειάς του.
2. **Demulsifiers**: Χρησιμοποιούνται για να διασπάσουν τα πετρέλαια σε νερό (oil-in-water) γαλακτώματα και για να ενισχυθεί η φυσική διασπορά.
3. **Solidifiers**: Οι χημικές ουσίες που ενισχύουν τον πολυμερισμό του πετρελαίου χρησιμοποιούνται για να σταθεροποιήσουν το πετρέλαιο, προκειμένου να ελαχιστοποιήσουν τη διάδοση και για να αυξήσουν την αποτελεσματικότητα των φυσικών διεργασιών αποκατάστασης.
4. **Surface film chemicals**: Οι film-forming agents μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να αποτρέψουν την προσκόλληση του πετρελαίου στα υποστρώματα των ακτών και για να ενισχύσουν την αφαίρεση του πετρελαίου που εμμένει στις επιφάνειες με διαδικασίες έκπλυσης με πίεση (Νικολοπούλου Μ., 2005).

1.7 Η ΒΙΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗ (BIOREMEDIATION) ΩΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΥ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΚΗΛΙΔΩΝ

Αν και οι συμβατικές μέθοδοι, όπως η φυσική απομάκρυνση (physical removal), είναι ο πρώτος τρόπος αντιμετώπισης, σπάνια επιτυγχάνουν τον πλήρη καθαρισμό των πετρελαιοκηλίδων. Σύμφωνα με το Office of Technology Assessment (*Office of Technology Assessment*, 1990), οι τρέχουσες μηχανικές μέθοδοι ανακτούν χαρακτηριστικά λιγότερο από 10-15% του πετρελαίου μετά από μία μεγάλης έκτασης πετρελαιοκηλίδα. Η βιοεξυγίανση έχει προκύψει ως μια από τις πιο ελπιδοφόρες δευτεροβάθμιες επιλογές επεξεργασίας για την απομάκρυνση πετρελαίου μετά από την επιτυχή εφαρμογή της στο ατύχημα του Exxon Valdez το 1989 (Bragg J.R. *et al.*, 1994).

Η βιοεξυγίανση έχει οριστεί ως "η ενέργεια προσθήκης υλικών στα ρυπασμένα περιβάλλοντα ούτως ώστε να προκληθεί επιτάχυνση των φυσικών διαδικασιών βιοδιάσπασης" (*Office of Technology Assessment*, 1991). Η εν λόγω τεχνολογία βασίζεται στην προϋπόθεση ότι ένα μεγάλο ποσοστό του πετρελαίου είναι εύκολα

βιοδιασπάσιμο στη φύση (Atlas, R. M. , 1984 ; Atlas, R.M. 1981 ; και Prince, R.C., 1993).

Η επιτυχία της βιοεξυγίανσης των πετρελαιοκηλίδων εξαρτάται από τη δυνατότητα καθιέρωσης και διατήρησης των συνθηκών που ευνοούν τους ρυθμούς ενισχυμένης βιοδιάσπασης του πετρελαίου στο ρυπασμένο περιβάλλον. Υπάρχουν δύο κύριες προσεγγίσεις στη βιοεξυγίανση των πετρελαιοκηλίδων:

- **Βιοενίσχυση (bioaugmentation)**, στην οποία γνωστά βακτήρια που αποικοδομούν το πετρέλαιο προστίθενται για να συμπληρώσουν τον υπάρχοντα μικροβιακό πληθυσμό, και
- **Βιοδιέγερση (biostimulation)**, στην οποία η αύξηση των γηγενών μικροβιακών αποδομητών πετρελαίου υποκινείται με την προσθήκη θρεπτικών ουσιών ή άλλων περιοριστικών υποστρωμάτων, ή/και από τις αλλαγές των περιβαλλοντικών συνθηκών (π.χ. έκπλυση από τα κύματα (surf-washing), προσθήκη οξυγόνου από την ανάπτυξη των φυτών, κ.λπ.).

Τόσο οι εργαστηριακές μελέτες όσο και οι μελέτες πεδίου έχουν δείξει ότι η βιοεξυγίανση, και η βιοδιέγερση ειδικότερα, μπορούν να ενισχύσουν τη βιοδιάσπαση πετρελαίου στις ρυπασμένες ακτές (Prince, R.C. ,1993 ; Swannell, R.P.J., et al., 1996). Οι πρόσφατες μελέτες στο πεδίο επίσης έχουν καταδείξει ότι η βιοδιέγερση είναι αποτελεσματικότερη προσέγγιση επειδή η προσθήκη μικροοργανισμών που αποικοδομούν υδρογονάνθρακες δεν θα ενισχύσει την διάσπαση πετρελαίου περισσότερο από την απλή προσθήκη θρεπτικών (Lee, et al. 1997 ; Venosa, et al ,1996). Η βιοεξυγίανση έχει διάφορα πλεονεκτήματα έναντι των συμβατικών τεχνολογιών. Κατ' αρχήν, η εφαρμογή της βιοεξυγίανσης είναι σχετικά ανέξοδη. Επίσης είναι μια πιο φιλική στο περιβάλλον τεχνολογία δεδομένου ότι περιλαμβάνει την τελική αποικοδόμηση του πετρελαίου σε ανόργανα προϊόντα (όπως το διοξείδιο του άνθρακα και το νερό), ενώ οι φυσικές και χημικές μέθοδοι μεταφέρουν χαρακτηριστικά το ρυπαντή από το ένα περιβαλλοντικό διαμέρισμα σε άλλο. Δεδομένου ότι είναι βασισμένη σε φυσικές διεργασίες και είναι λιγότερο παρεисφρητική και αποσυνδετική για τη ρυπασμένη περιοχή, αυτή η "πράσινη τεχνολογία" μπορεί επίσης να είναι πιο αποδεκτή στο ευρύ κοινό. Βέβαια η βιοεξυγίανση έχει και περιορισμούς. Η βιοεξυγίανση περιλαμβάνει ιδιαίτερα ετερογενείς και σύνθετες διεργασίες. Η επιτυχία της βιοεξυγίανσης πετρελαίου εξαρτάται από την κατοχή των κατάλληλων μικροοργανισμών στο πεδίο με τις κατάλληλες περιβαλλοντικές συνθήκες. Η λειτουργική χρήση της μπορεί να περιοριστεί από τη σύνθεση του πετρελαίου. Η βιοεξυγίανση είναι επίσης μια σχετικά αργή διαδικασία, που απαιτεί εβδομάδες έως μήνες για να εφαρμοστεί, η οποία μπορεί να μην είναι εφικτή όταν απαιτείται άμεσος καθαρισμός. Ανησυχίες προκύπτουν επίσης από τα πιθανά δυσμενή αποτελέσματα που συνδέονται για με την εφαρμογή των παραγόντων βιοεξυγίανσης (bioremediation agents). Αυτά περιλαμβάνουν την τοξικότητα των ιδίων των παραγόντων βιοεξυγίανσης και των μεταβολικών παραπροϊόντων της αποικοδόμησης του πετρελαίου και τον πιθανό ευτροφισμό που συνδέεται με τον θρεπτικό εμπλουτισμό (Swannell, et al, 1996). Η βιοεξυγίανση έχει αποδειχθεί ότι είναι ένα οικονομικό εργαλείο επεξεργασίας, εάν χρησιμοποιείται κατάλληλα, στον καθαρισμό ορισμένων ρυπασμένων με πετρέλαιο περιβαλλόντων. Έχουν παρατηρηθεί λίγα καταστρεπτικά αποτελέσματα κατά την εφαρμογή της στο πεδίο.

Την περίοδο αυτή, μια από τις σημαντικότερες προκλήσεις στην εφαρμογή της βιοεξυγίανσης πετρελαίου αποτελεί η έλλειψη οδηγιών σχετικά με το πότε και πώς να χρησιμοποιηθεί η εν λόγω τεχνολογία. Αν και έχει πραγματοποιηθεί εκτενής έρευνα

για τη βιοεξυγίανση πετρελαίου κατά τη διάρκεια της τελευταίας δεκαετίας, οι περισσότερες υπάρχουσες μελέτες έχουν επικεντρωθεί είτε στην αξιολόγηση της δυνατότητας πραγματοποίησης της βιοεξυγίανσης για την αντιμετώπιση της ρύπανσης πετρελαίου, είτε στη δοκιμή προϊόντων και μεθόδων (Mearns , 1997). Έχει πραγματοποιηθεί περιορισμένος αριθμός δοκιμών πιλοτικής κλίμακας και δοκιμών πεδίου, που μπορούν να παρέχουν πιο πειστικές επιδείξεις αυτής της τεχνολογίας. Πολλές δοκιμές πεδίου δεν έχουν σχεδιαστεί κατάλληλα, δεν έχουν ελεγχθεί καλά ή δεν έχουν αναλυθεί σωστά, οδηγώντας σε σκεπτικισμό και σύγχυση την κοινότητα χρηστών (Venosa A.D. , 1998). Υπάρχει άμεση ανάγκη για ένα λεπτομερές και εφαρμόσιμο σύνολο οδηγιών για την εφαρμογή αυτής της τεχνολογίας από τους αποκριτές των πετρελαιοκηλίδων που να απαντά στις ερωτήσεις όπως πότε να χρησιμοποιηθεί η βιοεξυγίανση, ποιοι παράγοντες βιοεξυγίανσης πρέπει να χρησιμοποιηθούν, πώς να τους εφαρμόσουν και πώς να ελέγξουν και να αξιολογήσουν τα αποτελέσματα. Επιστημονικά δεδομένα για την υποστήριξη ενός λειτουργικού εγγράφου οδηγιών έχουν παρασχεθεί πρόσφατα από εργαστηριακές μελέτες και δοκιμές πεδίου που πραγματοποιούνται από την U.S. Environmental Protection Agency (EPA), το πανεπιστήμιο του Cincinnati, και από τον Οργανισμό Fisheries and Oceans Canada.

1.7.1 ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΤΗΣ ΒΙΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗΣ ΩΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΚΗΛΙΔΩΝ

Η βιοεξυγίανση ως τεχνολογία παρουσιάζει διάφορες ιδιότητες που, ανάλογα με την κατάσταση και τον τύπο της περιοχής μπορεί να υποστηρίξει τη χρήση της στην αντιμετώπιση πετρελαιοκηλίδων.

Με τη μέθοδο της βιοεξυγίανσης τα πλεονεκτήματα είναι τα ακόλουθα:

1. Επιφέρεται συνήθως η ελάχιστη φυσική διάσπαση μιας περιοχής. Αυτή η ιδιότητα της είναι ιδιαίτερα σημαντική σε παραλίες όπου άλλες διαθέσιμες τεχνολογίες καθαρισμού μπορεί να προκαλέσουν πρόσθετη ζημία στο βιοτικό κόσμο της παραλίας.
2. Φαίνεται ότι προκύπτουν ελάχιστα ή μόνο μικρά και βραχύπρόθεσμα δυσμενή αποτελέσματα όταν χρησιμοποιείται σωστά.
3. Μπορεί να απομακρυνθούν μερικά από τα τοξικά συστατικά του πετρελαίου (π.χ., οι μικρού μοριακού βάρους αρωματικοί υδρογονάνθρακες) από μια πετρελαιοκηλίδα γρηγορότερα από ότι να απομακρυνθούν μόνο από εξάτμιση.
4. Η βιοεξυγίανση των πετρελαιοκηλίδων επιτυγχάνεται on-site και προσφέρει μια απλούστερη και πιο λεπτομερή λύση στις ρυπασμένες περιοχές. Επειδή ο εξοπλισμός και οι διοικητικές μέριμνες της βιοεξυγίανσης είναι συνήθως απλούστερες και απαιτούν λιγότερη χειρωνακτική εργασία, οι δαπάνες μπορεί να είναι χαμηλότερες απ' ό,τι για άλλες τεχνικές.

Με τη μέθοδο της βιοεξυγίανσης τα μειονεκτήματα είναι τα ακόλουθα:

1. Μπορεί να λειτουργήσει πιο γρήγορα από τη φυσική βιοδιάσπαση, αλλά δεν μπορεί να παραγάγει σημαντικά αποτελέσματα μικρής διάρκειας. Για παράδειγμα, εάν οι ακτές που επιθυμούμε να εξεταστούν απειλούνται από μια

μεγάλη διαρροή πετρελαίου μεσοπέλαγα, τότε η βιοεξυγίανση πιθανότατα δεν είναι το κατάλληλο αρχικό αμυντικό μέτρο. Θα ήταν καλύτερο να ανακτηθεί το πετρέλαιο από το νερό όσο το δυνατόν γρηγορότερα ή να διασκορπιστεί ή να καεί προτού να παρασυρθεί επάνω σε ακτές. Η βιοεξυγίανση παίρνει πάρα πολύ χρόνο να δουλέψει ως αρχικό μέτρο αντιμετώπισης για μια τέτοια απειλή.

2. Η προσέγγιση της μεθόδου αυτής πρέπει να προσαρμοστεί συγκεκριμένα σε κάθε ρυπασμένη περιοχή. Οι τεχνολογίες βιοεξυγίανσης δεν είναι και δεν μπορούν να γίνουν τεχνολογίες άμεσης εφαρμογής που μπορούν να χρησιμοποιηθούν με ίση αποτελεσματικότητα σε κάθε τοποθεσία συμβάντος.
3. Το κοινό δεν είναι ακόμα εξοικειωμένο με αυτές τις τεχνολογίες. Αν και η δημόσια στάση απέναντι στις "φυσικές" λύσεις στα περιβαλλοντικά προβλήματα είναι γενικά ευνοϊκή, η έλλειψη γνώσης για τους μικροοργανισμούς και του φυσικού ρόλου τους στο περιβάλλον θα μπορούσε να έχει επιπτώσεις στην αποδοχή της χρήσης τους. (Jordan, R.E. and Payne, J.R., 1980).

Συνοψίζοντας: τα πλεονεκτήματα της βιοεξυγίανσης είναι:

- Οι μικροοργανισμοί που αποικοδομούν το πετρέλαιο υπάρχουν παντού και γι' αυτό μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε ποικίλες ακτές
- Ελάχιστη φυσική διάσπαση της περιοχής
- Δεν έχει αρνητικές επιδράσεις εάν χρησιμοποιηθεί σωστά
- Απομακρύνει τα τοξικά συστατικά του πετρελαίου
- Απλούστερη και πιο λεπτομερής λύση για τις ρυπασμένες περιοχές από ότι οι μηχανικές μέθοδοι αντιμετώπισης
- Πιο οικονομική τεχνολογία
- Είναι φυσική διεργασία
- Δεν παράγει περαιτέρω απόβλητα

Και τα μειονεκτήματα είναι:

- Παίρνει αρκετό χρόνο για να δουλέψει σε σχέση με τις φυσικές/χημικές μεθόδους
- Δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε βαριά ρυπασμένες ακτές εκτός και αν χρησιμοποιηθεί ως δευτερεύουσα μέθοδος αντιμετώπισης
- Εξαρτάται από τις περιβαλλοντικές συνθήκες και τα χαρακτηριστικά του πετρελαίου
- Δεν πρόκειται να δουλέψει στα ανοιχτά νερά λόγω διάλυσης

1.8. ΜΕΘΟΔΟΣ LANDFARMING

Η μέθοδος land farming αποτελεί μια τεχνολογία βιοεξυγίανσης. Κατά την μέθοδο αυτή οι ρύποι εισάγονται στο έδαφος απ' όπου αναμένεται η βιοαποδόμηση τους από τους γηγενείς μικροβιακούς πληθυσμούς.

Σε αρκετές περιπτώσεις εισάγονται επιπλέον θρεπτικά στο έδαφος για την επιτάχυνση της βιοαποδόμησης (biostimulation).

Οι εδαφολογικοί όροι που πρέπει να ελεγχθούν για τη βέλτιστη υποβάθμιση του ποσοστού μόλυνσης παραγόντων είναι:

- Η υγρασία (ελέγχεται συνήθως με την άρδευση ή τον ψεκασμό).

- Ο αερισμός (ελέγχεται οργώνοντας το χώμα με μια προκαθορισμένη συχνότητα έτσι ώστε να αναμιχθεί το χώμα και να δημιουργούνται αναερόβιες συνθήκες).
- Το Ph (δημιουργώντας pH κοντά στο ουδέτερο pH με την προσθήκη του συντριμμένου ασβεστόλιθου ή του γεωργικού ασβέστη).
- Άλλες τροποποιήσεις (π.χ. θρεπτικές ουσίες, κ.λπ.).

Η περιοχή εδάφους που θα υποστεί επεξεργασία με land farming πρέπει να 'προστατευθεί' κατάλληλα ώστε να αποτραπούν οποιαδήποτε προβλήματα με τα υπόγεια ύδατα, τα επιφανειακά νερά, τον αέρα, ή τη επιμόλυνση των τροφικών αλυσίδων. Είναι απαραίτητη προϋπόθεση ο συχνός και επαρκής έλεγχος καθώς και η τήρηση των περιβαλλοντικών μέτρων προστασία (<http://www.cpeo.org>).

Περιορισμοί:

Οι παράγοντες που μπορούν να περιορίσουν τη δυνατότητα εφαρμογής και την αποτελεσματικότητα της διαδικασίας παρατίθενται ως ακολούθως :

- Απαιτείται μεγάλη χωρητικότητα για να χρησιμοποιηθεί
- Οι παράγοντες που επηρεάζουν τη βιολογική υποβάθμιση των μολυσματικών παραγόντων (π.χ., θερμοκρασία, βροχόπτωση) είναι κατά ένα μέρος ανεξέλεγκτοι, κάτι το οποίο αυξάνει το χρονικό διάστημα για την πλήρη επανόρθωση.
- Οι ανόργανοι μολυσματικοί παράγοντες δεν θα βιοδιασπαστούν.
- Οι πτητικοί μολυσματικοί παράγοντες, όπως οι διαλύτες, πρέπει να προεπεξεργάζονται επειδή εξατμίζονται στην ατμόσφαιρα, προκαλώντας ατμοσφαιρική ρύπανση.
- Ο έλεγχος της σκόνης είναι μια σημαντική λεπτομέρεια, ειδικά κατά τη διάρκεια του οργώματος και άλλου είδους διαδικασίες διαχείρισης υλικών.
- Οι εγκαταστάσεις συλλογής και απορροής πρέπει να κατασκευαστούν και να ελεγχθούν.
- Πρέπει να αξιολογηθούν η τοπογραφία, η διάβρωση του εδάφους , το κλίμα, η εδαφολογική στρωματογραφία, και η διαπερατότητα του χώματος καθώς και όλη η περιοχή και συναρτήσει όλων αυτών να καθοριστεί το βέλτιστο σχέδιο για την εφαρμογή της μεθόδου.
- Κάποια απόβλητα μπορεί να υπόκειται στον κανονισμό "Land-ban" «έδαφος-απαγόρευσης» και έτσι να μην είναι εφικτή η εφαρμογή της μεθόδου στο χώμα (http://www.frtr.gov/matrix2/section4/4_13a.html).

