



Πολυτεχνείο Κρήτης Τμήμα Μηχανικών Ορυκτών Πόρων

Διπλωματική Εργασία

«Βιοαποδόμηση Πετρελαϊκών Υδρογονανθράκων σε
Θαλάσσιο Περιβάλλον»

Τσισκάκη Ευφροσύνη



Χανιά 2011

Περίληψη

Οι διαρροές του πετρελαίου, κατά την παραγωγή, την επεξεργασία και την διακίνηση του, αποτελούν σημαντικό περιβαλλοντικό πρόβλημα. Ειδικά στην περίπτωση μεγάλων διαρροών στην θάλασσα (πετρελαιοκηλίδες), η εξυγίανση του περιβάλλοντος είναι εξαιρετικά δύσκολο τεχνολογικά εγχείρημα. Η μέθοδος της ενισχυμένης βιοαποδόμησης του πετρελαίου στις περιπτώσεις αυτές έχει αποδειχθεί εξαιρετικά αποτελεσματική. Η μέθοδος στηρίζεται στην ικανότητα των μικροοργανισμών (βακτήρια και μύκητες) να αποδομούν το πετρέλαιο σε σχετικά αβλαβείς ουσίες και με τελικά προϊόντα το διοξείδιο του άνθρακα και το νερό. Αυτή η διαδικασία μπορεί να επιταχυνθεί με την προσθήκη θρεπτικών συστατικών όπως φωσφόρος και άζωτο, τα οποία ευνοούν την ανάπτυξη των μικροοργανισμών που δρουν στην διεπιφάνεια νερού – πετρελαίου.

Στην παρούσα διπλωματική εργασία μελετήθηκε η επίδραση της χρήσης επιλεγμένων λιπόφιλων φυσικών λιπασμάτων όπως το ουρικό οξύ και η λεκιθίνη αλλά και επιφανειοδραστικών ουσιών βιολογικής προέλευσης (biosurfactants) στην αποτελεσματικότητα της βιοαποδόμησης. Ποσοτικά η εκτίμηση στηρίχθηκε στις μεταβολές της συγκέντρωσης χαρακτηριστικών συστατικών του πετρελαίου, όπως είναι τα κανονικά αλκάνια, τα ισοπρενοειδή και επιλεγμένα αρωματικά συστατικά.

Τα αναλυτικά αποτελέσματα έδειξαν ότι τα θρεπτικά συστατικά που μελετήθηκαν, ενισχύουν σημαντικά την ταχύτητα της βιοαποδόμησης του πετρελαίου σε θαλάσσιο περιβάλλον και συνεπώς μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε εφαρμογές πεδίου, λόγω και του χαμηλού κόστους τους.

Πρόλογος

Η παρούσα διπλωματική εργασία δεν θα μπορούσε να είχε πραγματοποιηθεί χωρίς την υποστήριξη ορισμένων προσώπων, τα οποία θα ήθελα να ευχαριστήσω.

Μεγάλες ευχαριστίες οφείλω στον επιβλέποντα καθηγητή μου κύριο Πασαδάκη Νικόλαο για την ανάθεση αυτού του πολύ ενδιαφέροντος θέματος, για την πολύτιμη βοήθεια που μου πρόσφερε σε όλη τη διάρκεια της εργασίας αυτής, για την διορθωσή της, για τις γνώσεις που μου προσέφερε και γενικά για τον χρόνο που διέθεσε.

Στην Μαρία Νικολοπούλου, του τμήματος Μηχανικών Περιβάλλοντος για την βοήθεια και την καθοδήγησή της, την αμέριστη συμπαράσταση της σε όλες τις πειραματικές διαδικασίες που πραγματοποίησα στο εργαστήριο Ανάλυσης Ρευστών και Πυρήνων Υπόγειων Ταμιευτήρων όπου έλαβαν χώρο.

Στην Ελευθερία Αντωνίου, για την βοήθειά της στην διόρθωση του κειμένου, στην Ελένη Χαμηλάκη για την βοήθεια της σε όποιο στάδιο και αν χρειάστηκα βοήθεια και τον Νίκο Σπανουδάκη για την βοήθεια του στην επεξεργασία των μετρήσεων μου.

Τον συνάδελφο και φίλο Γιάννη Κώνστα για όλη την συμπαράσταση και για την βοήθεια του σε όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

Τέλος, θα ήθελα να αφιερώσω την διπλωματική μου εργασία στην οικογένεια μου, στους γονείς και την αδερφή μου για την στήριξη και την αμέριστη συμπαράσταση τους όλα αυτά τα χρόνια σε όλες τις επιλογές και στις προσπάθειες μου.

Περιεχόμενα

1 Κεφάλαιο - Εισαγωγή

1.1 Γενικά – Πετρέλαιο και Περιβάλλον.....	5
1.2 Χαρακτηριστικά Περιστατικά Πετρελαιοκηλίδων.....	8
1.3 Τρόποι Αντιμετώπισης Πετρελαιοκηλίδων σε Παράκτια και Θαλάσσια Περιβάλλοντα.....	16
1.4 Μέθοδοι Βιολογικής Αποκατάστασης ως Τεχνολογίες Καθαρισμού Πετρελαιοκηλίδων.....	19
1.4.1 Πλεονεκτήματα – Μειονεκτήματα της Βιοεξυγίανσης.....	22

2 Κεφάλαιο – Η βιοαποικοδόμηση του Πετρελαίου

2.1 Παράγοντες που Επιδρούν στην Βιοαποικοδόμηση του Πετρελαίου και την Επιτυχία της Βιοεξυγίανσης.....	24
2.1.1 Τα Χημικά Χαρακτηριστικά του Πετρελαίου και των Προϊόντων του- Γενικά Στοιχεία.....	25
2.1.2 Φυσικές Ιδιότητες.....	28
2.1.3 Διεργασίες Γήρανσης των Πετρελαιοκηλίδων.....	29
2.2 Βιοαποικοδόμηση (Biodegradation).....	34
2.2.1 Η Συμπεριφορά των Ομάδων Συστατικών του πετρελαίου στην Βιοαποδόμηση.....	35
2.3 Χρήση Θρεπτικών Συστατικών για την Ενίσχυση της Βιοδιάσπασης.....	37
2.4 Μηχανισμοί Βιοαποδόμησης του Πετρελαίου.....	38
2.5 Σύντομη Περιγραφή των Εργαστηριακών Μεθοδολογιών.....	41
2.5.1 Εκχύλιση Υγρής – Υγρής Φάσης (LLE).....	42
2.5.2 Εκχύλιση Στερεάς Φάσης (SPE).....	42
2.5.3 GC/MS Αέρια Χρωματογραφία- Φασματοσκοπία Μάζας.....	42

3 Κεφάλαιο – Πειραματική Μελέτη Βιοαποικοδόμησης

Εργαστηριακή Μελέτη της Επίδρασης των Θρεπτικών συστατικών στην Αποτελεσματικότητα της Βιοαποδόμησης.....	43
3.1 Πειραματική Μεθοδολογία- Δοκιμές Μικροβιακής Αποδόμησης του Πετρελαίου.....	46
3.2 Υλικά και Εξοπλισμός.....	47
3.3 Προετοιμασία Πετρελαίου – Αντιδραστήρια και Μέσα Καλλιέργειας.....	48
3.4 Προετοιμασία δείγματος - LLE.....	49
3.4.1 Παρουσίαση Αποτελεσμάτων LLE.....	50
3.5 Εκχύλιση Στερεάς Φάσης (SPE).....	51
3.5.1 Πειραματικό Μέρος SPE.....	52
3.5.2 Παρουσίαση Αποτελεσμάτων της SPE.....	52
3.6 Αέρια Χρωματογραφία- Φασματοσκοπία Μάζας (GC/MS).....	55
3.6.1 Τύπος Οργάνου GC/MS – Χαρακτηριστικά Ανάλυσης.....	55
3.6.2 Διαδικασία Ανάλυσης στο GC/MS.....	55
3.7 Παρουσίαση – Ανάλυση Αποτελεσμάτων.....	61
3.8 Συμπεράσματα.....	80
Παράρτημα Α: Χρωματογραφήματα Αναλύσεων.....	81
Παράρτημα Β: Μεταβολή της Συγκέντρωσης των κ-Αλκανίων σε σχέση με τον Χρόνο.....	88
Παράρτημα Γ: Εικόνες φιαλών των Πειραματικών Δοκιμών.....	95
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	98

Κεφάλαιο 1

Εισαγωγή

1.1 Γενικά – Πετρέλαιο και Περιβάλλον

Οι συχνές διαρροές του πετρελαίου στο περιβάλλον και η επακόλουθη ευαισθητοποίηση του κοινού σε περιβαλλοντικά θέματα, οδηγούν στην αναζήτηση πιο αποδοτικών μεθόδων για την απομάκρυνση του πετρελαίου από το περιβάλλον και την αποκατάσταση του. Στην σημερινή εποχή, υπάρχουν πολλοί τρόποι αντιμετώπισης πετρελαιοκηλίδων σε παράκτια και θαλάσσια περιβάλλοντα και οι οποίοι περιγράφονται εκτενέστερα στην παράγραφο **1.3**. Μια πολλά υποσχόμενη τεχνική στον τομέα αυτόν είναι η **βιοαποδόμηση**. Βιοαποδόμηση (bioremediation) είναι ο μετασχηματισμός χημικών ενώσεων από βακτήρια ή άλλα βιολογικά μέσα μέσω του μεταβολισμού τους. Ποσότητες πετρελαίου που λόγω ατυχήματος ή ανθρώπινης αμέλειας διαρρέουν και εξαπλώνονται στην επιφάνεια της θάλασσας αποτελούν μία από τις σοβαρότερες αιτίες ρύπανσης και καταστροφής της χλωρίδας και πανίδας στην έκταση που καταλαμβάνουν. Οι πετρελαιοκηλίδες μπορούν να προκληθούν από ατυχήματα σε πετρελαιοφόρα δεξαμενόπλοια, από τον παράνομο καθαρισμό των δεξαμενών καυσίμου των πλοίων στην ανοιχτή θάλασσα και την απόρριψη χρησιμοποιημένων λιπαντικών και υπολειμμάτων καύσης, από ατυχήματα σε εξέδρες υποθαλάσσιων γεωτρήσεων πετρελαίου, από την διακίνηση και αποθήκευση πετρελαιοειδών. Η διακίνηση των πετρελαιοειδών συγκεντρώνεται συνήθως σε κλειστούς κόλπους με ιδιαίτερη ναυτιλιακή κίνηση, ενώ η ανάπτυξη και η χωροθέτηση των βιομηχανικών περιοχών δημιουργεί πολλαπλούς κινδύνους ρύπανσης στις γειτονικές θαλάσσιες περιοχές. Ακόμα, κατά την αποθήκευση των πετρελαιοειδών, τόσο στα διυλιστήρια, όσο και στα πρατήρια καυσίμων, διαβρώνονται οι εγκαταστάσεις, οπότε το πετρέλαιο και τα προϊόντα του ρυπαίνουν τα υπόγεια νερά και τους υδροφορείς τους.

Το υλικό που διαρρέει στην θάλασσα (αργό πετρέλαιο ή διυλισμένο υλικό όπως βενζίνη ή ντίζελ), προκαλεί ρύπανση της θάλασσας αλλά και του εδάφους δημιουργώντας τεράστιες συνέπειες στο φυσικό περιβάλλον. Οι θαλάσσιες ακτές οι οποίες αποτελούν τους πιο σημαντικούς οικολογικούς πόρους της ανθρωπότητας απειλούνται από αυτήν την οικολογική καταστροφή. Το 30-40% των πετρελαιοειδών που ρίχνονται στην επιφάνεια της θάλασσας αποτελείται από πτητικά συστατικά, τα οποία εξατμίζονται γρήγορα, ενώ τα υπόλοιπα συστατικά σχηματίζουν ένα λεπτό, στρώμα πετρελαίου το οποίο εμποδίζει τις φυσικές ανταλλαγές που συμβαίνουν μεταξύ νερού και ατμοσφαιρικού αέρα, και οι οποίες είναι απαραίτητες για το βιολογικό κύκλο της θαλάσσιας ζωής. Το στρώμα αυτό

του πετρελαίου, με άλλα λόγια, μειώνει στο ελάχιστο την ανανέωση του νερού με το οξυγόνο του αέρα, εμποδίζει τις ακτίνες του ήλιου να εισχωρήσουν βαθιά στη θάλασσα για τη φωτοσύνθεση, προκαλεί αύξηση της θερμοκρασίας του νερού και υπερβολική ανάπτυξη μικροοργανισμών που καταναλώνουν οξυγόνο. Οι παράγοντες και οι διεργασίες στις οποίες υπόκειται το πετρέλαιο όταν πέσει στην θάλασσα περιγράφονται εκτενέστερα στην παράγραφο **2.1**. Τα μαλάκια και τα φυτά είναι ιδιαίτερα ευπαθή σε αυτή τη ρύπανση γιατί δηλητηριάζονται και πεθαίνουν από ασφυξία. Το ίδιο συμβαίνει και με τα ψάρια εκείνα που δεν εγκαταλείπουν έγκαιρα τη ρυπασμένη περιοχή. Η **πίσσα** που εκβράζεται στις παραλίες καταστρέφει τους φυτικούς και ζωικούς οργανισμούς, ενώ έχει υπολογιστεί ότι απαιτούνται 2-3 χρόνια για να αποκατασταθεί μερικώς η παράκτια χλωρίδα. Για τα πτηνά οι επιπτώσεις της ρύπανσης αυτής είναι δραματικές. Τα φτερά τους καλύπτονται από πετρέλαιο, δεν μπορούν να πετάξουν, πεθαίνουν από το κρύο γιατί δεν έχουν πλέον το μονωτικό στρώμα των φτερών και των πούπουλων, ενώ όσα επιβιώνουν, δηλητηριάζονται και πεθαίνουν στην προσπάθειά τους να απαλλαγούν από το πετρέλαιο.

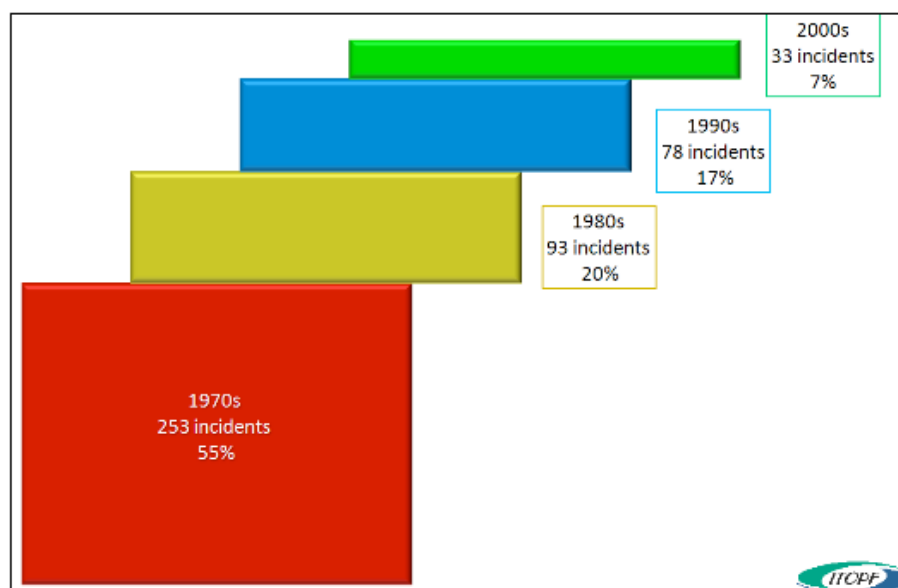


Εικόνα 1.1: Παραδείγματα οικολογικής καταστροφής από ατύχημα του πετρελαιοφόρου Exxon Valdez [3]

Στη Μεσόγειο, λόγω της απουσίας έντονου κυματισμού, αλλά και της υψηλότερης αλατότητας, η φυσική διάλυση μιας πετρελαιοκηλίδας δυσχεραίνεται. Ο ρυθμός των ποσοτήτων του πετρελαίου που καταβυθίζονται ή διαλύονται είναι αργός κατά τη διάρκεια μιας πετρελαιο-ρύπανσης. Εκτός από τις καταστρεπτικές επιπτώσεις στο περιβάλλον, αξιοσημείωτες είναι και οι δυσμενείς επιπτώσεις των πετρελαιοκηλίδων στην αλιεία και τον τουρισμό στις περιοχές που πλήττονται, καθώς και η απώλεια μεγάλων ποσοτήτων πετρελαίου. Υπολογίζεται ότι κάθε έτος απελευθερώνονται στο περιβάλλον **1,7-8,8 εκατομ.τόνοι πετρελαίου**, των οποίων το 12% προέρχεται από ατυχήματα δεξαμενόπλοιων ενώ το 90% προέρχεται από καθημερινές ανθρώπινες δραστηριότητες.[1]

Η **Εικόνα 1.2** και ο **Πίνακας 1.1** συνοψίζει τους αριθμούς των πετρελαιοκηλίδων και τις αντίστοιχες ποσότητες που απελευθερώθηκαν από το 1970 έως το 2010 σύμφωνα με τα δεδομένα του International Tanker Owners

Pollution Federation oil spill database 2011 [2]. Είναι προφανές όπως διακρίνεται από τον **Πίνακα 1.1**, ότι ο αριθμός των μεγάλων διαρροών (>700 τόνους) έχει μειωθεί σημαντικά κατά την διάρκεια των τελευταίων 41 χρόνων. Ο μέσος αριθμός των μεγάλων διαρροών της προηγούμενης δεκαετίας 2000-2009 είναι μόλις 8 φορές μικρότερος από το 1970. Παρατηρώντας αυτή την πτωτική τάση από μια άλλη σκοπιά, διακρίνεται ότι το 55% των μεγάλων διαρροών συνέβησαν τη δεκαετία του 1970 και το ποσοστό αυτό έχει μειωθεί κατά 7% μέχρι και την δεκαετία του 2000 (**Εικόνα 1.2**). Στον **Πίνακα 1.1** παρατηρείται πτώση στις μεσαίου μεγέθους διαρροές της τάξης των 7-700 τόνων πετρελαίου. Ακόμα, ο μέσος αριθμός των πετρελαιοκηλίδων στην δεκαετία του 2000 ήταν κοντά στο 15, ενώ στην δεκαετία του 1990 ο μέσος αριθμός των διαρροών ήταν σχεδόν διπλάσιος. Για το 2010 καταγράφηκαν τέσσερις μεγάλες διαρροές, κάτι που αποτελεί μία αύξηση σε σχέση με τα αριθμητικά στοιχεία για το 2008 και το 2009. (**Εικόνα 1.2** και **Πίνακας 1.1**). Τέσσερις μεσαίου μεγέθους διαρροές σημειώθηκαν επίσης το 2010, ετήσιο ποσοστό αρκετά χαμηλό. Το σύνολο όλων διαρροών σε ποσότητες μεγαλύτερες των 7 τόνων για το 2010 δείχνει μία μεταβολή έναντι του 2009 και είναι σημαντική μείωση σε σύγκριση με το μέσο όρο της προηγούμενης δεκαετίας.

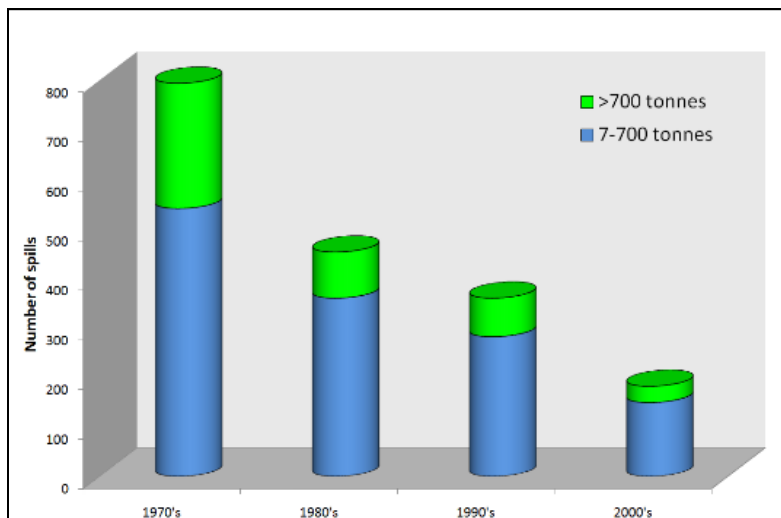


Εικόνα 1.2 Αριθμός διαρροών πετρελαίου από το 1970 έως το 2010 [2]

Έτος	7-700 τόνοι	>700 τόνοι	Έτος	7-700 τόνων	>700 τόνους	Έτος	7-700 τόνων	>700 τόνους	Έτος	7-700 τόνων	>700 τόνους
1970	7	29	1980	52	13	1990	50	14	2000	21	4
1971	18	14	1981	54	7	1991	30	7	2001	18	3
1972	48	27	1982	45	4	1992	31	10	2002	13	3
1973	28	32	1983	52	13	1993	31	11	2003	16	4
1974	89	28	1984	26	8	1994	26	9	2004	17	5
1975	97	22	1985	32	8	1995	20	3	2005	22	3
1976	67	27	1986	28	7	1996	20	3	2006	13	5
1977	68	17	1987	27	10	1997	28	10	2007	13	4
1978	59	22	1988	11	10	1998	26	5	2008	9	1
1979	60	35	1989	33	13	1999	20	6	2009	7	1
Σύνολο	541	253	Σύνολο	260	93	Σύνολο	282	78	Σύνολο	149	33
Ποσοστό	54.1	25.3	Ποσοστό	36	9.3	Ποσοστό	28.2	7.8	Ποσοστό	14.9	3.3

Έτος	7-700 τόνων	>700 τόνους
2010	4	4
Σύνολο	4	4

Πίνακας 1.1: Ετήσιες ποσότητες διαρροών πετρελαίου στο θαλάσσιο περιβάλλον [2]



Εικόνα 1.3: Ετήσια ποσότητα πετρελαίου που εισήλθε στο θαλάσσιο περιβάλλον τα τελευταία 40 χρόνια [2]

1.2 Χαρακτηριστικά Περιστατικά Πετρελαιοκηλίδων

Παρά τις σύγχρονες τεχνολογικές εξελίξεις, τα ατυχήματα με πετρελαιοκηλίδες του αργού πετρελαίου και των προϊόντων του στη θάλασσα συμβαίνουν σε συχνή βάση. Συγκεκριμένα, τα εμπορικά πλοία κατά την επιχειρησιακή τους

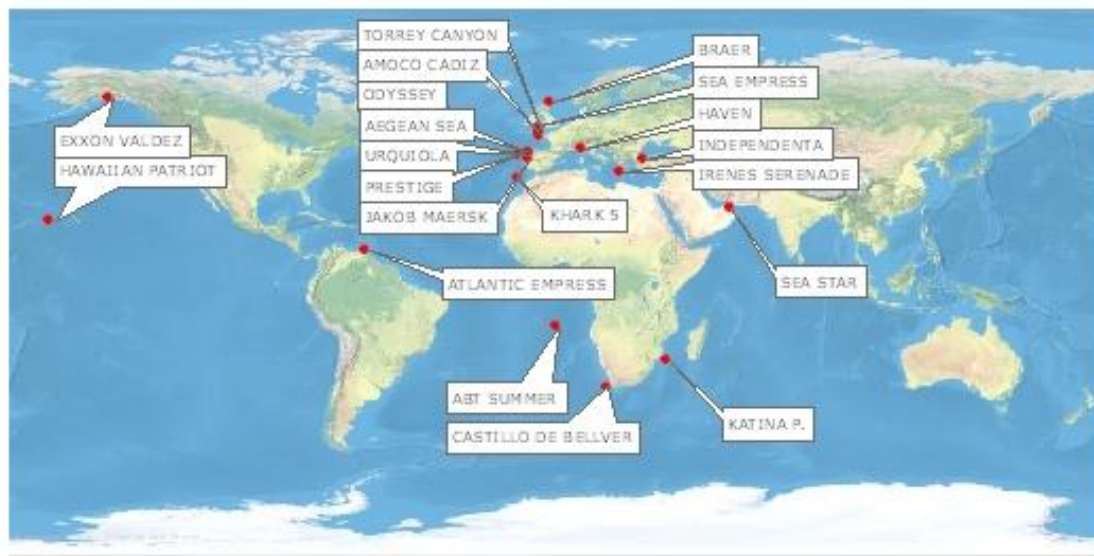
λειτουργία κινδυνεύουν από κάθε είδους ατυχήματα. Οι κίνδυνοι της θάλασσας προέρχονται από σφοδρούς ανέμους και την κίνηση των κυμάτων, τα παλιρροιακά ρεύματα, την ομίχλη, τους υφάλους ιδίως κοντά σε ακτές και τα διάφορα αβανθή. Οι απότομες αλλαγές στην κίνηση των ανέμων μεταβάλλουν τις συνθήκες στη θάλασσα και σε συνδυασμό με την αδυναμία του ανθρώπου πολλές φορές να αντιμετωπίσει (ή και να επιβιώσει) αβοήθητος στο θαλάσσιο περιβάλλον, οδηγούν σε απώλειες ανθρώπινων ζώων, πλοίου, φορτίου και πιθανόν σε θαλάσσια ρύπανση. Τα ατυχήματα των τάνκερ στη θάλασσα διακρίνονται σε δύο ομάδες, στα ατυχήματα που συμβαίνουν από τους τερματικούς σταθμούς λόγω των φορτώσεων και των εκφορτώσεων, και στα ατυχήματα των τάνκερ στη ανοικτή θάλασσα.

Στον **Πίνακα 1.2** που ακολουθεί παραθέτονται τα 20 μεγαλύτερα ατυχήματα πετρελαιοκηλίδων από το 1972. Ο **Χάρτης 1.1** δείχνει τις περιοχές όπου συνέβησαν.

Πίνακας 1.2: Μεγάλα ατυχήματα που οδήγησαν σε διαροή του πετρελαίου στο θαλάσσιο περιβάλλον από το 1972 έως το 2002 [2]

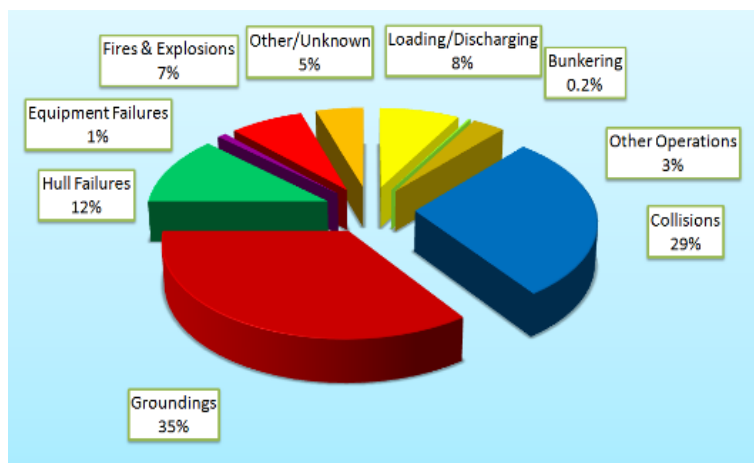
Έτος	Όνομα πλοίου	Τόνοι	Τοποθεσία
1972	Sea Star	115,000	Κόλπος του Ομάν
1975	Jacob Maersk	88,000	Πόρτο, Πορτογαλία
1976	Urquiola	100,000	La Coruna, Ισπανία
1977	Hawaiian Patriot	95,000	300 ναυτικά μίλια στα ανοιχτά της Χονολουλού
1978	Amoco Cadiz	223,000	Off Βρετάνη, Γαλλία
1979	Atlantic Empress	287,000	Off Τομπάκο, Δυτικές Ινδίες
1980	Της κ.Ειρήνης Serenade	100,000	Navarino Bay, Ελλάδα
1983	Castillo de Bellver	252,000	Off Bay Saldanha, Νότια Αφρική
1985	Nova	70,000	Off Kharg Νησί, Κόλπος του Ιράν
1988	Οδύσσεια	132,000	700 ναυτικά μίλια στα ανοιχτά Νέα Σκωτία, Καναδάς
1989	Khark 5	80,000	120 ναυτικά μίλια από τις ακτές του Ατλαντικού
1989	Exxon Valdez	37,000	Prince William Sound, Αλάσκα, ΗΠΑ

1991	ABT Summer	260,000	700 ναυτικά μίλια στα ανοικτά της Αγκόλας
1991	Haven	144,000	Γένοβα, Ιταλία
1992	Αιγαίο Πέλαγος	74,000	La Coruna, Ισπανία
1992	Κατίνα Ρ	66,70	Off Μαπούτο, Μοζαμβίκη
1993	Braer	85,000	Shetland Islands, Ηνωμένο Βασίλειο
1996	Sea Empress	72,000	Milford Haven, Ηνωμένο Βασίλειο
2002	Prestige	63,000	Off Γαλικία, Ισπανία



Χάρτης 1.1: Οι σημαντικότερες πετρελαιοκηλίδες διεθνώς [2]

Οι κύριες αιτίες διαρροής πετρελαίου στο περιβάλλον από το 1970 έως το 2010 είναι λόγω φόρτωσης-εκφόρτωσης, λόγω συγκρούσεων, λόγω προσάραξης του πλοίου, λόγω εκρήξεων, βλαβών στη δομή του πλοίου κ.α όπως φαίνεται και στην **Εικόνα 1.4**



Εικόνα 1.4: Αιτίες εισαγωγής του πετρελαίου στο θαλάσσιο περιβάλλον [2]

Τα περισσότερα ατυχήματα των δεξαμενόπλοιων συμβαίνουν κοντά στις ακτές ή σε περιοχές συχνής κυκλοφορίας, ενώ οι απώλειες πλοίων ή και φορτίων μπορούν να κατηγοριοποιηθούν στις παρακάτω κατηγορίες:

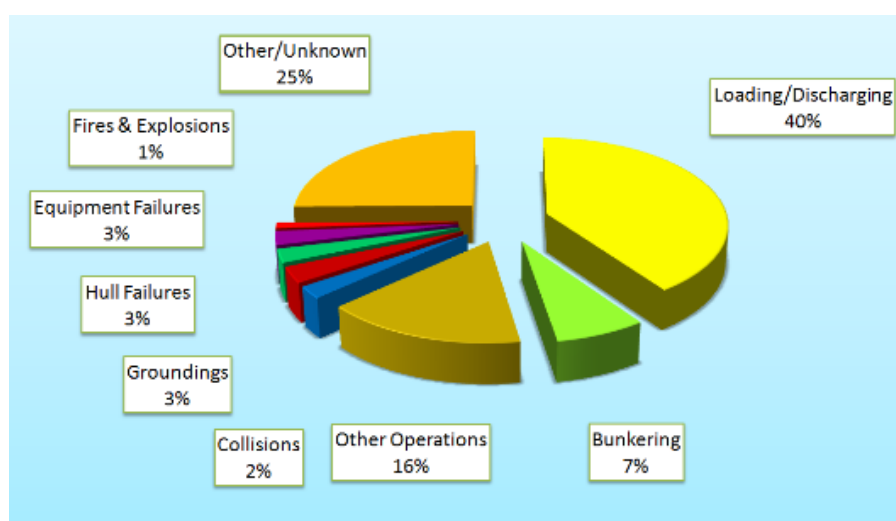
- Βύθιση του πλοίου, κυρίως σε ανοιχτή θάλασσα, λόγω δυσμενών κλιματολογικών συνθηκών
- Προσάραξη του πλοίου
- Σύγκρουση
- Έκρηξη
- Ζημιές στη δομή του πλοίου

Οι πετρελαιοκηλίδες χωρίζονται σε τρεις βασικές ομάδες με βάση τον όγκο του πετρελαίου που διαρρέει στην θάλασσα (<7 τόνους, 7-700 τόνους, >700 τόνους). Ο **Πίνακας 1.3** και οι **Εικόνες 1.5** και **1.7** παρουσιάζουν στατιστικά δεδομένα της International Tanker Owners Pollution Federation oil spill.

Πίνακας 1.3: Αιτίες ατυχημάτων (<7 τόνους 1974-2010, 7-700 και >700 τόνους 1970-2010) [2]

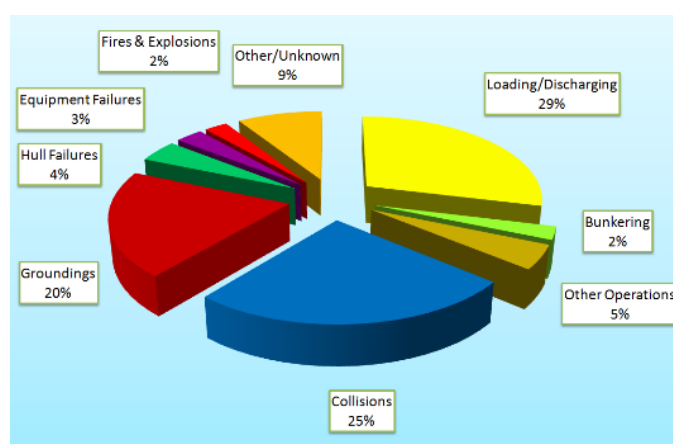
Ατυχήματα	<7 τόνους	7-700 τόνους	>700 τόνους	Σύνολο
Συγκρούσεις	180	337	132	649
Προσάραξη	237	269	160	666
Βλάβες του πλοίου	198	57	55	310

Βλάβες στον εξοπλισμό	202	39	4	245
Εκρήξεις	84	33	34	151
Άλλες αιτίες	1975	121	22	2118
Σύνολο	7845	1335	460	9640

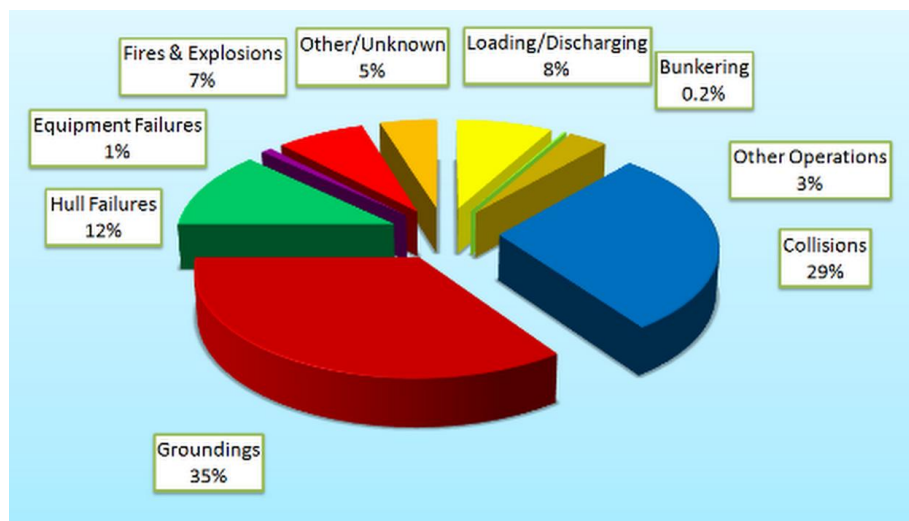


Εικόνα 1.5: Αιτίες διαρροής του πετρελαίου με ποσότητες < 7 τόνων 1974-2010 [2]

Στην **Εικόνα 1.6** παρατηρείται ότι σε ποσοστό 40% η κύρια αιτία διαρροής του πετρελαίου σε ποσότητες <7 τόνων οφείλεται στις φορτώσεις και στις εκφορτώσεις των φορτηγών πλοίων.



