



ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ ΥΓΡΩΝ ΑΠΟΒΛΗΤΩΝ
ΕΛΑΙΟΥΡΓΕΙΩΝ ΣΤΟ ΕΔΑΦΟΣ ΣΤΗΝ ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ
ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΩΝ ΚΟΙΝΟΤΗΤΩΝ ΚΑΙ ΤΟΝ
ΒΙΟΓΕΩΧΗΜΙΚΟ ΚΥΚΛΟ ΤΟΥ ΑΝΘΡΑΚΑ

Διπλωματική Εργασία Μηλαίου Νεφέλη

Τριμελής Επιτροπή

- Παρανυχιανάκης Νικόλαος (επιβλέπων)
- Νικολαΐδης Νικόλαος
- Καρατζάς Γεώργιος

Αναπληρωματικός: Στεφανάκης Αλέξανδρος

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέπων καθηγητή μου, κύριο Παρανυχιανάκη Νικόλαο για την κατανόηση την εμπιστοσύνη που μου έδειξε καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της διπλωματικής εργασίας. Στη συνέχεια θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τις Φραντζέσκου Μαρία και την Safiye Tul του εργαστηρίου Γεωργικής Μηχανικής για την πολύτιμη βοήθεια τους σε ό,τι τις χρειάζονται. Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους φίλους και την οικογένεια μου, για την υποστήριξη τους όλο αυτό το χρονικό διάστημα.

Περιεχόμενα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	4
SUMMARY	5
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	6
1.1. Ελαιόδεντρο και ελαιόκαρπος	6
1.1.1. Ελαιόκαρπος.....	7
1.1.2. Ελαιόλαδο	8
1.1.3. Παραγωγή ελαιόλαδου	10
1.2. Υγρά Απόβλητα Ελαιοτριβείων (ΥΑΕ).....	12
1.2.1. Σύνθεση Υγρών Αποβλήτων Ελαιοτριβείων.....	13
1.2.2. Επιπτώσεις στο έδαφος	15
1.3. Μέθοδοι επεξεργασίας ΥΑΕ	16
1.3.1. Βιολογικές διεργασίες	16
1.3.2. Φυσικές/μηχανικές μέθοδοι.....	17
1.3.3. Χημικές μέθοδοι.....	18
1.3.4. Θερμικές μέθοδοι.....	20
1.4. Μελέτες για την επίδραση της μακροχρόνιας προσθήκης Υ.Α.Ε στο έδαφος.....	23
1.5. Ο κύκλος του αζώτου	25
1.5.1. Αζωτοδέσμευση και αναγωγή αζώτου προς αμμωνία	26
1.5.2. Νιτροποίηση.....	27
1.5.3. Απονιτροποίηση	28
1.6. Το άζωτο στο έδαφος.....	28
1.6.1. Απώλειες του εδαφικού αζώτου	29
1.7. Εισροές και εκροές αζώτου στο έδαφος.....	30
1.8. Αντικείμενα εργασίας.....	30
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	31
2.1. Πειραματική Διάταξη και Προετοιμασία	31
2.2. Υποκαπνισμός με χλωροφόρμιο	33
2.2.1. Οργανολογία	33
2.2.2. Εκχύλιση εδαφους.....	34
2.2.3. Διαδικασία προσδιορισμού βιομάζας	34
2.3. Προσδιορισμός συγκέντρωσης $\text{NO}_3\text{-N}$	34
2.4. Προσδιορισμός συγκέντρωσης $\text{NH}_4\text{-N}$	35
2.5. Απομόνωση και προσδιορισμός συγκέντρωσης DNA.....	35