Η μέθοδος landfarming έχει αποδειχθεί ότι είναι η πιο επιτυχημένη μέθοδος διαχείρισης των πετρελαϊκών υδρογονανθράκων. Λόγω του ότι είναι πιο ελαφριοί , οι πιο πτητικοί υδρογονάνθρακες αντιμετωπίζονται καλύτερα από διαδικασίες που χρησιμοποιούν την αστάθειά τους. Η χρήση της υπέργεια βιοεξυγίανσης περιορίζεται συνήθως στους βαρύτερους υδρογονάνθρακες.(π.χ.κομποστοποίηση) .

Η μέθοδος landfarming διαφέρει από την μέθοδο της κομποστοποίησης επειδή το μολυσμένο χώμα ενσωματώνεται πραγματικά στο μη μολυσμένο χώμα και γενικά η μέθοδος της κομποστοποίησης πραγματοποιείται στα υπέργεια στρώματα.

Οι μολυσματικοί παράγοντες που έχουν αντιμετωπιστεί επιτυχώς χρησιμοποιώντας τη μέθοδο landfarming είναι: τα καύσιμα diesel, No. 2 και No. 6 πετρέλαια καυσίμων, JP-5 ελαιούχος λάσπη και ορισμένα φυτοφάρμακα (Cooney J.J. , 1984).

1.9 ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ ΓΙΑ ΤΟΥΣ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥΣ ΒΙΟΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗΣ ΤΟΥ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΥ

Μια από τις σημαντικότερες διεργασίες που περιλαμβάνονται στη γήρανση και την τελική απομάκρυνση του πετρελαίου από το περιβάλλον, ιδιαίτερα για τα μη πτητικά συστατικά του πετρελαίου είναι η βιοδιάσπαση του πετρελαίου. Οι υδρογονάνθρακες πετρελαίου και οι σχετικές ενώσεις αποικοδομούνται από μικροοργανισμούς οι οποίοι είναι ευρέως διαδεδομένοι στο θαλάσσιο και όχι μόνο περιβάλλον. Πάνω από 200 είδη βακτηρίων και μυκήτων έχουν αποδείξει ότι αποικοδομούν τους υδρογονάνθρακες που κυμαίνονται από το μεθάνιο ως τις ενώσεις με περισσότερα από 40 άτομα άνθρακα (Zobell C.E. ,1973). Στο θαλάσσιο περιβάλλον, τα βακτήρια θεωρούνται οι κυρίαρχοι βιοαποδομητές υδρογονανθράκων με μεγάλο εύρος κατανομής. Μερικοί από τους σημαντικότερους μικροοργανισμούς που αποικοδομούν υδρογονάνθρακες στο θαλάσσιο περιβάλλον είναι: *Achromobacter*, *acinetomyces*, *actinomyces*, *aeromonas*, *alcaligenes*, *bacilius*, *brevibacterium*, *pseudomonas*, *fungi*, *candida*, *gonytrichum*, *mucor*, *trichoderma*, *trichosporon*. (Cooney J.J. ,1984). Η κατανομή των μικροοργανισμών που καταναλώνουν υδρογονάνθρακες συσχετίζεται επίσης με την ιστορική έκθεση του περιβάλλοντος σε υδρογονάνθρακες. Εκείνα τα περιβάλλοντα με μια πρόσφατη ή χρόνια μόλυνση πετρελαίου θα έχουν υψηλότερο ποσοστό των μικροβιακών αποδομητών υδρογονανθράκων σε σχέση με τις αρρύπαντες περιοχές. Στα "καθαρά (pristine)" οικοσυστήματα, οι μικροοργανισμοί που καταναλίσκουν υδρογονάνθρακες μπορεί να αποτελούν λιγότερο από 0,1% της μικροβιακής κοινότητας και στα ρυπασμένα με πετρέλαιο περιβάλλοντα, μπορεί να αποτελούν μέχρι και το 100% των βιώσιμων μικροοργανισμών (Atlas, R.M. ,1981).

Πρέπει να σημειωθεί ότι δεν υπάρχει ούτε ένα γένος βακτηρίων με τη μεταβολική ικανότητα να αποικοδομεί όλα τα συστατικά που βρίσκονται μέσα στο αργό πετρέλαιο. Στη φύση, η βιοδιάσπαση αργού πετρελαίου περιλαμβάνει χαρακτηριστικά μια διαδοχή ειδών μέσα στα συσσωματώματα μικροοργανισμών με συνεργιστική δράση (consortia). Οι μικροοργανισμοί που δεν καταναλώνουν υδρογονάνθρακες μπορούν επίσης να διαδραματίσουν έναν σημαντικό ρόλο στην τελική απομάκρυνση του πετρελαίου από το περιβάλλον. Η αποικοδόμηση του πετρελαίου περιλαμβάνει προοδευτικές ή διαδοχικές αντιδράσεις, στις οποίες ορισμένοι οργανισμοί μπορούν να πραγματοποιήσουν την αρχική επίθεση στο συστατικό του πετρελαίου. Έτσι παράγονται ενδιάμεσες ενώσεις που χρησιμοποιούνται στη συνέχεια από μια διαφορετική ομάδα οργανισμών, με μια διαδικασία που οδηγεί σε περαιτέρω αποικοδόμηση (Karrick N.L. ,1977).

1.10 Περιβαλλοντικοί Παράγοντες που Επιδρούν στην Βιοαποικοδόμηση του Πετρελαίου

Ο ρυθμός βιοδιάσπασης του πετρελαίου επηρεάζεται επίσης πολύ από τα χαρακτηριστικά του ρυπασμένου περιβάλλοντος. Σημαντικοί περιβαλλοντικοί παράγοντες που έχουν επιπτώσεις στη βιοδιάσπαση πετρελαίου είναι :

Διεργασίες γήρανσης :

Οι διεργασίες γήρανσης όπως περιγράφονται στο κεφάλαιο 1.3.1 έχουν βαθιές επιδράσεις στη βιοδιάσπαση του πετρελαίου. Η εξάτμιση των πτητικών συστατικών του πετρελαίου μπορεί να ωφελήσει τους μικροοργανισμούς με την απομάκρυνση των τοξικότερων μικρού μοριακού βάρους συστατικών όπως το βενζόλιο και των μικρότερων *n*-αλκανίων. Εντούτοις, αυτή η διαδικασία οδηγεί σε ένα μικρότερο βιοδιασπάσιμο ποσοστό πετρελαίου, δεδομένου ότι αυτά τα συστατικά γενικά βιοδιασπώνται εύκολα (*National Academy of Sciences* ,1985).

Η περιοχή επιφάνειας του πετρελαίου είναι σημαντική επειδή η αύξηση των βιοαποδομητών πετρελαίου εμφανίζεται σχεδόν αποκλειστικά στη διεπιφάνεια πετρελαίου-ύδατος (*Atlas, R.M. and Bartha R.* ,1992). Ο σχηματισμός γαλακτώματος από το νερό και το πετρέλαιο μειώνει την περιοχή επιφάνειας, επομένως μειώνεται η βιοδιάσπαση. Οι πίσσες, που είναι μεγάλα σύνολα γηρασμένου και μη αποικοδομήσιμου πετρελαίου, περιορίζουν επίσης την πρόσβαση των μικροοργανισμών λόγω της περιορισμένης περιοχής επιφάνειάς τους. Η διασπορά των υδρογονανθράκων στην υδάτινη στήλη υπό μορφή γαλακτώματος από το νερό και το πετρέλαιο αυξάνει την περιοχή επιφάνειας του πετρελαίου και συνεπώς τη διαθεσιμότητά του για μικροβιακή επίθεση. Ο σχηματισμός γαλακτώματος από το νερό και το πετρέλαιο μέσω της μικροβιακής παραγωγής και της απελευθέρωσης των επιφανειοδραστικών ουσιών βιολογικής προέλευσης (*biosurfactants*) έχει βρεθεί επίσης ότι είναι μια σημαντική διεργασία στη λήψη των υδρογονανθράκων από τα βακτήρια και τους μύκητες (*Singer M.E. and Finnerty W.R.* ,1984). Αντίθετα, η εφαρμογή των χημικών διασποράς (*dispersants*) έχει παράγει μικτά αποτελέσματα και δεν έχει αποδειχθεί ότι είναι ένας αποτελεσματικός τρόπος για να ενισχυθεί η βιοδιάσπαση του πετρελαίου. Η φωτοοξειδωση οδηγεί στο σχηματισμό περισσότερων διαλυτών ενώσεων, οι οποίες είναι συχνά πιο βιοδιασπάσιμες.

Οι ρυθμοί βιοδιάσπασης επηρεάζονται επίσης από τις συγκεντρώσεις των μεμονωμένων συστατικών του πετρελαίου, τα οποία μπορούν να επηρεαστούν με τις διάφορες διεργασίες γήρανσης. Ωστόσο, οι υψηλές συγκεντρώσεις των υδρογονανθράκων μπορούν να προκαλέσουν την παρεμπόδιση της βιοδιάσπασης από τους περιορισμούς των θρεπτικών ουσιών ή του οξυγόνου ή από τις τοξικές επιδράσεις. Για πολλούς υδρογονάνθρακες ,θα φαινόταν να υπάρχει ένα βέλτιστο εύρος συγκέντρωσης για το μεταβολισμό κάτω από το οποίο δεν διεγείρεται η αποδόμηση και πάνω από το οποίο εμφανίζεται παρεμπόδιση. Οι διεργασίες γήρανσης επηρεάζουν τις τελικές συγκεντρώσεις των υδρογονανθράκων πετρελαίου στο περιβάλλον με διάφορους τρόπους.

Θερμοκρασία

Η ατμοσφαιρική θερμοκρασία του περιβάλλοντος επηρεάζει τόσο τις ιδιότητες του πετρελαίου όσο και τη δραστηριότητα του πληθυσμού των μικροοργανισμών. Σε χαμηλές θερμοκρασίες, το ιξώδες του πετρελαίου αυξάνεται, ενώ η πτητικότητα των τοξικών μικρού μοριακού βάρους υδρογονανθράκων μειώνεται, καθυστερώντας με αυτό τον τρόπο την αρχή της βιοδιάσπασης. Μερικοί υδρογονάνθρακες είναι πιο διαλυτοί σε χαμηλότερες θερμοκρασίες (π.χ., τα αλκάνια μικρής αλυσίδας), και μερικές μικρού μοριακού βάρους αρωματικές ενώσεις είναι πιο διαλυτές σε

υψηλότερες θερμοκρασίες. Αν και η βιοδιάσπαση των υδρογονανθράκων μπορεί να εμφανιστεί πέρα από ένα ευρύ φάσμα θερμοκρασιών, ο ρυθμός βιοδιάσπασης μειώνεται γενικά μειώνοντας τη θερμοκρασία.

Η επίδραση της θερμοκρασίας περιπλέκεται επίσης από άλλους παράγοντες όπως η σύνθεση του μικροβιακού πληθυσμού. Στα περιβάλλοντα όπου ένας ψυχρόφιλος πληθυσμός έχει καθιερωθεί, η αποδόμηση μπορεί να εμφανιστεί σε σημαντικούς ρυθμούς υπό κρύες συνθήκες. Η βιοδιάσπαση των υδρογονανθράκων έχει παρατηρηθεί σε θερμοκρασία τόσο χαμηλή όσο 0-2 °C στο θαλασσινό νερό και 1.1 °C στο έδαφος.

Οξυγόνο

Οι αερόβιες συνθήκες θεωρούνται γενικά απαραίτητες για την εκτενή αποδόμηση των υδρογονανθράκων πετρελαίου στο περιβάλλον δεδομένου ότι τα σημαντικότερα μονοπάτια αποδόμησης και για τα κορεσμένα και για τα αρωματικά περιλαμβάνουν τις οξυγενάσεις. Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι η μείωση του οξυγόνου οδηγεί σε αισθητά μειωμένες δραστηριότητες βιοδιάσπασης στα θαλάσσια ιζήματα και στα εδάφη. Οι περιοριστικές συνθήκες οξυγόνου κανονικά δεν υπάρχουν στα ανώτερα επίπεδα της υδάτινης στήλης στα θαλάσσια περιβάλλοντα και στο επιφανειακό στρώμα των περισσότερων ακτών. Το οξυγόνο μπορεί να γίνει περιοριστικός παράγοντας στα υποεπιφανειακά ιζήματα, στις ανοξικές ζώνες των υδάτινων στηλών και στις περισσότερες λεπτόκοκκες θαλάσσιες ακτές. Οι παράγοντες που επιδρούν στη διαθεσιμότητα του οξυγόνου είναι η δράση του κύματος, η ροή του νερού, η φυσική κατάσταση του πετρελαίου και το ποσό των διαθέσιμων υποστρωμάτων (substrates).

Η αναερόβια αποικοδόμηση του πετρελαίου σύμφωνα με κάποιες μελέτες εμφανίζεται μόνο σε αμελητέους ρυθμούς, οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι η περιβαλλοντική σημασία της αναερόβιας αποικοδόμησης των υδρογονανθράκων μπορεί να απορριφθεί. Ωστόσο, πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι ο αναερόβιος μεταβολισμός των υδρογονανθράκων μπορεί να αποτελέσει μια σημαντική διεργασία υπό ορισμένες συνθήκες. Μελέτες επίσης έχουν καταδείξει ότι σε μερικά θαλάσσια ιζήματα, τα PAHs και τα αλκάνια μπορούν να αποικοδομηθούν κάτω από συνθήκες αναγωγήςθειικών σε παρόμοιους ρυθμούς με αυτούς υπό αερόβιες συνθήκες. Η σημασία της αναερόβιας βιοδιάσπασης του πετρελαίου στο περιβάλλον απαιτεί ακόμα περαιτέρω μελέτη.

Θρεπτικά

Θεωρητικά, χρησιμοποιούνται περίπου 150 mg αζώτου και 30 mg φωσφόρου για τη μετατροπή 1g υδρογονάνθρακα σε υλικό κυττάρων. Όταν μια μεγάλη πετρελαιοκηλίδα εμφανίζεται στα θαλάσσια περιβάλλοντα η παροχή άνθρακα αυξάνεται εντυπωσιακά και η διαθεσιμότητα σε άζωτο και σε φωσφόρο γίνεται γενικά ο περιοριστικός παράγοντας για την αποικοδόμηση του πετρελαίου. Στα θαλάσσια περιβάλλοντα, ο θρεπτικός περιορισμός (nutrient limitation) συσχετίζεται γενικά με τα χαμηλά επίπεδα υποβάθρου σε άζωτο και φωσφόρο στο θαλασσινό νερό. Μια άλλη πιθανή περιοριστική θρεπτική ουσία (potential limiting nutrient) είναι ο σίδηρος, ο οποίος βρέθηκε να περιορίζει την αποικοδόμηση πετρελαίου στο καθαρό παράκτιο νερό.

Άλλοι παράγοντες

Άλλοι σημαντικοί παράγοντες που επηρεάζουν τη βιοδιάσπαση των υδρογονανθράκων πετρελαίου είναι το pH και η αλατότητα. Το pH του νερού της θάλασσας είναι γενικά σταθερό και ελαφρώς αλκαλικό. Τα περισσότερα ετερότροφα βακτήρια και μύκητες ευνοούν το ουδέτερο pH, με τους μύκητες να είναι πιο ανεκτικοί σε όξινες συνθήκες. Μελέτες έχουν δείξει ότι η αποικοδόμηση του

πετρελαίου αυξάνεται όταν αυξάνεται το pH και ότι η βέλτιστη αποικοδόμηση παρουσιάζεται υπό ελαφρώς αλκαλικές συνθήκες.

Οι αλλαγές στην αλατότητα μπορούν να έχουν επιπτώσεις στη βιοδιάσπαση του πετρελαίου μέσω της αλλαγής του μικροβιακού πληθυσμού. Τα περισσότερα θαλάσσια είδη έχουν ένα βέλτιστο εύρος αλατότητας από 2.5 ως 3.5% και αυξάνονται λίγο ή καθόλου σε αλατότητα χαμηλότερη από 1.5 με 2% . Σε μελέτη αλμυρών λιμνών εξάτμισης, απεδείχθη ότι ο ρυθμός μεταβολισμού των υδρογονανθράκων μειώθηκε με την αύξηση στην αλατότητα σε εύρος από 3.3 έως 28.4% . Περισσότερες μελέτες απαιτούνται για να γίνει κατανοητή η επίδραση της αλατότητας στη βιοδιάσπαση του πετρελαίου.(*Foght, J.M. and Westlake ,1987*).

2.ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΩΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΩΝ

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για την εξέταση των παραγόντων βιοεξυγίανσης εξετάζει τη μικροβιακή δραστηριότητα με την Ανάλυση του πιο Πιθανού Αριθμού(Most Probable Number) και ποσοτικοποιεί την απομάκρυνση των κορεσμένων υδρογονανθράκων με τη χρήση GC/MS.

2.1 ΕΠΙΛΟΓΗ ΘΡΕΠΤΙΚΩΝ

Όπως αναφέρθηκε στο πρώτο κεφάλαιο, η προσθήκη θρεπτικών έχει αποδειχθεί ότι είναι μια αποτελεσματική στρατηγική για την ενίσχυση της βιοδιάσπασης πετρελαίου σε διάφορες θαλάσσιες ακτές. Τα θρεπτικά που θα χρησιμοποιηθούν στο πείραμα πρέπει να πληρούν τις παρακάτω προδιαγραφές :

- Να αντιμετωπιστεί το πρόβλημα της γρήγορης έκπλυσης των θρεπτικών λόγω της δράσης των κυμάτων
- Να είναι δυνατή η δράση τους στην διεπιφάνεια πετρελαίου –ύδατος
- Να είναι εύκολα βιοδιασπάσιμα και μη τοξικά
- Το κόστος εφαρμογής τους να είναι μικρό

Για να αντιμετωπιστεί το πρόβλημα της γρήγορης έκπλυσης των θρεπτικών θα πρέπει τα επιλεγμένα θρεπτικά να είναι κατά προτίμηση υδατοδιαλυτά άρα να εμπίπτουν στην κατηγορία της βραδείας απελευθέρωσης ή ολεοφολικών θρεπτικών .Επιπλέον η ανάπτυξη των μικροοργανισμών που αποικοδομούν το πετρέλαιο λαμβάνει χώρα στη διεπιφάνεια πετρελαίου-ύδατος άρα θέλαμε τα συγκεκριμένα θρεπτικά να είναι ικανά να προσαρτηθούν στην επιφάνεια του κυττάρου ούτως ώστε να ενισχύσουν την προσκόλληση του στο πετρέλαιο και έπειτα να εκκριθούν στο μέσο για να ενισχύσουν την ‘ψευτοδιαλυτοποίηση’ του πετρελαίου. Τέλος τα θρεπτικά αυτά θα ήταν προτιμότερο να προέρχονται από άλλες διαδικασίες επεξεργασίας προϊόντων έτσι ώστε η εφαρμογή τους να είναι φθηνή. Έτσι λοιπόν τα προς επιλογή θρεπτικά πρέπει:

- Να είναι λιπόφιλα
- Να έχουν ιδιότητες επιφανειοδραστικών ενώσεων βιολογικής προέλευσης
- Να προέρχονται από διεργασίες επεξεργασίας προϊόντων

- Να είναι απαραίτητα φιλικά προς το περιβάλλον, δηλαδή βιοαποικοδομήσιμα και μη τοξικά

Σύμφωνα με τα παραπάνω τα θρεπτικά που πληρούν τις προϋποθέσεις μας είναι:

ΠΗΓΗ ΑΖΩΤΟΥ: Ουρικό οξύ επειδή αποτελεί υδατοδιαλυτή πηγή αζώτου που εύκολα προσαρτίζεται στην πετρελαϊκή φάση και συνήθως προέρχεται από φθηνές φυσικές ύλες όπως τα περιττώματα ζώων .