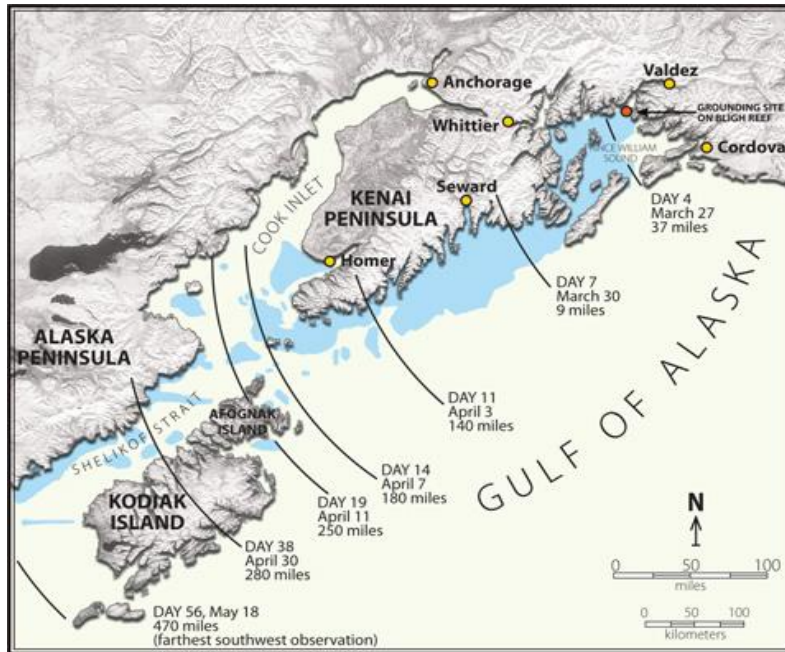
Εικόνα 1.6: Αιτίες διαρροής του πετρελαίου με ποσότητες 7-700 τόνων 1974-2010 [2]



Εικόνα 1.7: Αιτίες διαρροής του πετρελαίου με ποσότητες > 7 τόνων 1974-2010 [2]

Στην **Εικόνα 1.7** διακρίνεται ότι σε ποσοστό 29% η κύρια αιτία απελευθέρωσης πετρελαίου στην θάλασσα είναι λόγω φόρτωσης- εκφόρτωσης. Το ποσοστό 29% αναφέρεται στις συγκρούσεις των πλοίων και στην **Εικόνα 1.7** το 35% σε συγκρούσεις δηλαδή ατυχήματα που μπορούν να προκληθούν στο πλοίο λόγω προσάραξης ή σύγκρουσης με άλλα πλοία.

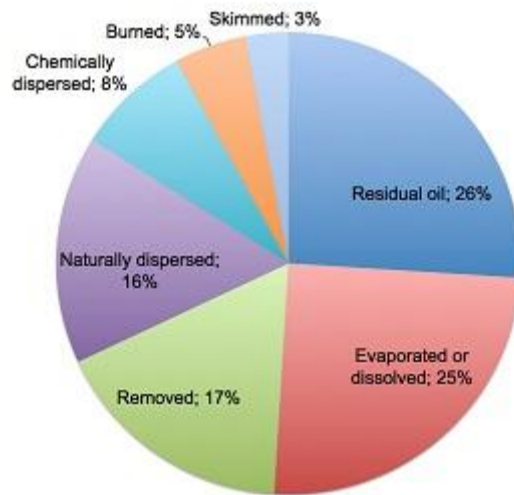
Στον **Πίνακα 1.2**, παρουσιάζονται τα πιο σημαντικά ατυχήματα που έχουν πραγματοποιηθεί από το 1972 έως το 2002, με πιο σημαντικό το ατύχημα του πετρελαιοφόρου Exxon Valdez τον Μάρτιο του 1989, το οποίο προσάραξε στο Prince William Sound στην Αλάσκα των ΗΠΑ, και απ' όπου απελευθερώθηκαν 11 εκ. γαλόνια (42 εκ. λίτρα), δημιουργώντας πετρελαιοκηλίδα. Εκείνη την εποχή η πετρελαιοκηλίδα αυτή αποτέλεσε την πιο καταστροφική από περιβαλλοντική άποψη πετρελαιοκηλίδα στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής, σε σχέση με εκείνες που είχαν γίνει μέχρι τότε. Στην παρακάτω **Εικόνα 1.8** φαίνεται η πορεία επέκτασης της πετρελαιοκηλίδας. Συγκεκριμένα, διακρίνεται (μπλέ ζώνες), ότι η πετρελαιοκηλίδα επεκτάθηκε 470 ναυτικά μίλια νοτιοδυτικά του Reef Bligh, και η συνολική περιοχή της διαρροής της υπολογίζεται στα 11.000 τετραγωνικά ναυτικά μίλια [3].



Εικόνα 1.8: Περιοχές που επεκτάθηκε η πετρελαιοκηλίδα [3]

Οι κύριες στρατηγικές αντιμετώπισης της πετρελαιοκηλίδας του Exxon Valdez που εφαρμόστηκαν για την αντιμετώπιση της, ήταν αρχικά το πλύσιμο των ακτογραμμών με νερό υψηλής πίεσης και έπειτα η μέθοδος της βιοδιέργεσης (biostimulation) με την χρήση λιπασμάτων τα οποία περιείχαν θρεπτικά συστατικά N (άζωτο) με στόχο την βιοαποδόμηση του πετρελαίου.

Η **Deepwater Horizon Oil**, γνωστή ως και η πετρελαιοκηλίδα στον Κόλπο του Μεξικού, αποτελεί την μεγαλύτερη θαλάσσια πετρελαιοκηλίδα που έχει δημιουργηθεί ποτέ στην ιστορία. Προκλήθηκε από έκρηξη που σημειώθηκε στην πλατφόρμα *Deepwater Horizon*, περίπου 50 ναυτικά μίλια νοτιοδυτικά του Μισισιπή, (στο δέλτα του ποταμού), στις 20 Απριλίου το 2010 και η οποία βυθίστηκε σε βάθος 1500 μέτρα κάτω από τη θάλασσα ύστερα από δύο μέρες. Ο πραγματικός όγκος του πετρελαίου και του αερίου που απελευθερώθηκε μετά από την έκρηξη αυτή ήταν δύσκολο να καθοριστεί. Η απελευθέρωση του πετρελαίου στο περιβάλλον εκτιμάται στα 4,9 εκ. βαρέλια (205,8 εκ. γαλόνια ή 780 εκ. λίτρα πετρελαίου). Ο προϋπολογισμός σύμφωνα με την FRTG (National Incident Command's Flow Rate Technical Group), αναφέρει ότι το 3% του πετρελαίου συγκρατήθηκε λόγω της χρήσης πλωτών φραγμών και της χρήσης εξαφριστών, που χρησιμοποιήθηκαν για την ανάκτηση του (skimming and booming). Το 5% απομακρύνθηκε μέσω της καύσης, το 8% απομακρύνθηκε με την προσθήκη χημικών ουσιών διασποράς (dispersants), το 16% απομακρύνθηκε φυσικά, το 17% συγκεντρώθηκε, το 25% εξατμίστηκε ή διαλύθηκε και τέλος το υπόλοιπο 26% παραμένει ακόμα στην θάλασσα (**Σχήμα 1.1**)



Σχήμα 1.1: Σχηματική απεικόνιση της τύχης του πετρελαίου ύστερα από την καταστροφή του Horizon Deepwater [4]



Εικόνα 1.9 Πετρελαιοκηλίδα στις ακτές της Λουϊζιάνας, ύστερα από την έκρηξη πλατφόρμας στον Κόλπο του Μεξικού [3]

Τα δύο αυτά περιστατικά πετρελαιοκηλίδων που παρουσιάστηκαν παραπάνω, η πετρελαιοκηλίδα λόγω της προσάραξης του πετρελαιοφόρου Exxon Valdez καθώς και η πετρελαιοκηλίδα από την έκρηξη της πλατφόρμας BP Deepwater Horizon, έδωσαν την ευκαιρία να μελετηθεί εκτενώς ο ρόλος των μικροοργανισμών βιοαποδόμησης στον καθορισμό της τύχης των πετρελαιοκηλίδων που απελευθερώνονται στο περιβάλλον. Πρόκειται όμως για δύο περιστατικά με πολλές διαφορές μεταξύ τους. Αρχικά, υπάρχει μεγάλη διαφορά σχετικά με την ποσότητα του πετρελαίου που απελευθερώθηκε στη θάλασσα. Στο ατύχημα του πετρελαιοφόρου Exxon Valdez πρόκειται για 41,6 εκ. λίτρα πετρελαίου, ενώ στην πετρελαιοκηλίδα που δημιουργήθηκε στον Κόλπο του Μεξικού ποσότητα πετρελαίου της τάξης των 779 εκ. λίτρων. Άλλη μια

βασική διαφορά είναι η φύση του πετρελαίου που απελευθερώθηκε στην θάλασσα καθώς και η διαφορετικότητα των οικοσυστημάτων στα οποία έλαβαν χώρα τα δύο αυτά ατυχήματα. Στην περίπτωση του Exxon Valdez πρόκειται για βαρύ πετρέλαιο, ενώ στη περίπτωση της BP το πετρέλαιο χαρακτηρίζεται ως ελαφρύ. Θα πρέπει να αναφέρουμε ότι η διαρροή αυτή απελευθέρωσε και σημαντικές ποσότητες φυσικού αερίου στην ατμόσφαιρα. Τα περιβάλλοντα, στα οποία συνέβησαν τα ατυχήματα δηλαδή το κλίμα, η θερμοκρασία και γενικά το περιβάλλον στο οποίο έλαβε χώρα η βιοαποικοδόμηση είναι εντελώς διαφορετικά. Η βιοαποικοδόμηση (biodegradation), όπως και άλλες φυσικές διεργασίες, μπορούν να απομακρύνουν το μεγαλύτερο μέρος της πετρελαιοκηλίδας, αλλά οι διεργασίες αυτές μπορεί να χρειαστούν μήνες ή και χρόνια για να είναι αποτελεσματικές σε περιοχές με υψηλές συγκεντρώσεις πετρελαίου. Ο Κόλπος του Μεξικού συγκεντρώνει τις περισσότερες φυσικές διαρροές πετρελαίου σε σχέση με οποιαδήποτε άλλη περιοχή στην Βόρεια Αμερική, με περισσότερα από 400000 βαρέλια διαρροών πετρελαίου τον χρόνο. Στον Κόλπο του Μεξικού η μικροβιακή δραστηριότητα είναι πιο εύκολα προσαρμόσιμη στο πετρέλαιο λόγω των φυσικών διαρροών και των υπεράκτιων γεωτρήσεων σε σχέση με οποιαδήποτε άλλη περιοχή στον κόσμο. Έτσι, δεν εκπλήσσει το γεγονός ότι τα βακτήρια στον κόλπο του Μεξικού αντέδρασαν πολύ γρήγορα κατά την εισροή του πετρελαίου στη θάλασσα. Γενικά η τύχη των πετρελαιοκηλίδων εξαρτάται κατά ένα μεγάλο μέρος από την ποσότητα του πετρελαίου που απελευθερώνεται στο περιβάλλον, τις χημικές ιδιότητες του πετρελαίου καθώς και τα χαρακτηριστικά του εκάστωτε οικοσυστήματος. Τέλος, και στα δύο αυτά περιστατικά χρησιμοποιήθηκαν μέθοδοι *ενισχυμένης βιοδιέργεσης*, με σκοπό τη μείωση των συγκεντρώσεων του πετρελαίου στο θαλάσσιο περιβάλλον.

1.3 Τρόποι Αντιμετώπισης Πετρελαιοκηλίδων σε Παράκτια και Θαλάσσια Περιβάλλοντα

Οι πετρελαιοκηλίδες προκαλούνται όπως αναφέρθηκε και παραπάνω είτε λόγω ανθρώπινων δραστηριοτήτων, κυρίως από ατυχήματα φορτηγών πλοίων, είτε από διαρροές γεωλογικών σχηματισμών. Ο τρόπος για την αντιμετώπιση τους εξαρτάται άμεσα από τον τύπο του πετρελαίου και από τα χαρακτηριστικά της πληγείσας περιοχής.

Οι πιο διαδεδομένες τεχνολογίες αντιμετώπισης είναι οι εξής: [5]

Φυσική βιοεξυγίανση (φυσικές μέθοδοι): Σύμφωνα με αυτή τη μέθοδο αφήνεται η κηλίδα να απομακρυνθεί με φυσικό τρόπο όταν δεν είναι κοντά σε παράκτιες περιοχές. Ο συνδυασμός του αέρα, των ρευμάτων και του ήλιου μπορεί να εξατμίσει το πετρέλαιο. Αυτή η απομάκρυνση γίνεται πιο εύκολα σε ελαφριά πετρέλαια.

Ανάκτηση με τη χρήση ειδικών πλοιαρίων (skimmers) και booms (μη χημικές μέθοδοι): Στη μέθοδο αυτή χρησιμοποιούνται πλωτά φράγματα για να ελεγχθεί η μετακίνηση του επιπλέοντος πετρελαίου καθώς και η χρήση εξαφριστών για να ανακτηθεί όπως φαίνεται και στην **Εικόνα 1.10**.



Εικόνα 1.10: Η μέθοδος booming στις ακτές της Λουϊζιάνας, για την αντιμετώπιση της πετρελαιοκηλίδας στον Κόλπο του Μεξικού [6]

Πλύση (μη χημικές μέθοδοι): Γίνεται έκπλυση του πετρελαίου όπως φαίνεται και την **Εικόνα 1.11** που παραμένει κατά το μήκος των ακτογραμμών και η έκπλυση γίνεται με χαμηλής ή υψηλής πίεσης νερό.



Εικόνα 1.11: Πλύσιμο ακτογραμμών [6]

Χρήση βιολογικών παραγόντων: Η μέθοδος αυτή η οποία χαρακτηρίζεται και ως μια αποτελεσματική και παράλληλα οικονομική μέθοδος, χρησιμοποιεί βιολογικούς παράγοντες με σκοπό την επιτυχία της βιοδιάσπασης. Πιο συγκεκριμένα, τα περισσότερα συστατικά του πετρελαίου έχουν την δυνατότητα να αποδομούνται από βακτήρια ή άλλους μικροοργανισμούς σε αβλαβείς ουσίες όπως το διοξείδιο του άνθρακα. Αυτή η διαδικασία μπορεί να επιταχυνθεί με τη προσθήκη θρεπτικών συσκευασμάτων που περιέχουν φώσφορο και άζωτο, τα οποία ευνοούν την ανάπτυξη των μικροοργανισμών.

Προσθήκη χημικών (Dispersants, Demulsifiers, Solidifiers Surface with chemicals): Προστίθενται ικανή ποσότητα χημικών ουσιών σκοπός των οποίων

είναι η ενίσχυση της φυσικής διασποράς του πετρελαίου. Στην **Εικόνα 1.12**, φαίνεται η εναέρια εφαρμογή των χημικών ενώσεων διασποράς στην επιφάνεια του πετρελαίου.



Εικόνα 1.12: Εναέρια προσθήκη χημικών ενώσεων διασποράς στην πλατφόρμα πετρελαίου [3]

Μέθοδος ελεγχόμενης καύσης: Στην συγκεκριμένη διεργασία πραγματοποιείται καύση του πετρελαίου και δημιουργείται ένα στερεό υπόλειμμα το οποίο μπορεί εύκολα να ανακτηθεί με κατάλληλα μηχανήματα. Συγκεκριμένα, η ελεγχόμενη καύση μπορεί να απομακρύνει αποτελεσματικά ποσότητες πετρελαίου, αλλά παρουσιάζει πολλά μειονεκτήματα, όπως η απελευθέρωση πολλών επιβλαβών αερίων στην ατμόσφαιρα και τα οποία προκαλούν ρύπανση στο περιβάλλον και κατά συνέπεια ρύπανση στη θαλάσσια χλωρίδα και πανίδα. Επιπλέον, μπορεί να επηρεάσει τις επικρατούσες ατμοσφαιρικές συνθήκες, ενισχύοντας έτσι το φαινόμενο του θερμοκηπίου.



Εικόνα 1.13: Ελεγχόμενη καύση στην επιφάνεια της θάλασσας στην πλατφόρμα Deepwater Horizon [3]

Κλασική μέθοδος αντιμετώπισης των πετρελαιοκηλίδων είναι η και η προσθήκη χημικών ουσιών και η ανάκτηση με χρήση ειδικών πλοιαρίων(skimmers) και booms:

Χημικές Ουσίες Διασποράς: προστίθεται συνήθως από αέρος με γεωργικά αεροπλάνα ή με πλοιάρια ικανή ποσότητα χημικών, σκοπός των οποίων είναι η ενίσχυση της φυσικής διασποράς του πετρελαίου.

Περιορισμός και ανάκτηση επιπλέοντος πετρελαίου (Containment and recovery of floating oil): Ο περιορισμός της πετρελαιοκηλίδας και η ανάκτηση του επιπλέοντος πετρελαίου γίνεται με τη χρήση ειδικών πλοιαρίων και booms ειδικά σχεδιασμένων για εφαρμογή στη ανοιχτή θάλασσα ή πλησίον ακτών, λιμένων κ.λ.π. Η τεχνολογία αυτή όμως έχει από πολλά προβλήματα και η επιλογή της εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως ο χρόνος παραμονής του πετρελαίου στην θάλασσα, το πάχος της κηλίδας, καθώς και η ταχύτητα του ανέμου.

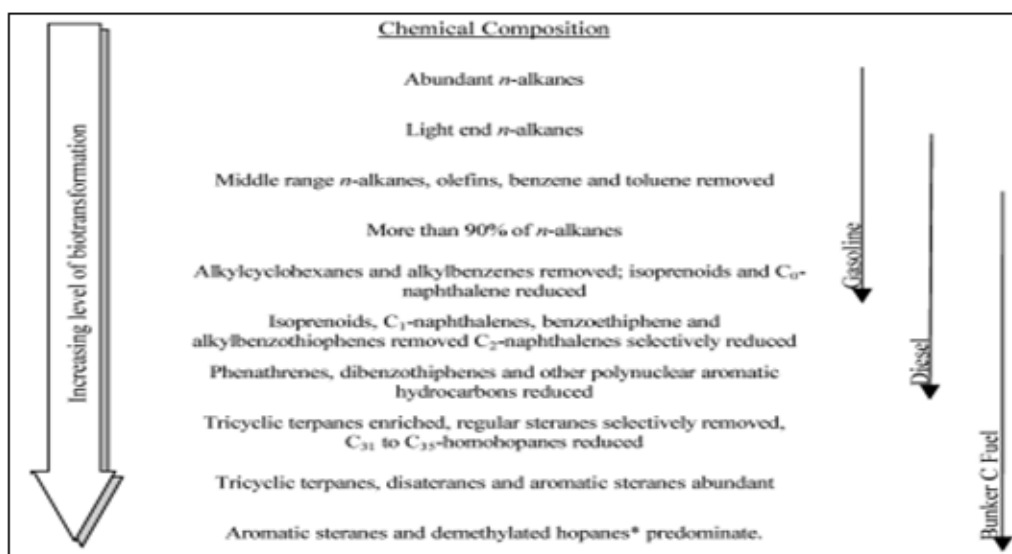
Πρέπει να αναφέρουμε ότι η καλύτερη μέθοδος καταπολέμησης των πετρελαιοκηλίδων είναι η πρόληψη. Σε κάθε φορτηγό πλοίο, πρέπει να εφαρμοστεί διπλή επένδυση (τοιχώμα) μέσα στις δεξαμενές αποθήκευσης έτσι ώστε να αποτραπεί ο κίνδυνος να διαρρεύσει το πετρέλαιο στη θάλασσα.

1.4 Μέθοδοι Βιολογικής Αποκατάστασης ως Τεχνολογίες Καθαρισμού Πετρελαιοκηλίδων

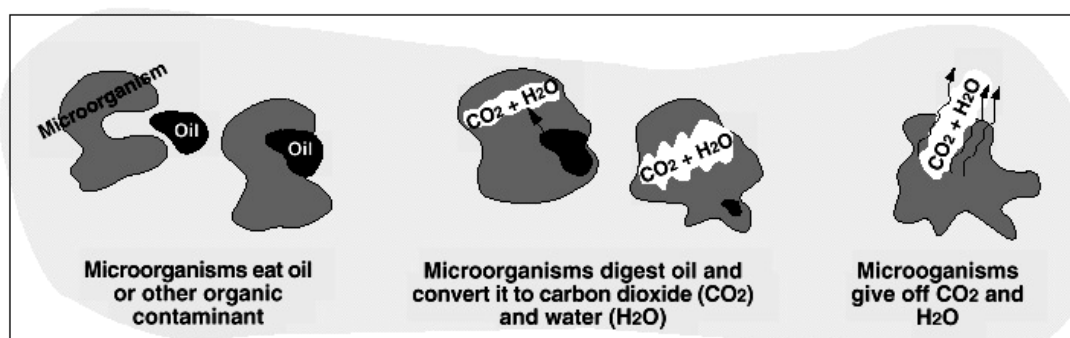
Η βιολογική αποδόμηση (Biodegradation) των πετρελαϊκών ρυπαντών υλοποιείται μέσω της δράσης μικροοργανισμών όπως βακτήρια και μύκητες, οι οποίοι αναπτύσσονται χρησιμοποιώντας την ενέργεια που απελευθερώνεται κατά τον μεταβολισμό των υδρογονανθράκων (αποσύνθεση). Η βιολογική αποδόμηση αποτελεί μια πολύ σημαντική μέθοδο απορρύπανσης η οποία βασίζεται στην αποδόμηση πετρελαϊκών υδρογονανθράκων με τη βοήθεια της δράσης των μικροοργανισμών και την τελική μετατροπή τους σε αβλαβείς ουσίες. Οι μικροοργανισμοί αποσυνθέτουν τις οργανικές ενώσεις χρησιμοποιώντας ως καταλύτες κατάλληλα ένζυμα (πρωτεΐνες) τα οποία παράγουν οι ίδιοι. Το τελικό προϊόν της αποσύνθεσης των υδρογονανθράκων μέσω των μικροοργανισμών είναι διοξείδιο του άνθρακα, βιομάζα και νερό υλικά που θεωρούνται λιγότερο επιβλαβή από τις αρχικές ενώσεις. Σε ορισμένες περιπτώσεις ατελούς αποσύνθεσης παράγονται και άλλες απλές ενώσεις όπως μεθάνιο, υδρόθειο, και ενώσεις αζώτου και θείου.

Η συγκεκριμένη μέθοδος χρησιμοποιείται επί δεκαετίες κατά την επεξεργασία των αστικών λυμάτων με συστήματα βιολογικής επεξεργασίας, ενώ η εφαρμογή της στην ελεγχόμενη αποδόμηση των πετρελαϊκών ρύπων του εδάφους είναι σχετικά πιο πρόσφατη. Οι πετρελαϊκοί υδρογονάνθρακες ως ομάδα είναι βιοδιασπώμενοι. Τα ελαφρύτερα πτητικά συστατικά βιοαδιασπώνται γρήγορα και

σε μεγαλύτερο βαθμό σε σχέση με τα βαρύτερα, λιγότερο διαλυτά συστατικά. Έτσι οι αρωματικές ενώσεις με ένα βενζολικό δακτύλιο, τα λεγόμενα BTEX (benzene, toluene) αποικοδομούνται πιο γρήγορα από τις ενώσεις με δύο δακτύλιους όπως το ναφθαλένιο, που με τη σειρά του είναι ευκολότερα διασπάσιμες από ότι οι ενώσεις με τρεις, τέσσερις και πέντε δακτυλίους. Παρακάτω παρατίθενται ένα γενικό σχήμα αποδόμησης πετρελαϊκών υδρογονανθράκων (Σχήμα 1.2).



Σχήμα 1.2: Γενικό σχήμα αποδόμησης πετρελαϊκών υδρογονανθράκων [7]



Εικόνα 1.14. Μηχανισμός Βιοαποδόμησης πετρελαϊκών ρυπαντών [7]

Στην Εικόνα 1.14 παρουσιάζεται ο μηχανισμός βιοαποδόμησης των πετρελαϊκών ρυπαντών. Στο πρώτο στάδιο οι μικροοργανισμοί «τρώνε» το πετρέλαιο, στο δεύτερο στάδιο το αφομοιώνουν και το μετατρέπουν σε διοξείδιο του άνθρακα και νερό και στο τρίτο στάδιο αποδεσμεύουν τα προϊόντα αυτά. Για να συντελεσθεί η αποσύνθεση των υδρογονανθράκων μέσω της δράσης των μικροοργανισμών απαιτούνται οι εξής προϋποθέσεις: [8]

- Η παρουσία κατάλληλων μικροοργανισμών, δηλαδή μικροοργανισμών που παράγουν ένζυμα κατάλληλα για τον μεταβολισμό των πετρελαϊκών υδρογονανθράκων.
- Η παρουσία υδρογονανθράκων που με την αποσύνθεσή τους θα παράγουν την απαιτούμενη για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών ενέργεια.
- Η παρουσία θρεπτικών ουσιών (nutrients), όπως το άζωτο, ο φωσφόρος, το κάλιο, το θείο κλπ. που είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών.
- Η παρουσία δεκτών ηλεκτρονίων (electron acceptors), δηλαδή ατόμων ή ριζών τα οποία δέχονται τα ηλεκτρόνια που προκύπτουν, κατά την οξείδωση των υδρογονανθράκων.
- Η παρουσία κατάλληλων συνθηκών για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών και συγκεκριμένα κατάλληλη υγρασία, θερμοκρασία και pH, όπως επίσης και η απουσία χημικών ουσιών σε συγκεντρώσεις που είναι τοξικές για τους μικροοργανισμούς και τους καταστρέφουν.

Συνεπώς, οι τεχνολογίες βιολογικής αποκατάστασης έχουν σκοπό να εξασφαλίσουν και να ενισχύσουν με ελεγχόμενο τρόπο τις ανωτέρω απαιτήσεις ώστε να συντελεσθεί η αποσύνθεση των πετρελαϊκών υδρογονανθράκων στο θαλάσσιο περιβάλλον. Ως εκ τούτου είναι απαραίτητη αφενός μεν η κατανόηση της λειτουργίας των μηχανισμών βιολογικής αποσύνθεσης των υδρογονανθράκων, αφετέρου δε η ανάπτυξη της σχετικής τεχνολογίας ώστε με τεχνικές επεμβάσεις να διατηρούνται οι βέλτιστες συνθήκες δράσης των μικροοργανισμών.

Η **βιοεξυγίανση** έχει προκύψει ως μια ελπιδοφόρα δευτεροβάθμια επιλογή επεξεργασίας μετά από την επιτυχή εφαρμογή της στο ατύχημα του Exxon Valdez (1989) [3]. Πρόκειται για μια τεχνική αύξησης του ρυθμού βιοδιάσπασης του πετρελαίου με την παρέμβαση του ανθρώπου. Η βιοεξυγίανση ορίζεται ως **η ενέργεια προσθήκης υλικών σε ρυπασμένα περιβάλλοντα με σκοπό να επιταχυνθεί η φυσική διαδικασία βιοδιάσπασης**. Η βιοεξυγίανση μπορεί να πραγματοποιηθεί με τη χρήση δύο μεθόδων: της **βιοενίσχυσης** (bioaugmentation) και της **βιοδιέγερσης** (biostimulation) [8]

- **Βιοενίσχυση (Bioaugmentation):** στην περίπτωση αυτή γίνεται προσθήκη εξειδικευμένων μικροοργανισμών που έχουν καλλιεργηθεί και μπορούν να διασπάσουν τις ποικίλες δομές υδρογονανθράκων στο εκάστοτε

ρυπασμένο σύστημα. Για πετρελαιοειδή, λόγω του υψηλού αριθμού των μικροοργανισμών επιτυγχάνεται ένας υψηλός ρυθμός διάσπασης. Συγκεκριμένα, στην αγορά υπάρχουν σκευάσματα μικροοργανισμών που διασπούν τα πετρελαιοειδή ενώ περιέχουν και θρεπτικές ουσίες κυρίως άζωτο και φώσφορο (N και P). Η λογική σε αυτή την στρατηγική στηρίζεται στο γεγονός ότι οι γηγενείς μικροβιακοί πληθυσμοί μπορεί να μην είναι ικανοί να αποικοδομήσουν το ευρύ φάσμα των συστατικών του πετρελαίου. Για να είναι επιτυχής αυτή η στρατηγική οι μικροοργανισμοί θα πρέπει να είναι σε θέση να αποικοδομούν τα περισσότερα συστατικά του πετρελαίου, να διατηρούν γενετική βιωσιμότητα κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης, να μπορούν να επιζούν σε εχθρικά περιβάλλοντα και να κινούνται μέσω των πόρων του ιζήματος στους εκάστοτε ρυπαντές.

- **Βιοδιέγερση (Biostimulation):** Η βιοδιέγερση είναι η διαδικασία κατά την οποία γίνεται προσθήκη θρεπτικών υλικών με τη μορφή οργανικών ή και ανόργανων λιπασμάτων, έτσι ώστε να επιτευχθεί η απαιτούμενη σχέση C:N:P (=120:10:1 σε mol) για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Συγκεκριμένα βασίζεται στο γεγονός ότι υπάρχουν πάντα μικροοργανισμοί που μπορούν να διασπάσουν το πετρέλαιο αλλά σε μια πετρελαιοκηλίδα υπάρχει μεγάλη ποσότητα άνθρακα χωρίς την απαιτούμενη ποσότητα N και P. Όταν

Εργαστηριακές μελέτες έχουν δείξει ότι η βιοεξυγίανση και η βιοδιέγερση μπορούν να ενισχύσουν την βιοδιάσπαση του πετρελαίου στις ρυπασμένες ακτές, ωστόσο πιο πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι η βιοδιέγερση είναι αποτελεσματικότερη, επειδή η προσθήκη μικροοργανισμών που αποικοδομούν υδρογονάνθρακες δεν θα ενισχύσει την διάσπαση του πετρελαίου περισσότερο απ' ό,τι η απλή προσθήκη θρεπτικών. Εντούτοις, η βιοεξυγίανση υπερτερεί έναντι των άλλων συμβατικών τεχνολογιών γιατί έχει χαμηλό κόστος, είναι περιβαλλοντικά φιλική αφού η τελική αποικοδόμηση του πετρελαίου οδηγεί σε ανόργανα προϊόντα (διοξείδιο του άνθρακα και νερό). Πρόκειται όμως για μια αργή διαδικασία που μπορεί να χρειαστεί εβδομάδες επομένως δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί όταν απαιτείται άμεσος καθαρισμός.

1.4.1 Πλεονεκτήματα- Μειονεκτήματα της Βιοεξυγίανσης

Η βιοεξυγίανση αποτελεί μια τεχνολογία αντιμετώπισης πετρελαιοκηλίδων η οποία εφαρμόστηκε στην παρούσα εργασία, με σκοπό την ανεύρεση κατάλληλου συνδυασμού θρεπτικών τα οποία να επιταχύνουν την βιοαποικοδόμηση του πετρελαίου. Η βιοεξυγίανση μπορεί να είναι χρήσιμη στην απομάκρυνση μερικών τοξικών συστατικών του πετρελαίου όπως οι μικρού μοριακού βάρους αρωματικοί υδρογονάνθρακες γρηγορότερα απ' ό,τι αν απομακρυνθούν μέσω της εξάτμισης. Ο εξοπλισμός, η χειρονακτική εργασία και οι δαπάνες που

απαιτούνται είναι λιγότερες από τις άλλες τεχνικές. Γενικά προκαλεί ελάχιστη φυσική διαταραχή της περιοχής, δεν παράγει περαιτέρω απόβλητα και αποτελεί μια απλούστερη για τις ρυπασμένες περιοχές από ότι οι μηχανικές μέθοδοι.