2.6.	FTIR Gas Analyzer	36
2.6.1.	Λειτουργία FTIR Gas Analyzer	36
2.7.	Δυναμικός Ρυθμός Νιτροποίησης (PNR)	37
3.	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	38
3.1.	Αποτελέσματα	38
3.1.1.	Επίδραση ΥΑΕ στην συγκέντρωση $\text{NH}_4^+\text{-N}$ στο έδαφος.....	38
3.1.2.	Επίδραση ΥΑΕ στην συγκέντρωση $\text{NO}_3^-\text{-N}$ στο έδαφος	39
3.1.3.	Δυναμικός Ρυθμός Νιτροποίησης (PNR).....	40
3.1.4.	Ρυθμός αναπνοής.....	41
3.1.5.	Μικροβιακή Βιομάζα.....	42
3.2.	Συζήτηση.....	43
3.2.1.	Αμμωνιακό και νιτρικό N ($\text{NH}_4^+\text{-N}$, $\text{NO}_3^-\text{-N}$).....	43
3.2.2.	Δυναμικός Ρυθμός Νιτροποίησης.....	43
3.2.3.	Αναπνευστική δραστηριότητα	44
3.2.4.	Βιομάζα.....	45
4.	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	46
5.	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	47

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα διπλωματική εργασία διερευνάται η επίδραση των υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείων (ΥΑΕ) στο έδαφος ως πιθανή πρακτική για την εναπόθεση τους καθώς και η διαχείριση αυτών χωρίς τον επηρεασμό του εδάφους. Στόχος της διατριβής αυτής είναι η εκτίμηση των βραχυπρόθεσμων επιπτώσεων διαφορετικών φορτίων ΥΑΕ στις χημικές ιδιότητες του εδάφους, οι οποίες επηρεάζουν την ποιότητα και τη γονιμότητα του. Συγκεκριμένα παρακολουθούνται οι χημικές ιδιότητες του, όπως η συγκέντρωση των φαινολών, οι οποίες συνδέονται με την τοξικότητα του, η ανοργανοποίηση του οργανικού-C αλλά και η πιθανή διαταραχή του κύκλου του αζώτου N. Από τα αποτελέσματα μπορούμε να συμπεράνουμε ότι ακόμα και με τη μεγαλύτερη ποσότητα εναπόθεσης υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείου στο έδαφος η οποία ήταν 100% η πρακτική είναι αποτελεσματική. Αυτό γιατί τα εδαφικά δείγματα τα οποία δέχτηκαν αυτή την μεγάλη ποσότητα αποβλήτων δεν επηρεάστηκαν ανεπανόρθωτα. Επιπλέον παρατηρήθηκε μεγάλη αφομοίωση του οργανικού-C από το έδαφος με τη μεγαλύτερη μεταχείριση γεγονός που υποδηλώνει την καταλληλότητα του εδάφους ως εναλλακτικό μέσω για την διαχείριση των ΥΑΕ. Όσο αναφορά την απονιτροποίηση και την νιτροποίηση τα αποτελέσματα έδειξαν ότι μετά την εναπόθεση των ΥΑΕ στο έδαφος εκείνο θα επανέλθει σιγά σιγά στην αρχική του κατάσταση. Παρόλα αυτά είναι σημαντικό να γίνουν ακόμα περισσότερες μελέτες έτσι ώστε να μπορέσουμε να καθορίσουμε τις μέγιστες ποσότητες που μπορεί να δεχτεί κάθε έδαφος με βάση τα χαρακτηρίστηκα του, έτσι ώστε να μην δημιουργηθούν προβλήματα στην ποιότητα του.

SUMMARY

The present thesis investigates the impact of olive mill wastewater (OMW) on soil as a potential disposal practice, as well as the management of these wastes without affecting the soil. The aim of this thesis is to assess the short-term effects of different loads of OMW on the chemical properties of the soil, which affect its quality and fertility. Specifically, the chemical properties such as the concentration of phenols, which are linked to toxicity, the mineralization of organic C, and the possible disruption of the nitrogen N cycle are monitored. From the results, we can conclude that even with the highest quantity of OMW deposition in the soil, which was 100%, the practice is effective. This is because the soil samples that received this large quantity of waste were not irreversibly affected. Additionally, a significant assimilation of organic C by the soil was observed with the highest treatment, indicating the suitability of soil as an alternative means for OMW management. Regarding denitrification and nitrate, the results showed that after the deposition of OMW in the soil, it gradually returns to its initial state. However, it is important to conduct further studies to determine the maximum quantities that each soil can accept based on its characteristics, so as not to create problems in its quality.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Ελαιόδεντρο και ελαιόκαρπος