ΠΗΓΗ ΦΩΣΦΟΡΟΥ: Λεκιθίνη επειδή προέρχεται από την επεξεργασία της σόγιας συνεπώς είναι φθηνή φυσική ύλη και επειδή δρα ως επιφανειοδραστική ένωση βιολογικής προέλευσης.

2.2.ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ ΓΙΑ ΤΙΣ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ:

Απαιτείται ο παρακάτω εξοπλισμός :

1. ογκομετρικοί κύλινδροι
2. απιονισμένο νερό
3. χαρτί ζύγισης
4. 250-ml βιοριπυριτικές κωνικές φιάλες με βιδωτό καπάκι
5. Πιπέτες των 2ml, 10 ml, 25 ml
6. Falcons των 25ml
7. Pans(αλουμινένια κεσεδάκια)
8. Σωλήνες αραίωσης και καπάκια
9. Αποστειρωτικός κλίβανος
10. Επωαστικός θάλαμος
11. Ζυγαριά ακριβείας 0.1mg
12. Άγαρ marine broth
13. Bushnell-Hass medium
14. Microtitier MPN plates(96-well)
15. loops
16. Τριβλία
17. Βαφή INT

2.2.1.ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΜΕΘΟΔΩΝ ΓΙΑ ΤΙΣ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ

- ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΡΙΒΛΙΩΝ

Ζυγίζουμε 11,2 g marine άγαρ και τα βάζουμε σε μια ογκομετρική φιάλη των 250 ml και προσθέτουμε 200ml απιονισμένο νερό.

Αναδεύουμε μέχρι να διαλυθεί το άγαρ και στη συνέχεια το τοποθετούμε στον αποστειρωτικό κλίβανο.

Αφού το βγάλουμε από τον αποστειρωτικό κλίβανο,το αφήνουμε να κρυώσει λίγο και μέσα στον απαγωγό ρίχνουμε στα τριβλία τα οποία τοποθετούμε στη συνέχεια στο ψυγείο.

- ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΘΡΕΠΤΙΚΟΥ ΜΕΣΟΥ (Bushnell-Hass medium)

Ζυγίζουμε 3,27g Bushnell-Hass medium και τα βάζουμε σε μια ογκομετρική φιάλη του 1 L προσθέτοντας 1 L απιονισμένο νερό. Αναδεύουμε και στη συνέχεια το τοποθετούμε στον αποστειρωτικό κλίβανο.

Αφού το βγάλουμε από τον αποστειρωτικό κλίβανο, το αφήνουμε να κρυώσει λίγο και το τοποθετούμε στο ψυγείο.

- ΜΕΘΟΔΟΣ MPN

ü Αραιώσεις:

Παίρνουμε ογκομετρικές φιάλες με 10g δείγματος ρυπασμένης άμμου και 90ml BH-Medium.Στη συνέχεια αφαιρείται 1 ml ύδατος από κάθε φιάλη και προστίθεται σε έναν αποστειρωμένο σωλήνα αραιώσης που περιέχει 9 ml αποστειρωμένου Bushnell-Hass θρεπτικού (αραίωση 1:10) όπως περιγράφεται από Wrenn and Venosa(Wrenn A, Venosa AD. ,1996).Χρησιμοποιώντας τεχνική αποστείρωσης, αναμειγνύονται και εκτελούνται τμηματικές αραιώσεις (1 ml της προηγούμενης αραιώσης σε 9 ml αποστειρωμένου Bushnell-Hass μέχρι την 10^{-9} αραιώση).

ü Εμβολιασμός των 96 microtiter well MPN plates (μικροβιακοί αποδομητές πετρελαίου) :

Χρησιμοποιώντας τεχνική αποστείρωσης, προσθέτουμε 180 μl Bushnell-Hass σε κάθε πηγαδάκι.

Επίσης προσθέτουμε 5 μl πετρελαίου σε κάθε πηγαδάκι.

20 μl δείγματος από κάθε διάλυση προστίθενται σε κάθε πηγαδάκι στη σωστή σειρά ξεκινώντας από το πιο πυκνό. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται 3 φορές για κάθε διάλυση. Οι δυο τελευταίες στήλες είναι έλεγχοι (μάρτυρες) (όπου δεν προστίθεται καθόλου δείγμα).

Τα MPN plates επωάζονται στους 20 °C. Μετά από 14 μέρες επώασης, προσθέτουμε 20 μl βαφή INT (αφού πρώτα αποστειρωθεί) σε κάθε πηγαδάκι για να προσδιοριστεί η μικροβιακή ανάπτυξη. Μετά από μία μέρα επώασης προσδιορίζεται η αλλαγή χρώματος στα πηγαδάκια. Η εμφάνιση κόκκινου ή ροζ χρώματος πιστοποιεί θετική ένδειξη. Καταγράφεται ο αριθμός των θετικών πηγαδιών και σε τι διάλυση αυτά αντιστοιχούν και εισάγονται τα δεδομένα σε πρόγραμμα.(EPA , 2003 edition).

- ΜΕΤΡΗΣΗ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ΣΤΑ ΤΡΙΒΛΙΑ

Παίρνουμε 100 μl από την 1^η αραιώση και την ρίχνουμε στο τριβλίο. Ομοίως και για τις υπόλοιπες αραιώσεις.

2.2.2 ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ ΓΙΑ ΤΙΣ ΧΗΜΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ:

Απαιτείται ο παρακάτω εξοπλισμός :

1. Πιπέτες Pasteur
2. Σφαιρικές φιάλες
3. Υαλοβάμβακας
4. Υποδοχείς
5. Εκχυλιστήρες SOXHLET
6. Ογκομετρικές φιάλες
7. Ξηραντήρας
8. Vials 20ml
9. Στήλες SPE(Solid Phase Extraction)
10. Μηχάνημα Αζώτου (Nitrogen flow)
11. GC/MS όργανο

2.2.3 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΜΕΘΟΔΩΝ ΓΙΑ ΤΙΣ ΧΗΜΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ

- ΕΚΧΥΛΙΣΗ SOXHLET

Βάζουμε σε σφαιρικές φιάλες 8-10 πέτρες βρασμού και ζυγίζουμε τη φιάλη μαζί με τις πέτρες. Παίρνουμε 1 κομμάτι υαλοβάμβακα, το τοποθετούμε κάτω στον υποδοχέα (κυλινδρικό φιαλίδιο) και ζυγίζουμε. Παίρνουμε 20-30g δείγμα άμμου, το τοποθετούμε στους υποδοχείς και ξαναζυγίζουμε. Κόβουμε ξανά ένα κομμάτι υαλοβάμβακα και το βάζουμε από πάνω. Παίρνουμε τον υποδοχέα και τον τοποθετούμε προσεκτικά στον εκχυλιστήρα της soxhlet.

Βάζουμε με μια κυλινδρική φιάλη 300ml διαλύτη διχλωρομεθάνιο και το ρίχνουμε στη σφαιρική φιάλη με τις πέτρες βρασμού την οποία τοποθετούμε στο μηχάνημα και εφαρμόζουμε από πάνω τον εκχυλιστήρα της soxhlet. Ανοίγουμε το 'μάτι' στο 1 και ανοίγουμε και το νερό.

Αφήνουμε για 24 ώρες.



Εικόνα 5: Μηχάνημα εκχύλισης soxhlet.

- ROTAVAPOR (ΡΟΤΟΡΑΣ)

Βγάζουμε τη φιάλη από τη soxhlet και την τοποθετούμε στον ρότορα (στους 40° C), τοποθετούμε παγοκυψέλες στην αριστερή πλευρά έτσι ώστε να εξατμιστεί ο διαλύτης μας και να μείνει μόνο το δείγμα μας.

- KENO

Αφήνουμε το δείγμα μας στο κενό ώστε να ξεραθεί.

- ΣΤΗΛΕΣ SPE

Ζυγίζουμε τα μικρά φιαλίδια που θα χρησιμοποιήσουμε. Παίρνουμε 5-10mg (0,005-0,01g) πετρελαίου και το διαλύουμε σε 1ml εξανίου. SPE precondition με 4 ml εξανίου

Το πρώτο fruction(κλάσμα) 4ml εξανίου(αλιφατικοί)

Το δεύτερο fruction(κλάσμα) 4,5-5ml εξανίου (αρωματικοί)

Φτιάχνουμε σε ένα φιαλίδιο 2,5ml εξανίου και 2,5ml διχλωρομεθάνιο και τα διαλύουμε με μια σύριγγα του 1 ml(πλυμένη με εξάνιο) με ένα ml εξάνιο.

Βάζουμε 10 ml σε μια ογκομετρική φιάλη και το αδειάζουμε στη στήλη η οποία πρέπει να είναι ανοιχτή(ρυθμισμένη έτσι ώστε να πέφτει λίγο λίγο και μετά συμπληρώνουμε κι άλλα 2 ml στην ογκομετρική και τα ρίχνουμε κι αυτά.

Ρίχνουμε σιγά σιγά περίπου 5ml για να μην ξεχειλίσει το μικρό φιαλίδιο. Μόλις διαπεράσει τη στήλη το κλείνουμε, σηκώνουμε το πάνω καπάκι κ αδειάζουμε τα φιαλίδια στα wastes.

Όταν τελειώσουν τα συνδέουμε με το σωλήνα για το κενό και τα αφήνω περίπου 10 λεπτά.

Βάζουμε το δείγμα στη στήλη και προσθέτουμε 4ml εξανίου.

Τα αποτελέσματα που παίρνουμε είναι αλκάνια :A1,A2...

Τα βγάζουμε και τα βάζουμε να εξατμιστούν στο άζωτο.

Βάζουμε 3 καινούρια φιαλιδάκια από κάτω και προσθέτουμε περίπου 4,5 ml από το φιαλίδιο με το εξάνιο-διχλωρομεθάνιο.

Τα αποτελέσματα που παίρνουμε είναι αρωματικά:R1,R2....



ΕΙΚΟΝΑ 6:Στήλες SPE

- ΑΖΩΤΟ(Nitrogen flow)

Παίρνουμε ποσότητα δείγματος από τα στρογγυλά φιαλίδια με μία πιπέτα Pasteur και τα μεταφέρουμε στα άλλα μικρά φιαλίδια και συμπληρώνουμε με εξάνιο μέχρι να το μεταφέρουμε όλο και τα τοποθετούμε στο άζωτο μέχρι να εξατμιστούν μέχρι το 1 ml.

- GC/MS

Από τα τρία κλάσματα μόνο το κλάσμα των κορεσμένων ενώσεων αναλύεται στον GC/MS. Αμέσως πριν από την έγχυση, ένα εσωτερικό πρότυπο (internal standard) διάλυμα τεσσάρων δευτεριωμένων ενώσεων προστίθεται στο δείγμα των κορεσμένων. Τα δευτεριωμένα εσωτερικά πρότυπα χρησιμοποιούνται για να υπολογιστεί το ο σχετικός συντελεστής απόκρισης (relative response factor - RRF) για τους αναλύτες στόχους. Για να υπολογιστούν οι "κανικοποιημένες συγκεντρώσεις," η συγκέντρωση του αναλύτη στόχου σε έναν δεδομένο χρόνο δειγματοληψίας διαιρείται απλά με την επιλεγμένη διατηρημένη συγκέντρωση αναλύτη στην ίδια χρονική. Η GC/MS ανάλυση διεξάγεται χρησιμοποιώντας την ακόλουθη διαδικασία:

1. Ποσότητα από το διάλυμα εξανίου προστίθεται στο φιαλίδιο με τις κορεσμένες ενώσεις ώστε να έχουμε αραίωση 1:100-1:150 ανάλογα με τη μάζα του δείγματος που αναλύεται.

2. Σε 1ml του παραπάνω διαλύματος προστίθενται 50μl από το διάλυμα 200 ppm των εσωτερικών προτύπων και το δείγμα είναι έτοιμο για ένεση στο GC. Η τελική συγκέντρωση των εσωτερικών προτύπων σε κάθε δείγμα είναι 10 ppm. Αυτό το διάλυμα περιέχει 4 δευτεριωμένα συστατικά.: d_8 -naphthalene, d_{10} -anthracene, d_{12} -chrysene και d_{12} -perylene.

3. Ένα τυφλό δείγμα οργάνου αναλύεται πριν από την ανάλυση των αγνώστων αναλυτών. Τα εσωτερικά πρότυπα συνδυάζονται με τα εκχυλίσματα των δειγμάτων και εγχέονται μαζί σε κάθε ανάλυση για να ελεγχθεί η απόδοση του οργάνου κατά τη διάρκεια κάθε σειράς αναλύσεων.

4. Οι απαραίτητες πληροφορίες (όνομα, ποσότητα ,συνθήκες κλπ)σε σχέση με το δείγμα που εισάγεται κάθε φορά προς ανάλυση περιγράφονται στο acquisition form του προγράμματος του αέριου χρωματογράφου.

5. Το MS βαθμονομείται με βάση μια τροποποιημένη εκδοχή της EPA 8270. Έτσι αποκτάται μια καμπύλη βαθμονόμησης τεσσάρων σημείων για κάθε συστατικό πριν την ανάλυση των δειγμάτων στα 5,19.5,39 και 78 ppm. Η βαθμονόμηση των 4 σημείων πρέπει να διεξαχθεί σε πρότυπο μείγμα συστατικών όπως φαίνεται στον Πίνακα 2 για να προσδιοριστούν τα RRFs για κάθε αναλύτη. Το πρότυπο μείγμα (εκτός του βιοδείκτη) για την καμπύλη βαθμονόμησης αποκτήθηκε από την Absolute Standards, Inc.

6. Υπολογίζονται για κάθε συστατικό οι σχετικοί συντελεστές απόκρισης σε σχέση με το αντίστοιχο δευτεριωμένο εσωτερικό πρότυπο όπως αναφέρθηκε παραπάνω, χρησιμοποιώντας την ακόλουθη εξίσωση:

$$RF = A_x * C_{is} / (C_x * A_{is})$$

όπου:

RRF = Σχετικός συντελεστής απόκρισης

A_x = Το εμβαδόν της κορυφής του χαρακτηριστικού ιόντος για το συστατικό που μετράται (αναλύτη)

A_{is} = Το εμβαδόν της κορυφής του χαρακτηριστικού ιόντος για το συγκεκριμένο εσωτερικό πρότυπο

C_x = Συγκέντρωση του συστατικού που μετράται (ng/μL)

C_{is} = Συγκέντρωση του συγκεκριμένου εσωτερικού προτύπου (10 ng/μL). (Αυτή η συγκέντρωση είναι σταθερή στην εξίσωση για την καμπύλη βαθμονόμησης.)

7. Αναγνωρίζεται κάθε αναλύτης βασιζόμενοι στη integrated abundance από το πρωτεύον χαρακτηριστικό ιόν όπως φαίνεται στον Πίνακα 3.
8. Ποσοτικοποιείται ο κάθε αναλύτης χρησιμοποιώντας την τεχνική εσωτερικού προτύπου. Το εσωτερικό πρότυπο που χρησιμοποιείται πρέπει να είναι αυτό που έχει χρόνο έκλουσης κοντά στον δοσμένο αναλύτη (Πίνακας 4) (EPA ,2003 edition)



Εικόνα 7:Μηχάνημα GC/MS

Πίνακας 1: Ταξινόμηση Αναλυτών σύμφωνα με το αντίστοιχο εσωτερικό πρότυπο που χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό των συντελεστών απόκρισης

Internal standard	d ₈ -naphthalene	d ₁₀ -anthracene	d ₁₂ -chrysene	d ₁₂ -perylene
Αλκάνια	nC10-nC15	nC16-nC23 Pristane Phytane 5α-androstane	nC24-nC29	nC30-nC35 C3017 _β (H),21α(H)-hopane
Αρωματικές Ενώσεις	Naphthalene	Dibenzothiophene Fluorene Anthracene Phenanthrene	Fluoranthene Pyrene Chrysene	Benzo(b)fluoranthene Benzo(k)fluoranthene Benzo(e)pyrene Benzo(a)pyrene Perylene Indeno(g,h,i)pyrene Dibenzo(a,h)anthracene Benzo(1,2,3-cd)perylene

Πίνακας 2: Προτεύοντα ιόντα για κάθε αναλύτη στόχο κατά την ανάλυση GC/MS.