Η τεχνολογία της βιοεξυγίανσης εμφανίζεται και μερικά μειονεκτήματα. Δεν μπορεί να προκαλέσει σημαντικά αποτελέσματα σε σύντομο χρόνο, δηλαδή, αν και μπορεί να λειτουργήσει πιο γρήγορα σε σχέση με τις φυσικές/ χημικές μεθόδους, τα αποτελέσματα της δεν είναι ιδιαίτερα σημαντικά σε μικρό χρονικό διάστημα. Σε βαριά ρυπασμένες ακτές χρησιμοποιείται ως δευτερεύουσα μέθοδος αντιμετώπισης. Για ατυχήματα διαρροής πετρελαίου στην ανοικτή θάλασσα η βιοεξυγίανση δεν μπορεί να αποτελέσει πρωταρχικό τρόπο αντιμετώπισης της πετρελαιοκηλίδας λόγω διάλυσης.[8]

Μικροοργανισμοί και Υδρογονάνθρακες

Εφόσον πληρούνται οι προϋποθέσεις που περιγράφηκαν παραπάνω, αναπτύσσονται μικροοργανισμοί οι οποίοι μπορούν να διασπάσουν τους περισσότερους υδρογονάνθρακες που υπάρχουν στη φύση ή δημιουργούνται από τον άνθρωπο. Όταν αναφερόμαστε στους πετρελαϊκούς υδρογονάνθρακες εννοούμε μία πληθώρα ενώσεων που διαφέρουν μεταξύ τους τόσο στη δομή όσο και στα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά και ιδιότητες τους. Η διαδικασία βιοαποδόμησής τους ξεκινά με την αρχική διάσπαση των ελαφρύτερων και απλούστερων υδρογονανθράκων επειδή είναι ευχερέστερη η ανάπτυξη μικροοργανισμών. Για τη διάσπαση των σύνθετων υδρογονανθράκων, απαιτείται μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, ώστε αφενός μεν να διασπασθούν προηγουμένως οι απλούστερες ενώσεις, αφετέρου δε να συμβεί προσαρμογή (acclimation) των μικροοργανισμών, δηλαδή να παράγουν τα κατάλληλα ένζυμα που διασπούν τις πλέον σύνθετες ενώσεις. Η αποσύνθεση των υδρογονανθράκων γίνεται σε διαδοχικές φάσεις με τη δράση διάφορων μικροοργανισμών. Έτσι, μια ομάδα μικροοργανισμών διασπά τους αρχικούς υδρογονάνθρακες σε απλούστερους, οι οποίοι στη συνέχεια διασπώνται εκ νέου από άλλους μικροοργανισμούς και η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται έως ότου τελικώς παραχθούν πολύ απλές ενώσεις (CO_2 , H_2O , CH_4 κλπ).

Ο ρυθμός της βιολογικής διάσπασης των οργανικών ουσιών εξαρτάται από το είδος των βακτηριδίων που προκαλούν την αποδόμηση και τις συνθήκες του περιβάλλοντος (π.χ. θερμοκρασία, pH) οι οποίες περιγράφονται εκτενέστερα στην παράγραφο 2.4.1 και συχνά αποτελούν καθοριστικούς παράγοντες για την δράση των μικροοργανισμών.

Κεφάλαιο 2

Η Βιοαποδόμηση του Πετρελαίου

2.1 Παράγοντες που επιδρούν στην Βιοαποικοδόμηση του Πετρελαίου και την επιτυχία της Βιοεξυγίανσης

Η βιοεξυγίανση του πετρελαίου είναι μια σύνθετη διαδικασία που περιλαμβάνει τις αλληλεπιδράσεις του πετρελαίου και των μικροοργανισμών υπό τις συνθήκες του περιβάλλοντος που επικρατεί. Η εκτίμηση του βαθμού επίδρασης της πετρελαιοκηλίδας σε ένα οικοσύστημα αποτελεί μια δύσκολη και επίπονη διαδικασία διότι περιλαμβάνει μια πληθώρα παραγόντων που την επηρεάζουν. Αρχικά, η διαφορετικότητα που χαρακτηρίζει το κάθε οικοσύστημα σε συνδυασμό με την ποικιλία ως προς την σύσταση του πετρελαίου και των προϊόντων του καθιστούν περίπλοκη αυτή την διαδικασία. Οι παράγοντες που επιδρούν στην βιοεξυγίανση είναι οι φυσικοχημικές ιδιότητες του αργού πετρελαίου και των προϊόντων του, ο τύπος των θαλάσσιων ακτών, οι μηχανισμοί βιοδιάσπασης του πετρελαίου και ο ρυθμός αυτής της βιοδιάσπασης. Όπως είναι γνωστό οι διαφορετικές αυτές φυσικοχημικές ιδιότητες είναι σημαντικές για τον καθορισμό της συμπεριφοράς της πετρελαιοκηλίδας και τον καθορισμό της τεχνικής που μπορεί να εφαρμοστεί για την επιτυχία της βιοαποδόμησης. Ανάλογα με την χημική σύσταση του πετρελαίου, κάποια συστατικά μπορεί να εξατμιστούν, να διαλυθούν ή ακόμα και να διασπαστούν μέσω βιολογικών και χημικών διεργασιών, ενώ αντίθετα άλλα συστατικά όχι. Για αυτό το λόγο πρέπει να ληφθούν υπόψη όλοι αυτοί οι παράγοντες προκειμένου να πραγματοποιηθεί η **επιτυχία της βιοεξυγίανσης**.

Συνοπτικά οι παράγοντες που επιδρούν στην βιοαποικοδόμηση του πετρελαίου και επηρεάζουν την επιτυχία της βιοεξυγίανσης είναι:

- ιδιότητες του πετρελαίου (τύπος πετρελαίου - φυσικές-χημικές ιδιότητες)
- οι παράγοντες που ελέγχουν το ρυθμό της βιοδιάσπασης του πετρελαίου (διεργασίες γήρανσης, θερμοκρασία, η διαθεσιμότητα και η συγκέντρωση θρεπτικών ουσιών, pH και οξυγόνου)
- εμπλεκόμενο περιβάλλον (κλιματολογικές συνθήκες –θερμό ή ψυχρό οικοσύστημα)
- η συγκέντρωση του πετρελαίου, θερμοκρασία, άνεμος, βιολογική δραστηριότητα της περιοχής

2.1.1 Τα Χημικά Χαρακτηριστικά του Πετρελαίου και των Προϊόντων του

Η χημική σύσταση είναι σημαντική για τον προσδιορισμό του ρυθμού της βιοαποδόμησης του πετρελαίου. Γενικά όσο πιο πολύπλοκη είναι η μοριακή δομή των συστατικών του πετρελαίου τόσο πιο πολύ δυσχεραίνεται η διαδικασία της βιοαποδόμησης.

Γενικά στοιχεία – Πετρέλαιο

Το αργό πετρέλαιο αποτελείται από ενώσεις υδρογονανθράκων που αποτελούν το 50-98% της συνολικής σύνθεσης και από ετεροενώσεις- μη υδρογονάνθρακες (non-hydrocarbons) που περιέχουν άζωτο, θείο, οξυγόνο και ίχνη διαφόρων μετάλλων. Κάθε πετρέλαιο έχει μοναδική σύσταση κάτι που οφείλεται στη διαφορετική οργανική ύλη και στις συνθήκες υπό τις οποίες δημιουργήθηκε.

Η τυπική στοιχειακή σύνθεση του αργού πετρελαίου (κατά βάρος) παρουσιάζεται στον παρακάτω **Πίνακα 2.1** όπως και στον **Πίνακα 2.2** όπου παρουσιάζονται στοιχεία της χημικής σύστασης και φυσικές ιδιότητες αντιπροσωπευτικών αργών πετρελαίων.

Πίνακας 2.1: Στοιχειακή ανάλυση του αργού πετρελαίου

Στοιχεία	Περιεκτικότητα (%κ.β)
Carbon	83 to 87%
Hydrogen	10 to 14%
Nitrogen	0.1 to 2%
Oxygen	0.1 to 1.5%
Sulfur	0.5 to .6%
Metals	< 0.1%

Πίνακας 2.2: Χημική σύσταση και φυσικές ιδιότητες αντιπροσωπευτικών αργών πετρελαίων

Συστατικό - Χαρακτηριστικό	Prudhoe Bay	South Louisiana	Kuwait
API gravity (20°C)	27,8	34,5	31,4
Θείο (wt%)	0,94	0,25	2,44

Άζωτο (wt%)	0,23	0,69	0,14
Βαννάδιο (ppm)	20	1,9	28
Νικέλιο (ppm)	10	2,2	7,7

Τα συστατικά του πετρελαίου μπορούν να ταξινομηθούν σε τέσσερις μεγάλες ομάδες, με βάση τη διαφορετική διαλυτότητά τους σε οργανικούς διαλύτες.

Κορεσμένοι υδρογονάνθρακες: Οι κορεσμένοι υδρογονάνθρακες, οι οποίοι είναι γνωστοί και ως παραφίνες ή αλκάνια, περιλαμβάνουν τα κανονικά και διακλαδισμένα αλκάνια με δομή $C_nH_{(2n+2)}$ (αλειφατικά), και τα κυκλικά αλκάνια με δομή C_nH_{2n} (αλεικυκλικά ή ναφθενικά). Ο αριθμός των ατόμων άνθρακα τα κυμαίνεται από ένα άτομο έως και πάνω από 60 άτομα άνθρακα. Τα αλκάνια παρουσιάζουν τα χαμηλότερα σημεία ζέσεως συγκριτικά με υδρογονάνθρακες άλλων κατηγοριών με τον ίδιο αριθμό ατόμων άνθρακα και αυτό συμβαίνει λόγω των ασθενών διαμομοριακών δυνάμεων που αναπτύσσονται. Επίσης, η πυκνότητα τους είναι μικρότερη σε σχέση με όλες τις ομάδες οργανικών συστατικών, ενώ λόγω του άπολου χαρακτήρα των μορίων τους είναι αδιάλυτα στο νερό. Οι κορεσμένοι υδρογονάνθρακες είναι συνήθως τα συστατικά που υπάρχουν σε αφθονία στο αργό πετρέλαιο.

Αρωματικοί υδρογονάνθρακες: Οι αρωματικοί υδρογονάνθρακες αποτελούνται από έναν ή περισσότερους βενζολικούς δακτυλίους απομονωμένους ή συζυγείς. Οι αρωματικοί υδρογονάνθρακες έχουν μεγαλύτερη πυκνότητα συγκριτικά με τα αλκάνια και τα ναφθένια και διαλύονται σε πολικούς διαλύτες. Περιλαμβάνουν τις μονοκυκλικές αρωματικές ενώσεις όπως βενζόλιο, τολουόλιο, ξυλόλιο, και τους πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες (PAHs) όπως η ναφθαλίνη, το ανθρακένιο, το φενανθρένιο και οι οποίοι έχουν δύο ή περισσότερους συζυγείς αρωματικούς δακτυλίους. Τα PAHs είναι ιδιαίτερης περιβαλλοντικής σημασίας επειδή είναι πιθανές καρκινογόνες ουσίες.

Ρητίνες: Περιλαμβάνουν πολικές ενώσεις που περιέχουν άζωτο, θείο, οξυγόνο.

Ασφαλτένια: Υψηλού μοριακού βάρους ενώσεις που περιέχουν άζωτο (N), οξυγόνο (O) και θείο (S). Έχουν πολύπλοκες δομές που απαρτίζονται από αλυσίδες υδρογονανθράκων και που ενώνουν πολύπλοκα αρωματικά συμπλέγματα τα οποία περιέχουν συχνά άτομα νικελίου και βαναδίου.

Στον **Πίνακα 2.3** παρουσιάζονται κάποιες αντιπροσωπευτικές οργανικές ενώσεις που συναντώνται στο πετρέλαιο.

Πίνακας 2.3 Αντιπροσωπευτικές οργανικές ενώσεις που συναντιούνται στο πετρέλαιο

Κορεσμένοι Υδρογονάνθρακες

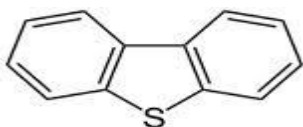
Πρυστάνιο



Φυτάνιο

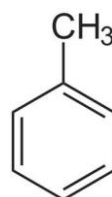


dibenzothiophene

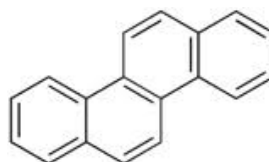


Αρωματικοί Υδρογονάνθρακες

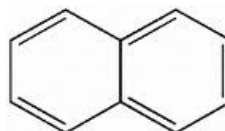
Τουλόλιο



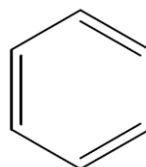
Χρυσένιο



Ναφθαλένιο



Βενζόλιο



2.1.2 Φυσικές Ιδιότητες του Πετρελαίου

Οι πιο σημαντικές φυσικές ιδιότητες που επηρεάζουν την συμπεριφορά του πετρελαίου στο περιβάλλον είναι:

Πυκνότητα: Δύο είναι οι πιο συνηθισμένοι τύποι έκφρασης της πυκνότητας του πετρελαίου, η ειδική πυκνότητα (specific gravity) και η πυκνότητα (API gravity) του American Petroleum Institute. Η πυκνότητα του πετρελαίου είναι ένας σημαντικός δείκτης της σύστασης του πετρελαίου και συσχετίζεται με την ικανότητα του να αναμιγνύεται. Οι ενδεικτικές τιμές πυκνότητας παρουσιάζονται στον Πίνακα 2.2 για τρεις τύπους αργού πετρελαίου.

Ιξώδες: Το ιξώδες είναι η ιδιότητα ενός ρευστού που περιγράφει πως αντιστέκεται σε μια αλλαγή στην μορφή του ή στην μετακίνηση. Όσο μεγαλύτερο ιξώδες έχει ένα ρευστό, τόσο δυσκολότερα ρέει. Το ιξώδες μεταβάλλεται σημαντικά με τη θερμοκρασία. Με μείωση της θερμοκρασίας αυξάνεται το ιξώδες του, και αποτελεί έναν σημαντικό δείκτη του ρυθμού εξάπλωσης της πετρελαιοκηλίδας.

Σημείο Ροής (Pour Point): Το σημείο ροής είναι δείκτης της παραφινικότητας ή της αρωματικότητας του αργού πετρελαίου. Συγκεκριμένα, όσο χαμηλότερο είναι το σημείο ροής, τόσο χαμηλότερη είναι η περιεκτικότητα σε παραφίνες. Το σημείο ροής του αργού πετρελαίου κυμαίνεται από -57 έως 32 (°C).

Διαλυτότητα στο νερό: Η διαλυτότητα του πετρελαίου στο νερό είναι ιδιαίτερα χαμηλή και εξαρτάται από την χημική σύνθεση του κάθε πετρελαϊκού υδρογονάνθρακα και από τη θερμοκρασία. Η διαλυτότητα στο νερό είναι σημαντικός παράγοντας όσο αφορά την τοξικότητα του πετρελαίου. Για παράδειγμα, είναι εύκολο να διαλυθούν στο νερό οι μικρού μοριακού βάρους αρωματικοί υδρογονάνθρακες, όπως το βενζόλιο και το τουλόλιο.

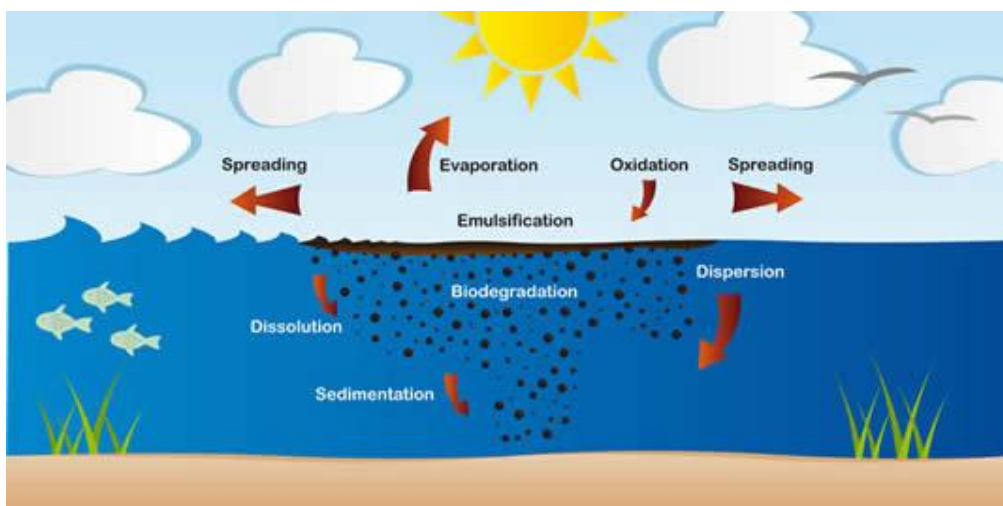
Άλλες φυσικές ιδιότητες του πετρελαίου είναι το *σημείο ανάφλεξης*, η *πίεση ατμών*, η *επιφανειακή τάση*.

2.1.3 Διεργασίες Γήρανσης των Πετρελαιοκηλίδων

Με τον όρο «γήρανση» (weathering process), αποδίδονται οι σημαντικές αλλαγές που υπόκεινται με το πέρασμα του χρόνου στη σύνθεση του μίγματος των υδρογονανθράκων της πετρελαιοκηλίδας. Οι διεργασίες γήρανσης, που περιγράφονται αναλυτικά παρακάτω, έχουν σημαντικές επιδράσεις στην βιοδιάσπαση του πετρελαίου [8],[5]. Για παράδειγμα, μέσω της εξάτμισης των πτητικών συστατικών του πετρελαίου ενδέχεται να ενισχυθεί η απομάκρυνση των τοξικών ουσιών μικρού μοριακού βάρους συστατικών, όπως το βενζόλιο.

Στην περιοχή που εμφανίζεται γαλάκτωμα μειώνεται η ένταση της βιοαποδόμησης λόγω της μικρής επιφάνειας που μπορούν να δράσουν οι μικροοργανισμοί. Ακόμα μέσω της φωτοοξείδωσης σχηματίζονται περισσότερες διαλυτές ενώσεις οι οποίες είναι πιο εύκολα βιοδιασπάσιμες. Όταν το πετρέλαιο βρεθεί στην επιφάνεια της θάλασσας, αποτελούμενο από ελαφρείς και βαρείς υδρογονάνθρακες, αρχίζει μια σειρά φυσικοχημικών και βιολογικών διεργασιών. Οι διεργασίες αυτές έχουν σαν συνέπεια την πλήρη διασπορά και οδηγούν με αργό ή γρήγορο ρυθμό αν έχουμε ελαφριά κλάσματα, στην σχεδόν ολική αποκατάσταση του θαλάσσιου περιβάλλοντος. Οι σημαντικότερες διεργασίες γήρανσης που λαμβάνουν χώρα σε μια πετρελαιοκηλίδα όπως φαίνονται και στην **Εικόνα 2.1**, είναι οι εξής:

- Εξάπλωση (spreading)
- Εξάτμιση (Evaporation)
- Διασπορά (Dispersion)
- Γαλακτωματοποίηση (Emulsification)
- Διάλυση (Dissolution)
- Οξείδωση (Oxidation)
- Κατακρήμνιση (Sedimentation)
- Βιοαποικοδόμηση (Biodegradation)



Εικόνα 2.1 Συμπεριφορά του πετρελαίου στο θαλάσσιο περιβάλλον [2]

Όπως διακρίνουμε και στην **Εικόνα 2.1**, οι φυσικές, βιολογικές και χημικές μεταβολές που υφίσταται το πετρέλαιο όταν βρεθεί σε θαλάσσιο περιβάλλον αποτελούν ιδιαίτερα σημαντικές διεργασίες, γιατί μπορούν να μεταβάλλουν σε σημαντικό βαθμό την σύσταση του πετρελαίου, με επακόλουθη συνέπεια τον τρόπο αντιμετώπισης των πετρελαιοκηλίδων.

Εξάπλωση (Spreading)

Η διεργασία της εξάπλωσης του πετρελαίου στο νερό είναι μια από τις πιο σημαντικές διεργασίες κατά την διάρκεια των πρώτων ωρών μιας πετρελαιοκηλίδας, υπό την προϋπόθεση ότι το σημείο ροής του πετρελαίου είναι χαμηλότερο από την θερμοκρασία του περιβάλλοντος. Το πετρέλαιο, αφού πέσει στην θάλασσα, εξαπλώνεται δημιουργώντας πετρελαιοκηλίδα. Αρχικά, παρουσιάζει συνοχή, αμέσως όμως μετά διασπάται σε ζώνες παράλληλες με την διεύθυνση του ανέμου λόγω του κυματισμού και του αέρα. Η διαδικασία της εξάπλωσης εξαρτάται από το ιξώδες, την θερμοκρασία, την αδράνεια, την τριβή και τα θαλάσσια ρεύματα του ανέμου. Αποτελεί μια διεργασία που αυξάνει την εξάπλωση της πετρελαιοκηλίδας, ενισχύοντας έτσι τη μεταφορά μάζας μέσω της εξάτμισης, της διαλυτοποίησης και στην συνέχεια της βιοδιασπάσής της.

Εξάτμιση (Evaporation)

Στη συνέχεια λαμβάνει χώρα η διαδικασία της εξάτμισης, η οποία αποτελεί το πρώτο φαινόμενο και το πιο σημαντικό από περιβαλλοντικής άποψης, διότι μειώνει σημαντικά την ποσότητα του πετρελαίου μέσα σε 24 ώρες ύστερα από την διαρροή του στη θάλασσα. Η εξάτμιση είναι μια διεργασία γήρανσης, κατά την οποία εξατμίζεται ένα μεγάλο μέρος του, και συγκεκριμένα όλα τα κανονικά αλκάνια, που είναι μικρότερα από το C15 καθώς και ορισμένες πτητικές αρωματικές ενώσεις, όπως το βενζόλιο με σημείο βρασμού 80°C, και το τολουόλιο με σημείο βρασμού στους 111°C.

Την διαδικασία της εξάτμισης επηρεάζουν παράγοντες, όπως η σύνθεση και οι φυσικές ιδιότητες του πετρελαίου, το μέγεθος της επιφάνειας της πετρελαιοκηλίδας, η θερμοκρασία της θάλασσας, η ταχύτητα του ανέμου και η δράση των κυμάτων.

Διαλυτοποίηση (Dissolution)

Στη συνέχεια έπεται η διαδικασία της διαλυτοποίησης, κατά την οποία μεταφέρονται στη υδατική φάση τα πιο διαλυτά συστατικά του πετρελαίου (οι αρωματικές ενώσεις μικρού μοριακού βάρους). Πιο συγκεκριμένα, η διαλυτοποίηση του πετρελαίου στο θαλασσινό νερό εξαρτάται από την διαλυτότητα του πετρελαίου, τις καιρικές συνθήκες καθώς και τα χαρακτηριστικά της ρυπασμένης περιοχής. Η διαλυτοποίηση αποτελεί μια σημαντική διαδικασία, από περιβαλλοντικής άποψης, καθώς οι μειωμένες πλέον συγκεντρώσεις των

αρωματικών υδρογονανθράκων οι οποίοι είναι και τοξικοί, επηρεάζουν ως ένα βαθμό την διαδικασία της βιοαποικοδόμησης.

Φωτοοξείδωση (Photooxidation)

Αποτελεί μία διεργασία γήρανσης με σημαντικές βιολογικές συνέπειες, η οποία ευνοεί τον μετασχηματισμό των πετρελαϊκών ενώσεων σε απλούστερες ενώσεις μέσω μιας σειράς αλυσιδωτών αντιδράσεων, λόγω της παρουσίας του οξυγόνου, και του φυσικού φωτός. Η διεργασία αυτή μπορεί να αυξήσει την διαλυτότητα του πετρελαίου στο νερό λόγω της δημιουργίας πολικών ενώσεων όπως οι φαινόλες, τα καρβουξυλικά οξέα κ.α. Η αύξηση της διαλυτότητας στο νερό μπορεί να επιφέρει καταστρεπτικά αποτελέσματα στην βιολογική διαθεσιμότητα με τον σχηματισμό τοξικών ενώσεων.

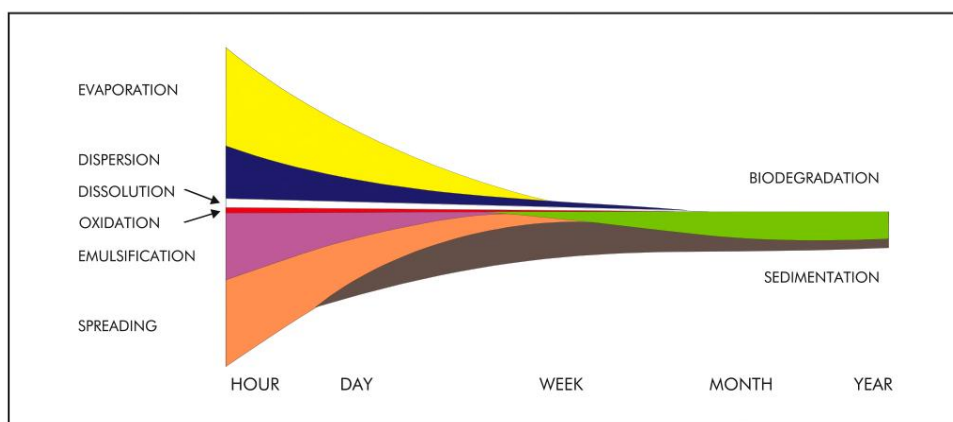
Διασπορά (Dispersion)

Το φαινόμενο της διασποράς παρουσιάζεται, με την ενσωμάτωση των μικρών σταγονιδίων του πετρελαίου στο νερό με συνέπεια την αύξηση της διεπιφάνειας τους. Ειδικά όταν επικρατεί έντονος κυματισμός, η κηλίδα διασκορπίζεται και δημιουργούνται σταγονίδια διαφόρων μεγεθών, καταλαμβάνοντας έτσι μεγαλύτερη επιφάνεια, και ενισχύοντας φαινόμενα όπως η διαλυτοποίηση, η βιοδιάσπαση και η ιζηματοποίηση. Ο ρυθμός της βιοδιάσπασης επηρεάζεται λόγω της αύξησης της διαθέσιμης επιφάνειας μεταξύ του πετρελαίου και των μικροοργανισμών.

Γαλακτωματοποίηση (Emulsification)

Η γαλακτωματοποίηση αποτελεί την διεργασία μετατροπής του πετρελαίου σε γαλάκτωμα λόγω της αλληλεπίδρασης του με το νερό και τον σχηματισμό ενός κολλοειδούς μίγματος που μπορεί να περιέχει μέχρι και 80% νερό. Επομένως, η πυκνότητα αυξάνει με αποτέλεσμα να δυσκολεύεται η διαδικασία της βιοδιάσπασης. Για παράδειγμα, τα πετρέλαια που περιέχουν πολλές ρητίνες και ασφαλτένια, δημιουργούν ευκολότερα γαλακτώματα δυσχεραίνοντας έτσι την ταχύτητα βιοδιάσπασης. Την διεργασία της γαλακτωματοποίησης, επηρεάζουν φαινόμενα όπως ο κυματισμός και η τυρβώδης ροή. Μετά από την εξάτμιση και την διαδικασία της γαλακτοποίησης, έπεται η καθίζηση, αφού πλέον έχουν απομείνει τα βαριά συστατικά του πετρελαίου και είναι εύκολο να καταβυθιστούν στον πυθμένα της θάλασσας. Όλα τα συστατικά που δεν βιοαποικοδομούνται καταλήγουν σε ιζήματα. Η καθίζηση αυτή δημιουργείται λόγω της συγκόλλησης σωματιδίων ή οργανικών υλικών με το πετρέλαιο.

Στην **Εικόνα 2.2**, παρουσιάζεται η πορεία μια πετρελαιοκηλίδας στη θάλασσα. Το μήκος της κάθε γραμμής δείχνει την διάρκεια της κάθε διεργασίας και το πάχος της υποδηλώνει την μεταβολή της έντασης της με τον χρόνο.



Εικόνα 2.2: Διεργασίες «γήρανσης» πετρελαιοκηλίδας σε σχέση με τον χρόνο [2]

Επίδραση της θερμοκρασίας

Η θερμοκρασία του περιβάλλοντος είναι πολύ σημαντικός παράγοντας της βιοαποδόμησης καθώς επηρεάζει τόσο τις ιδιότητες του πετρελαίου όσο και την δραστηριότητα των μικροοργανισμών. Σε χαμηλές θερμοκρασίες το ιξώδες του πετρελαίου αυξάνεται, και η πτητικότητα των τοξικών μικρού μοριακού βάρους μειώνεται δυσχεραίνοντας την βιοδιάσπαση. Η θερμοκρασία επηρεάζει, επίσης, την διαλυτότητα των υδρογονανθράκων αφού μερικοί υδρογονάνθρακες (αλκάνια) είναι πιο διαλυτοί σε χαμηλότερες θερμοκρασίες συγκριτικά με τις πιο υψηλές θερμοκρασίες. Σε θερμοκρασίες περίπου 20°C έχουν παρατηρηθεί υψηλοί ρυθμοί βιοαποικοδόμησης.

Η θερμοκρασία επηρεάζει επίσης την σύνθεση του μικροβιακού πληθυσμού, και συγκεκριμένα για μικροοργανισμούς οι οποίοι είναι ψυχρόφιλοι ευνοούνται σε ψυχρά περιβάλλοντα.

Περιβάλλον

Το περιβάλλον, δηλαδή το οικοσύστημα στο οποίο λαμβάνει χώρα η βιοαποδόμηση, το οποίο μπορεί να χαρακτηρίζεται από έντονη ή ασθενή βιολογική δραστηριότητα, παίζει σημαντικό ρόλο στην βιοαποικοδόμηση. Για παράδειγμα, τα αρκτικά οικοσυστήματα είναι περισσότερο ευαίσθητα στην βιοαποικοδόμηση σε σχέση με τα θερμά, λόγω της διαφοράς στην ταχύτητα της αποδόμησης των συστατικών του πετρελαίου.

Τύπος θαλάσσιων ακτών

Η μορφή της ακτογραμμής επηρεάζει σημαντικά την διαδικασία βιοαποδόμησης. Η συμπεριφορά του πετρελαίου που εξαπλώνεται σε μια ακτή εξαρτάται από τον τύπο της ακτής, την δράση των κυμάτων, την κοκχομετρία της κ.λ.π. Για παράδειγμα στις ακτές που παρατηρείται έντονος κυματισμός η διαδικασία αποδόμησης του πετρελαίου είναι εντονότερη σε σχέση με τις ακτές που αποτελούνται από χαλίκια μικρής διαμέτρου. Στον **Πίνακα 2.1** παρουσιάζονται ανάλογα με τον τύπο της ακτής η ευαισθησία της σε ότι αφορά την ρύπανση της με πετρέλαιο. Η ευαισθησία αυξάνεται προς τα κάτω. Για παράδειγμα η βραχώδη ακτή παρουσιάζει βαθμό ευαισθησίας 1, δηλαδή είναι λιγότερο ευαίσθητη σε αντίθεση με τα αλμυρά έλη που είναι τα περισσότερα ευαίσθητα. Η ταξινόμηση αυτή είναι σημαντική ως οδηγός στον σχεδιασμό αντιμετώπισης μιας πετρελαιοκηλίδας γιατί μας δείχνει τις προτεραιότητες που πρέπει να ληφθούν υπόψη τις πρώτες κιόλας ώρες ανάπτυξης της.

Πίνακας 2.4: Κατάταξη ακτών με βάση την ευαισθησία τους στην ρύπανσή τους από πετρέλαιο [9]

Είδος Ακτής
Εκτεθειμένες βραχώδης ακτές (exposed rocky cliffs)
Αμμώδης ακτές (μεσαίου μεγέθους κόκκων ακτές) (medium grained beaches)
Αμμώδης ακτές (χονδρόκοκες ακτές) (coarse-grained sand beaches)
Μικτές ακτές με άμμο και χαλίκια (mixed sand and gravel beaches)
Ακτές με χαλίκια (gravel beaches)
Επίπεδες ακτές εκτεθειμένες στην παλίρροια (exposed tidal flats)
Προστατευμένες βραχώδης ακτές(sheltered rocky shores)
Ακτές προστατευμένες από παλίρροια (shetlered tidal flats)
Αλυκές (sheltered and mangroves)

Διαθεσιμότητα Θρεπτικών - Οξυγόνου

Όταν μια πετρελαιοκηλίδα σχηματιστεί στην θάλασσα η διαθεσιμότητα σε άζωτο και φώσφορο γίνεται περιοριστικός παράγοντας για την αποικοδόμηση του πετρελαίου. Γενικά στο θαλασσινό νερό υπάρχουν χαμηλά επίπεδα σε άζωτο και φώσφορο. Η μείωση του οξυγόνου οδηγεί σε μείωση της βιοδιάσπασης αφού οι αερόβιες συνθήκες θεωρούνται γενικά απαραίτητες για την εκτενή αποδόμηση των υδρογονανθράκων.

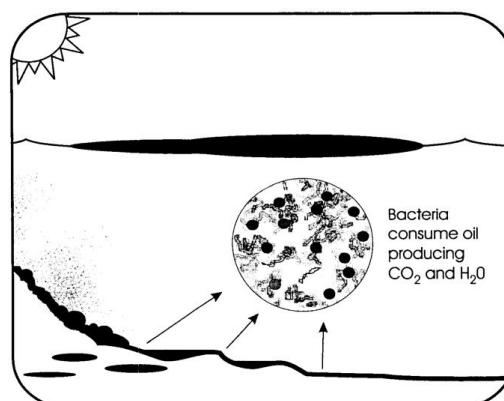
Τέλος το pH του θαλασσινού νερού θεωρείται σταθερό και ελαφρώς αλκαλικό και είναι γνωστό ότι τα βακτήρια ευνοούνται σε ουδέτερο pH με πιο ανθεκτικούς τους μύκητες στις όξινες συνθήκες. Γενικά όσο αυξάνεται το pH αυξάνεται η αποικοδόμηση.