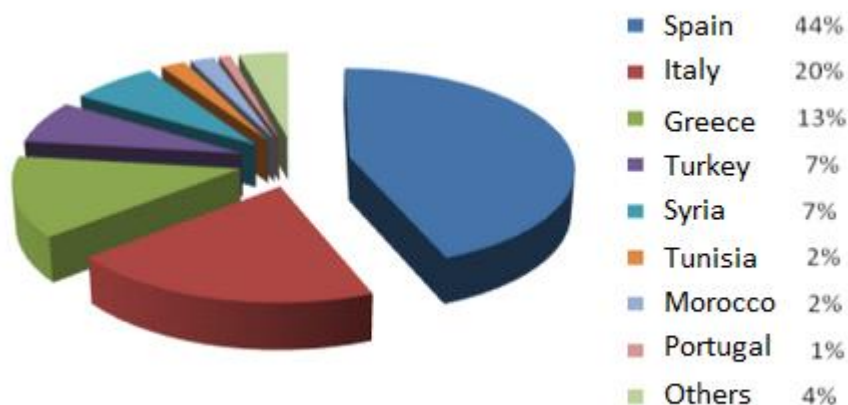
Η παραγωγή ελαιόλαδου από τον καρπό της ελιάς πραγματοποιείται σε αγροτοβιομηχανικές μονάδες εποχιακής λειτουργίας που ονομάζονται ελαιοτριβεία. Μαζί με το ελαιόλαδο, μετά από μία σειρά φυσικών διεργασιών παραλαμβάνεται και η ελαιοπυρήνα (λιοκόκκια) που συνιστάται από τα αλεσμένα στερεά συστατικά του καρπού, τα λιοφύλλα που έχουν μεταφερθεί με τον καρπό καθώς και μία σημαντική σε όγκο και οργανικό φορτίο ποσότητα υγρών αποβλήτων, τα οποία είναι γνωστά και ως κασίγαρος, λιόζουμα ή μούργες [1].



Εικόνα 1: Παραγωγή ελαιόλαδου και υπολειμμάτων από την επεξεργασία ελαιόκαρπου (Κυριτσάκης, 1988)

Η βιομηχανία παραγωγής ελαιόλαδου αποτελεί μία από τις σημαντικότερες βιομηχανίες τροφίμων στη χώρα μας. Στις Μεσογειακές χώρες οι οποίες αποτελούν τις κατ' εξοχήν ελαιοπαραγωγικές χώρες παράγεται το 95 % της παγκόσμιας παραγωγής ελαιόλαδου [2]. Η Ισπανία βρίσκεται στην πρώτη θέση στην παγκόσμια παραγωγή ελαιόλαδου (44%). Ένω στη δεύτερη θέση βρίσκεται η Ιταλία (20%). Η Ελλάδα βρίσκεται στην Τρίτη θέση κατέχοντας το 13% της παγκόσμιας παραγωγής. Τα κυριότερα ελαιοκομικά κέντρα βρίσκονται στην Πελοπόννησο, την Κρήτη, τα νησιά του Αιγαίου (κυρίως Λέσβος), τη Στερεά Ελλάδα και τα νησιά του Ιονίου (κυρίως Κέρκυρα) [1,3]. Από την συνολική παράγωγή ένα μικρό μέρος (περίπου 10%) προωθείται ως βρώσιμες ελιές, ενώ το μεγαλύτερο μέρος οδηγείται στα ελαιοτριβεία για περαιτέρω επεξεργασία και παραγωγή ελαιόλαδου. Η διάρκεια και