Συστατικό	Ιόν
n-alkanes (C ₁₀ -C ₃₅)	85
Pristane	85
Phytane	85
Naphthalene	128
C1-naphthalenes	142
C2-naphthalenes	156
C3-naphthalenes	170
C4-naphthalenes	184
Fluorene	166
C1-fluorenes	180
C2-fluorenes	194
C3-fluorenes	208
Dibenzothiophenes	184
C1-dibenzothiophenes	198
C2-dibenzothiophenes	212
C3-dibenzothiophenes	226
Anthracene	178
Phenanthrene	178
C1-phenanthrenes	192
C2-phenanthrenes	206
C3-phenanthrenes	220
Fluoranthene/pyrene	202
C1-pyrenes	216
C2-pyrenes	230
Chrysene	228
C1-chrysenes	242
C2-chrysenes	256
Hopanes (177 family)	177
Hopanes (191 family)	191
Steranes (217 family)	217
Benzo(b)fluoranthene	252
Benzo(k)fluoranthene	252
Benzo(e)pyrene	252
Benzo(a)pyrene	252
Perylene	252
Ideno(g,h,i)pyrene	276
Dibenzo(a,h)anthracene	278
Benzo(1,2,3-cd)perylene	276
d ₈ -naphthalene	136
d ₁₀ -anthracene	188
d ₁₀ -phenanthrene	188
d ₁₂ -chrysene	240
d ₁₂ -perylene	264
α-androstane	260

Πίνακας 3: Αναλύτες και συστατικά αναφοράς

Αναλύτης	Συστατικό αναφοράς	Αναλύτης	Συστατικό αναφοράς
n-C10	n-C10	C2-naphthalene	Naphthalene.
n-C11	n-C11	C3-naphthalene	Naphthalene.
n-C12	n-C12	C4-naphthalene	Naphthalene.
n-C13	n-C13	Fluorene	Fluorene.
n-C14	n-C14	C1-fluorene	Fluorene.
n-C15	n-C15	C2-fluorene	Fluorene.
n-C16	n-C16	C3-fluorene	Fluorene.
n-C17	n-C17	Dibenzothiophene	Dibenzothiophene.
Pristane	Pristane	C1-dibenzothiophene	Dibenzothiophene.
n-C18	n-C18	C2-dibenzothiophene	Dibenzothiophene.
Phytane	Phytane	C3-dibenzothiophene	Dibenzothiophene.
n-C19	n-C19	Phenanthrene	Phenanthrene.
n-C20	n-C20	Anthracene	Anthracene.
n-C21	n-C21	C1-phenanthrene	Phenanthrene.
n-C22	n-C22	C2-phenanthrene	Phenanthrene.
n-C23	n-C23	C3-phenanthrene	Phenanthrene.
n-C24	n-C24	Fluoranthene	Fluoranthene.
n-C25	n-C25	Pyrene	Pyrene.
n-C26	n-C26	C1-pyrene	Pyrene.
n-C27	n-C27	C2-pyrene	Pyrene.
n-C28	n-C28	Chrysene	Chrysene.
n-C29	n-C29	C1-chrysene	Chrysene.
n-C30	n-C30	C2-chrysene	Chrysene.
n-C31	n-C31	Benzo(b)fluoranthene	Benzo(b)fluoranthene.
n-C32	n-C32	Benzo(k)fluoranthene	Benzo(k)fluoranthene.
n-C33	n-C33	Benzo(e)pyrene	Benzo(e)pyrene.
n-C34	n-C34	Benzo(a)pyrene	Benzo(a)pyrene.
n-C35 $C_{30}^{17\alpha}$ (H), 21β (H)-hopane	n-C35 $C_{30}^{17\alpha}$ (H), 21β (H)-hopane	Perylene ideno(g,h,i)pyrene	Perylene ideno(g,h,i)pyrene
5 α -androstane	5 α -androstane	Dibenzo(a,h)anthracene	Dibenzo(a,h)anthracene.
C1-naphthalene	Naphthalene	Benzo(1,2,3-cd)perylene	Benzo(1,2,3-cd)perylene

3.ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

3.1 ΣΥΛΛΟΓΗ ΑΜΜΟΥ ΚΑΙ ΘΑΛΑΣΣΙΝΟΥ ΝΕΡΟΥ

Όλα τα προϊόντα εξετάζονται σε καθαρό φυσικό θαλασσινό νερό. Καθαρό φυσικό θαλασσινό νερό σημαίνει ότι η πηγή αυτού του νερού της θάλασσας δεν πρέπει να έχει μολυνθεί βαριά με βιομηχανικά ή άλλου είδους απόβλητα. Έτσι το δείγμα θαλασσινού νερού συλλέχθηκε από την περιοχή του Αγίου Ονούφριου. Πρέπει να σημειωθεί ότι η παραλία από όπου συλλέχθηκε η άμμος είναι ιδιαίτερα ρυπασμένη λόγω της παρουσίας κοντά στην παραλία δεξαμενών αποθήκευσης πετρελαίου. Οι θερμοκρασιακές συνθήκες την ημέρα της συλλογής ήταν 14°C και μετά από βροχή.

3.2 ΠΡΟΚΑΤΑΡΚΤΙΚΗ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ

3.2.1 Δομή του πειράματος

3.2.1.1 Υπολογισμός θρεπτικών

Η βέλτιστη εφαρμογή θρεπτικών σύμφωνα με την βιβλιογραφία είναι:

2 g N/100 g πετρελαίου 0.01 g N/0.5 g πετρελαίου 0.01 g N/100 mL διαλύματος
0.2 g P/ 100 g πετρελαίου 0.001 g P/0.5 g πετρελαίου 0.001 g P/100 mL διαλύματος

Έτσι λοιπόν η εφαρμοζόμενη ποσότητα ήταν:

- Ουρικό οξύ (33% N, MB=168,11):
Σε 168,11 g ουρικού οξέος περιέχονται 56 g N
Σε x g ουρικού οξέος περιέχονται 0,01 g N
άρα η εφαρμοζόμενη ποσότητα είναι: $x=0,03 \text{ g ουρικού οξέος}$
- Λεκιθίνη (9.5% P, 22% καθαρότητα, MB=325)
Σε 325 g λεκιθίνης περιέχονται 31 g P
Σε y_1 g λεκιθίνης περιέχονται 0,001 g P
άρα η εφαρμοζόμενη ποσότητα είναι: $y_1=0,01048 \text{ g λεκιθίνης}$

όμως το μίγμα έχει 22% καθαρότητα επομένως η συγκέντρωση της λεκιθίνης θα είναι:

σε 100 g μίγματος περιέχονται 22 g λεκιθίνης

σε y_2 g μίγματος περιέχονται 0,01048 g λεκιθίνης

άρα η εφαρμοζόμενη ποσότητα είναι: $y_2=0,0476 \text{ g λεκιθίνης}$

- KNO_3 :(MB=101)
Σε 101 g KNO_3 περιέχονται 14 g N
Σε x_1 g KNO_3 περιέχονται 0,01g N
άρα η εφαρμοζόμενη ποσότητα είναι: $x_1=0,0721 \text{ g KNO}_3$
- KH_2PO_4 (φωσφορικό κάλιο): (MB=136)

Σε 325 g KH_2PO_4 περιέχονται 31 g P
Σε y_3 g KH_2PO_4 περιέχονται 0,01 g P
άρα η εφαρμοζόμενη ποσότητα είναι: $y_3 = 0,0044 \text{ g } \text{KH}_2\text{PO}_4$

Το πείραμα αποτελείται από 5 ταψιά με ρυπασμένη άμμο, το 1^ο (control) αποτελείται από ρυπασμένη άμμο με πετρέλαιο χωρίς θρεπτικά, το 2^ο και 3^ο (ULR1, ULR2) αποτελείται από ρυπασμένη άμμο με πετρέλαιο και προσθέσαμε λεκιθίνη και ουρικό οξύ και το 4^ο και 5^ο (NPK1, NPK2) από ρυπασμένη άμμο με πετρέλαιο και προσθέσαμε KNO_3 και KH_2PO_4 . Οι ακριβείς ποσότητες είναι :

για το ULR1: α) ΛΕΚΙΘΙΝΗ: 4,7701 g με 20% διχλωρομεθάνιο (DCM) , 3,5 ml biosurfactant σε 100 ml θαλασσινού νερού και β) ΟΥΡΙΚΟ ΟΞΥ: 3,0044 g σε 100 ml θαλασσινού νερού

για το ULR2: α) ΛΕΚΙΘΙΝΗ: 4,7741 g με 20 ml DCM και 3,5 ml biosurfactant σε 100 ml θαλασσινού νερού και β) ΟΥΡΙΚΟ ΟΞΥ: 3,0012 g σε 100 ml θαλασσινού νερού.

για το NPK1: 7,2132 g KNO_3 και 0,4451 g KH_2PO_4 διαλυμένα σε 100 ml θαλασσινού νερού.

για το NPK2: 7,2153 g KNO_3 και 0,4407 g KH_2PO_4 διαλυμένα σε 100 ml θαλασσινού νερού.



Εικόνα 8: Ταψιά με τα δείγματα CONTROL, ULR1, ULR2, NPK1, NPK2.

Όσον αφορά τις χημικές αναλύσεις αρχικά χρησιμοποιήθηκε αργό πετρέλαιο στο δείγμα άμμου το οποίο γηραίνεται τεχνητά με θέρμανση στους 200 °C για να αφαιρεθεί το ελαφρύ κλάσμα των υδρογονανθράκων πριν από το ξεκίνημα του

πειράματος (απόσταξη). Το δείγμα μας αρχικά τοποθετήθηκε στο όργανο freeze-dryer και στην συνέχεια εκχυλίστηκε με εκχύλιση Soxhlet. Μετά από 24 ώρες τοποθετήθηκε στο ρότορα και στη συνέχεια στο κενό. Λόγω του ότι το δείγμα μετά από όλες τις διεργασίες είχε ελαττωθεί περίπου στο μισό δοκιμάσαμε κι άλλες μεθόδους για να εξετάσουμε σε τι οφειλόταν αυτή η μείωση. Τελικά καταλήξαμε ότι αντί για τη μέθοδο του freeze-drying θα χρησιμοποιήσουμε ενεργοποιημένο θειικό νάτριο (sodium sulphate) (η ενεργοποίηση του γίνεται στους 400 °C για 4 ώρες) για την απορρόφηση της υγρασίας.

Πριν την χημική ανάλυση στο GC/MS προετοιμάσαμε διάλυμα ανάκτησης υποκατάστατου (surrogate recovery standard) το οποίο περιέχει 5 α -androsterone σε διαλύτη DCM και d10-athracene.

Επίσης προετοιμάσαμε ένα εσωτερικό πρότυπο (internal standard) το οποίο περιέχει acenathrene-d10, chrysene-d12, 1,4-dichlorobenzene-d4, naphthalene-d8, perylene-d12, phenanthrene-d10.

3.2.2. ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ

Παίρνουμε δείγμα για τις μικροβιολογικές αναλύσεις 10 g (Πίνακας μετρήσεων 1) και 10 g για τον υπολογισμό της υγρασίας (Πίνακας μετρήσεων 2) στις 0,7, 14, 21, 30, 38, 45 ημέρες και 15 g για τις χημικές αναλύσεις στις 0,7, 15, 30, 45 ημέρες. (Πίνακας μετρήσεων 3). Πρέπει να σημειωθεί ότι δύο φορές την εβδομάδα ζυγίζαμε και τα 5 ταψιά και αναλόγως με την υγρασία που περιείχαν προσθέταμε αποστειρωμένο απιονισμένο νερό έτσι ώστε η υγρασία να είναι περίπου στο 20 %. Οι διαδικασίες μικροβιολογικής και χημικής ανάλυσης περιγράφονται στο κεφάλαιο 2.2.

4.ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

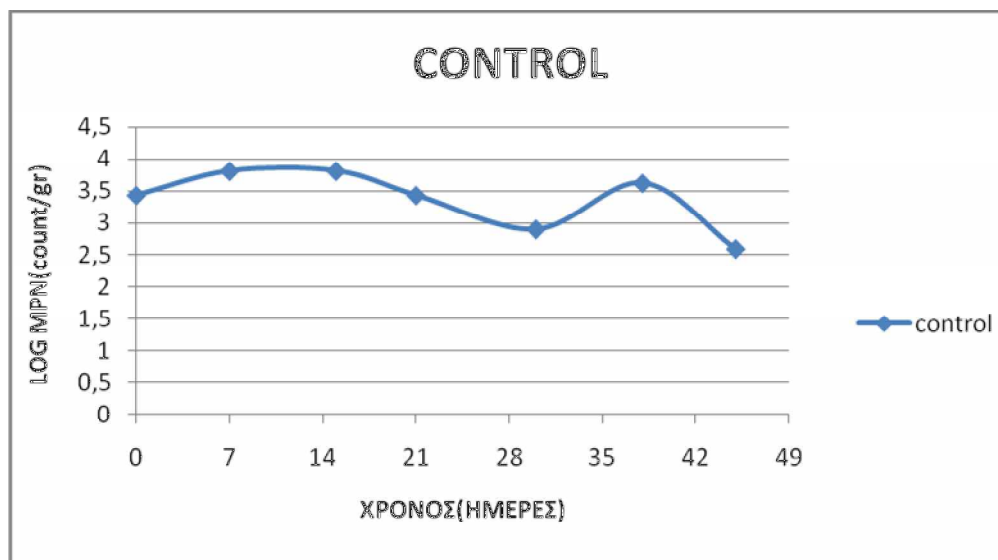
Στο παρόν κεφάλαιο παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των χημικών και των μικροβιολογικών αναλύσεων για κάθε διάλυμα. Οι μικροβιολογικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν για τις 0,7,14,21,30,38,45 ημέρες και οι χημικές για τις 0,14,30,45 ημέρες .

4.1 CONTROL

4.1.1 ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η εκτίμηση του μικροβιακού πληθυσμού έγινε με την μέθοδο MPN κάνοντας χρήση ενός προγράμματος υπολογισμού των MPN . Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται συνοπτικά τα αποτελέσματα.

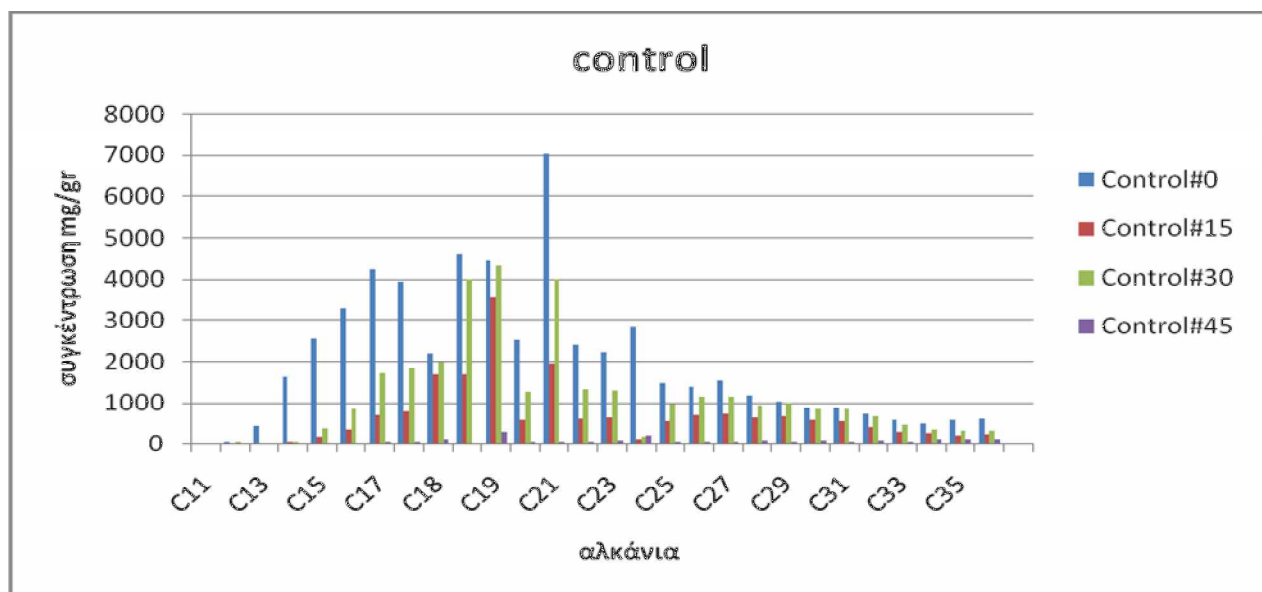
ΗΜΕΡΕΣ	0	7	15	21	30	38	45
log MPN	3,431364	3,812913	3,812913	3,431364	2,90309	3,623249	2,60206
(count\gr)							



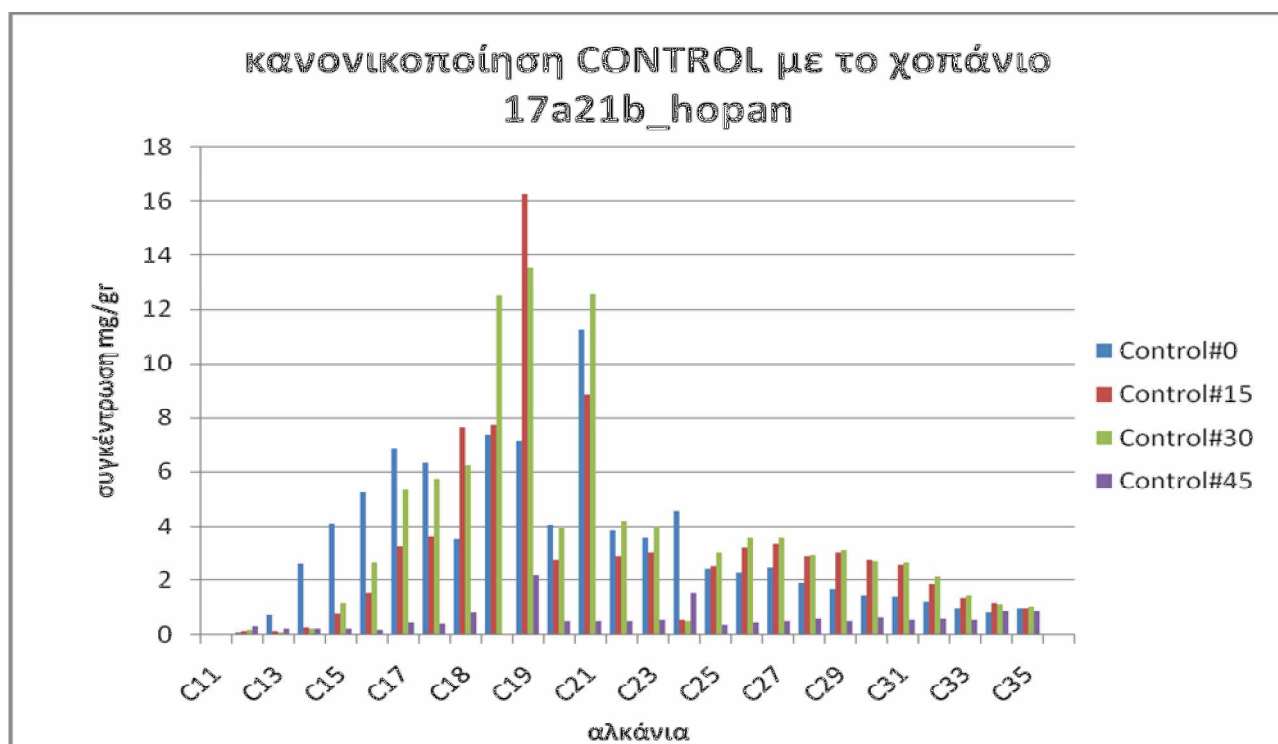
ΣΧΗΜΑ 1.1:Μικροβιακή ανάπτυξη στο διάλυμα CONTROL

Από το παραπάνω διάγραμμα παρατηρούμε ότι υπάρχει μια μικροβιακή ανάπτυξη στο διάλυμα μέχρι τις 14 μέρες .Στη συνέχεια μέχρι τις 30 ημέρες παρατηρούμε μια πτώση ,μια ανάπτυξη μέχρι τις 38 και τέλος ξανά πτώση μέχρι τις 45 ημέρες .