2.2 Βιοαποικοδόμηση (Biodegradation)

Η βιοαποικοδόμηση του πετρελαίου αποτελεί μια από τις σημαντικότερες διαδικασίες γήρανσης του πετρελαίου και το τελικό στάδιο απομάκρυνσης του από το περιβάλλον. Στη θάλασσα υπάρχουν βακτήρια τα οποία θεωρούνται οι κύριοι βιοαποικοδομητές των υδρογονανθράκων του πετρελαίου αλλά ο ρυθμός με τον οποίο βιοδιασπάται το πετρέλαιο επηρεάζεται από τους περιβαλλοντικούς παράγοντες της κάθε περιοχής. Οι διεργασίες που αναφέρθηκαν αναλυτικά παραπάνω, σε συνδυασμό και με τη θερμοκρασία του περιβάλλοντος, επηρεάζουν σε μεγάλο βαθμό της βιοδιάσπαση του πετρελαίου. Για παράδειγμα, μέσω της εξάτμισης, ωφελούνται οι μικροοργανισμοί λόγω της εξάτμισης των τοξικών συστατικών του πετρελαίου. Αντίθετα, ο σχηματισμός των ιζημάτων εμποδίζει την διαδικασία της βιοαποδόμησης. Η θερμοκρασία του περιβάλλοντος επηρεάζει την βιοαποικοδόμηση του πετρελαίου, καθώς επηρεάζονται οι φυσικές ιδιότητες του πετρελαίου, όπως το ιξώδες, το οποίο σε χαμηλές θερμοκρασίες αυξάνεται ενώ η πτητικότητα των συστατικών μικρού μοριακού βάρους μειώνεται δυσχεραίνοντας την διαδικασία της βιοαποδόμησης. Το θαλασσινό νερό περιέχει πολλούς μικροοργανισμούς ορισμένοι από αυτούς έχουν τη ικανότητα να διασπούν συγκεκριμένα συστατικά του αργού πετρελαίου πρώτα σε διαλυτές ενώσεις και τελικά σε οξυγόνο και νερό. Υπάρχουν πολλοί παράγοντες που επηρεάζουν την αποδοτικότητα των εργασιών βιοδιάσπασης, και οι σημαντικότεροι είναι: η συγκέντρωση θρεπτικών (N & P), η θερμοκρασία και τέλος η συγκέντρωση του διαλυμένου οξυγόνου. Η βιοδιάσπαση ενισχύεται σημαντικά όταν η διασπορά του πετρελαίου στο θαλάσσιο περιβάλλον είναι μεγάλη.

Η διαδικασίες της εξάπλωσης, της εξάτμισης, της διασποράς, και της γαλακτωματοποίησης καθώς και της διάλυσης είναι σημαντικές στα πρώτα στάδια ενώ η οξείδωση, η κατακρήμνιση και η βιοδιάσπαση είναι σημαντικές στα

επόμενα στάδια και ουσιαστικά καθορίζουν την τύχη των ρυπαίνοντων πετρελαιοειδών – ρυπαντών.



Εικόνα 2.3: Διεργασία της βιοαποδόμησης [12]

2.2.1 Η Συμπεριφορά των ομάδων συστατικών του πετρελαίου στην βιοαποδόμηση

Κορεσμένες ενώσεις: Τα n-αλκάνια είναι γενικά τα πιο βιο-αποικοδομήσιμα συστατικά σε ένα μίγμα πετρελαίου. Τα αλκάνια από C10 - C26 θεωρούνται οι ευκολότεροι στη βιοδιάσπαση. Ο κυριότερος μηχανισμός αποικοδόμησης των n-αλκανίων περιλαμβάνει την τελική οξείδωση στην αντίστοιχη αλκοόλη, αλδεΐδη, ή κάποια δραστική ομάδα λιπαρού οξέος. Τα διακλαδισμένα αλκάνια είναι λιγότερο αποικοδομήσιμα συγκριτικά με τα n-αλκάνια. Η μεθυλική διακλάδωση αυξάνει την αντίσταση στη μικροβιακή επίθεση επειδή λιγότεροι μικροβιακοί αποδομητές αλκανίων μπορούν να υπερνικήσουν την παρεμπόδιση της βήτα-οξείδωσης (beta-oxidation). Τα διακλαδισμένα ισοπρενοειδή αλκάνια, όπως το πριστάνιο και το φυτάνιο, που παλαιότερα θεωρούνταν ανθεκτικά στη βιοδιάσπαση, έχει αποδειχτεί ότι είναι σχετικά εύκολα βιοδιασπάσιμα. Τα κυκλοαλκάνια βιοδιασπώνται πιο δύσκολα από τα αντίστοιχα κανονικά αλκάνια, αλλά πιο εύκολα από τα PAHs. Η ευκολία της βιοδιάσπασης ελαττώνεται με την αύξηση του αριθμού των δακτυλίων. Τα χοπάνια και τα στεράνια, είναι ανθεκτικότερα στο περιβάλλον.[8]

Αρωματικές ενώσεις: Αν και οι αρωματικές ενώσεις είναι γενικά ανθεκτικότερες στη βιοδιάσπαση σε σχέση με τα κορεσμένα συστατικά, μερικές αρωματικές ενώσεις μικρού μοριακού βάρους όπως η ναφθαλίνη μπορούν να οξειδωθούν πριν από πολλά κορεσμένα. Οι πολυαρωματικοί υδρογονάνθρακες (PAHs) χαρακτηρίζονται από την ύπαρξη δύο ή περισσότερων δακτυλίων. Τα PAHs διασπώνται σε πολλά βήματα, ένα δακτύλιο σε κάθε βήμα. Όσο αυξάνεται το μοριακό βάρος δηλαδή ο αριθμός των δακτυλίων τόσο αυξάνεται η δυσκολία

της βιοαποδόμησης. Οι πολυαρωματικοί υδρογονάνθρακες (PAHs) με 2-4 δακτυλίους είναι λιγότερο τοξικοί και βιοδιασπάσιμα. Τα PAHs με πέντε ή περισσότερους δακτυλίους μπορεί να μην αποδομούνται αν δεν υπάρχουν χαμηλού μοριακού βάρους PAHs π.χ η παραγωγή ενζύμων από μύκητες που απαιτούνται για την διάσπαση των PAHs ενεργοποιούνται με την παρουσία χαμηλού μοριακού βάρους πολυαρωματικών υδρογονανθράκων όπως η ναφθαλίνη (naphthalene). Μπορεί να μετασχηματιστούν σε περισσότερο τοξικές ουσίες μέσω διαφόρων χημικών αντιδράσεων όπως είναι η φωτοοξειδωση. Οι μονοαρωματικοί υδρογονάνθρακες είναι τοξικοί σε μερικούς μικροοργανισμούς λόγω της διαλυτικής δράσης τους στις μεμβράνες των κυττάρων, αλλά σε χαμηλές συγκεντρώσεις είναι εύκολα βιοδιασπάσιμοι υπό αερόβιες συνθήκες. Οι αλκυλιωμένες αρωματικές ενώσεις αποικοδομούνται βραδύτερα από τις μητρικές ενώσεις τους, ενώ όσο πιο αλκυλιωμένες είναι οι ομάδες τόσο λιγότερο γρήγορα αποικοδομούνται. Τα μεταβολικά μονοπάτια για τη βιοδιάσπαση των αρωματικών ενώσεων έχουν αποτελέσει αντικείμενο εκτενούς μελέτης. Η βακτηριακή αποικοδόμηση των αρωματικών ενώσεων περιλαμβάνει συνήθως τον σχηματισμό ενός δικαρβοξυλικού οξέος. [8]

Ρητίνες και ασφαλτένια: Οι ρητίνες και τα ασφαλτένια λόγω των πολύπλοκων δομών τους είναι δύσκολο να αποικοδομηθούν. Παλαιότερα, τα ασφαλτένια είχαν θεωρηθεί ανεπίδεκτα στην αποικοδόμηση. Ωστόσο, υπάρχουν πρόσφατα στοιχεία που δείχνουν αποικοδόμηση των ασφαλτενίων μέσω του συµμεταβολισµού. Μερικές ρητίνες, και ιδιαίτερα τα μικρού μοριακού βάρους μέρη της ρητίνης, μπορούν να διασπαστούν σε χαμηλές συγκεντρώσεις.

Συνοπτικά οι υδρογονάνθρακες διαφέρουν ως προς την ευαισθησία τους σε μικροβιακές επιδράσεις. Η επιδεκτικότητα των υδρογονανθράκων πετρελαίου σε μικροβιακή αποδόμηση ακολουθεί γενικά την εξής σειρά: n-αλκάνια > διακλαδισμένα αλκάνια > μικρού μοριακού βάρους αρωματικές ενώσεις > κυκλικά αλκάνια. Η ακολουθία αυτή δεν είναι καθολική. Η διαφορετικότητα στην σύνθεση των διαφορετικών πετρελαίων επηρεάζει σημαντικά τον ρυθμό βιοδιάσπασης των συστατικών τους. Ο ρυθμός βιοδιάσπασης για τα ίδια συστατικά πετρελαίου μπορεί να ποικίλει σημαντικά μεταξύ διαφορετικών πετρελαίων. Ο συµμεταβολισµός, οποίος δεν είναι ο µεταβολισµός της οργανικής ένωσης αλλά ο µετασχηµατισµός της κατά την διάρκεια χρήσης άλλων θρεπτικών ουσιών από μικροοργανισµούς, διαδραµατίζει επίσης σημαντικό ρόλο στη βιοδιάσπαση του πετρελαίου. Πολλοί σύνθετοι διακλαδισμένοι, κυκλικοί και αρωματικοί υδρογονάνθρακες, που διαφορετικά δεν θα βιοδιασπώνταν ξεχωριστά, μπορούν να οξειδωθούν μέσω του συµμεταβολισµού σε ένα μίγμα πετρελαίου λόγω της πληθώρας υποστρωμάτων που μπορούν να μεταβολιστούν εύκολα μέσα στο πετρέλαιο [8], [5].

2.3 Χρήση Θρεπτικών συστατικών για την Ενίσχυση της Βιοδιάσπασης

Η προσθήκη θρεπτικών συστατικών (nutrients) αποτελεί μια αποτελεσματική στρατηγική για την ενίσχυση της βιοδιάσπασης του πετρελαίου στο θαλάσσιο περιβάλλον. Η ανάπτυξη των μικροοργανισμών απαιτεί την παρουσία θρεπτικών ουσιών οι οποίες αποτελούν συστατικά του κυττάρου των, όπως το άζωτο (N), ο φωσφόρος (P), το κάλιο (K) το θείο (S) και διάφορα ιχνοστοιχεία. Τα στοιχεία αυτά συνήθως υπάρχουν στα εδαφικά υλικά. Σε περίπτωση έλλειψης, θα πρέπει να προστίθενται κατάλληλες ουσίες ώστε να μη διακόπτεται η ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Επειδή ο άνθρακας είναι το κύριο συστατικό των πετρελαιοειδών χρησιμοποιείται ως σημείο αναφοράς για τον προσδιορισμό του ποσοστού του αζώτου και του φωσφόρου που απαιτείται για να εξασφαλιστεί η βέλτιστη αναλογία C:N:P. Θεωρητικά, περίπου 150mg αζώτου και 30 mg φωσφόρου καταναλώνονται για τη μετατροπή 1g υδρογονάνθρακα σε κυτταρικό υλικό. Μια ικανοποιητική αναλογία άνθρακα : αζώτου : φωσφόρου (C/N/P) για την ανάπτυξη μικροοργανισμών είναι 100:5:1.

Γενικά, τα θρεπτικά συστατικά που χρησιμοποιούνται πρέπει πληρούν κάποιες προϋποθέσεις, όπως: να είναι μη υδατοδιαλυτά, να προέρχονται από απόβλητα άλλων διεργασιών ώστε να είναι χαμηλού κόστους, να είναι φιλικά προς το περιβάλλον, και τέλος να έχουν ιδιότητες επιφανειοδραστικών ενώσεων βιολογικής προέλευσης.

Σε περίπτωση έλλειψης (π.χ. αζώτου) θα πρέπει να προστίθενται κατάλληλα χημικά λιπάσματα (π.χ. θειική αμμωνία). Τα σημαντικότερα και τα πιο συνήθη είδη θρεπτικών που έχουν χρησιμοποιηθεί στην βιοαποικοδόμηση είναι:[5]

❖ Υδατοδιαλυτά: KNO_3 , NaNO_3 , NH_3NO_3 , K_2HPO_4 , MgNH_4PO_4 . Είναι συνήθως σε στερεή μορφή και αποτελούνται από ανόργανες θρεπτικές ουσίες που επικαλύπτονται από διάφορα υδροφοβικά υλικά όπως παραφίνη ή φυτικά έλαια. Τα υδατοδιαλυτά θρεπτικά, είναι γενικά εύκολα στον χειρισμό. Ο μόνος περιοριστικός παράγοντας είναι ότι πρέπει να ελέγχεται ο βαθμός απελευθέρωσης, έτσι ώστε να μην είναι πολύ μικρός και οι βέλτιστες συγκεντρώσεις θρεπτικών να μπορούν να διατηρηθούν στο νερό για μεγάλα χρονικά διαστήματα. Αντιμετωπίζουν το πρόβλημα της γρήγορης έκπλυσης, είναι χαμηλού κόστους, και αποδίδουν καλύτερα σε λεπτόκοκκες ακτές.

❖ Βραδείας Απελευθέρωσης (slow-release): Customblen, IBDU, Max-Bac

Έχουν μικρό κόστος σε σχέση με τα άλλα είδη θρεπτικών.

❖ Ολεοφιλικά: Inipol EAP22, FI, MM80

Έχουν την ικανότητα να προσκολλούνται στη φάση του πετρελαίου και έτσι να παρέχουν θρεπτικά στην διεπιφάνεια πετρελαίου – ύδατος. Το μειονέκτημα τους είναι ότι είναι ακριβά σε σχέση με τα υδατοδιαλυτά. Επίσης, είναι καταλληλότερα για χρήση σε χονδρόκοκκες ακτές.

2.4 Μηχανισμοί Βιοαποικοδόμησης του Πετρελαίου

Μικροοργανισμοί - Αποδομητές:

Στη θάλασσα, τα βακτήρια θεωρούνται οι κυρίαρχοι βιοαποδομητές των πετρελαϊκών υδρογονανθράκων και μπορούν να βιοαποδομήσουν υδρογονάνθρακες που κυμαίνονται από το μεθάνιο ως τις ενώσεις με περισσότερα από 40 άτομα άνθρακα. Υπάρχει μια πληθώρα από είδη βακτηρίων και μυκητών που μπορούν να βιοαποικοδομήσουν το πετρέλαιο. Πρέπει να σημειωθεί ότι κανένα γένος βακτηρίων δεν αποικοδομεί όλα τα συστατικά του αργού πετρελαίου. Οι μικροοργανισμοί που μπορούν να βιοαποδομήσουν το πετρέλαιο διακρίνονται σε 2 κατηγορίες στα βακτήρια (bacteria) και στους μύκητες (fungi). Κάθε κατηγορία περιλαμβάνει μια πληθώρα μικροοργανισμών. Οι μύκητες διακρίνονται στις εξής κατηγορίες:[5]

❖ Ασχομύκητες

❖ Βασιδιομήκυτες (αναπτύσσονται σαν υφές ή ζύμες – καλλιέργειες βρώσιμων

❖ Δευτερομύκητες

❖ Ζυγομήκυτες και

❖ Κιτριδιομήκυτες

❖ Λιγνιολυτικοί μύκητες: διακρίνονται στους μύκητες λευκής σήψης (white rote fungi), μύκητες καφέ σήψης (brown rot fungi) και μύκητες μαλακής σήψης (soft rote fungi)

Στον **Πίνακα 2.5** παρουσιάζονται χαρακτηριστικοί μικροοργανισμοί που αποδομούν πετρελαϊκά συστατικά.

Πίνακας 2.5: Αντιπροσωπευτικοί μικροοργανισμοί ικανοί να βιοαποδομήσουν το πετρέλαιο [5]

Βακτήρια	Μύκητες
Achromobacter	Allescheria
Acinetobacter	Aspergillus
Actinomyces	Aureobasidium
Aeromonas	Botrytis
Alcaligenes	Candida
Arthrobacter	Cephalosporium
Bacillus	Cladosporium

Επιφανειοδραστικές ενώσεις (biosurfactants):

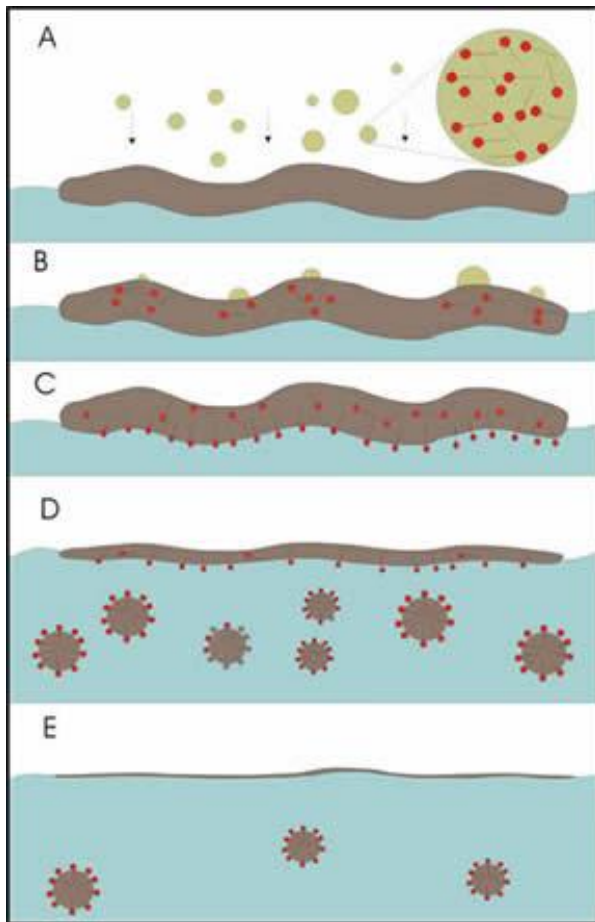
Οι επιφανειοδραστικές ουσίες βιολογικής προέλευσης (biosurfactants) είναι ενώσεις που δρουν στην επιφάνεια των διαφόρων συστατικών και είναι ικανές να μειώσουν την επιφανειακή τάση στις διεπιφάνειες των υγρών, των στερεών και των ρευστών και ακόμα να αναμιχθούν ή να διασκορπιστούν εύκολα ως γαλακτώματα. Οι επιφανειοδραστικές ενώσεις που χρησιμοποιούνται είναι χημικές ενώσεις οι οποίες είναι μη-βιοδιασπώμενες και τοξικές για το περιβάλλον και για αυτό τον λόγο η ανάγκη για την χρήση βιολογικών επιφανειοδραστικών ενώσεων είναι μεγάλη. Οι βιολογικές επιφανειοδραστικές ενώσεις παράγονται από πολλά βακτηριακά γένη και μπορούν να αποικοδομήσουν ή να μετασχηματίσουν τα συστατικά των πετρελαιοειδών. Η δομή τους αποτελείται από ένα υδρόφοβο τμήμα που περιέχει κορεσμένα, ακόρεστα και /ή λιπαρές αλκοόλες και από ένα υδρόφιλο τμήμα το οποίο αποτελείται από πολυσακχαρίτες. Στο υδρόφιλο τμήμα παρουσιάζει μια έλξη στο νερό και το υδρόφοβο τμήμα που παρουσιάζει έλξη στο πετρέλαιο. Τα biosurfactants είναι μη τοξικά για το περιβάλλον. Κατατάσσονται σε 5 μεγάλες ομάδες:

- ❑ Γλυκολιπίδια (Glycolipids)
- ❑ Φωσφολιπίδια (phospholipids) και λιπαρά οξέα
- ❑ Λιποπεπτίδια/ Λιποπρωτεΐνες (lipopeptide/lipoproteins)
- ❑ Πολυμερικές επιφανειοδραστικές ενώσεις (polymeric surfactants)

□ Particulate surfactants

Η ικανότητα των επιφανειοδραστικών ουσιών να γαλακτωματοποιούν τα μίγματα υδρογονανθράκων - ύδατος ενισχύει την αποικοδόμηση των υδρογονανθράκων στο περιβάλλον όπως φαίνεται και στην **Εικόνα 2.4**

Από οικολογική άποψη η χρήση επιφανειοδραστικών ουσιών βιολογικής προέλευσης, είναι σημαντική αφού είναι ελάχιστα τοξικοί και εύκολα βιοδιασπάσιμοι. Ακόμα, διαθέτουν παρόμοια ή και ανώτερα φυσικά χαρακτηριστικά σε σχέση με τις συνθετικές επιφανειοδραστικές ενώσεις.



Εικόνα 2.4: Μηχανισμός δράσης των επιφανειοδραστικών ενώσεων (surfactants)[13]

2.5 Σύντομη Περιγραφή των Εργαστηριακών Μεθοδολογιών

Στην παρούσα εργασία η αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας της βιοαποδόμησης των πετρελαϊκών δειγμάτων σε υδάτινο (θαλάσσιο) περιβάλλον στηρίχθηκε στις μεταβολές της χημικής σύστασης των κορεσμένων και αρωματικών κλασμάτων των δειγμάτων. Χρησιμοποιηθήκαν διαφορετικά θρεπτικά συστατικά για την βιοδιέργηση, η αποτελεσματικότητα των οποίων αξιολογείται με βάση τα αποτελέσματα των χημικών αναλύσεων που πραγματοποιούνται στον αέριο χρωματογράφο- φασματογράφο μάζας (GC-MS). Πριν από το στάδιο της χημικής ανάλυσης το δείγμα υπόκειται μια σειρά επεξεργασιών: την εκχύλιση υγρής- υγρής φάσης (**liquid - liquid extraction**) και στη συνέχεια την εκχύλιση στερεής φάσης (**solid phase extraction**). Στις παρακάτω παραγράφους περιγράφονται αναλυτικά οι πειραματικές μεθοδολογίες που πραγματοποιήθηκαν.

2.5.1 Εκχύλιση Υγρής-Υγρής Φάσης (liquid - liquid extraction)

Ο διαχωρισμός των συστατικών ενός υγρού μίγματος όταν αναμιχθεί με έναν διαλύτη, στον οποίο ένα ή και περισσότερα συστατικά του μίγματος είναι εκλεκτικά διαλυτό, είναι γνωστός σαν **υγρή-υγρή εκχύλιση**. Η ανάμιξη δύο υγρών φάσεων με ανάδευση αποτελεί μια βασική λειτουργία σε όλη τη διεργασία της εκχύλισης. Στην λειτουργία της εκχύλισης είναι απαραίτητα τρία στάδια: της **επαφής**, του **διαχωρισμού** και της ανάκτησης **διαλύτη**. Αυτά μπορούν να εκτελεστούν είτε με συνεχείς είτε με ασυνεχείς λειτουργίες. Στην **ασυνεχή** λειτουργία που πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια αυτής της μελέτης, ο διαλύτης και το διάλυμα αναμιγνύονται και μετά αφήνονται να διαχωρισθούν σε δύο φάσεις: το εκχύλισμα E που περιέχει την επιθυμητή διαλυτή ουσία στο διαλύτη που προσθέσαμε, και το υπόλειμμα R, που είναι το πιο πτωχό διάλυμα και περιέχει λίγο διαλύτη. Με αυτή την απλή διάταξη η ανάμιξη και ο διαχωρισμός συμβαίνουν στο ίδιο δοχείο. Η τεχνική έχει σημαντικές εφαρμογές όπως στο διαχωρισμό των αρωματικών ενώσεων από υγρά καύσιμα με βάση την κηροζίνη, για να βελτιωθεί η ποιότητα καύσης και ο διαχωρισμός αρωματικών ενώσεων από παραφινικές και ναφθενικές ενώσεις, για τη βελτίωση των χαρακτηριστικών θερμοκρασίας-ιξώδους των λιπαντικών ελαίων. Ακόμη εφαρμόζεται στην παραγωγή για παράδειγμα, σχετικά καθαρών ενώσεων όπως βενζόλιο, τολουόλιο και ξυλόλιο από καταλυτικά παραχθέντα, βελτιωμένα παράγωγα της πετρελαιοβιομηχανίας, στην παραγωγή άνυδρου οξικού οξέος, στην εξαγωγή φαινόλης από ρευστά πίσσας κάρβουνου, και στον καθαρισμό πολλών

φαρμακευτικών προϊόντων. Το σημαντικό χαρακτηριστικό είναι ότι ο διαχωρισμός των ενώσεων βασίζεται στις διαφορές στη **διαλυτότητα** (και όχι σε διαφορές στην πτητικότητα, όπως συμβαίνει στην απόσταξη).[9]

2.5.2. Εκχύλιση Στερεάς Φάσης (Solid Phase Extraction)

Η **εκχύλιση στερεάς φάσης** (solid phase extraction, SPE) αποτελεί μια νέα και ευρύτατα χρησιμοποιούμενη τεχνική προετοιμασίας του προς μέτρηση (δοκιμή ή ανάλυση) δείγματος. Η SPE αντικαθιστά αποτελεσματικά την εκχύλιση υγρού - υγρό και χρησιμοποιείται κυρίως για τις ακόλουθες αναλυτικές διαδικασίες:

Προσυγκέντρωση (pre-concentration) της προσδιοριζόμενης ουσίας (αναλύτη) από μεγάλους όγκους δειγμάτων. Σε πολλές περιπτώσεις η ευαισθησία των διάφορων αναλυτικών μεθόδων δεν επαρκεί για μετρήσεις σε πολλά δείγματα στα οποία ο αναλύτης βρίσκεται σε εξαιρετικά χαμηλές συγκεντρώσεις. Επιπλέον η παρουσία διάφορων ενώσεων στο αρχικό δείγμα είναι πολύ πιθανό να παρεμποδίζει την απ'ευθείας μέτρηση (άμεση εισαγωγή του δείγματος στην αναλυτική συσκευή). Στις περιπτώσεις αυτές μεγάλοι όγκοι δειγμάτων (αερίων ή υγρών) υπόκεινται σε SPE έτσι, ώστε η συνολική ποσότητα του αναλύτη να "παγιδευθεί" στον μικρό όγκο της στερεάς φάσης από την οποία μπορεί να παραληφθεί εύκολα με μικρό όγκο διαλύτη, συγχρόνως απαλλαγμένη από άλλα συστατικά που θα παρεμπόδιζαν τη μέτρηση.

Καθαρισμός δείγματος: Με τη διαδικασία της SPE συχνά επιδιώκεται η δέσμευση ουσιών από τα δείγματα οι οποίες παρεμποδίζουν μια διαδικασία μέτρησης και όχι ο ίδιος ο αναλύτης.

Χρονοπρογραμματιζόμενες δειγματοληψίες πεδίου (time-programmed field sampling). Η διαδικασία της SPE είναι απλή και συχνά μπορεί να πραγματοποιηθεί εύκολα εκτός εργαστηρίου. Έτσι, με τη SPE μπορεί να πραγματοποιείται αυτοματοποιημένη/προγραμματισμένη δειγματοληψία (π.χ. αέρα μιας περιοχής ή φυσικών υδάτων σε ένα ή περισσότερα σημεία ενός ποταμού) σε τακτά χρονικά διαστήματα. Στους "σωλήνες" της SPE που τελικά συλλέγονται (ένας για κάθε δειγματοληψία), κατακρατούνται τα υπό μέτρηση συστατικά και μετά το πέρας όλων των δειγματοληψιών, οι σωλήνες μεταφέρονται στο εργαστήριο και μετρείται κατά μαζικό τρόπο το περιεχόμενο του κάθε σωλήνα στην υπό μέτρηση ουσία.

Η SPE είναι κατά πολύ αποτελεσματικότερη τεχνική από αυτήν της υγρής/υγρής εκχύλισης καθώς με αυτή πετυχαίνονται εύκολα ποσοτικοί διαχωρισμοί, είναι ταχύτατη στην εφαρμογή της και μπορεί εύκολα να αυτοματοποιηθεί.

Επιπλέον είναι περιβαλλοντικά φιλική διότι περιορίζει δραστικά τους όγκους των διαλυτών που απαιτεί η αντίστοιχη διαδικασία της υγρής εκχύλισης. [9]

Εφαρμογή της SPE

Η διαδικασία εκχύλισης της Spe (**Εικόνες 2.5, 2.6**) περιλαμβάνει 4 στάδια: την ενεργοποίηση του προσροφητικού υλικού, την προσθήκη του δείγματος, την έκπλυση του φυσιγγίου και την έκλυση του αναλύτη.



Εικόνα 2.5: Χαρακτηριστικές στήλες SPE[11]



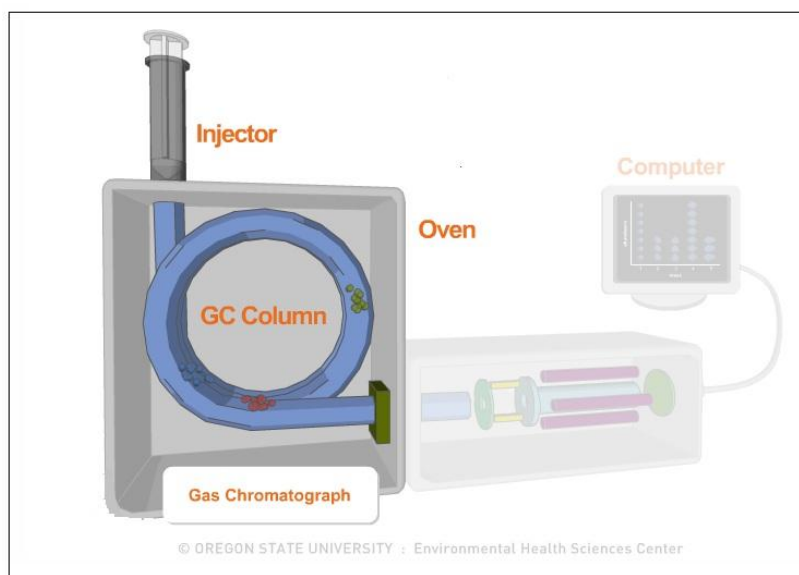
Εικόνα 2.6: Συσκευή SPE (η ροή επιτυγχάνεται με εφαρμογή κενού)

2.5.3 Αέρια Χρωματογραφία –Φασματοσκοπία Μάζας (GC-MS)

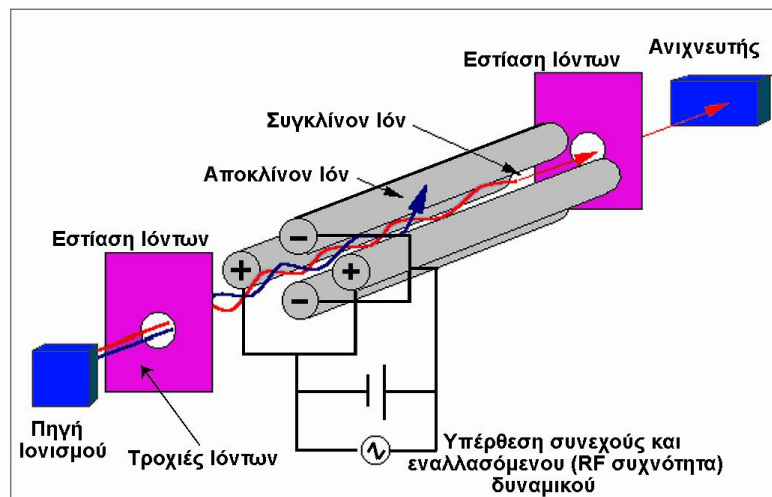
Η χημική ανάλυση των δειγμάτων με τη χρήση της μεθόδου **GC-MS** έγινε με σκοπό της ποσοτικοποίηση επιλεγμένων συστατικών στο κορεσμένο και στο αρωματικό κλάσμα του πετρελαίου έτσι ώστε να τεκμηριωθεί η αποδομησή του. Η χρωματογραφία χρησιμοποιείται για να πετύχουμε το διαχωρισμό των συστατικών του δείγματος πριν αυτά μπουν στον φασματογράφο μάζας (**Εικόνα 2.7**). Ο αέριος χρωματογράφος χρησιμοποιείται για το διαχωρισμό

των συστατικών του δείγματος και ο φασματογράφος μάζας για την ανίχνευση, ταυτοποίηση αλλά και ποσοτικοποίηση τους. Στην συγκεκριμένη μελέτη, τα συστατικά ταυτοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας τους χρόνους συγκράτησης και τα φάσματα των μαζών. Οι ενώσεις εισάγονται στον εισαγωγέα (injector) και προσδιορίζονται ανάλογα με τα ιονικά θραύσματα (τα οποία είναι χαρακτηριστικά για κάθε μόριο ή ομάδα μορίων) που δίνουν όταν δράσει πάνω τους μεγάλο ποσό ενέργειας. Τα ιονικά αυτά θραύσματα μελετώνται με βάση το λόγο m/z ή m/e , όπου m η μάζα του ιονικού θραύσματος και e του φορτίου. Έπειτα επιταχύνονται από ένα ηλεκτρικό πεδίο και διαχωρίζονται από μαγνητικό πεδίο σε ένα θάλαμο της συσκευής. Το μαγνητικό πεδίο μπορεί να μεταβάλλεται έτσι ώστε να καταγράφονται όλα τα θραύσματα στον ανιχνευτή και έτσι να πάρουμε το φάσμα μαζών του δείγματος (**Εικόνα 2.8**). Ο ανιχνευτής μετράει τα ιόντα των διαφορετικών μαζών όπως φαίνεται στην **Εικόνα 2.8** στον οριζόντιο άξονα είναι η μάζα και τον κατακόρυφο άξονα η ποσότητα. Κάθε χημική ουσία έχει μοναδικό φάσμα μάζας και χρησιμοποιείται σαν δακτυλικό αποτύπωμα για τον συσχέτισμό διαφόρων δειγμάτων και για την ταυτοποίηση τους.

Στην χημική ανάλυση του πετρελαίου, η τεχνική GC-MS ανάλυσης των δειγμάτων έχει αποδειχθεί ιδιαίτερα χρήσιμη, λόγω του μεγάλου αριθμού συστατικών που περιέχει και της δυσκολίας του χρωματογραφικού διαχωρισμού τους.