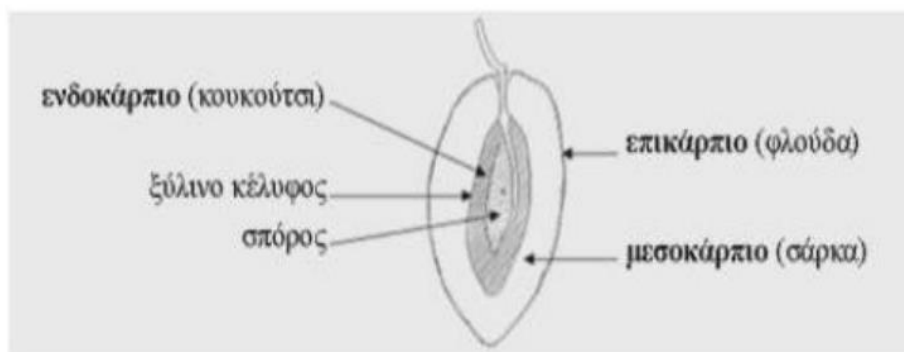
η ένταση της παραγωγικής λειτουργίας τους είναι εποχιακή και ανάλογη της καρποφορίας των δέντρων. Εξαρτάται επίσης από την περιοχή και τον τύπων των ελαιώνων που υπάρχουν σε κάθε περιοχή. Ένας μέσος χρόνος λειτουργίας τους θα μπορούσε να οριστεί ως 90 ημέρες με περίοδο αιχμής τους μήνες Δεκέμβριο με Ιανουάριο [1].



Εικόνα 2: Κατανομή παγκόσμιας παραγωγής ελαιόλαδου

1.1.1. Ελαιόκαρπος

Ο καρπός του ελαιόδεντρου από βοτανικής πλευράς ονομάζεται δρύπη, έχει ωοειδές σχήμα που πολλές φορές καταλήγει σε μυτερό άκρο. Η κύρια διαφορά της ελιάς (καρπός ελαιόδεντρου) με τα άλλα πυρηνόκαρπα (δρύπες) βρίσκεται στη χημική σύσταση. Ο καρπός της ελιάς αποτελείται από τρία τμήματα το επικάρπιο, το μεσοκάρπιο και το ενδοκάρπιο. Το επικάρπιο ή επιδερμίδα αποτελεί το 1,5-3,5% του συνολικού βάρους. Το μεσοκάρπιο ή σάρκα αποτελεί το 70-90% του συνολικού βάρους ενώ το ενδοκάρπιο ή πυρήνας είναι το ξυλώδες τμήμα και καταλαμβάνει το υπόλοιπο μέρος του. Η μέση χημική του σύσταση είναι 50-70% νερό, 22% λάδι, 19% υδατάνθρακες, 6% κυτταρίνη, 1,6% πρότεινες και 1,5% ανόργανα (τέφρα) [4,5].



Εικόνα 3: Σχηματική απεικόνιση καρπού ελιάς

Σε μικρές ποσότητες υπάρχουν και άλλα συστατικά όπως οργανικά οξέα, πηκτίνες, χρωστικές και πολυφαινόλες. Ο άγουρος καρπός είναι πράσινος σε χρώμα και περιέχει χλωροφύλλες, όσο ωριμάζει ο καρπός παράγονται ανθοκυάνες, μεταβάλλοντας το χρώμα σε πορφυρό. Όσο ο καρπός αφήνεται στο δέντρο για ωρίμανση το χρώμα του μετατρέπεται σε μαύρο. Κάτι που οφείλεται στην οξείδωση φαινολικών ενώσεων εντός καρπού, αντίδραση κατά την οποία σχηματίζονται μελανίνες. Παρακάτω παρουσιάζονται τα κυριότερα συστατικά με την σημαντικότερη μεταβολή κατά τη διάρκεια ζωής του καρπού:

- Το νερό αποτελεί το κύριο συστατικό του καρπού καλύπτοντας το 70% του συνολικού βάρους. Στη μάζα αυτού του νερού, βρίσκονται διαλυμένα διάφορα οργανικά οξέα, σάκχαρα, τανίνες και άλλα συστατικά. Καθώς ο καρπός ωριμάζει και αυξάνεται η περιεκτικότητα του σε έλαιο, το ποσοστό αυτό μειώνεται αναλόγως.
- Η ελαιοευρωπαϊνή είναι το βασικότερο πολυφαινολικό συστατικό της ελιάς και προσδίδει την πικρή και δυσάρεστη γεύση του καρπού.
- Τα βασικότερα σάκχαρα του καρπού είναι η γλυκόζη, η φρουκτόζη, η μανόζη, η σακχαρόζη και η γαλακτόζη.
- Το ελαιόλαδο καλύπτει το 17-35% του βάρους της νωπής σάρκας.
- Οργανικά στοιχεία κυρίως οξέα όπως το οξικό, το φουμαρικό, το οξαλικό, το τρυγικό, το κιτρικό, το γαλακτικό και το μηλικό.
- Ανόργανα στοιχεία όπως ασβέστιο, κάλιο και σίδηρος.
- Πρωτεΐνες με συγκέντρωση που αγγίζει το 1,5-3%.
- Χρωστικές που παίζουν σημαντικό ρόλο στην απόχρωση του καρπού.[6]