4.1.2 ΧΗΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

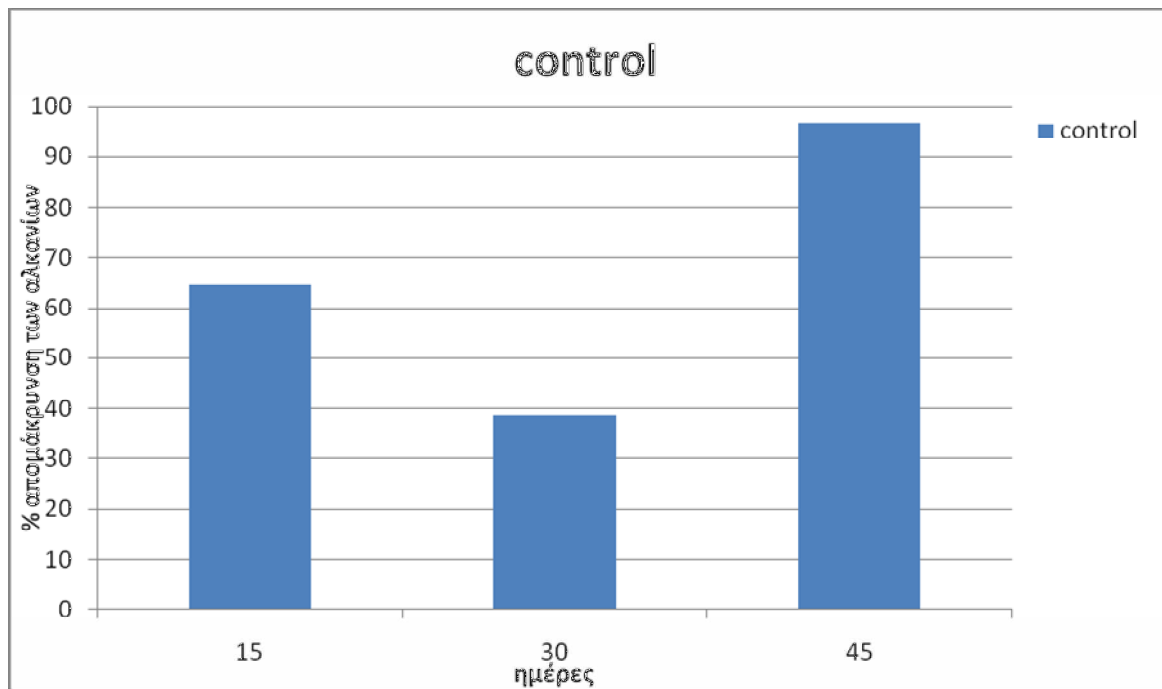


ΣΧΗΜΑ 1.2: Συγκέντρωση των αλκανίων στο διάλυμα CONTROL



ΣΧΗΜΑ 1.3: Κανονικοποίηση με το χοπάνιο 17a21b hopan

Παρατηρώντας τα παραπάνω διαγράμματα καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι παράγονται αλκάνια μικρότερου μοριακού βάρους (C17- C21) τις πρώτες 30 ημέρες και μέχρι τις 45 ημέρες έχουν ελαχιστοποιηθεί .



ΣΧΗΜΑ 1.4: Ποσοστό απομάκρυνσης των αλκανίων για το δείγμα CONTROL

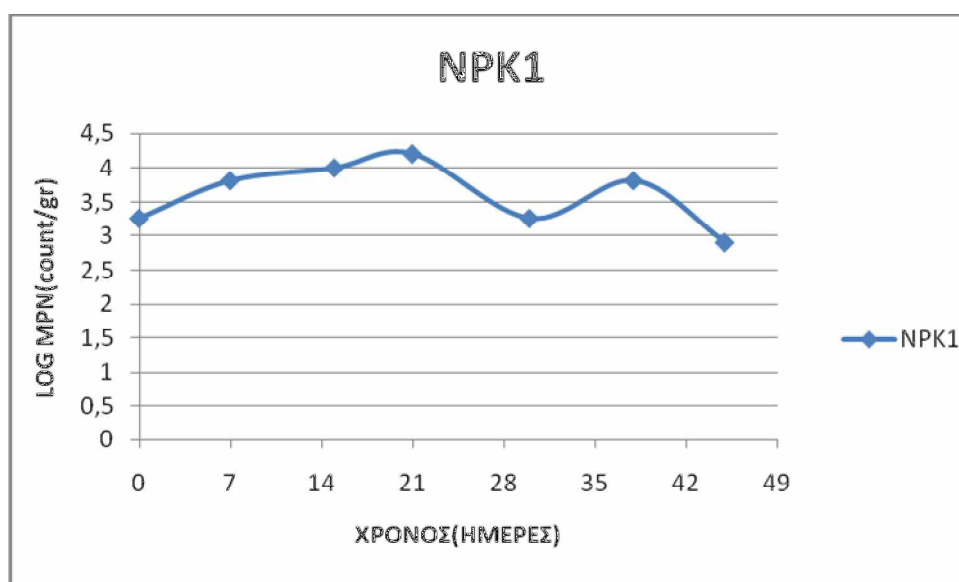
Από το παραπάνω διάγραμμα βλέπουμε ότι το μεγαλύτερο απομάκρυνσης παρατηρείται στις 45 ημέρες αλλά αξίζει να σημειωθεί ότι και στις 15 ημέρες εμφανίζεται μεγάλο ποσοστό απομάκρυνσης .

4.2 NPK1

4.2.1 ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η εκτίμηση του μικροβιακού πληθυσμού έγινε με την μέθοδο MPN κάνοντας χρήση ενός προγράμματος υπολογισμού των MPN . Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται συνοπτικά τα αποτελέσματα.

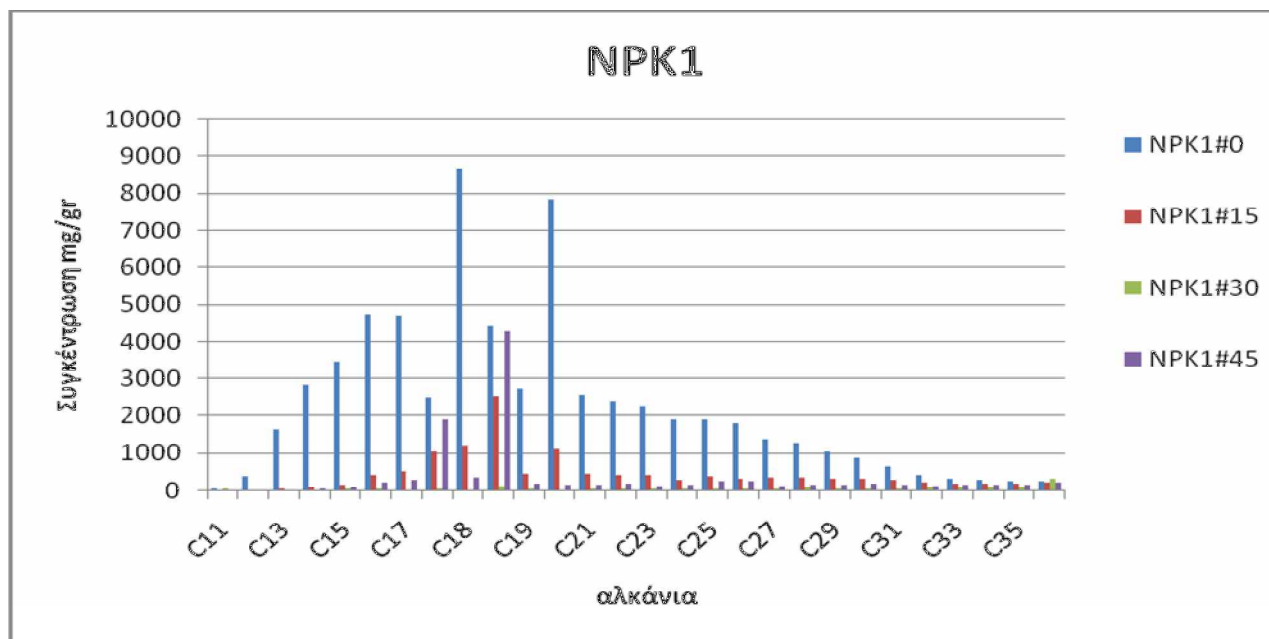
ΗΜΕΡΕΣ	0	7	15	21	30	38	45
log MPN	3,255273	3,812913	4	4,20412	3,255273	3,812913	2,903092,90309
(count\gr)							



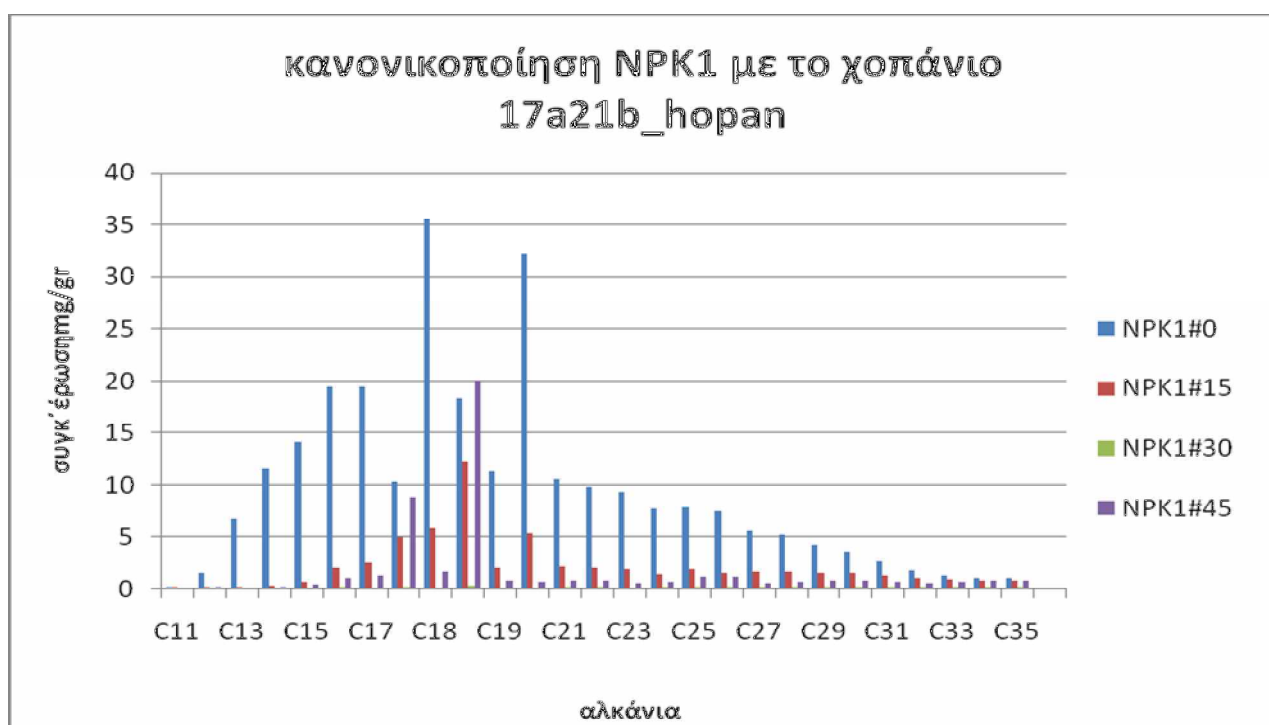
ΣΧΗΜΑ1.5: Μικροβιακή ανάπτυξη στο διάλυμα NPK1

Από το παραπάνω διάγραμμα παρατηρούμε ότι μέχρι τις 21 ημέρες έχουμε μικροβιακή ανάπτυξη, πτώση της μέχρι της 28 ημέρες, άνοδος μέχρι τις 38 ημέρες και ξανά πτώση μέχρι τις 45 ημέρες

4.2.2. ΧΗΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

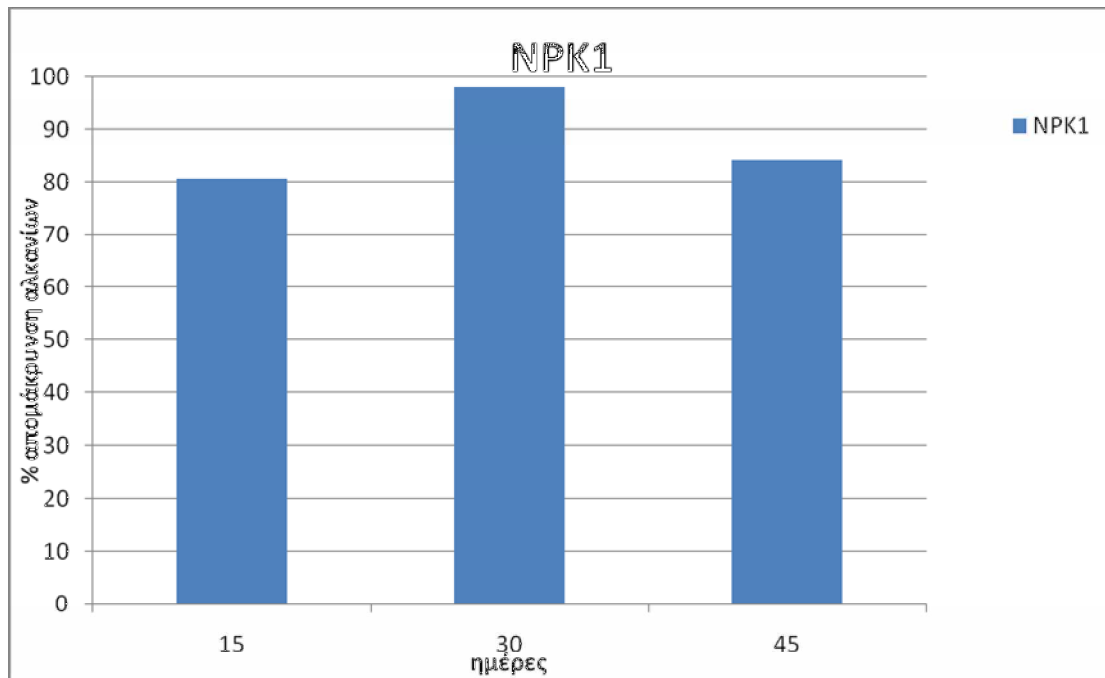


ΣΧΗΜΑ1.6: Συγκέντρωση των αλκανίων στο διάλυμα NPK1



ΣΧΗΜΑ1.7: Κανονικοποίηση με το χοπάνιο 17a21b hopan

Με βάση τα δύο παραπάνω διαγράμματα συμπεραίνουμε ότι παράγονται περισσότερα αλκάνια μικρότερου μοριακού βάρους (C14-C20) και λιγότερα μεγαλύτερου μοριακού βάρους (C21-C35).



ΣΧΗΜΑ 1.8: Ποσοστό απομάκρυνσης των αλκανίων για το δείγμα NPK1

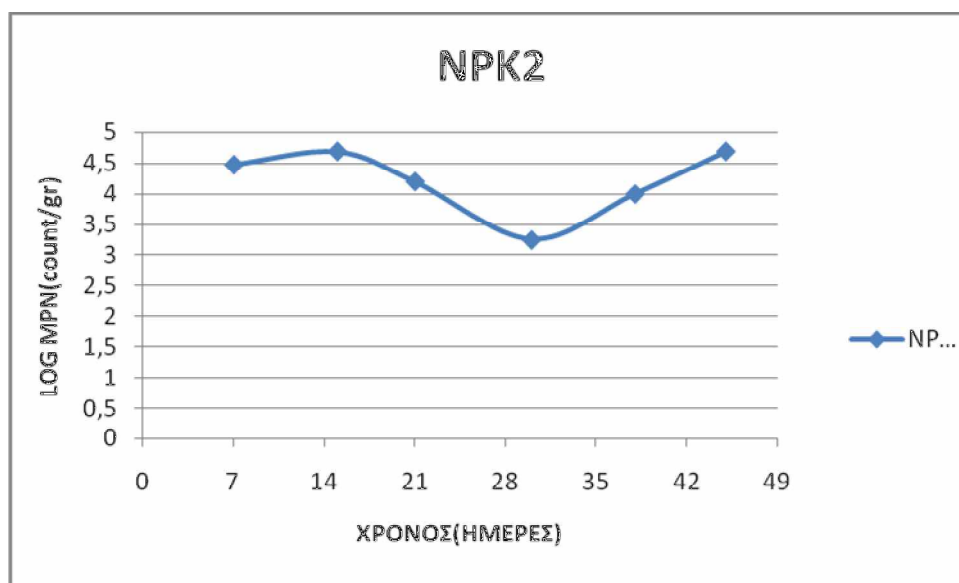
Από το παραπάνω διάγραμμα βλέπουμε ότι το μεγαλύτερο ποσοστό απομάκρυνσης παρατηρείται στις 30 ημέρες αλλά γενικότερα ο ρυθμός απομάκρυνσης είναι σταθερός.

4.3 NPK2

4.3.1. ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η εκτίμηση του μικροβιακού πληθυσμού έγινε με την μέθοδο MPN κάνοντας χρήση ενός προγράμματος υπολογισμού των MPN . Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται συνοπτικά τα αποτελέσματα.