Εικόνα 2.7: Αναλυτική εσωτερική διάταξη οργάνου GC/MS [13]



Εικόνα 2.8: Αναλυτική διάταξη οργάνου GC-MS [14]

Κεφάλαιο 3

Πειραματική Μελέτη Βιοαποικοδόμησης

Εργαστηριακή Μελέτη της Επίδρασης των Θρεπτικών συστατικών στην Αποτελεσματικότητα της Βιοαποδόμησης

Σκοπός της μελέτης αυτής είναι να βρεθεί ο καταλληλότερος συνδυασμός θρεπτικών ουσιών που να επιτυγχάνει την βιοαποδόμηση των πετρελαϊκών υδρογονανθράκων στο *θαλάσσιο περιβάλλον*. Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, για να διαπιστώσουμε αν το πετρέλαιο αποδομείται, προσδιορίζουμε ποσοτικά επιλεγμένα συστατικά του πετρελαίου ποσοτικά, συγκεκριμένα στο κορεσμένο και στο αρωματικό κλάσμα. Η αποτελεσματικότητα του κάθε θρεπτικού συστατικού αξιολογείται με βάση τη μείωση της συγκέντρωσης των συστατικών αυτών. Στην συγκεκριμένη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν εξής κατηγορίες θρεπτικών υλικών:

- Πηγή αζώτου: Το ουρικό οξύ ως υδατοδιαλυτή πηγή αζώτου που εύκολα προσαρμόζεται στην πετρελαϊκή φάση και συνήθως προέρχεται από φθηνές φυσικές ύλες όπως περιττώματα ζώων.
- Πηγή φωσφόρου: Η λεκιθίνη, η οποία είναι ένα μίγμα διαφόρων φωσφολιπιδίων, και προέρχεται από την επεξεργασία της σόγιας και δρά ως επιφανειοδραστική ένωση βιολογικής προέλευσης.
- Πηγή οργανικού άνθρακα: Αποτελεί το ίδιο το πετρέλαιο

Η δράση των παραπάνω θρεπτικών συστατικών μπορεί να ενισχυθεί με την χρήση επιφανειοδραστικών ουσιών βιολογικής προέλευσης (biosurfactants) όπως είναι τα ραμνολιπίδια (Rhamnolipids) και τα οποία περιγράφηκαν αναλυτικά στην παράγραφο **2.4.2**.

Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκαν οι παρακάτω πειραματικές δοκιμές:

❖ **Δοκιμή Control (ελέγχου):** αναφέρεται ως C_n όπου *n* ο αριθμός των ημερών που το πετρέλαιο υπέστη βιοαποδόμηση. Ονομάζεται δοκιμή ελέγχου γιατί μόνο περιέχει θαλασσινό νερό, πετρέλαιο και δεν περιέχει θρεπτικά συστατικά.

❖ **Δοκιμή NPK:** αναφέρεται ως NPK_n, και περιέχει άζωτο, φώσφορο και κάλιο

❖ **Δοκιμή NPKM:** αναφέρεται ως NPKM_n και περιέχει άζωτο, φώσφορο, κάλιο, και προσθήκη μικροοργανισμών οι οποίοι είναι εξοικειωμένοι σε ρυπασμένα περιβάλλοντα από πετρελαιοειδή.

❖ **Δοκιμή NPKMR:** αναφέρεται ως NPKMR_n και περιέχει άζωτο, φώσφορο, κάλιο, προσθήκη μικροοργανισμών οι οποίοι είναι εξοικειωμένοι σε ρυπασμένα περιβάλλοντα από πετρελαιοειδή, και ραμνολιπίδια (rhamnolipids).

❖ **Δοκιμή ULR:** αναφέρεται ως ULR_n και περιέχει ουρικό οξύ, λεκιθίνη, και ραμνολιπίδια (rhamnolipids).

❖ **Δοκιμή ULRM:** αναφέρεται ως ULRM_n και περιέχει ουρικό οξύ, λεκιθίνη, ραμνολιπίδια (rhamnolipids), και προσθήκη μικροοργανισμών οι οποίοι είναι εξοικειωμένοι σε ρυπασμένα περιβάλλοντα από πετρελαιοειδή.

3.1 Πειραματική Μεθοδολογία- Δοκιμές μικροβιακής αποδόμησης του Πετρελαίου

Περίληψη της Μεθόδου

Στη παρούσα εργασία, χρησιμοποιήθηκε το τροποποιημένο πρωτόκολλο δοκιμής της αποτελεσματικότητας των παραγόντων βιοεξυγίανσης της Enviromental Protection Agency (Υπηρεσία Προστασίας Περιβάλλοντος) (EPA) (40 CFR Ch. I, Pt 300, App.C)[15]. Το συγκεκριμένο, πρωτόκολλο σχεδιάστηκε για να αξιολογήσει την ικανότητα ενός προϊόντος να βιοδιασπά το πετρέλαιο ποσοτικοποιώντας τις αλλαγές στην σύνθεση του πετρελαίου ως αποτέλεσμα της βιοδιάσπασης. Το πρωτόκολλο αυτό, εξετάζει την μικροβιακή δραστηριότητα και ποσοτικοποιεί την απομάκρυνση των κορεσμένων υδρογονανθράκων και των πολυαρωματικών υδρογονανθράκων (PAHs) χρησιμοποιώντας την ανάλυση στο GC/MS.

Συνοπτικά η πειραματική διαδικασία περιλάμβανε τα παρακάτω στάδια:

1. Βιοαποδόμηση πετρελαίου σε θαλασσινό νερό
2. Εκχύλιση του πετρελαίου (LLE)
3. Διαχωρισμός του πετρελαίου σε κορεσμένο και αρωματικό κλάσμα (SPE)
4. GC/MS ανάλυση των παραχθέντων κλασμάτων (κορεσμένων και αρωματικών)

3.2 Υλικά και Εξοπλισμός

Για την πραγματοποίηση των πειραμάτων, χρησιμοποιήθηκαν τα ακόλουθα υλικά και εξοπλισμός:

- ❖ Διαχωριστικές χοάνες
- ❖ Σφαιρικές φιάλες
- ❖ Ογκομετρικές φιάλες
- ❖ Πιπέτες Pasteur
- ❖ Φιαλίδια (vials)
- ❖ Υαλοβάμβακας
- ❖ Θειικό νάτριο
- ❖ Διχλωρομεθάνιο (Suprasolve)
- ❖ Εξάνιο (Suprasolve)
- ❖ Ζυγαριά ακριβείας (0,0001g)
- ❖ Ξηραντήρας
- ❖ Στήλες SPE (Solid Phase Extraction)
- ❖ Περιστροφικός εξατμιστήρας
- ❖ GC/MS – Αέριος Χρωματογράφος –Φασματογράφος Μάζας

3.3 Προετοιμασία Πετρελαίου - Αντιδραστήρια και Μέσα Καλλιέργειας

Στην συγκεκριμένη μελέτη, όλα τα δείγματα μελετήθηκαν σε καθαρό θαλασσινό νερό το οποίο συλλέχτηκε από την περιοχή του Αγίου Ονούφριου στα Χανιά. Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι η συλλογή του θαλασσινού νερού έγινε από χώρο ο οποίος δεν ήταν ρυπασμένος, από βιομηχανικά ή από άλλα είδη αποβλήτων.

Το πετρέλαιο που χρησιμοποιήθηκε στις πειραματικές διαδικασίες είναι ένα ελαφρύ αργό πετρέλαιο τύπου Uralsk, το οποίο πριν την χρήση του υποβλήθηκε σε απόσταξη με την μέθοδο *ASTM D-86* έτσι ώστε να απομακρυνθεί το ελαφρύ κλάσμα των υδρογονανθράκων (<C12). Η διαδικασία αυτή στην ουσία

προσομοιώνει την εξάτμιση των ελαφριών υδρογονανθράκων σε συνθήκες περιβάλλοντος.

Πειράματα Βιοαποδόμησης

Στις δοκιμές βιοαποδόμησης, για την προετοιμασία του δείγματος Control χρησιμοποιείται κωνική φιάλη (250 mL) στην οποία προστίθενται θαλασσινό νερό (100 mL) και πετρέλαιο (0,5 g). Αντίστοιχα για την εκτέλεση των υπόλοιπων πειραματικών δοκιμών χρησιμοποιείται θαλασσινό νερό, πετρέλαιο και το αντίστοιχο μίγμα θρεπτικών. Οι φιάλες τοποθετούνται σε αναδευτήρα όπου παραμένουν μέχρι την δειγματοληψία.

3.4 Προετοιμασία Δείγματος – Εκχύλιση Υγρής-Υγρής Φάσης (LLE)

Μετά από 0, 5, 15, 30, 60, 90 μέρες επώασης, οι φιάλες με το θαλασσινό νερό, το πετρέλαιο και το διάλυμα θρεπτικών, εκχυλίζονται με διχλωρομεθάνιο (DCM) [15], [16]. Στις φιάλες αυτές προστίθενται ένα πρότυπο διάλυμα ανάκτησης (surrogate recovery standard), το οποίο είναι ένα διάλυμα που περιέχει d10-phenanthrene και 5 α -androstane γνωστής συγκέντρωσης με στόχο τον υπολογισμό του βαθμού αποτελεσματικότητας της εκχύλισης. Στο **ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Γ** παραθέτονται εικόνες από τις φιάλες των πειραματικών δοκιμών.

Εν συντομία τα πειραματικά βήματα έχουν ως ακολούθως:

- Προετοιμάζεται ένα πρότυπο διάλυμα ανάκτησης (surrogate recovery standard) συγκέντρωσης 200 ppm σε d10-phenanthrene και 5 α -androstane.
- 400 μ L από το διάλυμα αυτό, προστίθενται σε κάθε φιάλη καθώς και 20mL DCM.
- Το περιεχόμενο της φιάλης τοποθετείται σε διαχωριστική χοάνη των 100 mL όπου αναδεύεται για περίπου 4-5 λεπτά με συνεχή εκτόνωση ώστε να απελευθερωθούν οι παραγόμενοι ατμοί του διαλύτη. Έπειτα αφήνεται να ηρεμήσει έτσι ώστε να διαχωριστούν οι δύο φάσεις.
- Τοποθετείται σε στήλη θειικό νάτριο (ενεργοποιημένο στους 400°C για 4 ώρες) και υαλοβάμβακας (ενεργοποιημένος στους 420°C για 4 ώρες) και προστίθενται στη στήλη 5mL DCM (Suprasolve). Η φάση του DCM από την εκχυλιστική χοάνη διαβιβάζεται μέσω του θειικού νατρίου Na₂SO₄

- Το αφυδατωμένο μίγμα - το πετρέλαιο με το διχλωρομεθάνιο (DCM) μεταφέρεται στον περιστροφικό εξάτμιστήρα (rotary evaporator) όπου απομακρύνεται ο διαλύτης.
- Τέλος, η σφαιρική φιάλη τοποθετείται σε ξηραντήρα κενού για περίπου 24 ώρες ζυγίζεται, και μεταφέρεται σε φιαλίδια για αποθήκευση.

3.4.1 Παρουσίαση των αποτελεσμάτων της Εκχύλισης Υγρής- Υγρής Φάσης(LLE)

Παρακάτω παρατίθενται τα αποτελέσματα των μετρήσεων από την διαδικασία της εκχύλισης για όλες τις πειραματικές δοκιμές ξεχωριστά. Στις πρώτες στήλες παρατίθεται η ποσότητα του πετρελαίου που ανακτήθηκε ύστερα από την ολοκλήρωση της εκχύλισης υγρής υγρής φάσης και αμέσως μετά η ποσότητα του πετρελαίου που αποθηκεύτηκε στα φιαλίδια και πρόκειται να χρησιμοποιηθεί για την εκχύλιση στερής φάσης (SPE)

Πίνακας 3.1: Αποτελέσματα της LLE για την πειραματική δοκιμή **Control**

Δείγμα	C_0	C_5	C_15	C_30	C_60	C_90
Ανακτημένο πετρέλαιο(g)	0.0257	0.0807	0.0788	0.0590	0.0833	0.0860
Αποθηκευμένο πετρέλαιο(g)	0.0251	0.0792	0.0784	0.0573	0.0880	0.0848

Πίνακας 3.2: Αποτελέσματα της LLE για την πειραματική δοκιμή **NPK**

Δείγμα	NPK_0	NPK_15	NPK_30	NPK_60	NPK_90
Ανακτημένο πετρέλαιο(g)	0.0683	0.0748	0.0718	0.0696	0.0723
Αποθηκευμένο πετρέλαιο(g)	0.0678	0.0739	0.0694	0.0692	0.0709

Πίνακας 3.3: Αποτελέσματα της LLE για την πειραματική δοκιμή **NPKM**

Δείγμα	NPKM_0	NPKM_5	NPKM_15	NPKM_30	NPKM_60	NPKM_90
Ανακτημένο πετρέλαιο(g)	0.0969	0.0841	0.0642	0.0573	0.0629	0.0524
Αποθηκευμένο πετρέλαιο(g)	0.0946	0.0825	0.0072	0.0579	0.0531	0.0510

Πίνακας 3.4: Αποτελέσματα της LLE για την πειραματική δοκιμή **NPKMR**

Δείγμα	NPKMR_0	NPKMR_5	NPKMR_15	NPKMR_30	NPKMR_60	NPKMR_90
Ανακτημένο πετρέλαιο(g)	0.0905	0.0721	0.0404	0.0483	0.0536	0.0570
Αποθηκευμένο πετρέλαιο(g)	0.0878	0.0688	0.0342	0.0497	0.0533	0.0562

Πίνακας 3.5: Αποτελέσματα της LLE για την πειραματική δοκιμή **ULR**

Δείγμα	ULR_0	ULR_5	ULR_15	ULR_30	ULR_60
Ανακτημένο πετρέλαιο(g)	0.0971	0.0916	0.0731	0.0406	0.0589
Αποθηκευμένο πετρέλαιο(g)	0.1060	0.0568	0.10280	0.0621	0.0437

Πίνακας 3.6: Αποτελέσματα της LLE για την πειραματική δοκιμή **ULRM**

Δείγμα	ULRM_0	ULRM_5	ULRM_15	ULRM_30	ULRM_60	ULRM_90
Ανακτημένο πετρέλαιο(g)	0.1009	0.0808	0.0784	0.0729	0.0824	0.0737
Αποθηκευμένο πετρέλαιο(g)	0.0984	0.0794	0.0780	0.0736	0.0799	0.0683

3.5 Εκχύλιση Στερεάς Φάσης (Solid Phase Extraction-SPE)

Τα δείγματα πετρελαίου από την προηγούμενη διαδικασία της εκχύλισης υποβλήθηκαν στη συνέχεια σε εκχύλιση στερεάς φάσης (*Solid Phase Extraction-SPE*), με στόχο τον διαχωρισμό των κορεσμένων και αρωματικών κλασμάτων αλλά και την δέσμευση των βαριών συστατικών που υπάρχουν στο πετρέλαιο ή δημιουργούνται κατά την βιοαποδόμηση και τα οποία δεν μπορούν να αναλυθούν λόγω χαμηλής πτητικότητας σε GC/MS.

3.5.1 Πειραματικό Μέρος SPE

Ποσότητα 5-10mg του δείγματος πετρελαίου διαλύονται σε 1 mL εξανίου και εισάγονται στην κορυφή στήλης (Supelco) της SPE με την διαδικασία που φαίνεται στην **Εικόνα 3.5**. Τα κορεσμένα συστατικά του δείγματος (FI) εκκλούνται με την βοήθεια 5 mL εξανίου ενώ τα αρωματικά συστατικά (FII) με 5 mL μίγματος $n\text{-C}_6\text{H}_{14}$ -DCM. Στα διαλύματα των εκκλουόμενων συστατικών απομακρύνθηκε ο διαλύτης μέσω της θέρμανσης σε ροή αζώτου. Την επόμενη μέρα τα φιαλίδια με το δείγμα ζυγίζονται και καταγράφεται το βάρος τους.



Εικόνα 3.4(α): Στην εικόνα διακρίνεται η ανάκτηση των n -αλκανίων (FI)



Εικόνα 3.4(β): Στην εικόνα διακρίνεται ανάκτηση των αρωματικών (FII) υδρογονανθράκων

3.5.2 Παρουσίαση Αποτελεσμάτων της Εκχύλισης Στερεάς Φάσης (Solid Phase Extraction-SPE)

Στους παρακάτω πίνακες παρατίθενται τα αποτελέσματα των μετρήσεων που καταγράφηκαν από την Εκχύλιση Στερεάς Φάσης (Solid Phase Extraction-SPE). Συγκεκριμένα, για κάθε δείγμα παρατίθεται η ποσότητα του πετρελαίου

(mg) που χρησιμοποιήσαμε για την **SPE**, η ποσότητα των κορεσμένων και των αρωματικών υδρογονανθράκων που ανακτήθηκαν από την **SPE**, και τα ποσοστά τους επί της %.

Δείγμα Control

Δείγμα	C 0	C 5	C 15	C 30	C 60	C 90
SPE πετρελαίου (mg)	5.6	8.1	9.6	9.1	6.3	7.1
Κορεσμένα (g)	0.0026	0.0034	0.0042	0.0042	0.0033	0.0034
Αρωματικά (g)	0.0019	0.0028	0.0035	0.0030	0.0019	0.0023
Υπόλειμμα (g)	0.0011	0.0019	0.0019	0.0019	0.0011	0.0014
Ποσοστό% Κορεσμένων	46.4	42.0	43.8	46.2	52.4	47.9
Ποσοστό% Αρωματικών	33.9	34.6	36.5	33.0	30.2	32.4
Υπόλειμμα (g) %	19.6	23.5	19.8	20.9	17.5	19.7

Δείγμα NPK

Δείγμα	NPK 0	NPK 15	NPK 30	NPK 60	NPK 90
SPE πετρελαίου (mg)	9.0	10.2	7.8	10.7	9.8
Κορεσμένα (g)	0.0040	0.0044	0.0041	0.0045	0.0041
Αρωματικά (g)	0.0030	0.0036	0.0024	0.0041	0.0033
Υπόλειμμα (g)	0.0020	0.0022	0.0013	0.0021	0.0024
Ποσοστό% Κορεσμένων	44.4	43.1	52.6	42.1	41.8
Ποσοστό% Αρωματικών	33.3	35.5	30.8	38.3	33.7
Υπόλειμμα (g) %	21.6	21.6	16.7	19.6	24.5

Δείγμα NPKM

Δείγμα	NPKM 0	NPKM 5	NPKM 15	NPKM 30	NPKM 60	NPKM 90
SPE πετρέλαιο (mg)	10.0	6.9	7.2	8.4	7.9	7.0
Κορεσμένα (g)	0.0046	0.0034	0.0031	0.0031	0.0028	0.0028
Αρωματικά (g)	0.0028	0.0020	0.0028	0.0031	0.0036	0.0026
Υπόλειμμα (g)	0.0026	0.0015	0.0013	0.0022	0.0015	0.0016
Ποσοστό % Κορεσμένων	66.7	49.3	43.1	36.9	35.4	40.0
Ποσοστό % Αρωματικών	28.0	29.0	38.9	36.9	45.6	37.1
Ποσοστό % Υπόλλειματος	26.0	21.7	18.1	26.2	19.0	22.9

Δείγμα NPKMR

Δείγμα	NPKMR 0	NPKMR 5	NPKMR 15	NPKMR 30	NPKMR 60	NPKMR 90
SPE πετρέλαιο (mg)	9.3	6.6	5.7	7.0	8.1	7.8
Κορεσμένα (g)	0.0044	0.0023	0.0023	0.0024	0.0023	0.0027
Αρωματικά (g)	0.0026	0.0022	0.0016	0.0029	0.0031	0.0032
Υπόλλειμα (g)	0.0023	0.0021	0.0018	0.0017	0.0027	0.0019
Ποσοστό % Κορεσμένων	47.3	34.8	40.4	34.3	28.4	34.6
Ποσοστό % Αρωματικών	28.0	33.3	28.1	41.4	38.3	41.0
Ποσοστό % Υπόλλείματος	24.7	31.8	31.6	0.0	33.3	24.4

Δείγμα ULR

Δείγμα	ULR 0	ULR 5	ULR 15	ULR 30	ULR 60
SPE πετρέλαιο (mg)	10.0	9.9	7.7	6.6	9.4
Κορεσμένα (g)	0.0033	0.0037	0.0032	0.0022	0.0029
Αρωματικά (g)	0.0023	0.0026	0.0025	0.0026	0.0033
Υπόλλειμα (g)	0.0044	0.0036	0.0020	0.0018	0.0032
Ποσοστό % Κορεσμένων	33.0	37.4	41.6	33.3	30.9
Ποσοστό % Αρωματικών	23.0	26.3	32.5	39.4	35.1
Ποσοστό % Υπόλλείματος	44.0	36.4	26.0	27.3	34.0

Δείγμα ULRM

Δείγμα	ULRM 0	ULRM 5	ULRM 15	ULRM 30	ULRM 60	ULRM 90
SPE πετρέλαιο (mg)	10.1	9.4	7.0	8.6	8.3	10.3
Κορεσμένα (g)	0.0040	0.0036	0.0017	0.0023	0.0022	0.0031
Αρωματικά (g)	0.0019		0.0025	0.0029	0.0028	0.0031
Υπόλλειμα (g)	0.0042	0.0058	0.0028	0.0034	0.0033	0.0041
Ποσοστό % Κορεσμένων	39.6	38.3	24.3	26.7	26.5	30.1
Ποσοστό % Αρωματικών	18.8	0.0	35.7	33.7	33.7	30.1
Ποσοστό % Υπόλλείματος	41.6	61.7	40.0	39.5	39.8	39.8

Από την συγκριτική αξιολόγηση των παραπάνω πειραματικών αποτελεσμάτων δεν εντοπίζεται συστηματική μεταβολή της σύστασης των δειγμάτων τουλάχιστον με όρους ομάδων συστατικών.

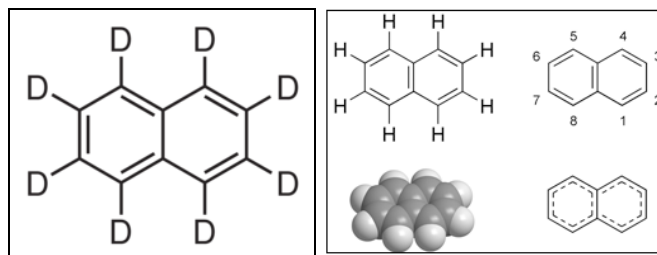
3.6 Αέρια χρωματογραφία – φασματογραφία μάζας (GC-MS)

3.6.1 Τύπος οργάνου GC/MS - Χαρακτηριστικά Ανάλυσης

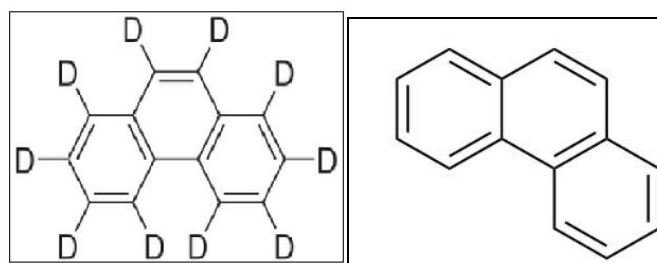
Στην συγκεκριμένη μελέτη, χρησιμοποιήθηκε αέριος χρωματογράφος-φασματογράφος μάζας τύπου HP7890/5973 με χρωματογραφική στήλη HP-5.5% phenyl methyl siloxane με χαρακτηριστικά 30m x 0.25mm x 0.25μm. Τα δείγματα εισαγόνται σε ένα split-splitless εισαγωγή (splitless mode), διαλυμένα 1/100 σε εξάνιο. Το θερμοκρασιακό πρόγραμμα που χρησιμοποιήθηκε ήταν από 60°C με άνοδο 6°C/min έως τους 300°C. Η θερμοκρασία της γραμμής σύνδεσης του χρωματογράφου με τον φασματογράφο ήταν 280°C, η θερμοκρασία της πηγής ιόντων ήταν 230°C, η θερμοκρασία του τετράπολου ήταν 150°C. Η ανάλυση έγινε σε full scan mode για την περιοχή μαζών 50-500amu. Τα συστατικά στα δείγματα ταυτοποιήθηκαν με βάση τους χρόνους συγκράτησης και με βάση τα φάσματα μαζών. Για τον προσδιορισμό των χρόνων συγκράτησης χρησιμοποιήθηκε ένα μίγμα k-αλκανίων και αρωματικών συστατικών, το Oil analysis standard της εταιρείας Absolute Standards, Inc συγκέντρωσης 100ppm. Σε κάθε συστατικό για την ποσοτική βαθμονόμηση του οργάνου χρησιμοποιήθηκαν διαλύματα του ίδιου προτύπου σε συγκεντρώσεις 0.5 έως 20ppm. Αναλυτικά η διαδικασία βαθμονόμησης περιγράφεται παρακάτω. Στη μελέτη αυτή, ταυτοποιήθηκαν μόνο τα ‘μητρικά’ συστατικά και όχι τα αλκυλιωμένα παραγωγά τους.

3.6.2. Διαδικασία Ανάλυσης στο GC-MS

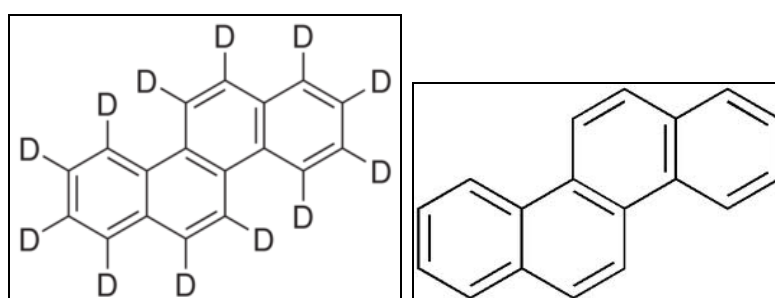
Η ανάλυση **GC-MS** έγινε με τη χρήση της μεθόδου του εσωτερικού προτύπου. Το εσωτερικό πρότυπο διάλυμα (internal standard) αποτελείται από τέσσερα δευτεριωμένα συστατικά: naphthalene-d8, phenanthrene-d10, crysene-d12, perylene-d12. Η δομή τους φαίνεται στα παρακάτω σχήματα που παρατίθενται **Εικόνα 3.5**. Από το πρότυπο δείγμα δημιουργήθηκαν διαλύματα με συγκεντρώσεις 0.5 έως 20ppm τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για την ποσοτική βαθμονόμηση του οργάνου.



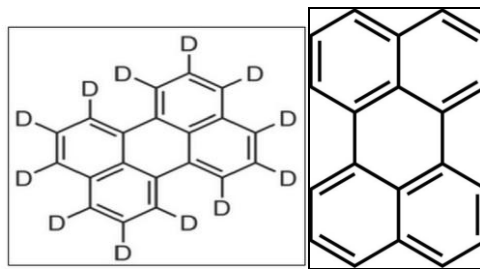
Εικόνα 3.5 (α): Στην αριστερή εικόνα παρατηρούμε την δομή του naphthalene-d8 και στην δεξιά εικόνα την δομή του naphthalene



Εικόνα 3.5 (β): Στην αριστερή εικόνα παρατηρούμε την δομή του phenanthrene-d10 και στην δεξιά εικόνα την δομή του phenanthrene



Εικόνα 3.5 (γ): Στην αριστερή εικόνα παρατηρούμε την δομή του crysene-d12 και στην δεξιά εικόνα την δομή του crysene



Εικόνα 3.5 (δ): Στην αριστερή εικόνα παρατηρούμε την δομή του perylene-d12 και στην δεξιά εικόνα την δομή του perylene

Το MS βαθμονομείται με βάση μια τροποποιημένη εκδοχή της μεθόδου της EPA 8270. Δημιουργείται μια καμπύλη βαθμονόμησης πέντε σημείων για κάθε συστατικό πριν την ανάλυση των δειγμάτων στα (0.5-20)ppm. Η βαθμονόμηση των 5 σημείων πρέπει να διεξαχθεί σε πρότυπο δείγμα συστατικών για να προσδιοριστούν οι σχετικοί συντελεστές απόκρισης (relative response factor - RRFs) για κάθε αναλύτη. Τα δεδομένα της καμπύλης βαθμονόμησης παράγονται με ανάλυση προτύπων δειγμάτων τα οποία περιέχουν και το εσωτερικό πρότυπο. Η αναλογία του εμβαδού της κορυφής κάθε συστατικού που αναλύεται προς το εμβαδόν της κορυφής του εσωτερικού προτύπου απεικονίζεται στον κατακόρυφο άξονα. Στον οριζόντιο άξονα απεικονίζονται οι συγκεντρώσεις ng/mg πετρελαίου.[17], [18], [19]

Τα δευτεριωμένα εσωτερικά πρότυπα χρησιμοποιούνται για να υπολογιστεί ο σχετικός συντελεστής απόκρισης (relative response factor-RRF) για τους αναλύτες στόχους έτσι η ταξινόμηση των αναλυτών γίνεται σύμφωνα με το αντίστοιχο εσωτερικό πρότυπο. Υπολογίζονται για κάθε συστατικό οι σχετικοί συντελεστές σε σχέση με το αντίστοιχο δευτεριωμένο εσωτερικό πρότυπο, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, χρησιμοποιώντας την ακόλουθη εξίσωση (3.5):

$$RF = \frac{Ax \cdot C_{is}}{Cx \cdot A_s}$$

Όπου :

RF=Σχετικός συντελεστής απόκρισης

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

Ais= Το εμβαδόν της κορυφής του χαρακτηριστικού ιόντος για το συγκεκριμένο εσωτερικό πρότυπο

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

Cis= Συγκέντρωση του συγκεκριμένου εσωτερικού προτύπου (10 ng/μL).

Για τον έλεγχο της επαναληψιμότητας της μεθόδου πραγματοποιήθηκαν επτά διαδοχικές αναλύσεις ενός πρότυπου δείγματος που περιέχει κανονικά αλκάνια από C12-C35 σε συγκέντρωση 10ppm. Τα αποτελέσματα φαίνονται στον Πίνακα 3.7.

Πίνακας 3.7: Επαναληπτικές μετρήσεις πρότυπου δείγματος

κ-Αλκάνια	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	Μέσος όρος	Τυπική απόκλιση	Σχετική τυπική απόκλιση %
C12	10.55	11.04	10.75	10.06	10.45	11.92	10.60	10.77	0.59	5.5
C13	10.38	10.27	11.32	11.43	10.31	10.96	11.19	10.84	0.51	4.7
C14	11.38	10.85	10.15	11.20	11.95	10.49	11.84	11.12	0.67	6.0
C15	10.58	10.85	10.91	10.31	11.05	11.22	11.51	10.92	0.40	3.6
C16	11.13	10.56	10.78	10.58	11.66	10.07	11.78	10.94	0.62	5.7
C17	11.17	10.02	11.08	10.22	11.06	10.22	10.31	10.58	0.49	4.7
Pr	11.27	10.83	11.27	10.73	11.99	10.63	11.13	11.12	0.46	4.2
C18	11.22	10.07	11.00	10.37	11.28	11.25	10.14	10.76	0.55	5.1
Ph	11.22	10.51	10.82	10.47	11.03	11.19	11.77	11.00	0.45	4.1
C19	10.06	10.67	10.79	10.04	11.62	11.03	11.24	10.78	0.59	5.4
C20	10.67	11.18	11.37	10.03	10.66	10.74	11.27	10.84	0.47	4.3
C21	10.28	10.11	11.00	10.46	11.38	11.32	11.00	10.79	0.51	4.7
C22	10.01	11.29	10.65	10.11	11.67	10.95	11.94	10.95	0.74	6.8
C23	10.69	10.67	10.35	10.98	10.77	10.96	11.22	10.80	0.28	2.6
C24	10.86	11.37	10.33	11.24	10.44	11.22	10.53	10.86	0.43	4.0
C25	10.85	10.46	10.45	11.27	11.23	11.41	11.51	11.03	0.44	4.0
C26	10.53	11.35	10.57	10.61	11.45	11.32	11.50	11.05	0.45	4.1
C27	10.57	10.56	10.20	11.24	10.22	11.06	10.51	10.62	0.39	3.7
C28	11.29	11.22	10.94	10.82	10.00	11.15	11.68	11.01	0.52	4.8
C29	10.82	11.05	10.19	11.06	11.26	11.93	10.08	10.91	0.64	5.8
C30	10.16	10.63	10.97	10.75	11.43	10.27	10.14	10.62	0.47	4.5
C31	10.50	10.36	11.38	10.15	11.37	10.07	11.75	10.80	0.68	6.3

C32	10.34	10.95	10.43	10.01	10.48	10.68	10.73	10.52	0.31	2.9
C33	10.54	10.82	10.17	10.01	11.29	11.74	11.98	10.94	0.76	7.0
C34	11.23	10.09	10.39	11.05	11.54	10.97	10.26	10.79	0.55	5.1
C35	10.68	10.11	10.38	10.52	10.52	11.92	10.53	10.67	0.58	5.5

Η GC/MS ανάλυση διεξάγεται ακολουθώντας την παρακάτω διαδικασία:

1. Ένα (1)mL C6 τοποθετείται σε φιαλίδιο των 1,5 mL για το FI.
2. Ένα (1)mL από το διάλυμα C6:DCM τοποθετείται σε φιαλίδιο των 1,5 mL για το FI.
3. Σε αυτό το διάλυμα του 1 mL από το κάθε κλάσμα προστίθενται 2.5μL από διάλυμα 400ppm των εσωτερικών προτύπων και το δείγμα είναι έτοιμο για εισαγωγή στο GC. Η τελική συγκέντρωση των εσωτερικών προτύπων σε κάθε δείγμα είναι 1 ppm.
4. Ένα τυφλό δείγμα του οργάνου και καθημερινά πρότυπα αναλύονται πριν από την ανάλυση των άγνωστων δειγμάτων.
5. Αναγνωρίζονται οι αναλύτες βασιζόμενοι στους χρόνους συγκράτησης και στα φάσματα μαζών.
6. Υπολογίζονται για κάθε συστατικό οι σχετικοί συντελεστές απόκρισης
7. Ποσοτικοποίηση του κάθε αναλύτη με βάση τους σχετικούς συντελεστές απόκρισης που έχουν υπολογιστεί από την βαθμονόμηση.