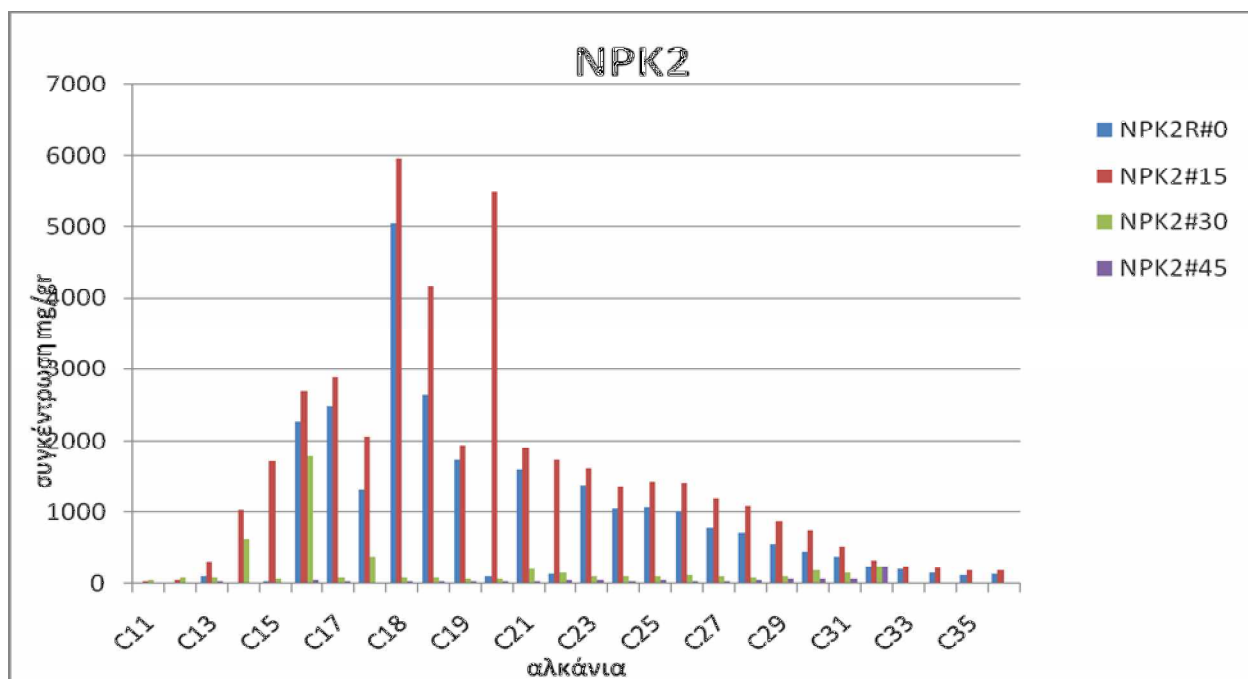
HΜΕΡΕΣ	0	7	15	21	30	38	45
LOGMPN(count\gr)	0	4	4	4	3,431364	3,431364	400



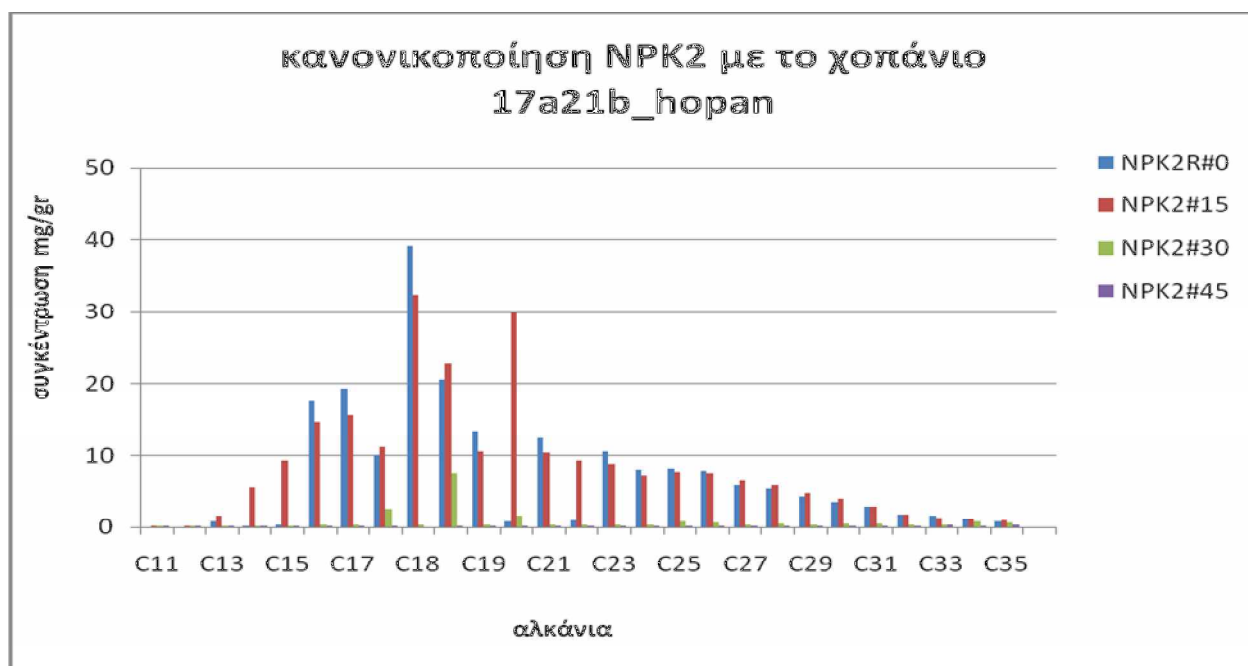
ΣΧΗΜΑ 1.9: Μικροβιακή ανάπτυξη στο διάλυμα NPK2

Από το παραπάνω διάγραμμα παρατηρούμε άνοδο της μικροβιακής ανάπτυξης μέχρι την 14^η ημέρα. Στη συνέχεια υπάρχει πτώση μέχρι την 30^η ημέρα και ξανά άνοδο μέχρι τις 45 ημέρες.

4.3.2. ΧΗΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

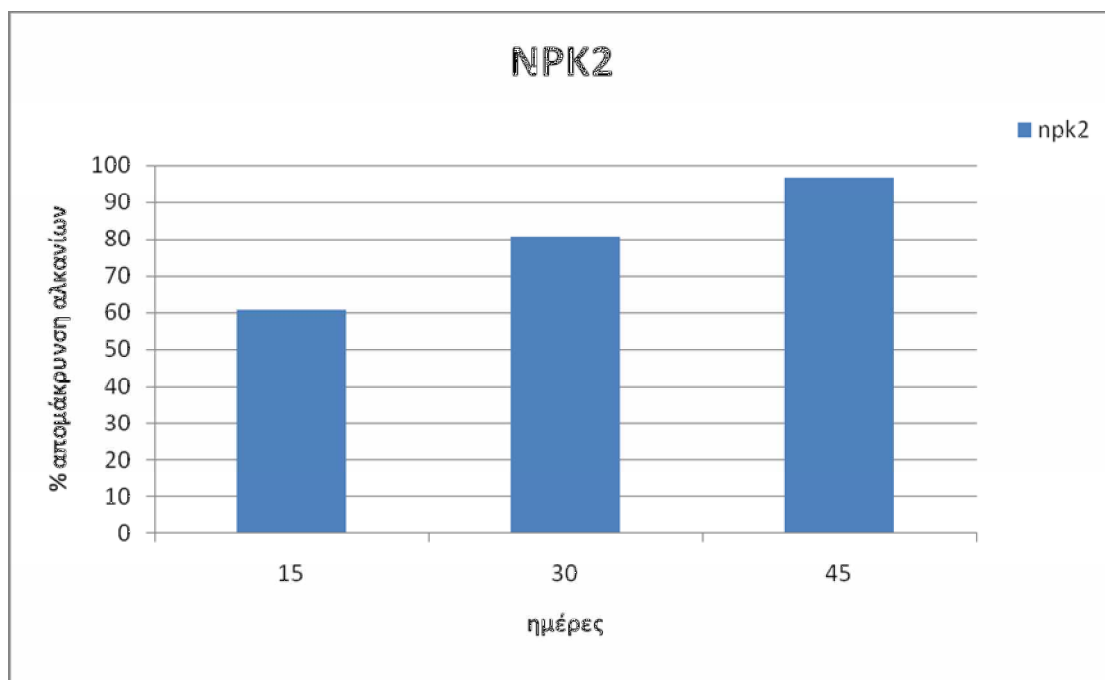


ΣΧΗΜΑ 1.10: Συγκέντρωση των αλκανίων στο διάλυμα NPK2



ΣΧΗΜΑ 1.11: Κανονικοποίηση με το χοπάνιο 17a21b hopan

Παρατηρούμε αύξηση στη συγκέντρωση των συστατικών τις πρώτες 15 ημέρες (C17- C20) και στη συνέχεια παρατηρούμε ότι έχουμε σχεδόν ολική αποδόμηση των αλκανίων.



ΣΧΗΜΑ 1.12 Ποσοστό απομάκρυνσης των αλκανίων για το δείγμα NPK2

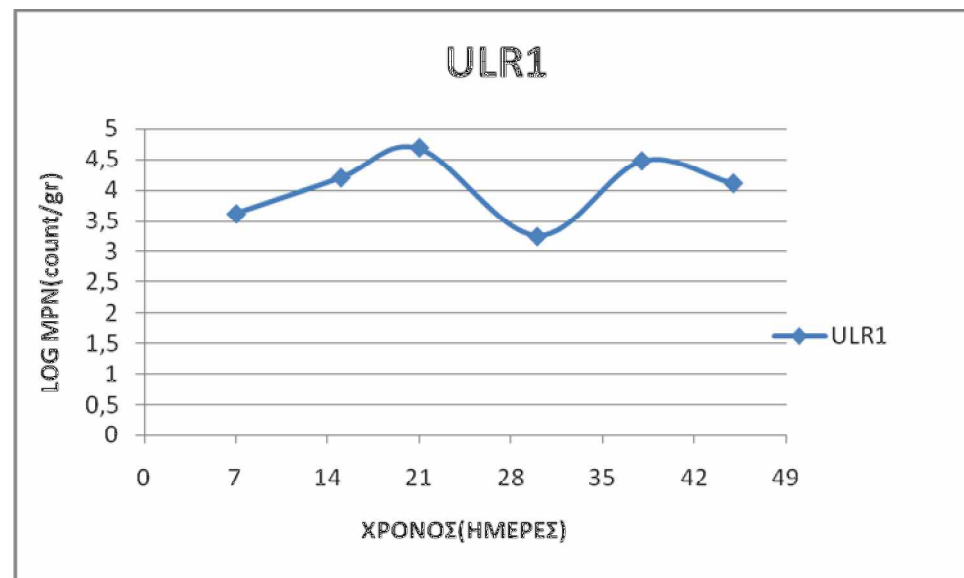
Το μεγαλύτερο ποσοστό παρατηρείται τις 45 ημέρες και με το πέρασμα των ημερών παρατηρούμε ότι ο ρυθμός απομάκρυνσης είναι σταθερός.

4.4 ULR1

4.4.1. ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η εκτίμηση του μικροβιακού πληθυσμού έγινε με την μέθοδο MPN κάνοντας χρήση ενός προγράμματος υπολογισμού των MPN . Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται συνοπτικά τα αποτελέσματα.

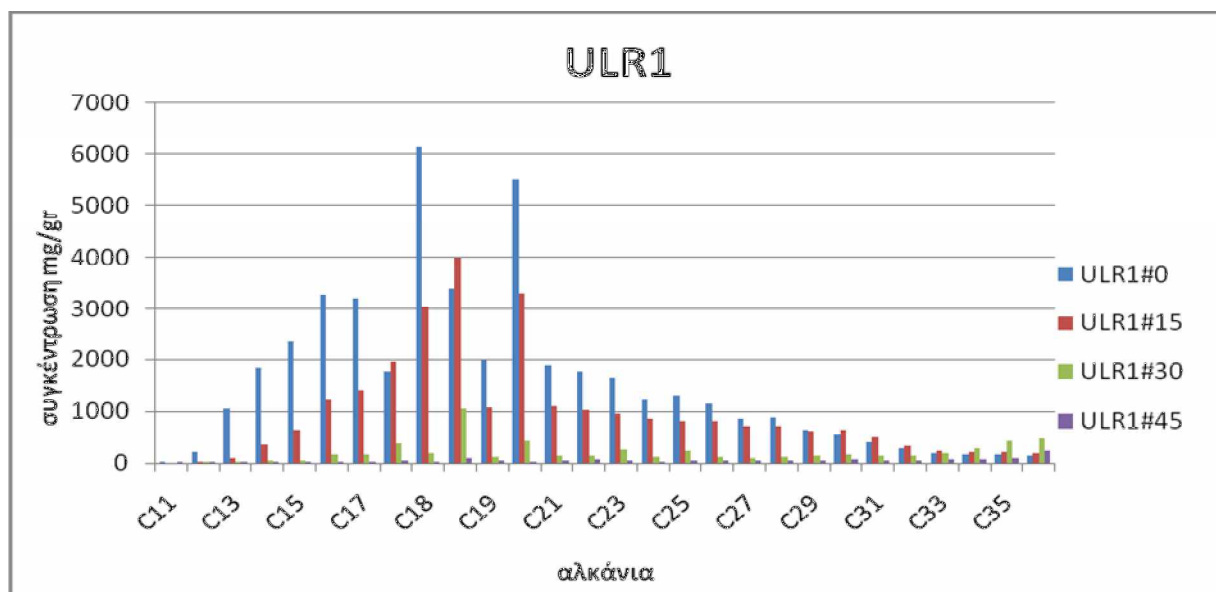
ΗΜΕΡΕΣ	0	7	15	21	30	38	45
LOGMPN(count\gr)	0	3,623249	4,20412	4,690196	3,255273	4,477121	4,113943



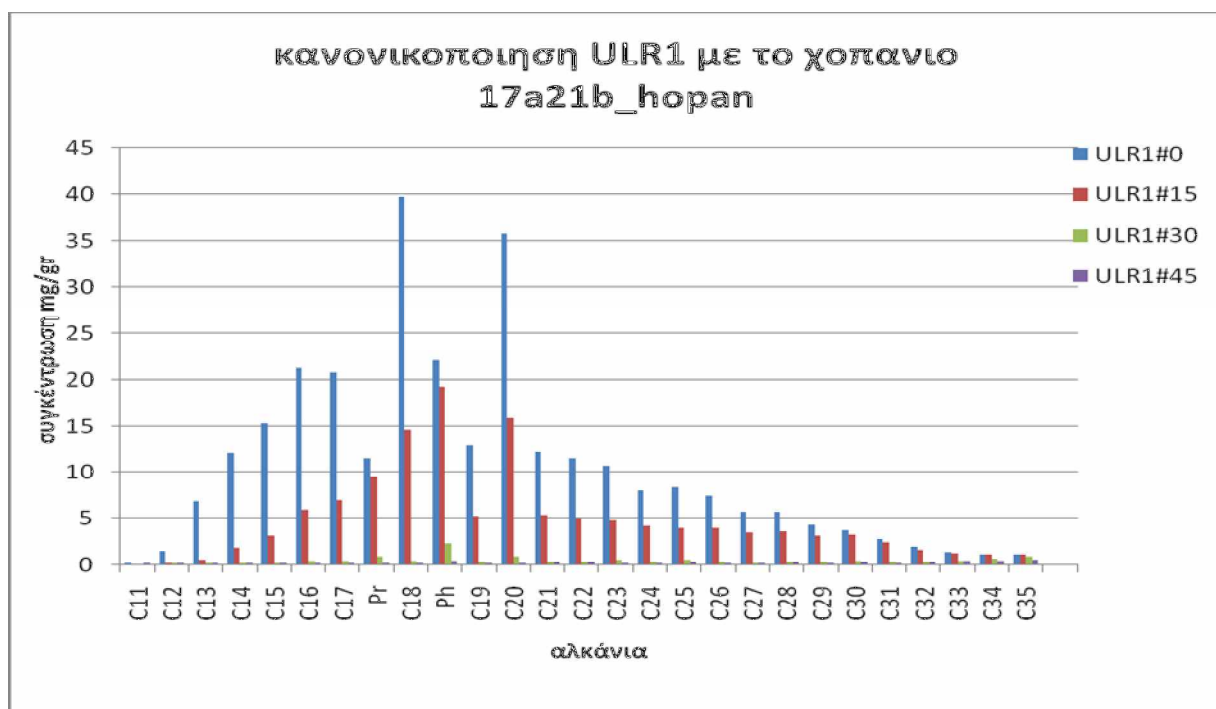
ΣΧΗΜΑ 1.13: Μικροβιακή ανάπτυξη στο διάλυμα ULR1

Από το παραπάνω διάγραμμα παρατηρούμε ότι υπάρχει μια μικροβιακή ανάπτυξη μέχρι τις 21 ημέρες, και στη συνέχεια μια πτώση μέχρι τις 30 ημέρες. Επίσης μέχρι τις 38 ημέρες μια άνοδο και τελικά μια πτώση μέχρι τις 45 ημέρες .

4.4.2. ΧΗΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

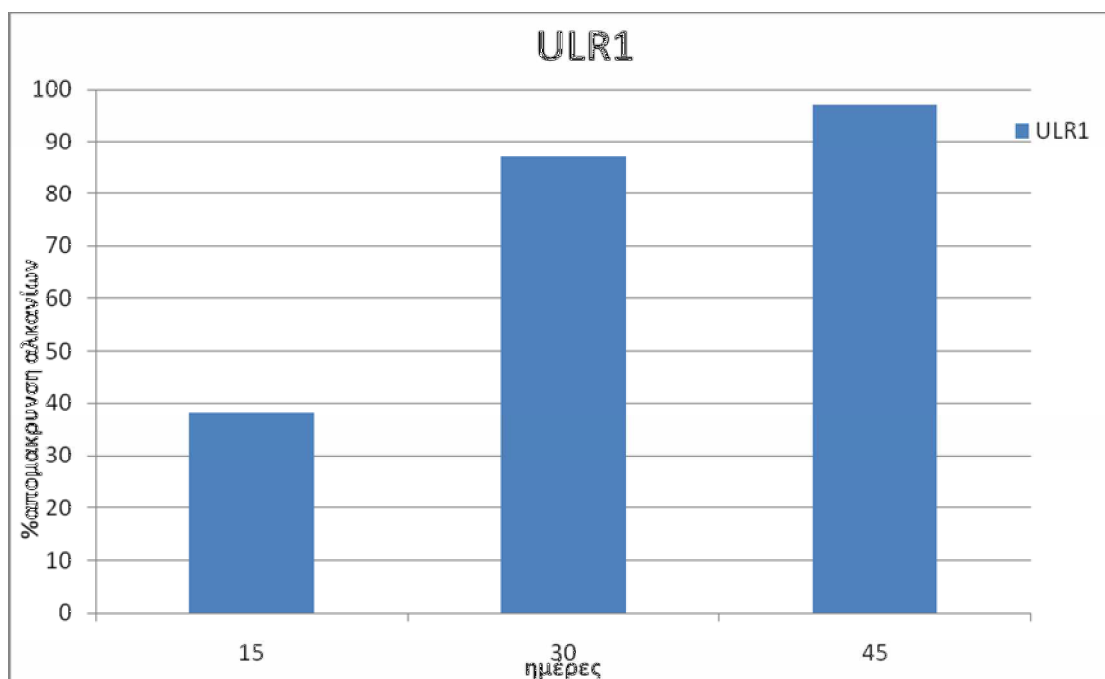


ΣΧΗΜΑ 1.14: Συγκέντρωση των αλκανίων στο διάλυμα ULR1



ΣΧΗΜΑ 1.15:Κανονικοποίηση με το χοπάνιο 17a21b hopan

Με βάση τα παραπάνω διαγράμματα καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι έχουμε παραγωγή αλκανίων μικρού μοριακού βάρους κυρίως τις πρώτες 15 ημέρες (C14- C20). και μέχρι τις 45 ημέρες σταδιακά σχεδόν εκμηδενίζονται.



ΣΧΗΜΑ 1.16: Ποσοστό απομάκρυνσης των αλκανίων για το δείγμα ULR1

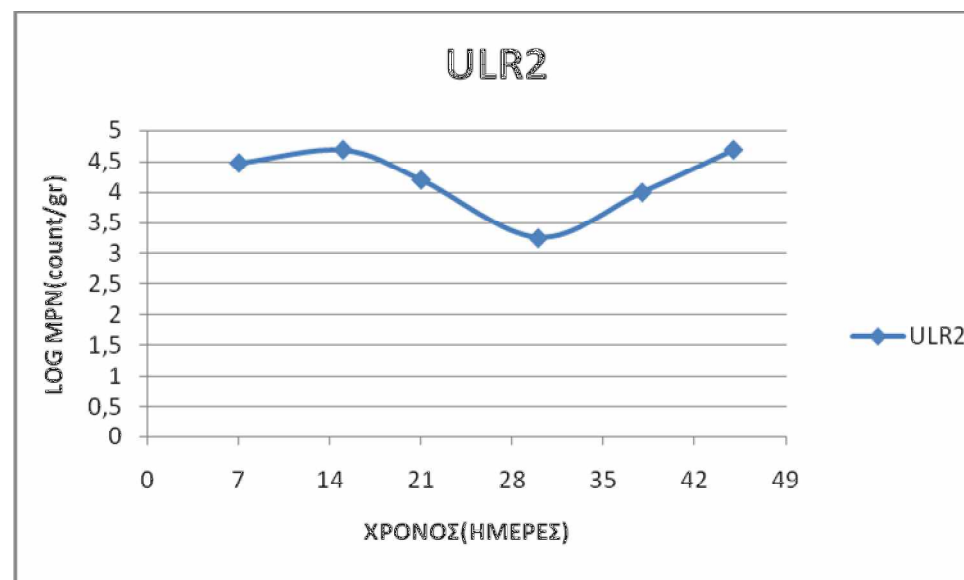
Ο ρυθμός απομάκρυνσης των αλκανίων είναι ομοιόμορφος και πιο ομαλός σε σχέση με τα προηγούμενα με το μεγαλύτερο ποσοστό να παρουσιάζεται στις 45 ημέρες .