Πίνακας 3.8: Ταξινόμηση Αναλυτών σύμφωνα με το αντίστοιχο εσωτερικό πρότυπο που χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό των συντελεστών απόκρισης

Εσωτερικό πρότυπο	naphthalene-d8	phenanthrene-d10	crysene-d12	perylene-d12
Αλκάνια	nC10- nC15	nC16- nC23	nC24- nC29	nC30- nC35
		Pristane		C3017β(H),21 α (H)-hopane
		Phytane		
		5α-androstane		
Αρωματικές Ενώσεις	naphthalene	Dibenzothiophene	Fluoranthene	benzo(b)fluoranthene
		Fluorene	Pyrene	benzo(k)fluoranthene
		Anthracene	Chrysene	benzo(e)pyrene
		Phenanthrene		

Πίνακας 3.9: Τα βασικά (πρωτεύοντα) ιόντα για τον κάθε αναλύτη κατά την ανάλυση στο GC-MS

Συστατικό	Ιόν
n-alkanes (C10-C35)	85
Pristane	85
Phytane	85
C1- naphthalenes	142
C2- naphthalenes	156
C3- naphthalenes	170
C4- naphthalenes	184
C1- fluorenes	180
C2-fluorenes	194
C3- fluorenes	208
Dibenzothiophenes	184
C1-dibenzothiophenes	198
C2-dibenzothiophenes	212
C3-dibenzothiophenes	226
Anthracene	178
C1-phenanthrenes	192
C2-phenanthrenes	206
C3-phenanthrenes	220
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
Perylene	252
indeno(1,2,3-cd)pyrene	276
d8-naphthalene	136
d10-anthracene	188
d12-chrysene	240
d12-perylene	264
α -androstande	260

Πίνακας 3.10: Οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες (EPA priority list)

Συστατικό	Κύριο Ιόν
Naphthalene	128
Acenaphthylene	152
Acenaphthene	154
Fluorene	166
Phenanthrene	178
Anthracene	178
Fluoranthene	202
Pyrene	202
Benzo(a)anthracene	228
Chrysene	228
Benzo(b)fluoranthene	252
benzo(k)fluoranthene	252
benzo(a)pyrene	252
indeno(1,2,3-cd)pyrene	276
dibenzo(a,h)anthracene	278
Benzo(1,2,3-cd)perylene	276

3.7 Παρουσίαση- Ανάλυση των Αποτελεσμάτων

Αρχικά παρουσιάζονται οι μεταβολές των συγκεντρώσεων των κανονικών αλκανίων για κάθε πείραμα για κάθε πειραματική δοκιμή και στη συνέχεια οι αντίστοιχες των αρωματικών.

Τα δείγματα αναφέρονται ως C_n, NPK_n, NPKM_n, NPKMR_n, ULR_n, ULRM_n όπου n ο αριθμός των ημερών που το πετρέλαιο υπέστη βιοαποδόμηση.

κ-Αλκάνια

Δοκιμή Control

Η ανάλυση στο GC/MS έδωσε τα αποτελέσματα του **Πίνακα 3.11**. Τα χρωματογραφήματα των δειγμάτων της δοκιμής αυτής, παρουσιάζονται στο **Παράρτημα Α (Γράφημα 3.1)**

Πίνακας 3.11: Εμβαδά των κορυφών όπως προέκυψαν από την ανάλυση στο GC-MS των κανονικών αλκανίων C14-C35 και ισοπρενοειδών για την πειραματική δοκιμή **Control**

Αλκάνια	C_0	C_5	C_60	C_30	C_90
n-C14	1335590	216657	2614261	4017665	497219
n-C15	5020747	6664843	6806665	8343169	3031451
n-C16	8111476	8881241	9834799	9996254	7009913
n-C17	8633586	8834468	10809025	9093435	8587636
n-Pr	3579575	3544882	4540583	3682583	3558227
n-C18	7567872	7856128	10864807	7743734	8735030
n-Ph	5217231	4974400	7335852	4813030	5661170
n-C19	7053341	6315603	10189601	6026573	7992395
n-C20	6336700	5296900	10309566	5038314	7877680
n-C21	4859928	3970736	8810453	3651799	6621075
n-C22	3995929	3269175	8126586	2890681	6130730
n-C23	3277454	2756249	6761057	2551680	5231180
n-C24	2862261	2224523	5954865	1830429	5023279
n-C25	2417602	1780759	4907413	1538327	4937572
n-C26	2439849	1539786	4333400	1331500	4566012
n-C27	1725144	1037912	2817291	951058	3391464
n-C28	1489243	739994	2172218	726145	2678065
n-C29	1538777	4135	1733224	647502	2084260
n-C30	1142502	431438	1391345	458527	1818992
n-C31	842088	331790	1021809	341025	1352775
n-C32	670034	187763	761182	261906	928718
n-C33	472091	111303	496954	149191	669230
n-C34	394353	121226	413970	46040	440763
n-C35	356007	25363	17816	19757	155695

Χρησιμοποιώντας τους σχετικούς συντελεστές απόκρισης RRfs και την σχέση **(3.5)** η συγκέντρωση των παραπάνω κανονικών αλκανίων σε ppm εκφρασμένα σε ng/mg αργού πετρελαίου είναι αυτή που φαίνεται **Πίνακα 3.12**

Πίνακας 3.12: Η συγκέντρωση των κανονικών αλκανίων για κάθε περαματική δοκιμή σε ppm εκφρασμένη σε ng/mg αργού πετρελαίου

Συγκέντρωση ng/mg πετρελαίου	C 0	C 5	C 15	C 30	C 60	C 90
C14	374	1104	1513	1320	475	118
C15	1373	2333	3132	2598	1466	841
C16	2179	2835	3458	3156	2036	1741
C17	2310	2762	3060	2797	2217	2057
Pr	1270	1502	1695	1530	1248	1157
C18	2316	2714	2769	2622	2423	2361
Ph	1426	1608	1663	1528	1534	1405
C19	1819	2005	1895	1807	2023	1883
C20	1679	1703	1620	1553	2103	1907
C21	1302	1242	1217	1128	1820	1621
C22	1060	1001	1025	895	1662	1507
C23	857	753	836	701	1374	1265
C24	727	663	752	594	1163	1162
C25	622	546	628	462	961	1159
C26	654	482	566	419	886	1122
C27	500	341	436	321	617	876
C28	495	299	386	278	562	806
C29	436	219	287	229	429	697
C30	538	336	358	256	474	642
C31	458	278	288	213	411	540
C32	427	203	191	193	327	390
C33	339	155	132	144	255	370
C34	296	161	136	112	258	376
C35	433	200	134	131	363	386

Η εξέταση του **Σχήματος 3.1** υποδεικνύει ότι στην δοκιμή Control (βιοαποδόμηση χωρίς προσθήκη θρεπτικών συστατικών) δεν παρατηρείται σημαντική διαφοροποίηση στις συγκεντρώσεις των κανονικών αλκανίων. Οι έντονες διαφορές που παρατηρούνται στα ελαφριά συστατικά (C14-C16) αποδίδονται σε πειραματικά λάθη χειρισμού των δειγμάτων (υπερβολική εξάτμιση). Οι μικρές μεταβολές στις συγκεντρώσεις των κανονικών αλκανίων επιβεβαιώνονται και από την οπτική εξέταση των χρωματογραφημάτων (**Γράφημα 3.1**)

Δοκιμή NPK

Η ανάλυση στο GC/MS έδωσε τα αποτελέσματα του **Πίνακα 3.13**. Τα χρωματογραφήματα των δειγμάτων της δοκιμής αυτής, παρουσιάζονται στο Παράρτημα Α (Γράφημα 3.2)

Πίνακας 3.13: Εμβαδά των κορυφών όπως προέκυψαν από την ανάλυση στο GC-MS των κανονικών αλκανίων C14-C35 και ισοπρενοειδών για την πειραματική δοκιμή NPK

Συγκέντρωση (ng/mg) αργού πετρελαίου	NPK_0	NPK_15	NPK_30	NPK_60	NPK_90
n-C14	8744236	4453896	2750493	463342	159991
n-C15	14038302	7834605	5410186	2577303	41769
n-C16	15789230	9508496	6371212	5019987	499005
n-C17	15706865	9228920	6127923	6097525	848684
n-Pr	6667170	4019316	4978329	4732290	2404144
n-C18	15145066	8409046	6270462	6532484	1146098
n-Ph	9948137	5572306	7200599	7640701	1161371
n-C19	13312691	6906935	5659038	6113317	1307038
n-C20	12900020	6094623	5772204	6299293	422747
n-C21	10647132	5069694	4195502	4694253	1597617
n-C22	9724285	4489808	3959049	4098047	303605
n-C23	8436608	3792355	3163140	3229042	1121719
n-C24	7845058	2996975	2924334	2739447	1430841
n-C25	7157276	2864992	2648647	2282356	1511484
n-C26	7052428	2583152	2705336	2085571	1131546
n-C27	5468959	1738211	2060656	1463814	1017949
n-C28	4536160	1944620	1848306	1143985	1100152
n-C29	49458	1227251	42509	1043311	1560667
n-C30	3236137	944902	1533138	835459	1098385
n-C31	2708045	672633	1225379	662714	976653
n-C32	2017965	492540	931802	488924	732450
n-C33	1400313	345161	711346	348391	558944
n-C34	1329440	276232	644423	364758	552357
n-C35	179773	209849	542901	251111	399599

Πίνακας 3.14: Η συγκέντρωση των κανονικών αλκανίων για την πειραματική δοκιμή NPK σε ppm εκφρασμένη σε ng/mg αργού πετρελαίου

Συγκέντρωση ng/mg πετρελαίου	NPK 0	NPK 15	NPK 30	NPK 60	NPK 90
C14	1427	1481	519	88	30
C15	2160	2826	1099	525	52
C16	2380	3251	1208	1008	123

C17	2437	3073	1181	1218	177
Pr	1335	1815	1266	1268	739
C18	2404	3095	1289	1412	277
Ph	1519	1919	1386	1552	1075
C19	1917	2245	1032	1176	282
C20	1916	2042	1081	1244	443
C21	1600	1591	798	942	290
C22	1427	1373	723	802	297
C23	1226	1124	591	620	256
C24	1114	959	522	519	297
C25	1024	923	492	443	336
C26	1068	883	528	420	311
C27	862	630	418	310	271
C28	832	627	427	277	286
C29	712	510	396	243	314
C30	722	586	503	310	456
C31	654	465	453	267	470
C32	527	368	387	218	376
C33	457	334	353	222	362
C34	517	326	336	243	446
C35	651	330	400	255	448

Στα δείγματα της δοκιμής **NPK** παρατηρείται σημαντική μείωση της συγκέντρωσης των κ -αλκανίων ειδικά μετά την παρέλευση των 15 ημερών. Η μείωση έχει σχεδόν όμοιο ρυθμό για όλα τα συστατικά με εξαίρεση κάποιες αυξομειώσεις που εμφανίζονται στα βαριά συστατικά ($>C_{30}$). Αυτές πρέπει να αποδοθούν σε πειραματική αδυναμία διαχείρισης των βαριών υδρογονανθράκων στα στάδια της εργαστηριακής διαδικασίας (επώαση, εκχύλιση, διαχωρισμός, μεταφορά και αποθήκευση). Τα ισοπρενοειδή (Pr, Ph) εμφανίζουν την αναμενόμενη σχετική σταθερότητα στην βιοαποδόμηση. (**Σχήμα 3.2**)

Δοκιμή NPKM

Η ανάλυση στο GC/MS έδωσε τα αποτελέσματα του **Πίνακα 3.15**. Τα χρωματογραφήματα των δειγμάτων της δοκιμής αυτής, παρουσιάζονται στο **Παράρτημα Α (Γράφημα 3.3)**

Πίνακας 3.15: Εμβαδά των κορυφών όπως προέκυψαν από την ανάλυση στο GC-MS των κανονικών αλκανίων C14-C35 και ισοπρενοειδών για την πειραματική δοκιμή **NPKM**

n-Αλκάνια	NPKM_0	NPKM_5	NPKM_15	NPKM_30	NPKM_60	NPKM_90
n-C14	6385683	1477269	15363	315289	121147	6501
n-C15	11828459	3760682	1203214	1012450	348984	8095
n-C16	13580142	4765890	3076008	1457533	263233	10836
n-C17	13842345	4804810	6315678	1490352	291568	33827
n-Pr	4419743	3380096	2499190	4516330	792534	155924
n-C18	12156299	4596361	7866655	2162498	326252	11034
n-Ph	6971098	4692497	4000336	8005415	2123244	57417
n-C19	10765448	3612123	4332998	3032514	454556	48803
n-C20	9876510	3292576	3169624	4170310	356207	41550
n-C21	7772425	2242800	2291948	2791254	35306	84648
n-C22	6327478	1859614	1944257	2921955	46575	80665
n-C23	4779703	1621022	1650731	2347603	38475	19057
n-C24	3905710	1161765	1200305	2369232	767612	30552
n-C25	3230390	1163289	1029596	2459110	1086957	25763
n-C26	2549703	932624	829408	2280233	777001	87503
n-C27	1842209	645257	625352	2116451	10282	28631
n-C28	1422374	509173	553774	2020020	920730	38143
n-C29	1191871	539266	458272	1992766	12753	44239
n-C30	1083949	338313	243617	1685193	1079145	7168
n-C31	2223	201100	205709	1347849	992107	9972
n-C32	416672	182832	160966	949558	809434	14249
n-C33	416672	99787	76979	945213	719165	21730
n-C34	35149	7265	18297	91852	852086	28845
n-C35	21273	9729	4180		834589	22403

Πίνακας 3.16: Η συγκέντρωση των κανονικών αλκανίων για την πειραματική δοκιμή **NPKM** σε ppm εκφρασμένη σε ng/mg αργού πετρελαίου

Συγκέντρωση ng/mg πετρελαίου	NPKM 0	NPKM 5	NPKM 15	NPKM 30	NPKM 60	NPKM 90
C14	1263	549	421	51	21	17
C15	2220	1499	902	164	29	28
C16	2567	1923	1127	253	37	15
C17	2492	1823	1162	295	39	12
Pr	1396	1752	1323	1075	175	43
C18	2558	1923	1391	538	46	6
Ph	1542	1843	1537	1443	372	16
C19	1903	1349	1201	514	70	3
C20	1787	1262	1271	720	153	24
C21	1402	848	982	499	101	31

C22	1145	722	876	518	121	43
C23	866	528	709	427	119	38
C24	693	449	645	399	127	166
C25	575	432	600	457	151	196
C26	537	366	612	437	142	173
C27	386	267	523	400	163	228
C28	367	253	514	438	203	307
C29	281	205	458	462	222	215
C30	369	310	761	573	305	240
C31	308	242	675	570	306	355
C32	242	198	547	483	276	292
C33	226	131	529	405	312	365
C34	268	108	594	512	407	280
C35	267	132	831	626	610	226

Όπως και στην προηγούμενη πειραματική δοκιμή (NPK), οι συγκεντρώσεις των κανονικών αλκανίων εμφανίζουν σημαντική μείωση με τον χρόνο (**Σχήμα 3.3**). Είναι χαρακτηριστικό ότι τα ελαφριά κανονικά αλκάνια C14-C23 πραγματικά εμφανίζονται μετά από 60 μέρες δοκιμής. Όμοια και τα ισοπρενοειδή (Pr, Ph) παρά την αρχική σχετική σταθερότητα τους επίσης βιοαποδομούνται έντονα μετά από 60 ημέρες. Η αποδόμηση είναι βραδύτερη για τα βαρύτερα (>C24) κανονικά αλκάνια, ενώ οι αυξομειώσεις στην συγκέντρωση που παρατηρούνται μπορούν να αποδοθούν σε δυσκολία χειρισμού των συστατικών αυτών στις πειραματικές δοκιμές.

Δοκιμή NPKMR

Η ανάλυση στο GC/MS έδωσε τα αποτελέσματα του **Πίνακα 3.17**. Τα χρωματογραφήματα των δειγμάτων της δοκιμής αυτής, παρουσιάζονται στο **Παράρτημα Α (Γράφημα 3.4)**

Πίνακας 3.1.7 Εμβαδά των κορυφών όπως προέκυψαν από την ανάλυση στο GC-MS των κανονικών αλκανίων C14-C35 και ισοπρενοειδών για την πειραματική δοκιμή **NPKMR**

n-Αλκάνια	NPKMR_0	NPKMR_5	NPKMR_15	NPKMR_30	NPKMR_90
n-C14	5989578	427686	9996	155018	106720
n-C15	11699975	1319208	18064	32446	17370
n-C16	14546141	1943353	89084	95713	107223
n-C17	15016295	2016755	49527	73943	70373
n-Pr	6046616	2190151	138394	109715	21583
n-C18	198815	1749361	74247	178293	58592
n-Ph	13878937	1928824	399306	181973	44194
n-C19	12326986	1396643	44989	24656	31874

n-C20	306057	1151134	438989	37903	6856
n-C21	0	1009999	474588	7868	17276
n-C22	0	887009	49188	9392	5114
n-C23	0	746303	129080	3118	21294
n-C24	0	845776	117997	52448	23023
n-C25	0	765595	237281	30935	15025
n-C26	0	703267	320779	19499	26727
n-C27	0	514538	346776	22378	4033
n-C28	0	436080	1658944	19338	15380
n-C29	0	397885	134970	41925	12401
n-C30	0	310100	133514	34923	19621
n-C31	0	232857	1328982	21372	11057
n-C32	0	173936	1009468	19576	6562
n-C33	0	118621	93049	9114	3676
n-C34	0	16494	69297	2864	7636
n-C35	0	9472	13741	5306	10588

Πίνακας 3.18: Η συγκέντρωση των κανονικών αλκανίων για την πειραματική δοκιμή NPKMR σε ppm εκφρασμένη σε ng/mg αργού πετρελαίου

Συγκέντρωση ng/mg πετρελαίου	NPKMR 0	NPKMR 5	NPKMR 15	NPKMR 30	NPKMR 60	NPKMR 90
C14	1177	214	45	65	17	50
C15	2365	717	36	49	21	42
C16	2747	1075	76	19	24	36
C17	2716	1063	31	9	16	26
Pr	1461	640	85	34	21	49
C18	2661	1031	7	0	4	8
Ph	1553	654	112	1	7	10
C19	1887	726	7	9	2	4
C20	1630	644	21	14	7	7
C21	1169	510	28	25	16	11
C22	903	457	32	43	21	19
C23	685	393	32	31	17	16
C24	551	386	94	13	20	10
C25	499	361	60	12	12	5
C26	455	353	60	15	17	19
C27	342	281	55	19	18	11
C28	326	266	70	12	15	20
C29	245	244	103	17	18	19
C30	270	201	137	19	22	23
C31	196	176	114	25	30	18
C32	143	137	115	25	35	26
C33	130	126	167	24	35	42
C34	94	145	123	31	36	36
C35	148	91	163	46	26	31

Η εξέταση των μεταβολών της συγκέντρωσης των κανονικών αλκανίων στη δοκιμή αυτή (**Σχήμα 3.4**) αποδεικνύει εντονότατη αποδόμηση η οποία οδηγεί πρακτικά σε εξαφάνιση τους μέχρι και το C30. Ενδιαφέρον παρουσιάζει η επίσης έντονη αποδόμηση των ισοπρενοειδών από την αρχή της δοκιμής, γεγονός που δεν παρατηρήθηκε στις δοκιμές NPK και NPKM.

Δοκιμή ULR

Η ανάλυση στο GC/MS έδωσε τα αποτελέσματα του **Πίνακα 3.19**. Τα χρωματογραφήματα των δειγμάτων της δοκιμής αυτής, παρουσιάζονται στο **Παράρτημα Α (Γράφημα 3.5)**

Πίνακας 3.19: Εμβαδά των κορυφών όπως προέκυψαν από την ανάλυση στο GC-MS των κανονικών αλκανίων C14-C35 και ισοπρενοειδών για την πειραματική δοκιμή **ULR**

n-Αλκάνια	ULR_0	ULR_5	ULR_15	ULR_30	ULR_60
n-C14	38669	4269529	154427	92352	161559
n-C15	5610066	9235497	235392	225511	22114
n-C16	5859172	12209802	6086142	378472	183568
n-C17	5241912	13076182	6909716	491095	209747
n-Pr	4984635	5854084	196440	202535	73069
n-C18	4096953	13188552	7117807	549188	213540
n-Ph	4042968	9214634	539607	379621	170201
n-C19	3165870	12593812	6738919	549632	189752
n-C20	2309169	13079947	7160197	622147	208644
n-C21	1932251	11410350	6044371	555587	23217
n-C22	1522350	10890491	189758	14106	97069
n-C23	1229864	9576252	5046634	509997	54454
n-C24	83094	8663296	4912651	551100	228117
n-C25	16926	8366852	4537929	458064	125754
n-C26	7412	8750448	4794872	497342	205479
n-C27	9090	6770718	3789849	410963	11170
n-C28	493753	5653618	3424606	426317	138287
n-C29	17178	4683056	3179577	346179	152833
n-C30	328070	4128717	2962691	479374	158511
n-C31	51540	3306693	2585266	353114	150557
n-C32	10840	2544275	1947239	31476	99570
n-C33	1217	1741432	1413096	310239	108564
n-C34	6227	1594090	1220400	361601	30227
n-C35	2499	1327787	925759	30206	38679

Πίνακας 3.20: Η συγκέντρωση των κανονικών αλκανίων για την πειραματική δοκιμή **ULR** σε ppm εκφρασμένη σε ng/mg αργού πετρελαίου

Συγκέντρωση ng/mg πετρελαίου	ULR 0	ULR 5	ULR 15	ULR 30	ULR 60
C14	943	192	14	38	24
C15	1959	601	35	44	22
C16	1672	871	60	40	24
C17	1734	958	80	31	12
Pr	1042	586	39	85	27
C18	1887	1121	93	40	3
Ph	1259	739	63	34	4
C19	1637	913	91	37	3
C20	1742	999	129	49	9
C21	1538	848	107	53	19
C22	1439	804	120	71	16
C23	1273	697	98	55	20
C24	501	707	86	61	32
C25	463	661	72	34	26
C26	497	745	88	66	26
C27	400	614	81	49	27
C28	397	640	88	60	32
C29	352	608	77	54	29
C30	390	734	139	111	37
C31	348	717	121	105	42
C32	284	579	127	90	47
C33	246	523	145	127	59
C34	250	446	147	164	50
C35	315	553	184	171	67

Και στην δοκιμή αυτή παρατηρείται εντονότατη αποδόμηση των κανονικών αλκανίων η οποία οδηγεί σε εξαφάνιση των συστατικών μέχρι και το C30 (**Σχήμα 3.5**). Η προσωρινή αύξηση της συγκέντρωσης των περισσοτέρων συστατικών στις 5 ημέρες πρέπει να αποδοθεί σε πειραματικό σφάλμα σε κάποιο από τα στάδια επεξεργασίας των δειγμάτων. Και στην δοκιμή αυτή τα ισοπρενοειδή φαίνεται να αποδομούνται με τον ίδιο ρυθμό όπως και οι κανονικοί υδρογονάνθρακες.

Δοκιμή ULRM

Η ανάλυση στο GC/MS έδωσε τα αποτελέσματα του **Πίνακα 3.21**. Τα χρωματογραφήματα των δειγμάτων της δοκιμής αυτής, παρουσιάζονται στο **Παράρτημα Α (Γράφημα 3.6)**

Πίνακας 3.21: Εμβαδά των κορυφών όπως προέκυψαν από την ανάλυση στο GC-MS των κανονικών αλκανίων C14-C35 και ισοπρενοειδών για την πειραματική δοκιμή **ULRM**

n-Αλκάνια	ULRM_0	ULRM_5	ULRM_15	ULRM_30	ULRM_60	ULRM_90
n-C14	3494694	882166	196876	152714	208356	49488
n-C15	5399227	2365167	42170	50986	29448	94291
n-C16	6292571	3667741	473282	115566	217667	86452
n-C17	6212400	4049499	483272	127789	191107	115117
n-Pr	2428587	1766281	891731	521216	142980	121716
n-C18	5805852	2853295	594255	70648	182213	39250
n-Ph	3615515	3515817	1527114	960005	321846	36506
n-C19	4996805	3998619	587145	64856	217323	36506
n-C20	4688597	4603561	141772	173084	332573	240134
n-C21	3824236	3591045	532796	11458	193002	138350
n-C22	3543991	3455691	485546	8242	345341	167104
n-C23	3037733	3077341	342220	20511	234383	69972
n-C24	2861474	3195139	343728	81881	489832	86096
n-C25	2723859	3131502	308930	128399	233319	75487
n-C26	2524703	3204693	262917	57552	303294	84995
n-C27	1732986	2492096	214867	31537	243138	89040
n-C28	1446315	2435402	202552	6198	93787	47445
n-C29	1226735	2335713	173723	39243	187269	28398
n-C30	999493	2354736	216044	73312	119368	2420
n-C31	757292	2117460	165823	6570	113910	13313
n-C32	579322	1656578	128504	76201	82725	17147
n-C33	416550	1502549	86510	62090	153581	1947
n-C34	64123	849443	22138	89246	156064	2725
n-C35	366481	923444	13902	8096	121600	7772

Πίνακας 3.22: Η συγκέντρωση των κανονικών αλκανίων για την πειραματική δοκιμή **ULRM** σε ppm εκφρασμένη σε ng/mg αργού πετρελαίου

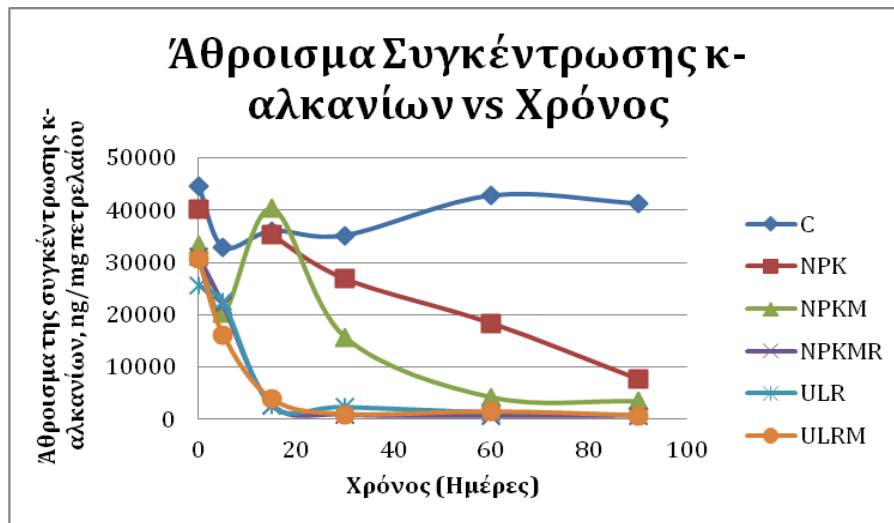
Συγκέντρωση ng/mg πετρελαίου	ULRM 0	ULRM 5	ULRM 15	ULRM 30	ULRM 60	ULRM 90
C14	591	362	105	37	30	16
C15	977	1072	179	35	29	16
C16	1085	1490	226	28	37	18

C17	1040	1471	215	18	29	13
Pr	547	1103	531	198	35	0
C18	1069	1479	277	11	26	3
Ph	623	1172	703	283	59	11
C19	817	1033	252	10	21	5
C20	789	934	331	49	39	18
C21	656	671	216	25	36	30
C22	599	573	220	22	57	56
C23	502	448	171	12	45	35
C24	457	418	150	24	42	31
C25	445	377	138	22	33	24
C26	430	355	127	22	49	30
C27	312	268	112	26	41	24
C28	295	241	116	22	42	29
C29	269	206	118	31	47	25
C30	251	258	202	77	65	41
C31	201	230	175	52	76	32
C32	176	191	149	68	69	24
C33	172	141	163	39	112	23
C34	155	141	178	104	121	24
C35	225	157	237	150	124	19

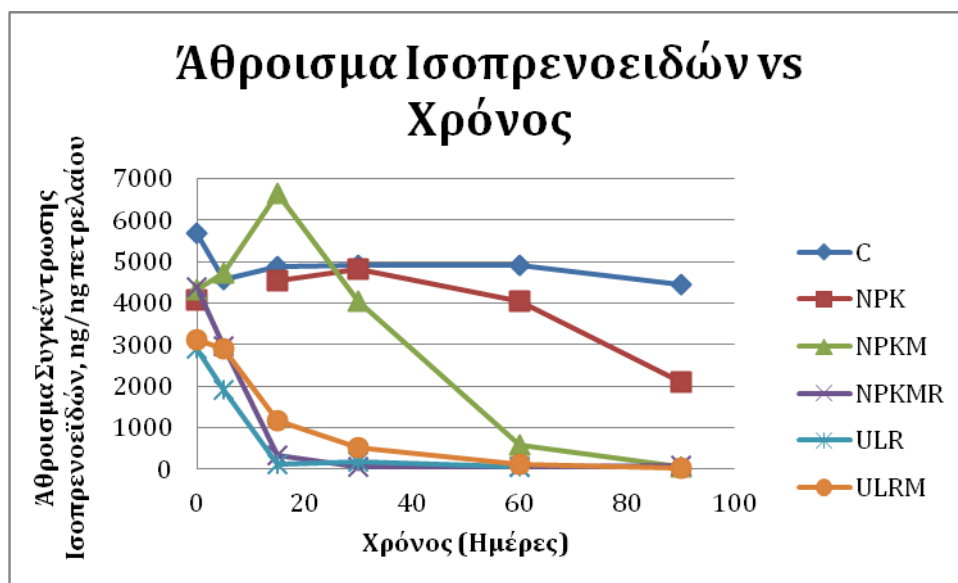
Η εξέταση των διαγραμμάτων μεταβολής της σύστασης των δειγμάτων της δοκιμής αυτής (**Σχήμα 3.6**) αποδεικνύει έντονη βιοαποδόμηση των κανονικών αλκανίων τουλάχιστον μέχρι τα το C30. Αντίθετα τα βαρύτερα συστατικά εμφανίζουν σχετική σταθερότητα η οποία όμως ενδέχεται να οφείλεται σε δυσκολία χειρισμού τους κατά την επεξεργασία ή την ανάλυση.

Συγκριτική Αξιολόγηση των Πειραματικών Δοκιμών με βάση την αποδόμηση των κ-αλκανίων και των ισοπρενοειδών

Στη συνέχεια οι πειραματικές δοκιμές βιοαποδόμησης αξιολογήθηκαν συγκριτικά με βάση την μεταβολή της συνολικής συγκέντρωσης των κ-αλκανίων και των ισοπρενοειδών στα δείγματα. Γραφικά οι μεταβολές αυτές παρουσιάζονται στα **Σχήματα 3.7** και **3.8**. Η εξέταση των διαγραμμάτων αυτών υποδεικνύει ότι η βιοαποδόμηση των κανονικών αλκανίων είναι ιδιαίτερα έντονη αλλά και γρήγορη διεργασία για τις πειραματικές δοκιμές με θρεπτικά NPKMR, ULR και ULRM. Η αποδόμηση ολοκληρώνεται πρακτικά στις 5 ημέρες. Αντίθετα για τα δείγματα NPK και NPKM η διεργασία της βιοαποδόμησης είναι βραδύτερη και ολοκληρώνεται στις 60 ημέρες. Τα δείγματα της δοκιμής Control δείχνουν ότι χωρίς την προσθήκη θρεπτικών δεν αναπτύσσονται διεργασίες βιοαποδόμησης έστω και μετά την παρέλευση μακρού χρόνου (90 ημέρες).



Σχήμα 3.7: Συγκεντρωτικό γράφημα της συνολικής συγκέντρωσης των κ-αλκανίων συναρτήσει του χρόνου για όλες τις πειραματικές δοκιμές



Σχήμα 3.8 Συγκεντρωτικό γράφημα της συνολικής συγκέντρωσης των ισοπρενοειδών συναρτήσει του χρόνου για όλες τις πειραματικές δοκιμές

Από το Σχήμα 3.7 προκύπτει ότι τα ισοπρενοειδή επίσης βιοαποδομούνται στις συνθήκες των πειραματικών δοκιμών της παρούσας εργασίας. Παρατηρείται όμως μία χρονική υστέρηση σε σχέση με τα κανονικά αλκάνια.

Αρωματικά συστατικά

Στα δείγματα όλων των παραπάνω πειραματικών δοκιμών ανιχνεύτηκαν μόνο τα παρακάτω αρωματικά συστατικά: Φλορένιο, φαινανθρένιο, χρυζένιο και διβενζοθιοφένιο. Οι συγκεντρώσεις παρουσιάζονται για κάθε πειραματική δοκιμή στους πίνακες **3.23 - 3.28**.

Πίνακας 3.23: Η συγκέντρωση αρωματικών συστατικών για την πειραματική δοκιμή **Control** σε ppm εκφρασμένη σε ng/mg αργού πετρελαίου

Συγκέντρωση ng/mg πετρελαίου	C 0	C 5	C 15	C 30	C 60	C 90
fluorene	9.9	23	29.9	31.6	11	19.3
dibenzothiophene	93.8	110.8	93.3	98.4	77.6	102.1
phenanthrene	91.1	104.2	82.4	92.7	71.3	103.1
chrysene	10.7	14	13.6	13.9	8.3	15.5

Πίνακας 3.24: Η συγκέντρωση αρωματικών συστατικών για την πειραματική δοκιμή **NPK** σε ppm εκφρασμένη σε ng/mg αργού πετρελαίου

Συγκέντρωση ng/mg πετρελαίου	NPK 0	NPK 15	NPK 30	NPK 60	NPK 90
fluorene	34.2	43	26.4	22.6	30.8
dibenzothiophene	90.6	109.7	94.7	94.7	116.8
phenanthrene	82.8	99.9	91.5	91.5	108.6
chrysene	12.4	20.4	16.8	16.8	19.2

Πίνακας 3.25: Η συγκέντρωση αρωματικών συστατικών για την πειραματική δοκιμή **NPKM** σε ppm εκφρασμένη σε ng/mg αργού πετρελαίου

Συγκέντρωση ng/mg πετρελαίου	NPKM 0	NPKM 5	NPKM 15	NPKM 30	NPKM 60	NPKM 90
fluorene	25.6	35.8	29	19	10.8	0
dibenzothiophene	85.5	110.9	101.7	96.4	70.5	31.9
phenanthrene	80.2	106.8	93.3	100	60.5	11.9
chrysene	9.4	19.7	26.4	13.1	14.2	26.8

Πίνακας 3.26: Η συγκέντρωση αρωματικών συστατικών για την πειραματική δοκιμή **NPKMR** σε ppm εκφρασμένη σε ng/mg αργού πετρελαίου

Συγκέντρωση ng/mg πετρελαίου	NPKMR 0	NPKMR 5	NPKMR 15	NPKMR 30	NPKMR 60	NPKMR 90
fluorene	39.6	28.4	5.8	39.1	21	19.4
dibenzothiophene	96.3	94.3	81.8	111.6	124.7	118
phenanthrene	88.7	100.5	82	100.5	132.1	119.3
chrysene	4.6	12.7	12.7	7.7	39.5	22.8

Πίνακας 3.27: Η συγκέντρωση αρωματικών συστατικών για την πειραματική δοκιμή **ULR** σε ppm εκφρασμένη σε ng/mg αργού πετρελαίου

Συγκέντρωση ng/mg πετρελαίου	ULR 0	ULR 5	ULR 15	ULR 30	ULR 60
fluorene	16.7	36.8	66.2	73.9	1.9
dibenzothiophene	58.2	82.9	117.9	149.7	63.8
phenanthrene	56.5	76.2	101.8	135.3	66.8
chrysene	10.0	9.8	3.0	13.5	11.0

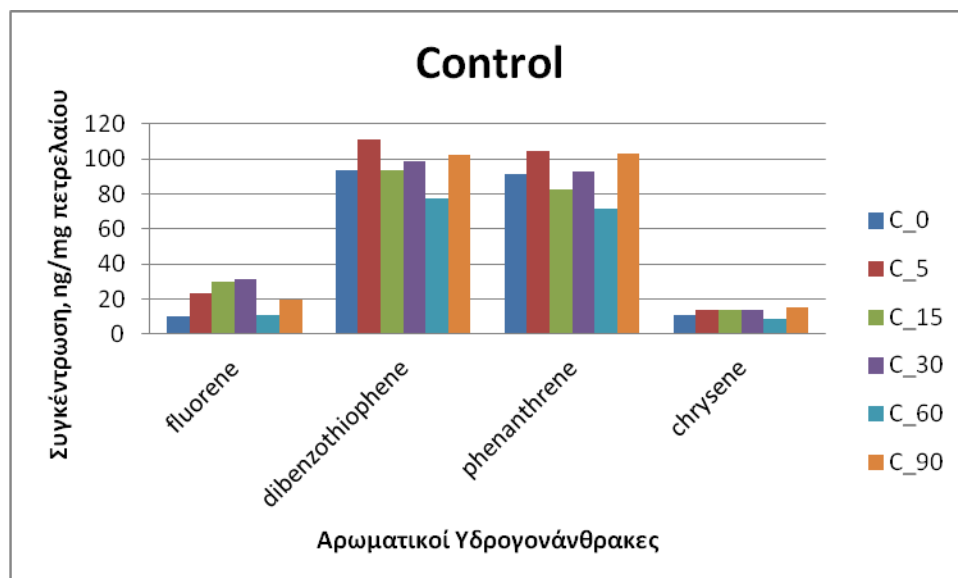
Πίνακας 3.28: Η συγκέντρωση αρωματικών συστατικών για την πειραματική δοκιμή **ULRM** σε ppm εκφρασμένη σε ng/mg αργού πετρελαίου

Συγκέντρωση ng/mg πετρελαίου	ULRM 0	ULRM 5	ULRM 15	ULRM 30	ULRM 60	ULRM 90
fluorene	22.3	32.0	38.0	29.1	19.3	25.6
dibenzothiophene	70.3	92.4	99.9	115.1	71.1	99.1
phenanthrene	70.8	85.7	100.4	131.4	67.5	83.9
chrysene	19.8	18.3	16.2	29.1	15.7	31.1

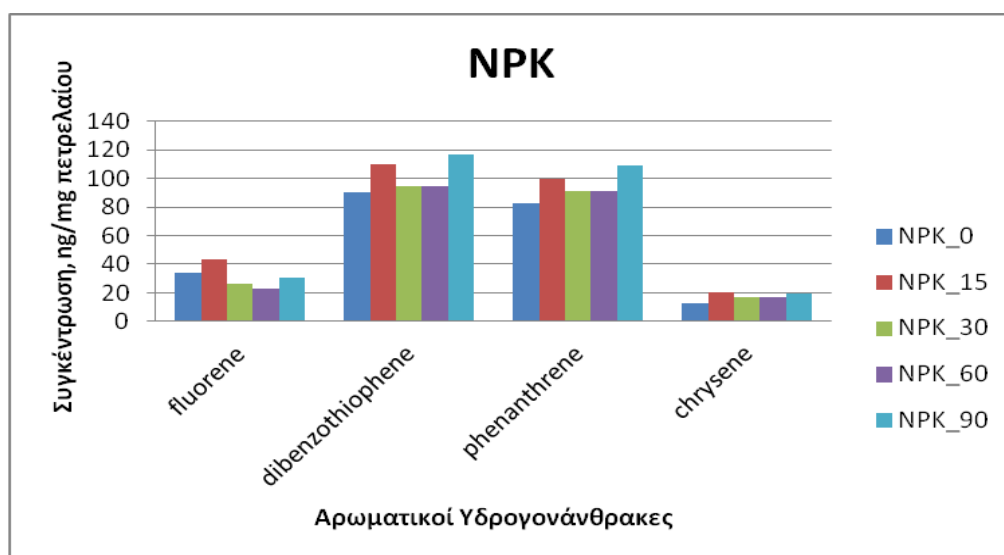
Γραφήματα αποτελεσμάτων των χημικών αναλύσεων

Γραφήματα των παραπάνω αναλυτικών αποτελεσμάτων παρουσιάζονται στα Σχήματα 3.9 – 3.14. Όπως φαίνεται στο **Σχήμα 3.9** συγκεντρώσεις των αρωματικών συστατικών παραμένει αμετάβλητη με εξαίρεση το δείγμα των 60 ημερών. Όμοια εικόνα παρουσιάζεται στην πειραματική δοκιμή NPK. Αντίθετα στην πειραματική δοκιμή NPKM παρουσιάζει μείωση της συγκέντρωσης του φλορενίου, του διβενζιοθειοφενίου και του φαινανθρενίου στο δείγμα των 90 ημερών. Το χρυζένιο φαίνεται ότι δεν βιοαποδομείται. Από το **Σχήμα 3.12** παρατηρείται ότι στην πειραματική δοκιμή NPKMR παρατηρείται πτώση της συγκέντρωσης του χρυζενίου, του φαινανθρενίου, και του διβενζοθειοφενίου.

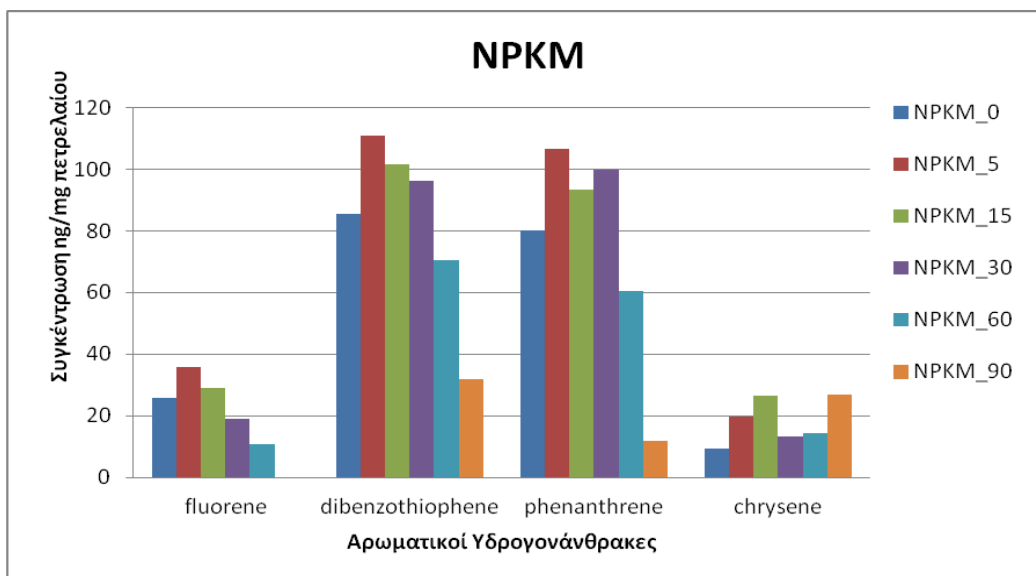
Τέλος στην πειραματική δοκιμή ULR ιδιαίτερα σημαντική είναι η πτώση των συστατικών και συγκεκριμένα στο δείγμα των 60 ημερών και στην πειραματική δοκιμή ULRM περίπου ίδια τάση.



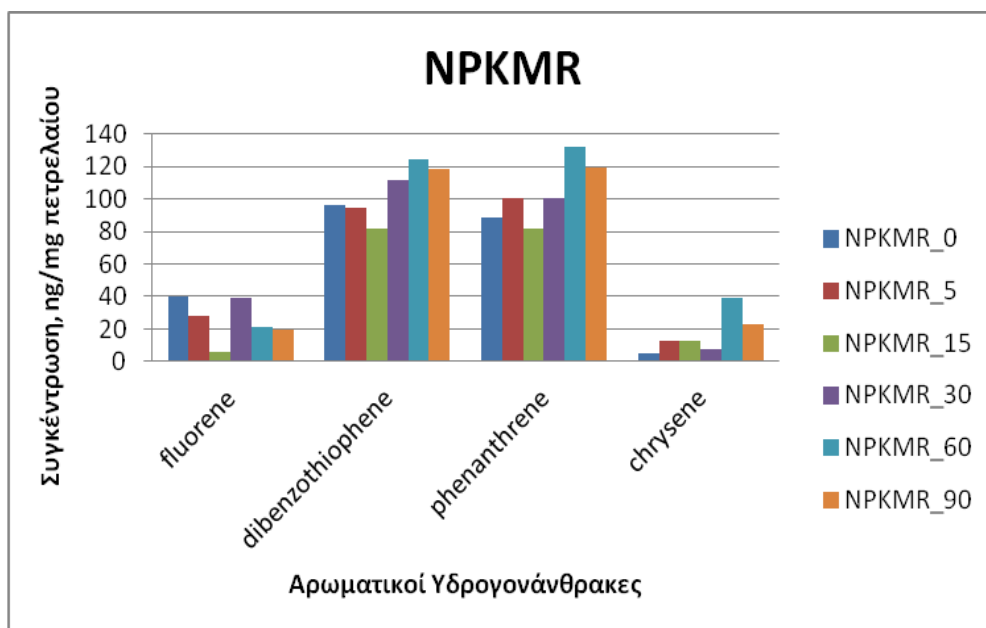
Σχήμα 3.9: Συσχέτιση της συγκέντρωσης των αρωματικών συστατικών για την πειραματική δοκιμή Control σε σχέση με τον χρόνο, εκφρασμένο σε ημέρες.



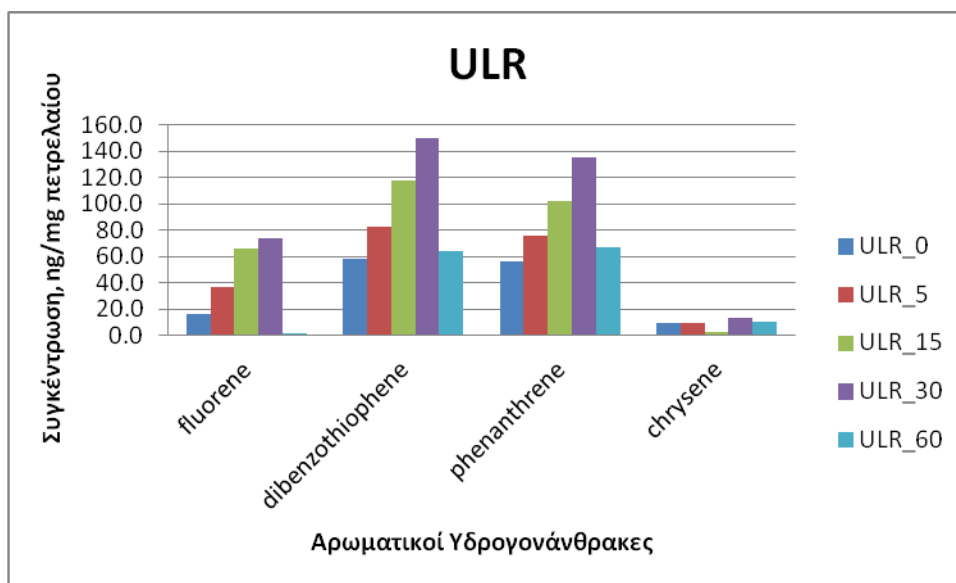
Σχήμα 3.10: Συσχέτιση της συγκέντρωσης των αρωματικών συστατικών για την πειραματική δοκιμή NPK σε σχέση με τον χρόνο, εκφρασμένο σε ημέρες.



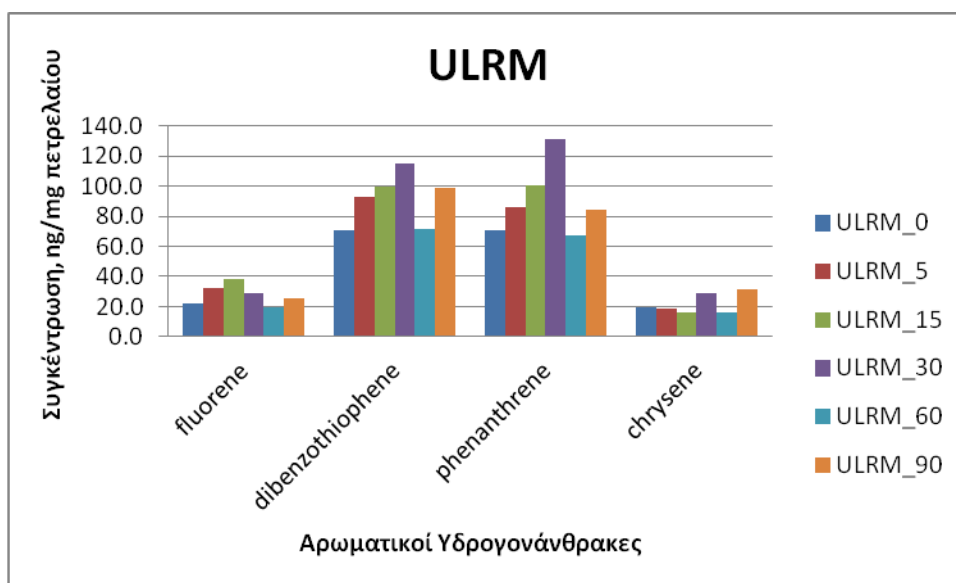
Σχήμα 3.11: Συσχέτιση της συγκέντρωσης των αρωματικών συστατικών για την πειραματική δοκιμή NPKM σε σχέση με τον χρόνο, εκφρασμένο σε ημέρες.



Σχήμα 3.12: Συσχέτιση της συγκέντρωσης των αρωματικών συστατικών για την πειραματική δοκιμή NPKMR σε σχέση με τον χρόνο, εκφρασμένο σε ημέρες



Σχήμα 3.13: Συσχέτιση της συγκέντρωσης των αρωματικών συστατικών για την πειραματική δοκιμή ULR σε σχέση με τον χρόνο, εκφρασμένο σε ημέρες



Σχήμα 3.14: Συσχέτιση της συγκέντρωσης των αρωματικών συστατικών για την πειραματική δοκιμή ULRM σε σχέση με τον χρόνο, εκφρασμένο σε ημέρες

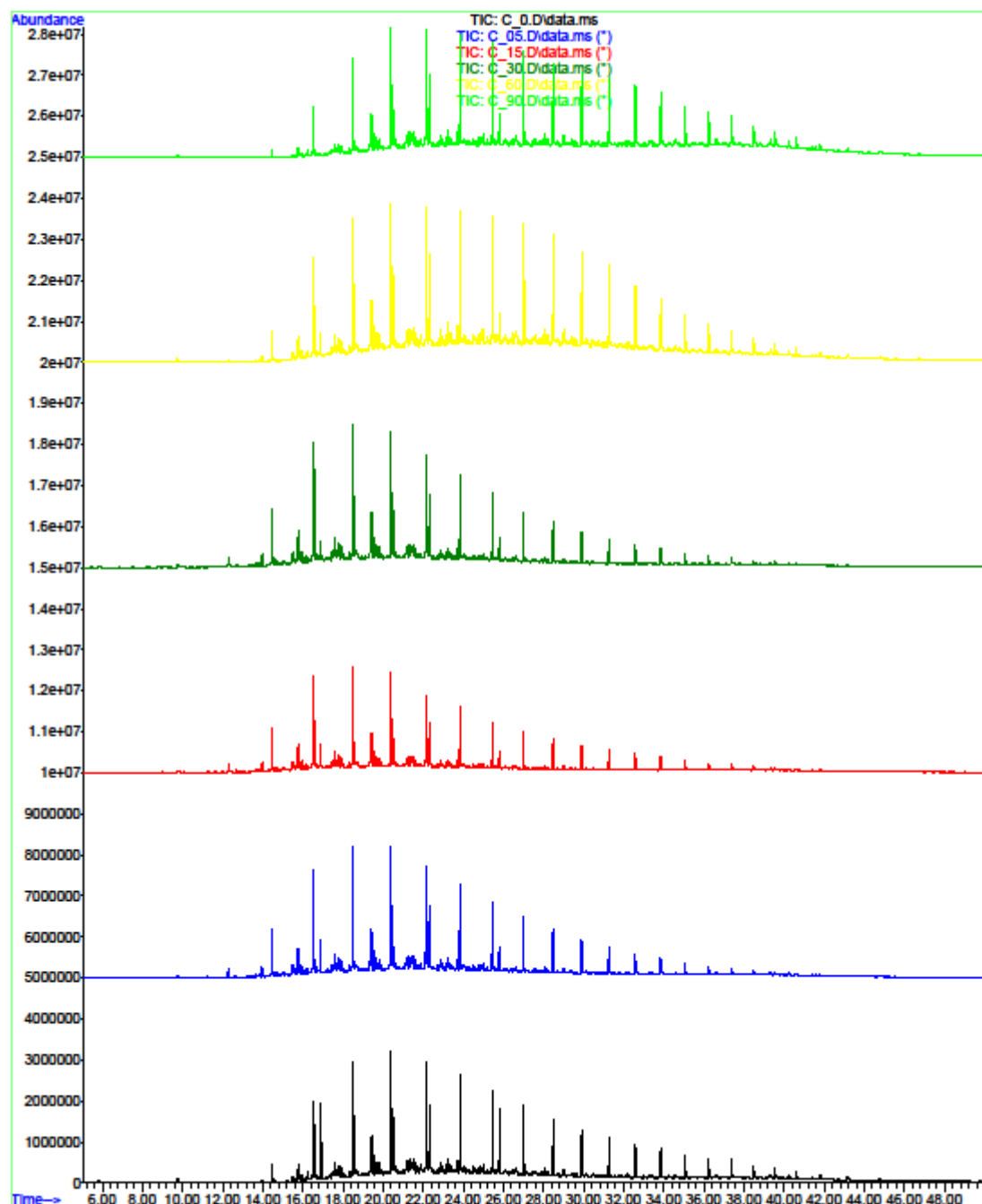
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η εισαγωγή θρεπτικών συστατικών: άζωτο, φωσφόρος, κάλιο, καθώς και η προσθήκη εξοικειωμένων μικροοργανισμών σε ρυπασμένα από πετρελαιοειδή περιβάλλοντα, ενισχύει την βιοαποδόμηση και αυτό τεκμηριώνεται από την διαφορά στην συγκέντρωση των κανονικών αλκανίων και των αρωματικών συστατικών μεταξύ των πειραματικών δοκιμών όπου είχαμε την προσθήκη θρεπτικών, και της πειραματικής δοκιμής Control (δείγμα Ελέγχου) όπου υπήρχε θαλασσινό νερό και πετρέλαιο χωρίς καμία προσθήκη θρεπτικών ή μικροοργανισμών. Στην πειραματική δοκιμή Control, τόσο η συγκέντρωση των κανονικών αλκανίων όσο και τα αρωματικά συστατικά πρακτικά παραμένουν αναλλοίωτα σε όλη την διάρκεια των διαδικασιών. Ιδιαίτερα σημαντική είναι η εισαγωγή των μιγμάτων ULRM, ULR, NPKMR. Ενώ μικρότερη επίδραση έχει η χρήση των μιγμάτων NPK και NPKM. Οι δοκιμές έδειξαν σημαντική διαφορά στον ρυθμό βιοαποδόμησης των κανονικών αλκανίων και των ισοπρενοειδών σε σχέση με τις αρωματικές ενώσεις που ανιχνεύτηκαν στο συγκεκριμένο πετρέλαιο.

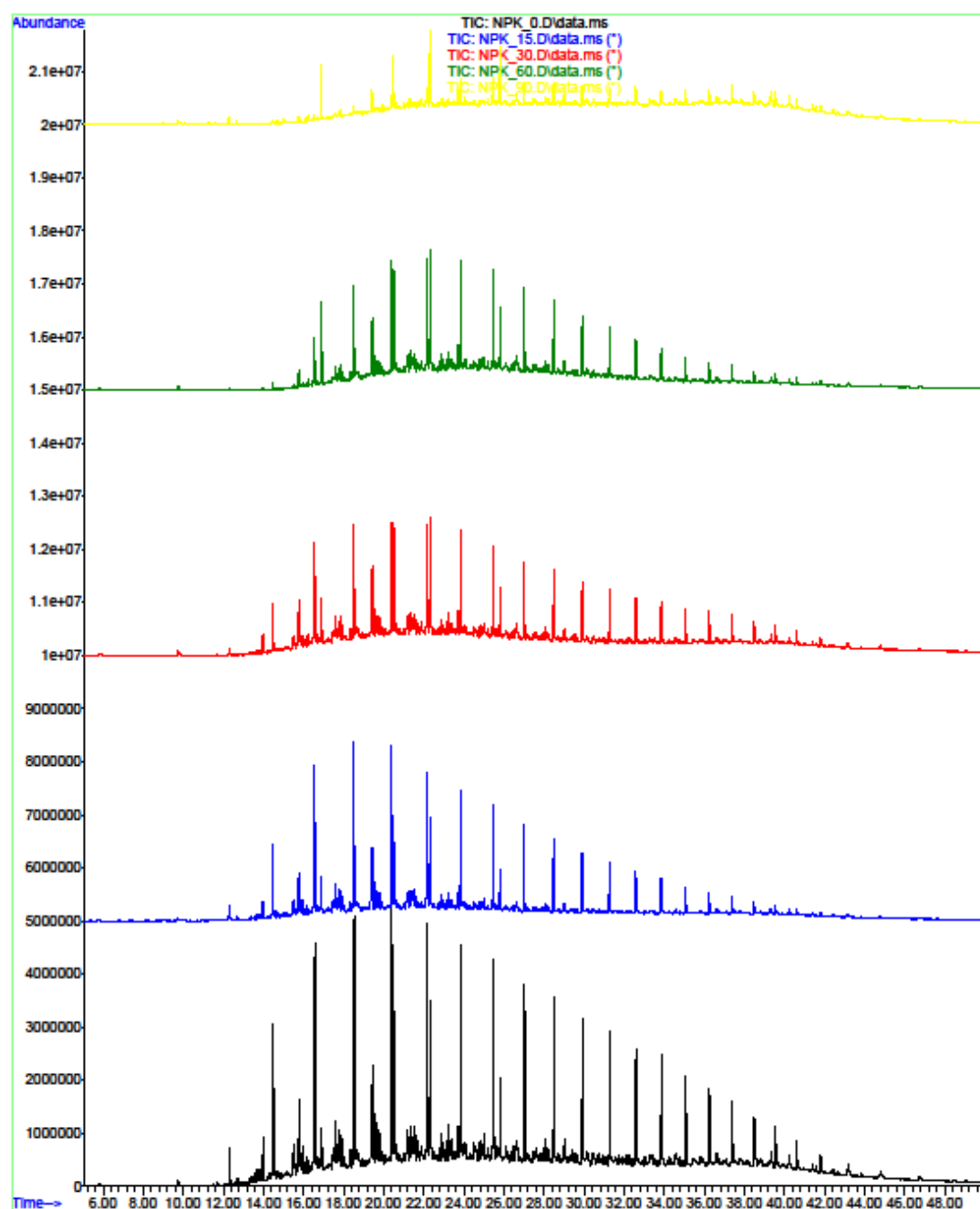
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α

Χρωματογραφήματα Χημικών Αναλύσεων

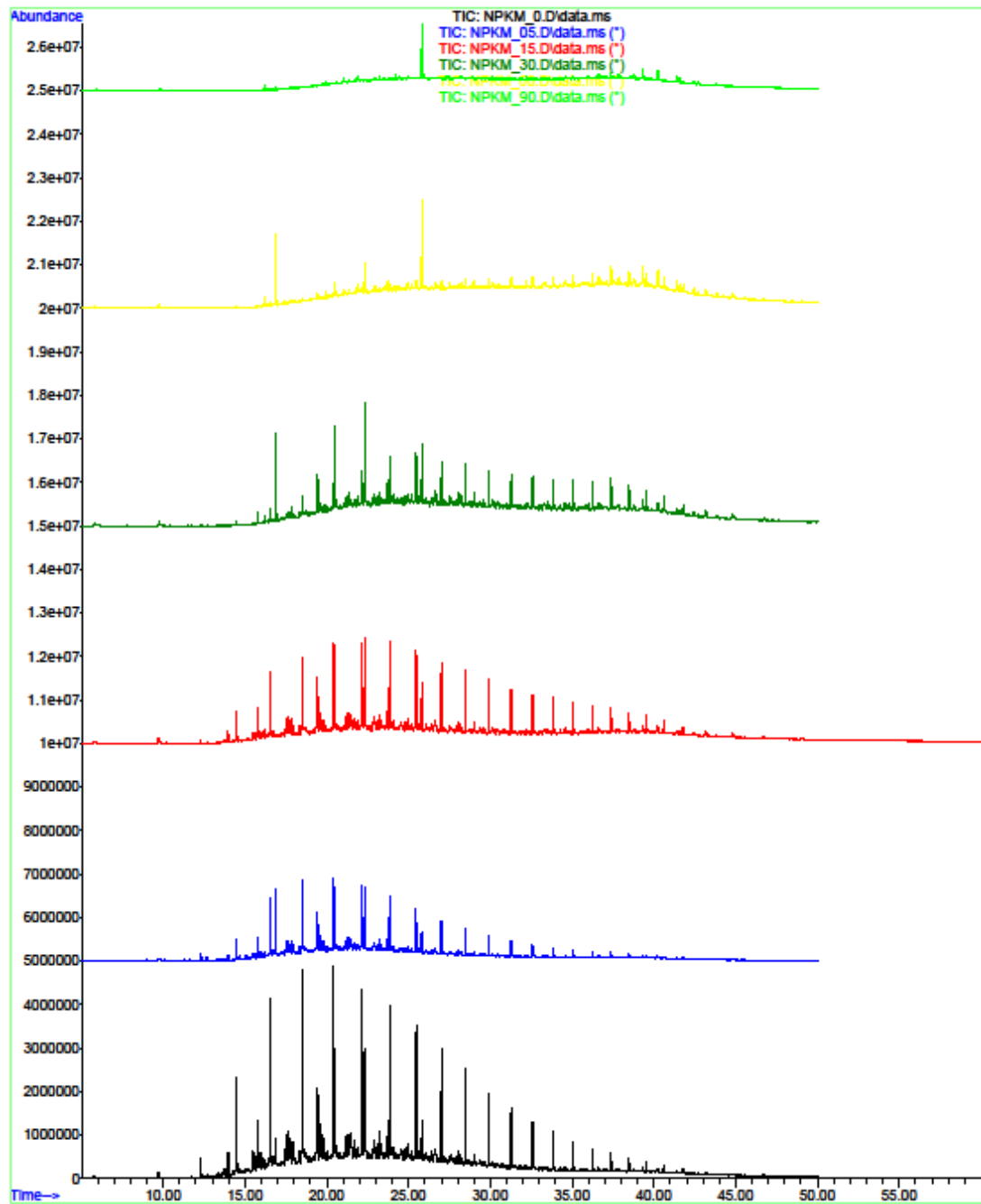
Γράφημα 3.1: Χρωματογράφημα της πειραματικής δοκιμής Control



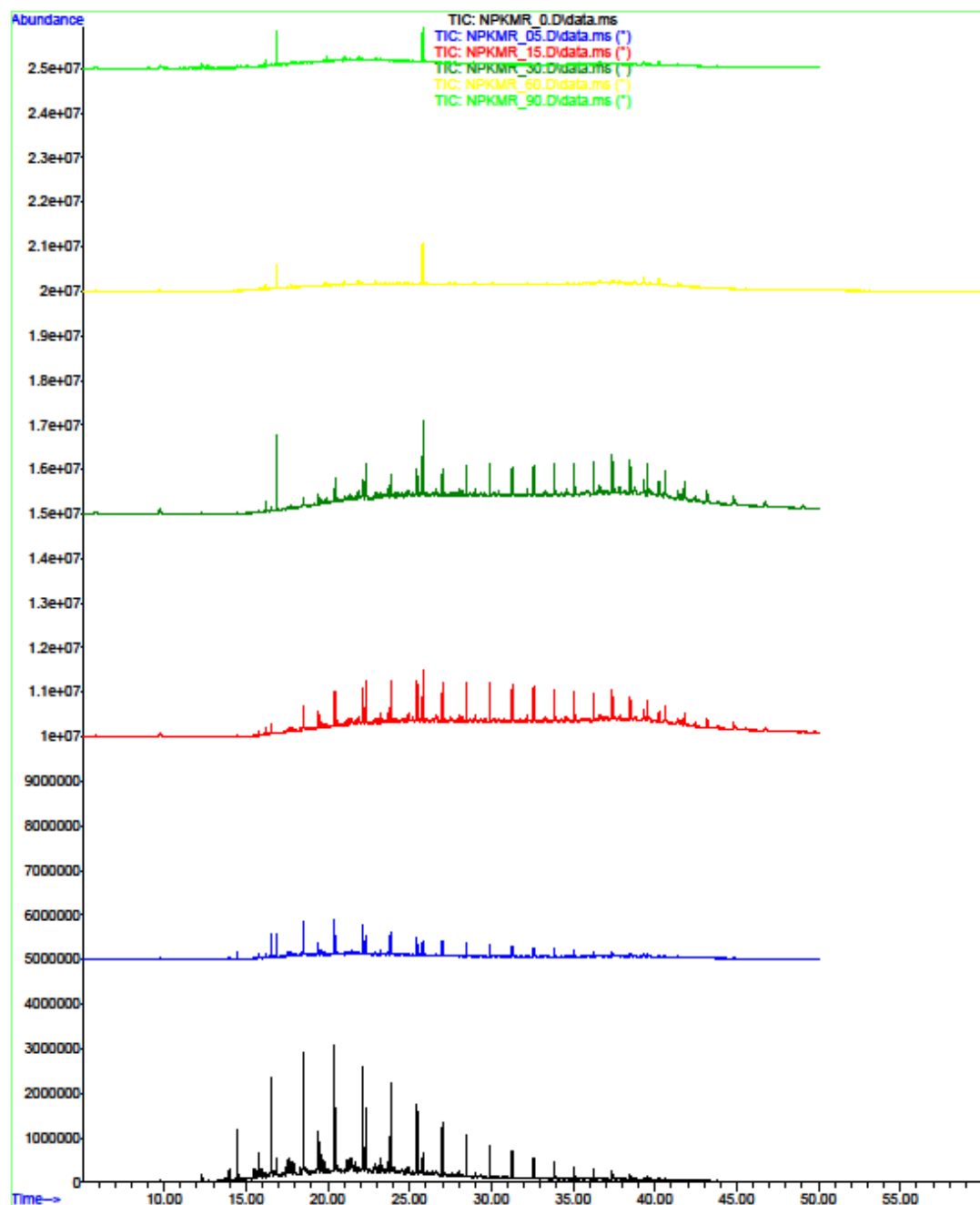
Γράφημα 3.2: Χρωματογράφημα της πειραματικής δοκιμής NPK