4.5 ULR2

4.5.1. ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η εκτίμηση του μικροβιακού πληθυσμού έγινε με την μέθοδο MPN κάνοντας χρήση ενός προγράμματος υπολογισμού των MPN . Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται συνοπτικά τα αποτελέσματα.

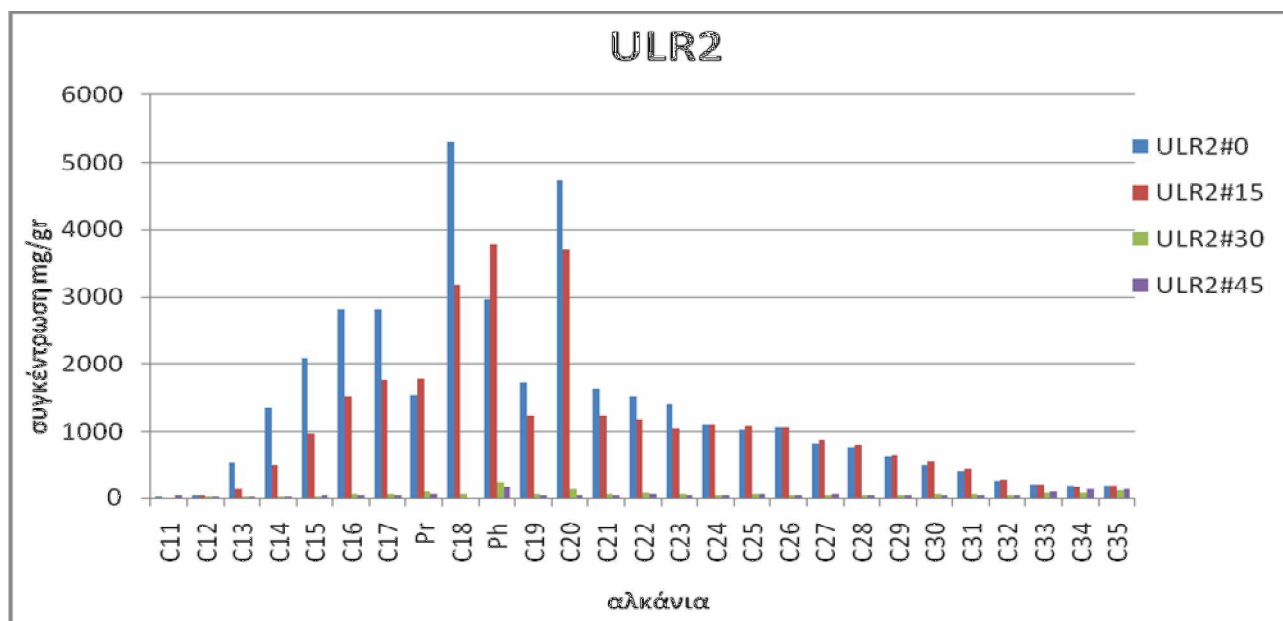
ΗΜΕΡΕΣ	0	7	15	21	30	38	45
LOGMPN(count\gr)	0	4,477121	4,690196	4,20412	3,255273	4	4,690196



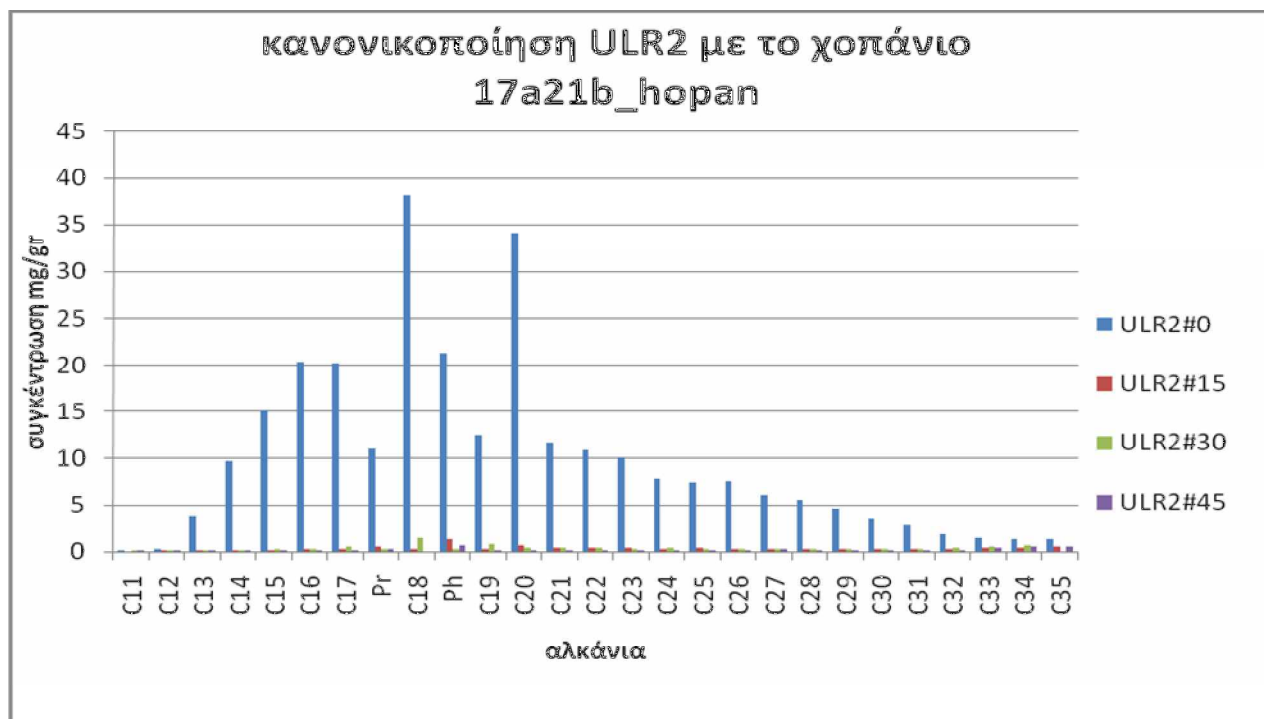
ΣΧΗΜΑ1.17: Μικροβιακή ανάπτυξη στο διάλυμα ULR2

Από το παραπάνω διάγραμμα παρατηρούμε ότι υπάρχει μια μικροβιακή ανάπτυξη τις πρώτες 15 ημέρες και στη συνέχεια πτώση της δράσης τους μέχρι τις 30 ημέρες. Τελικά μέχρι τις 45 ημέρες παρατηρούμε πάλι άνοδο της μικροβιακής ανάπτυξης.

4.5.2. ΧΗΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

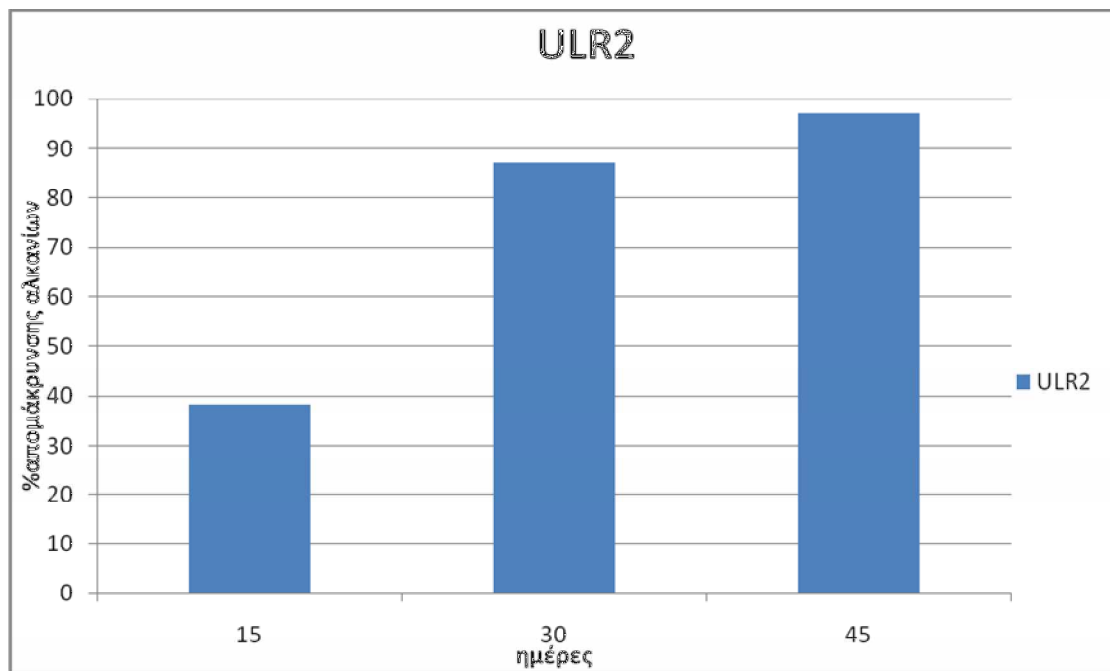


ΣΧΗΜΑ 1.18: Συγκέντρωση των αλκανίων στο διάλυμα ULR2



ΣΧΗΜΑ 1.19: Κανονικοποίηση με το χοπάνιο 17a21b hopan

Με βάση τα παραπάνω δύο διαγράμματα παρατηρούμε ότι παραγωγή αλκανίων έχουμε τις πρώτες ημέρες κυρίως μικρού μοριακού βάρους (C15- C20).



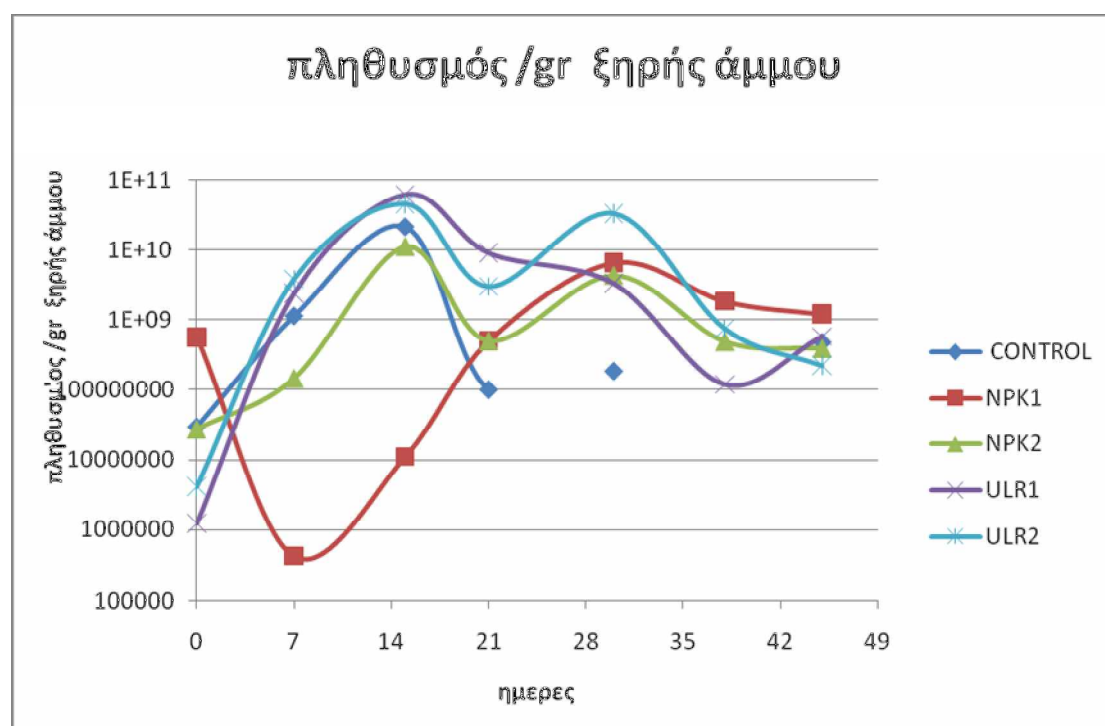
ΣΧΗΜΑ 1.20: Ποσοστό απομάκρυνσης των αλκανίων για το δείγμα ULR2

Παρατηρώντας το παραπάνω διάγραμμα βλέπουμε ότι έχουμε ποσοστό απομάκρυνσης σχεδόν 100%.

5. ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΑ ΟΛΩΝ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

5.1. ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΒΑΣΕΙ ΤΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ ΤΩΝ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

Στη συνέχεια παρουσιάζεται διάγραμμα του πληθυσμού ανά γραμμάριο ξηρής άμμου σε συσχέτιση με τον χρόνο.

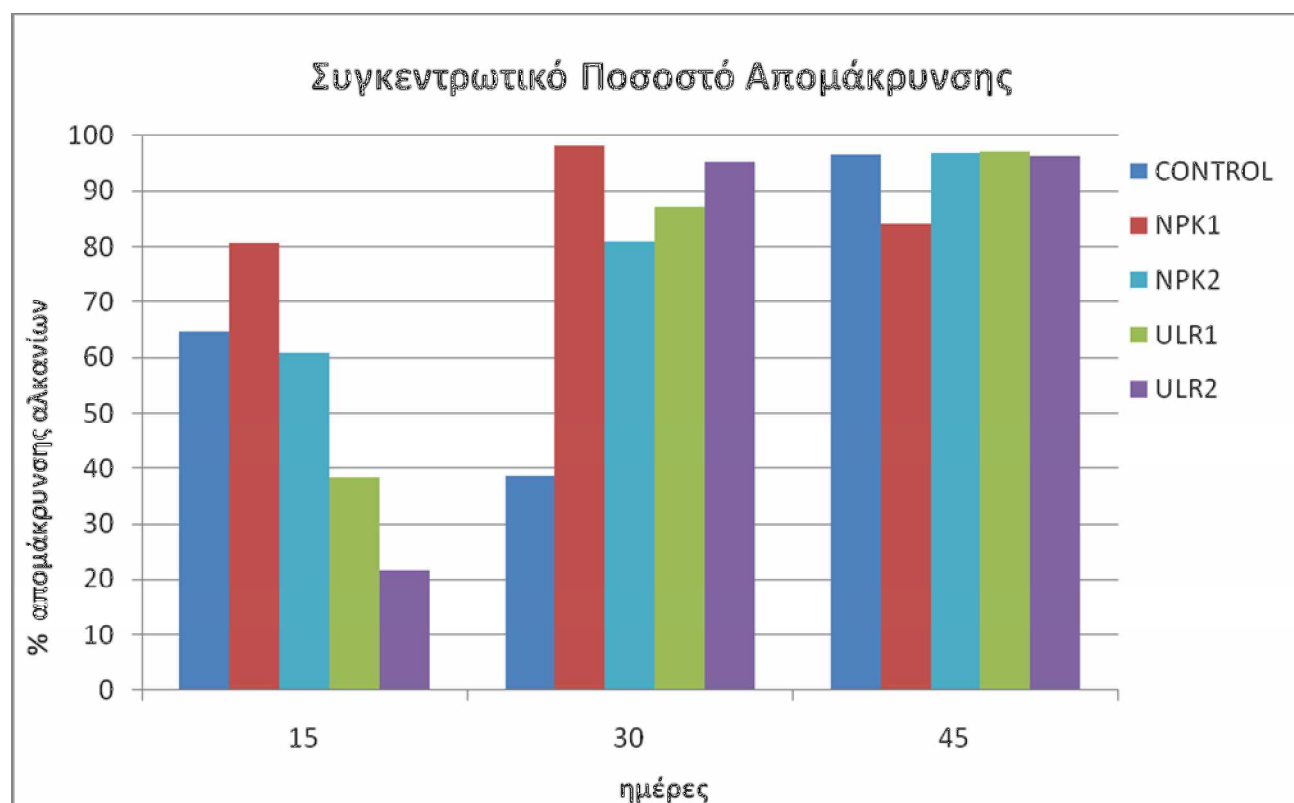


ΣΧΗΜΑ 1.21: Σύγκριση αποτελεσματικότητας των δειγμάτων με βάση τον πληθυσμό των μικροοργανισμών

Σύμφωνα με το παραπάνω διάγραμμα το πιο αποτελεσματικό δείγμα μας είναι το ULR1 το οποίο παρουσιάζει την μεγαλύτερη παρουσία αποικιών των μικροοργανισμών. Πρέπει να αναφερθεί ότι η απότομη πτώση του πληθυσμού στις 21 ημέρες οφείλεται στην έλλειψη υγρασίας και γι αυτό το λόγο αυξήσαμε την ποσότητα του νερού που προσθέταμε (μέχρι τότε ρίχναμε κάθε τρεις ημέρες 200ml και στη συνέχεια ρίχναμε 500 ml). Επίσης αξίζει να αναφερθεί η πορεία του NPK1 η οποία είναι πολύ μικρή όπου και παρατηρείται ο μικρότερος πληθυσμός. Αυτό μπορεί να οφείλεται σε μικρότερο ποσοστό υγρασίας σε σύγκριση με τα υπόλοιπα. Ακόμα, συγκρίνοντας τα δείγματα βλέπουμε ότι το CONTROL παρουσιάζει μεγαλύτερο μικροβιακό πληθυσμό από ότι το NPK1 και το NPK2.

5.2. ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΒΑΣΕΙ ΤΩΝ ΑΛΚΑΝΙΩΝ

Για να συγκρίνουμε συνολικά την αποτελεσματικότητα του κάθε δείγματος βάσει των αλκανίων συγκεντρώσαμε τα ποσοστά απομάκρυνσης και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο παρακάτω διάγραμμα.



ΣΧΗΜΑ 1.22: Σύγκριση αποτελεσματικότητας του κάθε δείγματος βάσει των αλκανίων.

Ερμηνεύοντας το παραπάνω διάγραμμα μπορούμε να συμπεράνουμε ότι σε βάθος χρόνου το ποσοστό απομάκρυνσης είναι σε όλα τα δείγματα το ίδιο. τα πιο αποτελεσματικά δείγματα μας είναι το NPK2 και το ULR1 γιατί έχουν τον πιο σταθερό ρυθμό αποδόμησης. (NPK2[15], NPK2[30], NPK2[45]: 60.8%, 80.9%, 96.8% και ULR1[15], ULR1[30], ULR1[45]: 38.3%, 87.2%, 97.1% αντίστοιχα). Αξίζει να σημειωθεί ότι από το διάγραμμα φαίνεται ότι το NPK1 είναι πιο αποτελεσματικό στις 30 ημέρες από ότι στις 45 ημέρες ενώ δεν έχει τόσο μεγάλο πληθυσμό βάσει προηγούμενου διαγράμματος. Αυτό ίσως να οφείλεται σε πειραματικό λάθος.