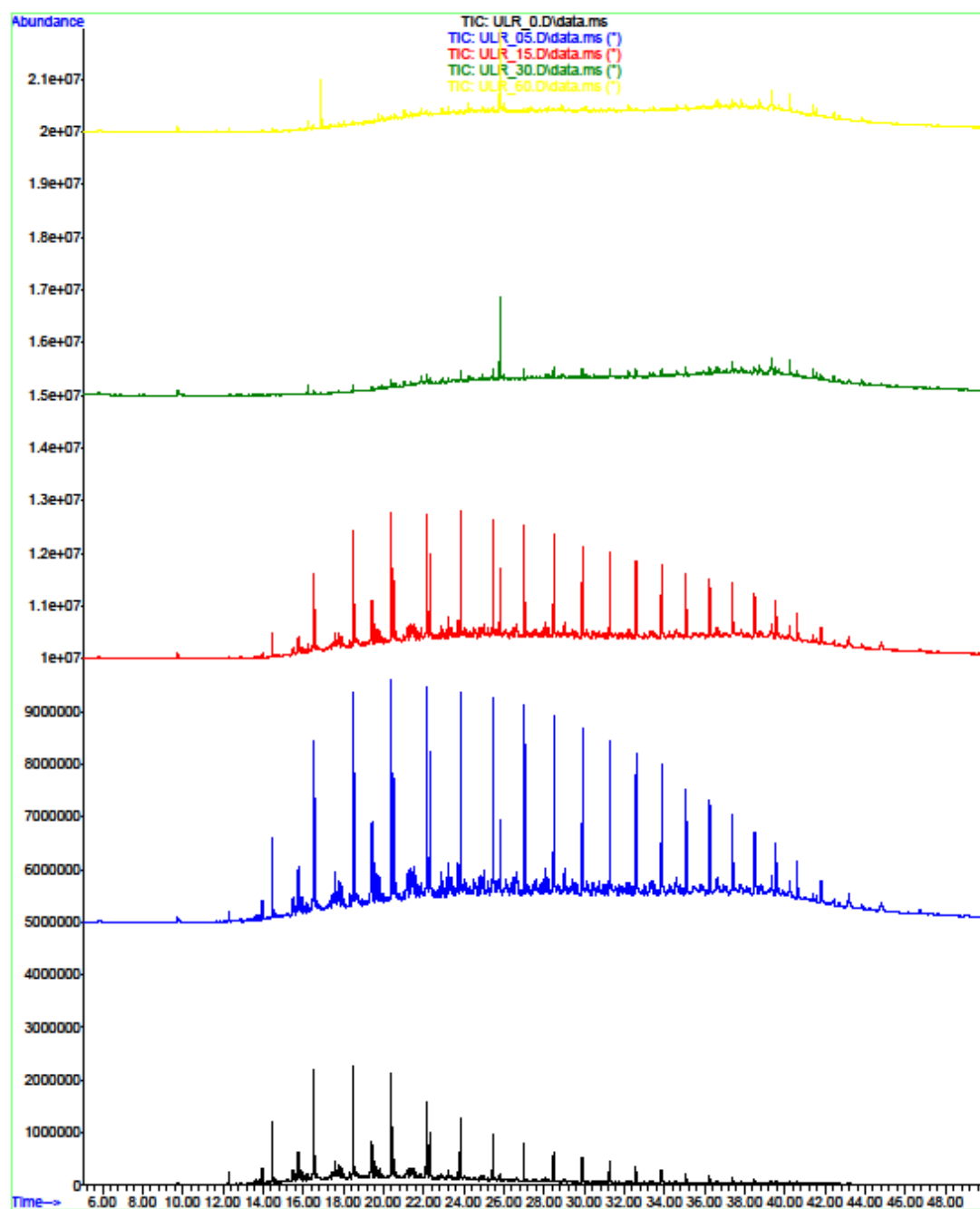
Γράφημα 3.3: Χρωματογράφημα της πειραματικής δοκιμής NPKM



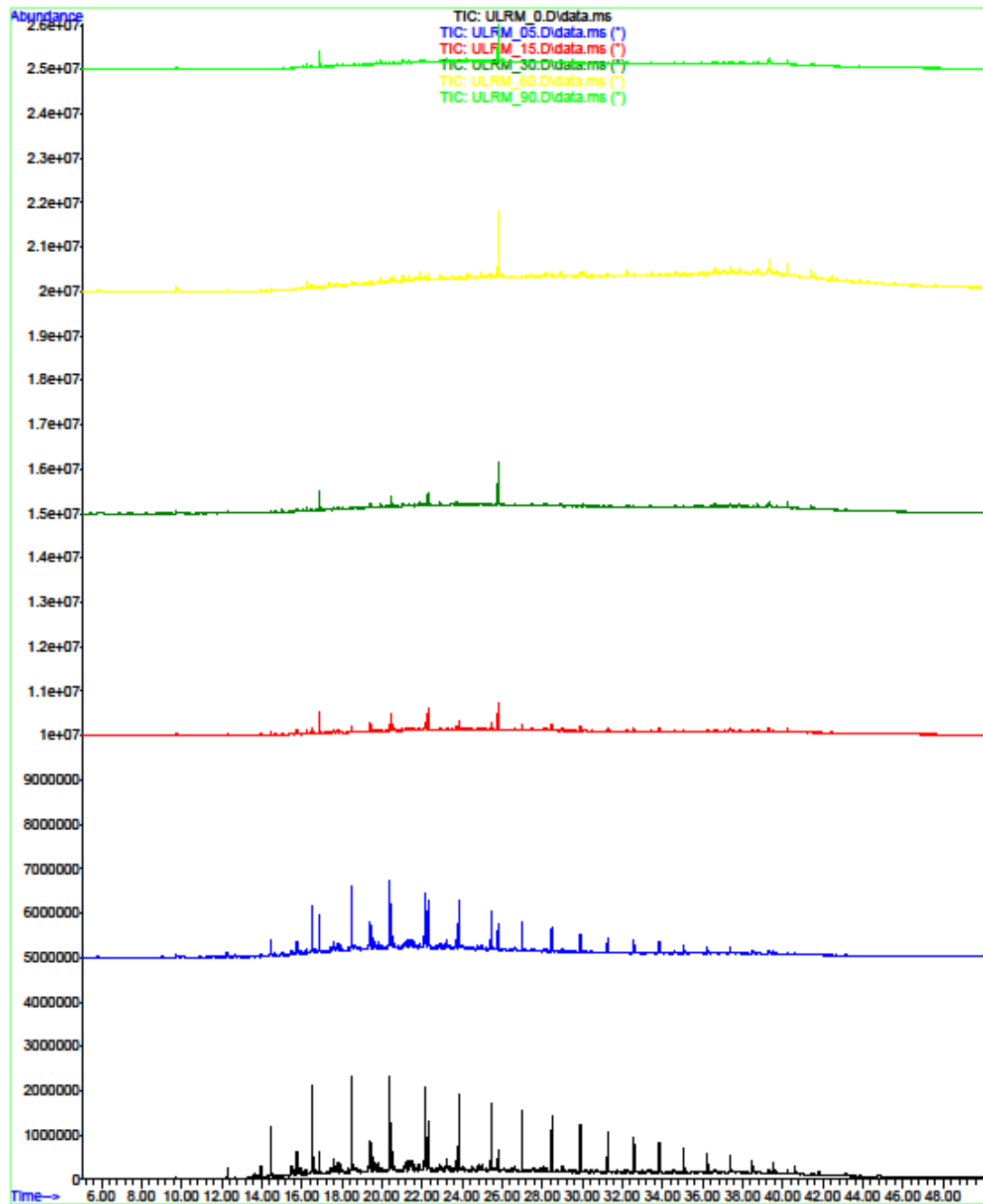
Γράφημα 3.4: Χρωματογράφημα της πειραματικής δοκιμής NPKMR



Γράφημα 3.5: Χρωματογράφημα της πειραματικής δοκιμής ULR

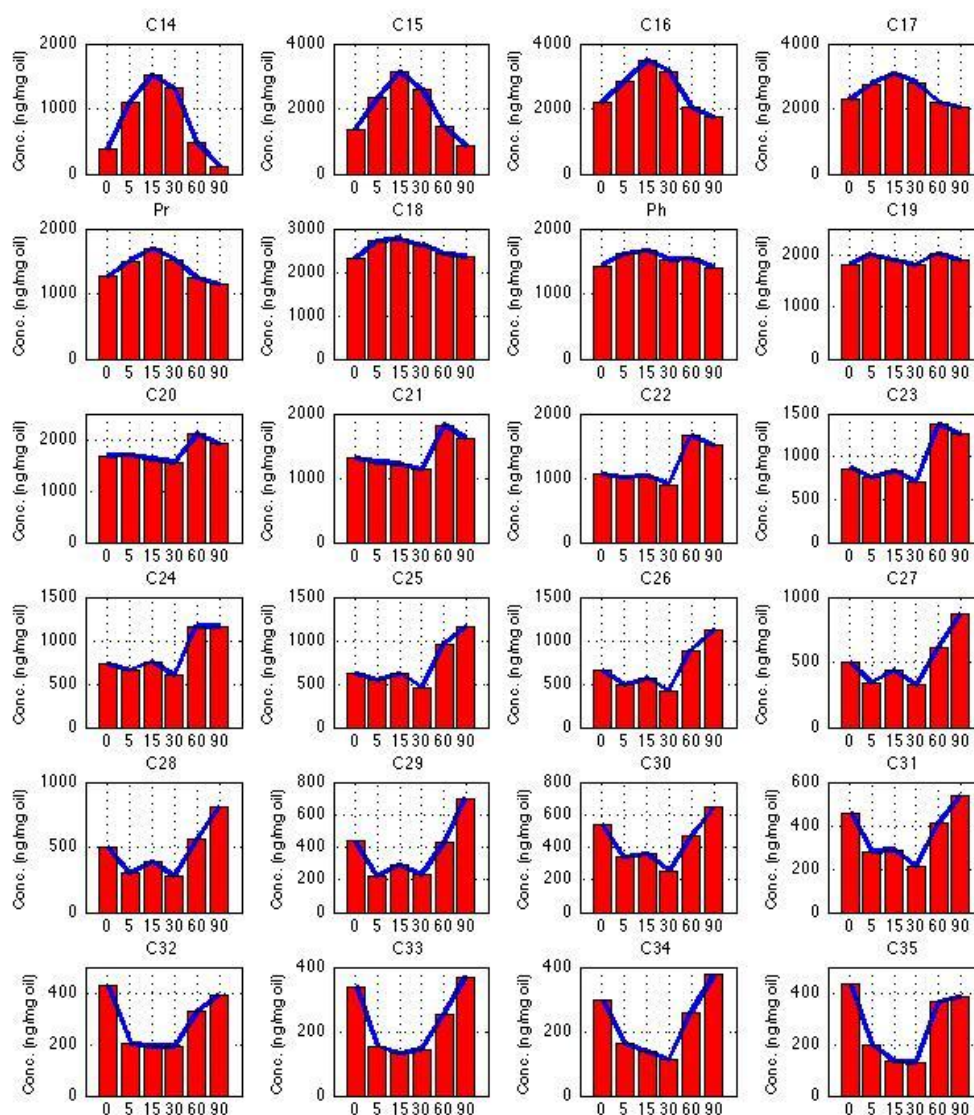


Γράφημα 3.6: Χρωματογράφημα της πειραματικής δοκιμής ULRM

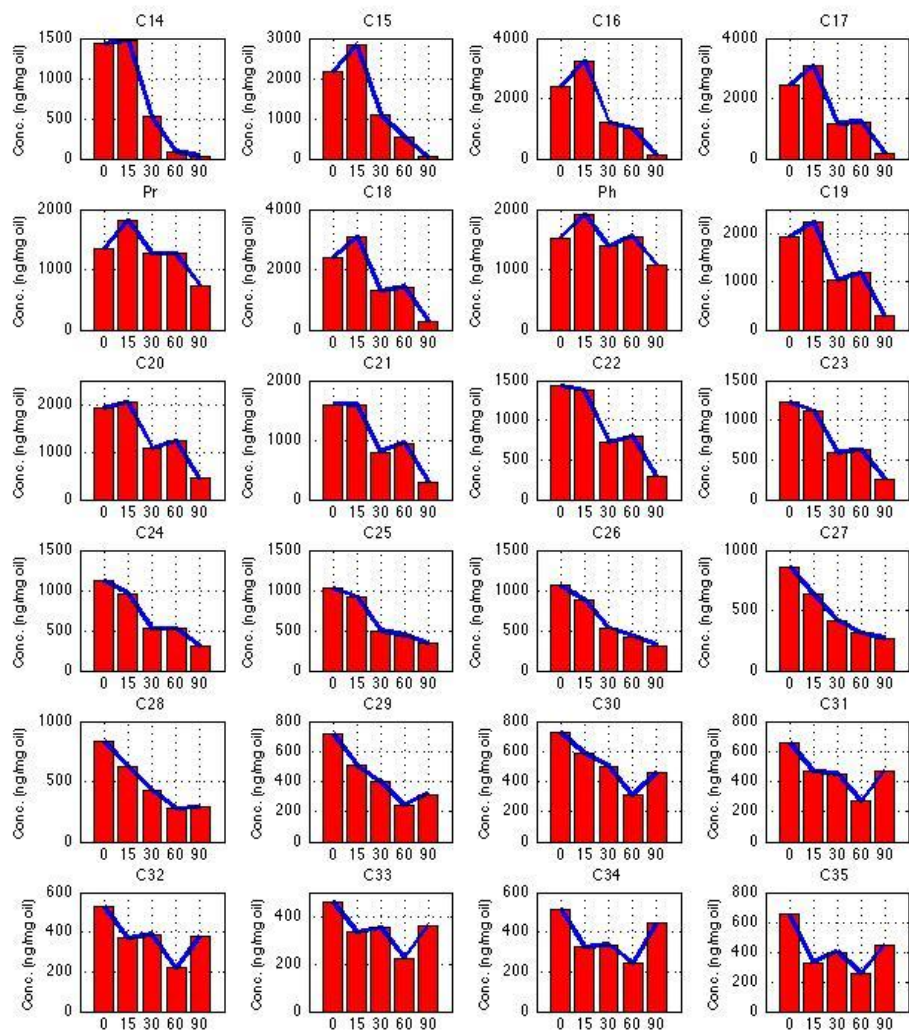


ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Β

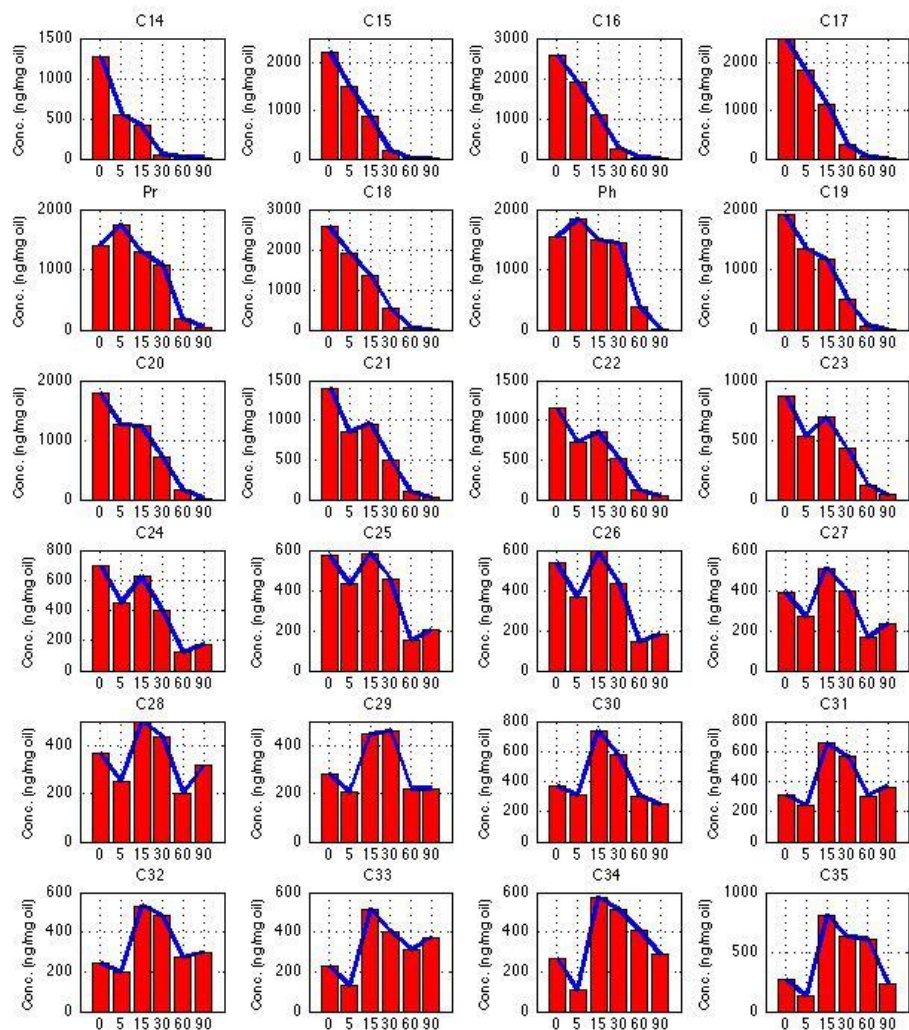
Μεταβολή της Συγκέντρωσης των κ-
Αλκανίων σε σχέση με τον Χρόνο



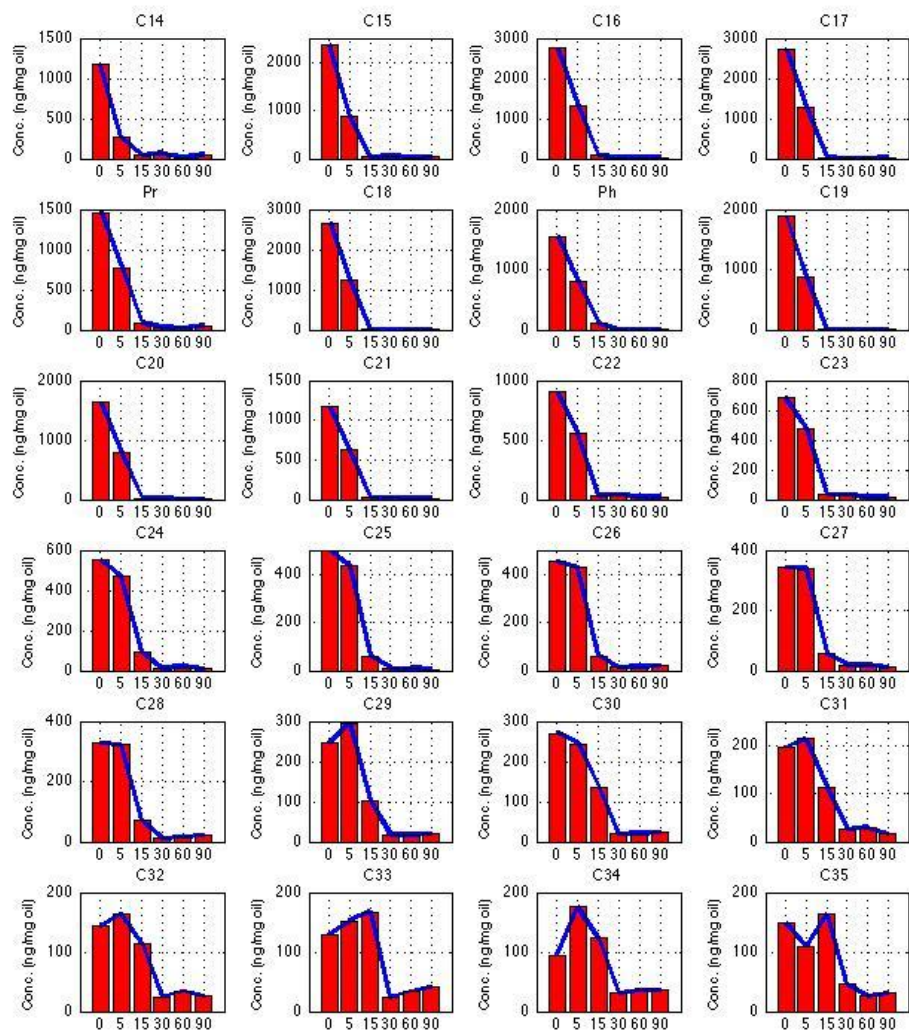
Σχήμα 3.1: Πειραματική Δοκιμή Control -Μεταβολή της συγκέντρωσης των συστατικών εκφρασμένη σε ng/mg πετρελαίου συναρτήσει του χρόνου, εκφρασμένου σε ημέρες



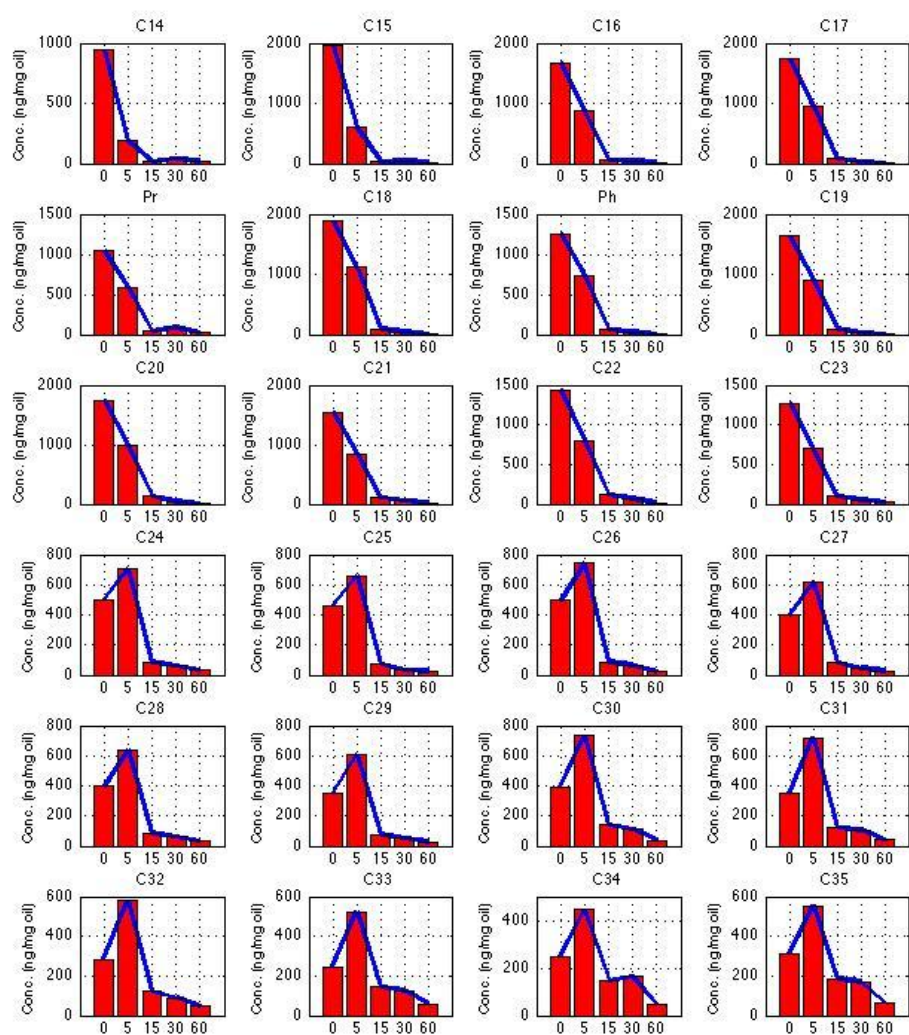
Σχήμα 3.2: Πειραματική Δοκιμή NPK - Μεταβολή της συγκέντρωσης των συστατικών εκφρασμένη σε ng/mg πετρελαίου συναρτήσει του χρόνου, εκφρασμένου σε ημέρες



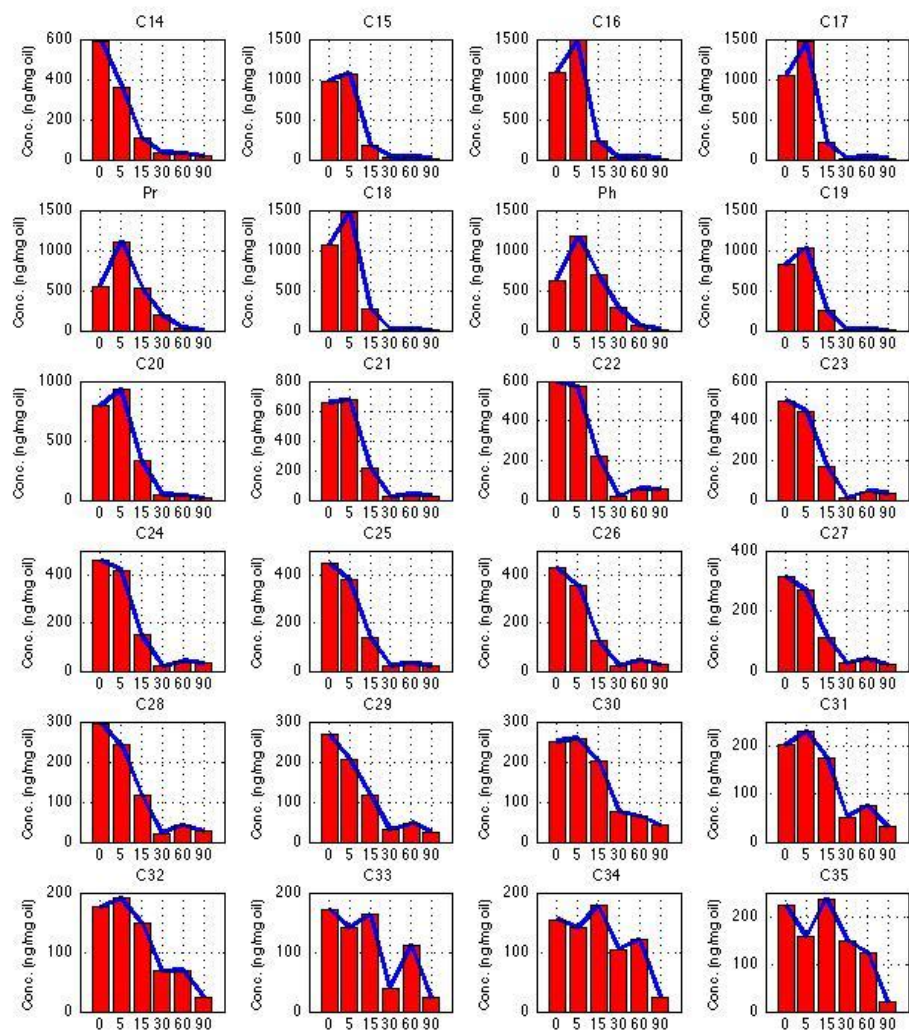
Σχήμα 3.3: Πειραματική Δοκιμή NPK- Μεταβολή της συγκέντρωσης των συστατικών εκφρασμένη σε ng/mg πετρελαίου συναρτήσει του χρόνου, εκφρασμένου σε ημέρες



Σχήμα 3.4: Πειραματική Δοκιμή NPKM- Μεταβολή της συγκέντρωσης των συστατικών εκφρασμένη σε ng/mg πετρελαίου συναρτήσει του χρόνου, εκφρασμένου σε ημέρες



Σχήμα 3.5: Πειραματική Δοκιμή ULR - Μεταβολή της συγκέντρωσης των συστατικών εκφρασμένη σε ng/mg πετρελαίου συναρτήσει του χρόνου, εκφρασμένου σε ημέρες



Σχήμα 3.6: Πειραματική Δοκιμή ULRM-Μεταβολή της συγκέντρωσης των συστατικών εκφρασμένη σε ng/mg πετρελαίου συναρτήσει του χρόνου, εκφρασμένου σε ημέρες

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Γ

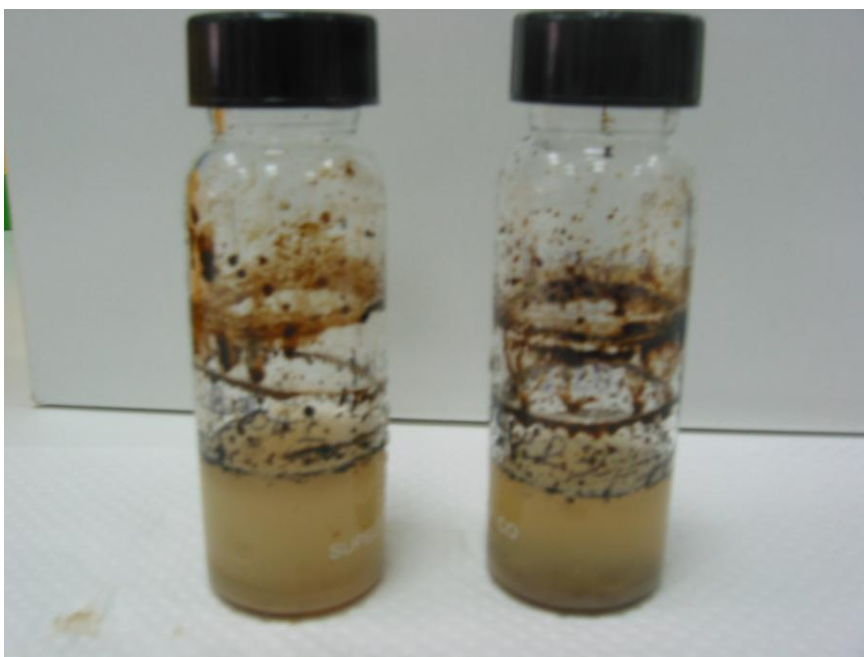
Εικόνες φιαλών των Πειραματικών Δοκιμών



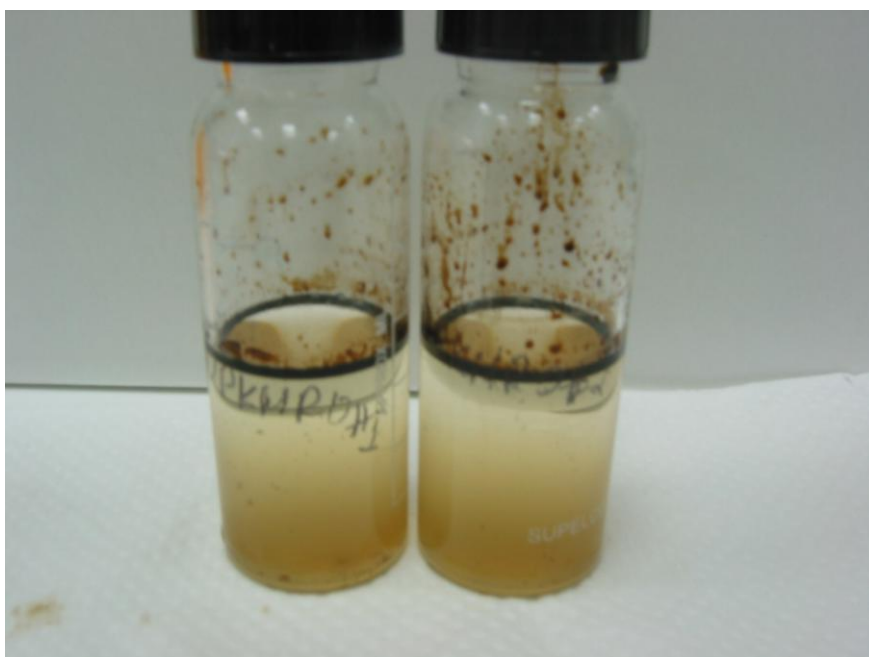
Εικόνα 3.1:Πειραματική Δοκιμή Control



Εικόνα 3.2:Πειραματική Δοκιμή NPK



Εικόνα 3.3: Πειραματική Δοκιμή ULR



Εικόνα 3.4: Πειραματική Δοκιμή NPKMR

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] National Academy of Sciences (1985). Oil in the sea: Inputs, Fates and Effects, National Academy Press, Washington DC
- [2] The International Tanker Owners Pollution Federation Ltd (2005). Oil tanker statistics: 2010, Last reviewed: <http://www.itopf.com/stats.html>
- [3] Exxon Valdez Oil Spill Trustee Council
- [4] deep horizon
- [5] Ν. Καλογεράκης, Χανιά 2010, «Βιολογικές Μέθοδοι Εξυγίανσης Περιβάλλοντος»
- [6] http://www.aquaguard.com/Skimmers/RBS_offshore.html
<http://www.avertdisasters.org/html/oiltech.html>
- [7] Ντακουνάκη Βηθλεέμ, Χανιά 2007, « Τεχνολογίες Απορρύπανσης Εδαφών από Πετρελαιοειδή»
- [8] Μαρία Νικολοπούλου, Χανιά 2005, «Ενισχυμένη Βιοδιέργεση Εγγενών Θαλάσσιων Μικροοργανισμών με τη Χρήση Λιπόφιλων Λιπασμάτων σε συνδυασμό με Επιφανειοδραστικές Βιολογικές Ουσίες για Αποικοδόμηση Πετρελαιοκηλίδων»
- [9] NOAA (1992). Shoreline Countermeasure Manual, National Oceanic and Atmospheric Administration, Seattle Washington
- Environmental Sensitivity Index-ESI
- [10] R. L. Pecsok, L. D. Shields, T. Cairns, I. G. McWilliam, (μετ. Σ. Βολιώτης) Πνευματικός Γ.Α., Αθήνα 1980, «Σύγχρονες Μέθοδοι στη Χημική Ανάλυση»
- [11] Guide to Solid Phase Extraction, Bulletin 910
- [12] Ν.Πασαδάκης, Χανιά 2002, «Οργανική Γεωχημεία Ιζηματογενών Πετρωμάτων»
- [13] (Oregon State University/ Environmental Health Sciences Center)
- [14] Environmental Protection Agency Pt.300, App.C
- [15] Μ. Nikolopoulou, N.Kalogerakis «Biostimulation Strategies for Enhanced Bioremediation of Marine Oil Spills Including Chronic Pollution»

- [16] John W.Dolan, Jul 2009, Calibration Curves, Part IV:Choosing the Appropriate Model
- [17] ThomasJ.Mc Donald, Bo Wang, Susanne J. ,TDI-Brooks International /B&B Laboratories Inc.College Station, «Quantitative Determination of Aromatic Hydrocarbons Using Selected Ion Monitoring Gas Chromatography/Mass Spectrometry
- [18] Trine S.Jensen, Eric Arvin, Denmark 2000 «Quantification of Compositional Changes Oof Petroleum Hydrocarbons by GC/FID and GC/MS during a Long-Term Bioremedation Experiment