6.ΣΥΝΟΛΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Σύμφωνα με όσα αναφέραμε στα προηγούμενα κεφάλαια καταλήγουμε στα ακόλουθα συμπεράσματα:

Με βάση την μικροβιολογική ανάλυση :

- Το πιο αποτελεσματικό δείγμα μας είναι το ULR1 το οποίο παρουσιάζει την μεγαλύτερη παρουσία αποικιών των μικροοργανισμών αν και για καλύτερα και πιο ακριβή αποτελέσματα θα προτείναμε πιο εκτεταμένη παρακολούθηση της υγρασίας(λόγω της πτώσης που παρατηρήσαμε στο σχήμα 1.21).
- Τις πρώτες 15 ημέρες παρατηρείται σε όλα τα δείγματα μια αυξητική τάση στη μικροβιακή τους μάζα. Στη συνέχεια η πτώση μπορεί να οφείλεται σε έλλειψη υγρασίας, σε έλλειψη θρεπτικών όπως επίσης και σε πειραματικό λάθος.

Με βάση τη χημική ανάλυση:

- Όλα τα δείγματα παράγουν αλκάνια μικρού μοριακού βάρους (C14- C22) αλλά πιο γρήγορα παράγονται στο δείγμα ULR2(15 ημέρες). Αξίζει να σημειωθεί βέβαια ότι η μείωση παρατηρείται ακόμα και στα αλκάνια μεγάλου μοριακού βάρους (C30- C40) τα οποία γενικά παρουσιάζουν μια δυσκολία στην απομάκρυνσή τους.
- Το μεγαλύτερο ποσοστό απομάκρυνσης αλκανίων παρουσιάζει το ULR2(σχεδόν 100%).
- Συγκεντρωτικά παρατηρούμε ότι η χρήση του ουρικού οξέος και της λεκιθίνης απέδωσαν καλύτερα. Πολύ σημαντικό ρόλο έπαιξε και η χρήση του biosurfactant (ραμνολιπίδια) το οποίο βοηθά στην διασκόρπιση της πετρελαιοκηλίδας αυξάνοντας έτσι τη διεπιφάνεια ύδατος-πετρελαίου και συνεπώς την περιοχή δράσης των μικροοργανισμών.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ

**1.ΠΙΝΑΚΑΣ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ ΓΙΑ ΤΙΣ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ
ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ(MPN)**

	WET POLLUTED SAND FOR 10g
control	
c#0	10,0298
c#7	10,0555
c#15	10,0603
c#21	10,0609
c#30	10,1168
C#38	10,1757
C#45	10,299
NPK1	
NPK1#0	10,0113
NPK1#7	10,0185
NPK1#15	10,0464
NPK1#21	10,0703
NPK1#30	10,1672
NPK1#38	10,1804
NPK1#45	10,0822
NPK2	10,0285
NPK2#0	10,0369
NPK2#7	10,075
NPK2#15	10,0962
NPK2#21	10,0285
NPK2#30	10,2612
NPK2#38	10,1587
NPK2#45	10,1292
ULR1	
ULR1#0	10,0912
ULR1#7	10,169
ULR1#15	10,0782
ULR1#21	10,1308
ULR1#30	10,3421
ULR1#38	10,1406
ULR1#45	10,3932
ULR2	
ULR2#0	10,0533
ULR2#7	10,0188
ULR2#15	10,0186
ULR2#21	10,1603
ULR2#30	10,067
ULR2#38	10,2655
ULR2#45	10,1348

2.ΠΙΝΑΚΑΣ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΥΓΡΑΣΙΑ

	ALUM.PAN 1	WET SAND 1	DRY SAND+PAN 1	ALUM.PAN 2	WET SAND 2	DRY SAND+PAN 2
control						
c#0	2,7429	10,0348	10,06457	2,7546	1,0268	3,5658
c#7	2,7331	10,0757	11,6205	2,7565	10,5881	12,0643
c#15	2,7342	10,0298	12,0217	2,7461	10,0162	12,0351
c#21	2,7462	10,1106	11,6354	2,7263	10,078	11,6493
c#30	2,7524	10,2296	12,5212	2,7503	10,0845	123.785
C#38	2,7407	10,158	12,0353	2,7278	10,181	11,9911
C#45	2,7517	10,3199	12,1212	2,7538	10,2512	12,0254
NPK1						
NPK1#0	2,7415	10,0263	10,6569	2,7438	1,0564	3,5846
NPK1#7	2,7387	10,1142	11,6269	2,7264	10,0155	11,4396
NPK1#15	2,7501	10,0393	11,8487	2,7355	10,903	12,5907
NPK1#21	2,7327	10,2806	11,9193	2,7578	10,427	12,1041
NPK1#30	2,7491	10,0293	12,2649	2,7519	10,1121	12,2455
NPK1#38	2,7509	10,0605	11,9055	2,7418	10,1425	11,9439
NPK1#45	2,7412	10,296	11,9123	2,7515	10,1373	11,8465
NPK2						
NPK2#0	2,7313	10,5244	11,0963	2,7351	1,0636	3,5752
NPK2#7	2,7386	10,3939	11,8699	2,7294	10,0156	11,5098
NPK2#15	2,758	10,0306	11,9254	2,7476	10,0377	11,8188
NPK2#21	2,7405	10,0355	11,7506	2,7447	10,3052	11,9255
NPK2#30	2,7681	10,1539	12,3207	2,7696	10,0141	12,1723
NPK2#38	2,7634	10,2765	12,0826	2,7394	10,0487	11,7945
NPK2#45	2,7481	10,3966	12,1565	2,7591	10,0787	11,697
ULR1						
ULR1#0	2,7616	10,0224	10,7623	2,747	1,0309	3,5699
ULR1#7	2,7422	10,0046	11,9376	2,7547	10,0043	11,8373
ULR1#15	2,7601	10,0072	12,0872	2,7697	10,0265	12,0952
ULR1#21	2,7353	10,4503	12,0763	2,7581	10,2531	11,7933
ULR1#30	2,7555	10,0109	12,2008	2,7588	10,1112	12,4105
ULR1#38	2,7455	10,1516	11,9435	2,7358	10,0519	11,7942
ULR1#45	2,7542	10,3884	12,1347	2,7564	10,1878	11,9193
ULR2						
ULR2#0	2,7518	10,0882	10,8004	2,7553	1,1959	3,7112
ULR2#7	2,7671	10,1867	11,9196	2,7427	10,0479	11,8602
ULR2#15	2,7417	10,0658	12,1089	2,7474	10,0333	12,2126
ULR2#21	2,7576	10,1379	11,7046	2,7516	10,1511	11,8011
ULR2#30	2,7567	10,1683	12,3942	2,7483	10,1219	12,4538
ULR2#38	2,7534	10,0971	12,2985	2,7546	10,1937	12,2764
ULR2#45	2,755	10,4368	12,4139	2,7591	10,6707	12,5395

3. ΠΙΝΑΚΑΣ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ ΓΙΑ ΤΙΣ ΧΗΜΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ

polluted sand				
	tube 1 S	polluted sand(g)	tube 2 S	polluted sand(g)
control				
c#0	23,5034	15,0249	23,6326	15,9656
c#7	23,5979	15,0791	23,6486	15,096
c#15	23,5172	15,0478	23,633	15,0579
c#30	23,6914	15,0856	23,6884	15,1258
c#45	23,6313	15,2748	23,8216	15,1458
NPK1				
NPK1#0	23,8443	15,0475	23,6677	15,0887
NPK1#7	23,9288	15,1045	23,8064	15,0765
NPK1#15	23,8927	15,033	23,5868	15,0104
NPK1#30	23,7419	15,0726	23,5567	15,1383
NPK1#45	23,5297	15,2879	23,8429	15,177
NPK2				
NPK2#0	23,6934	15,0913	23,7163	15,0099
NPK2#7	23,5082	15,0764	23,7236	15,0664
NPK2#15	23,6767	15,0624	23,6501	15,0625
NPK2#30	23,5008	15,0164	23,5907	15,2049
NPK2#45	23,6587	15,102	23,5667	15,2707
ULR1				
ULR1#0	23,6309	15,011	24,0895	15,0849
ULR1#7	23,771	15,1957	23,4971	15,0576
ULR1#15	23,974	15,0446	23,8193	15,0113
ULR1#30	23,7767	15,2135	23,4568	15,0693
ULR1#45	23,5014	15,2851	23,698	15,2943
ULR2				
ULR2#0	23,6485	15,0277	23,7983	15,0094
ULR2#7	23,7209	15,0718	23,5955	15,0884
ULR2#15	23,5614	15,0636	23,5757	15,0039
ULR2#30	23,7903	15,2399	23,5326	15,1206
ULR2#45	24,3031	15,0131	23,5116	15,0461

ΠΙΝΑΚΑΣ ΜΕΤΡΗΣΕΩΝ ΓΙΑ ΤΟ PLATE COUNT

		DILUTIONS											
		1.10		1/100	1/1000		1/10000		1/100000		1/1000000		
Control	0	1	0	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
c#0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
c#7	0	0	0	0	0	262	187	0	0	0	0	0	0
c#15	0	0	0	0	0	433	0	118	0	0	0	0	0
c#21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	156	0	22	0
c#30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
C#38	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
C#45	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
NPK1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	5	0	0
NPK1#0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
NPK1#7	0	0	0	0	0	175	146	0	0	0	0	0	0
NPK1#15	0	0	0	0	0	372	0	89	0	0	0	0	0
NPK1#21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	112	0	1	0
NPK1#30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0
NPK1#38	0	0	0	0	0	0	0	0	0	46	0	7	0
NPK1#45	0	0	0	0	0	0	0	0	0	19	0	0	0
NPK2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	5	0
NPK2#0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
NPK2#7	0	0	0	0	0	0	0	258	0	0	0	0	0
NPK2#15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	144	0	0	0
NPK2#21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	36	0	21	0
NPK2#30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	2	0
NPK2#38	0	0	0	0	0	0	0	0	0	46	0	0	0
NPK2#45	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	5	0
ULR1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ULR1#0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ULR1#7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ULR1#15	0	0	0	0	0	37	45	0	0	0	0	0	0
ULR1#21	0	0	0	0	0	0	0	246	0	64	0	0	0
ULR1#30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	173	0	9	0
ULR1#38	0	0	0	0	0	0	0	0	0	36	0	23	0
ULR1#45	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14	0	10	0
ULR2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	36	0
ULR2#0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ULR2#7	0	0	0	0	0	11	0	0	0	0	0	0	0
ULR2#15	0	0	0	0	0	0	0	387	0	0	0	0	0
ULR2#21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	47	0	0	0
ULR2#30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	181	0	3	0
ULR2#38	0	0	0	0	0	0	0	0	0	89	0	35	0
ULR2#45	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	10	0

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Atlas, R. M. (1984). *Petroleum Microbiology*. Macmillan Publishing Company, New York.
2. Atlas, R.M. (1981). Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: An environmental perspective. *Microbiol. Rev.* 45, 180-209
3. Atlas, R.M. and Bartha R. (1992). Hydrocarbon biodegradation and oil spill bioremediation. In K.C. Marshall (ed.), *Advances in Microbial Ecology*, Vol. 12, Plenum Press, NY, 287-338
4. Bragg J.R., Prince R.C., Harner E.J. and Atlas R.M. (1994).
5. Clark, R. C. and Brown, D. W. (1977)). *Petroleum: properties and analysis in biotic and abiotic systems*. In Malins (Ed) *Effects of Petroleum on Arctic and Subarctic Environments and Organisms* Vol. 1. *Nature and Fate of Petroleum*. Academic Press, Inc., New York, 1-89)
6. Cooney J.J.(1984).The fate of petroleum pollutants in freshwater ecosystems. In Atlas (Ed),*Petroleum Microbiology*,Macmillan Publishing Company,New York 355-398
7. Doerffer, J.W. 1992. *Oil Spill Response in the Marine Environment*, Pergamon Press, Oxford, U.K.
8. Effectiveness of bioremediation for the Exxon Valdez oil spill. *Nature*, **368**, 413-418
9. . EPA (2003 edition). "Swirling flask dispersant effectiveness test, revised standard dispersant toxicity test and bioremediation agent effectiveness test" 40 CFR Part 300 Appendix C.
10. Brown, R.A., Mahaffey, W, and Norris, R.D. (1993). In National Research Council: *In Situ Bioremediation. When Does It Work?* National Academy Press, Washington DC, 121-135.
11. Foght, J.M. and Westlake, D.W.S. (1987). Biodegradation of hydrocarbons in freshwater. In: Vandermeulen and Hruday (Ed), *Oil in Freshwater: Chemistry, Biology, Countermeasure Technology*. Pergamon Press, New York, 217-230
12. <http://www.cpeo.org/techtree/ttdescript/lanfarm.htm>
13. http://www.frtr.gov/matrix2/section4/4_13a.html
14. International Petroleum Industry Environmental Conservation Association (2000). *A guide to contingency planning for oil spills on water*, IPIECA REPORT SERIES, vol 2, 2nd edition
15. . Jordan, R.E. and Payne, J.R. ,(1980). *Fate and weathering of petroleum spills in the marine environment*. Ann Arbor Science Publishers, Inc. Ann Arbor, MI
16. Karrick, N.L. (1977). Alteration in petroleum resulting from physical-chemical and microbiological factors. In Malins (Ed) *Effects of Petroleum on Arctic and Subarctic Environments and Organisms* Vol. 1. *Nature and Fate of Petroleum*. Academic Press, Inc., New York, 225-299
17. Lee, K., Lunel, T., Wood, P., Swannell, R., and Stoffyn-Egli, P. (1997a). *Shoreline cleanup by acceleration of clay-oil flocculation processes*. *Proceedings of 1997 International Oil Spill Conference*. American Petroleum Institute, Washington DC, 235-240.

18. Mearns, A. J. (1997). *Cleaning oiled shores: putting bioremediation to the test. Spill Science & Technology Bulletin*, 4(4), 209-217
19. National Academy of Sciences (1985). *Oil in the Sea: Inputs, Fates and Effects*, National Academy Press, Washington DC
20. NOAA,1992. *Shoreline Countermeasure Manual*, National Oceanic & Atmospheric Administration, Seattle, Washington.
21. Office of Technology Assessment ,1990. *Coping With An Oiled Sea: An Analysis of Oil Spill Response Technologies*, OTA-BP-O-63, Washington, DC
22. Office of Technology Assessment ,1991). *Bioremediation of Marine Oil Spills: An Analysis of Oil Spill Response Technologies*, OTA-BP-O-70, Washington, DC.
23. Prince, R. C., Clark, J.R., Lindstrom, J.E., Butler, E.L., Brown, E.J., Winter, G., Grossman, M.J., Parrish, P.R., Bare, R.E., Braddock, J.F., Steinhauer, W.G., Douglas, G.S., Kennedy, J.M., Barter, P.J., Bragg, J.R., Harner, E.J., and Atlas, R. M. (1994). *Bioremediation of the Exxon Valdez oil spill: monitoring safety and efficacy*. In: R.E. Hinchee et al.(Eds.), *Hydrocarbon Bioremediation*. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida, p.107-124.
24. Prince, R. C., Clark, J.R., Lindstrom, J.E., Butler, E.L., Brown, E.J., Winter, G., Grossman, M.J., Parrish, P.R., Bare, R.E., Braddock, J.F., Steinhauer, W.G., Douglas, G.S., Kennedy, J.M., Barter, P.J., Bragg, J.R., Harner, E.J., and Atlas, R. M. (1994). *Bioremediation of the Exxon Valdez oil spill: monitoring safety and efficacy*. In: R.E. Hinchee et al.(Eds.), *Hydrocarbon Bioremediation*. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida, p.107-124.
25. Prince, R.C. (1993). *Petroleum spill bioremediation in marine environments. Critical Rev. Microbiol.* 19, 217-242
26. Santas R., Korda A., Tenente A., Buchholzi K. and Santas Ph. (1999). *Mesocosm Assays of Oil Spill Bioremediation with Oleophilic Fertilizers: Inipol, F1 or Both? Marine Pollution Bulletin*, 38 (1), 44-48
27. Singer M.E. and Finnerty, W.R. (1984). *Microbial metabolism of strat-chain and branched alkanes*. In Atlas (Ed), *Petroleum Microbiology*, Macmillan Publishing Company, New York, 1-60
28. Spies R.B., Rice S.D., Wolfe D.A. and Wright B.A. (1996). *The effect of the Exxon Valdez oil spill on Alaskan coastal environment, Proceedings of the 1993 Exxon Valdez Oil Spill Symposium*, American Fisheries Society, Bethesda, MD, pp1-16.
29. Swannell, R.P.J., Lee, K., and Mcdonagh, M. (1996). *Field evaluations of marine oil spill bioremediation. Microbiological Reviews*, 60(2),342-365).
30. Venosa, A. D., Suidan, M. T., Wrenn, B. A., Strohmeier, K. L., Haines, J. R., Eberhart, B. L, King, D.W., and Holder, E. (1996). *Bioremediation of experimental oil spill on the shoreline of Delaware Bay. Environmental Science and Technology*, 30, 1764-1775.
31. Venosa, A. D.,(1998) *Oil spill bioremediation on coastal shorelines: a critique*. In: S.K. Sikdar & R.I. Irvine(Eds.), *Bioremediation: Principles and Practice*. Vol. III. *Bioremediation Technologies*. Technomic, Lancaster, PA, 259-301]
32. Wrenn A, Venosa AD. (1996). "Selective enumeration of aromatic and aliphatic hydrocarbon degrading bacteria by a most-probable number procedure" *Can. J. Microbiol.* 42, 252-258.
33. Zobell, C.E. (1973). *Microbial degradation of oil: Present statue, problems, and perspectives*. In Ahearn and Meyers (Eds.), *The Microbial Degradation of*

ΕΛΛΗΝΟΓΛΩΣΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ:

1. *Βογιατζής Γ, 2007''Οργανική Γεωχημική Μελετη της Γεώτρησης PB-26 του ταμειυτήρα Πετρελαίου του Πρίνου''. Διπλωματική εργασία τμήμα Μηχ.Ο.Π,Π.Κ.*
2. *Νικολοπούλου Μ., 2005'' Ενισχυμένη Βιοδιέγερση Εγγενών Θαλάσσιων Μικροοργανισμών με τη Χρήση Λιπόφιλων Λιπασμάτων σε Συνδυασμό με Επιφανειοδραστικές Βιολογικές Ουσίες για Αποικοδόμηση Πετρελαιοκηλίδων''. Μεταπτυχιακή Διατριβή, τμήμα Μη.Περ, Π.Κ.*
3. *Πουλάκης Π. , 2008. ''Συγκριτική αξιολόγηση πετρελαίων από σχηματισμούς της λεκάνης του Πρίνου με μεθόδους οργανικής γεωχημείας''. Διπλωματική εργασία, τμήμα Μηχ.Ο.Π,Π.Κ.*