1.1.2. Ελαιόλαδο

Το ελαιόλαδο αποτελεί έναν σημαντικό ρόλο στην διατροφή, την οικονομία και τον πολιτισμό των κατοίκων της Μεσογείου. Η ελαιοκαλλιέργειες είναι από τις πιο συχνές καλλιέργειες στη Μεσόγειο με κυριότερες ελαιοπαραγωγικές χώρες οι οποίες προαναφέρθηκαν την Ισπανία, την Ιταλία, την Ελλάδα και σε μικρότερο αλλά εξίσου σημαντικό βαθμό τη Τουρκία και το Μαρόκο. Ακόμα ελαιοπαραγωγικές χώρες είναι η Συρία, η Πορτογαλία, η Τυνησία, η Αίγυπτος και η Αλγερία [7].

Ο διαχωρισμός του ελαιόλαδου από τον ελαιόκαρπο γίνεται με φυσικές διεργασίες και χωρίς την χρήση χημικών μέσων, αυτό έχει ως αποτέλεσμα η ουσία που παίρνουμε να μην είναι ποτέ μια καθαρή λιπαρή ουσία. Έτσι αποτελείται κυρίως από τριακυλογλυκερίδια και δευτερευόντως από ελεύθερα λιπαρά οξέα και μη γλυκεριδικά συστατικά. Όλα αυτά τα συστατικά ευθύνονται για τα μοναδικά χαρακτηριστικά που έχει κάθε ελαιόλαδο, χαρίζοντας του χρώμα, σταθερότητα, συγκεκριμένο άρωμα και γεύση, χαρακτηριστικά που ορίζουν την ταυτότητα και την ποιότητα του [8,9]. Η ποιότητα κάθε ελαιόλαδου καθορίζεται από τη σύσταση του. Συγκεκριμένα την ποιότητα επηρεάζουν παράγοντες όπως η ποικιλία της ελιάς, οι καλλιεργητικές πρακτικές, οι εδαφοκλιματικές συνθήκες, το υψόμετρο, το στάδιο

ωρίμανσης και η μέθοδος συγκομιδής και παραλαβής στο ελαιотριβείο [10]. Τα συστατικά του ελαιόλαδου χωρίζονται σε δύο κατηγορίες τα σαπωνοποιήσιμα και τα ασαπωνοποιήτα. Στα πρώτα περιέχονται τα τριγλυκερίδια, τα ελεύθερα λιπαρά οξέα και τα φωσφατίδια. Παρακάτω παρουσιάζονται δύο πίνακες με την εκατοστιαία διακύμανση της περιεκτικότητας του ελαιόλαδου τόσο σε συνήθη τριγλυκερίδια όσο και σε λιπαρά οξέα.

Πίνακας 1:Εκατοστιαία διακύμανση της περιεκτικότητας του ελαιόλαδου σε τριγλυκερίδια [8].

Τριγλυκερίδια	Περιεκτικότητα %
OOO	40-59
POO	12-20
LOO	12,5-20
POL	5,5-7
SOO	3-7
Ο: ελαϊκό, Ρ: παλμιτικό, L: λινελαϊκό S: στεατικό	

Πίνακας 2:Εκατοστιαία διακύμανση τη σπεριεκτικότητας του ελαιόλαδου σε λιπαρά οξέα όπως προσδιορίζεται με αέρια χρωματογραφία (%m/m μεθυλεστέρας)*[11].

Λιπαρά οξέα	Περιεκτικότητα %
Μυριστικό (C14:0)	<0,03
Παλμιτικό (C16:0)	<7,50-20,00
Παλμιτελαϊκό (C16:1)	0,03-3,50
Δεκαεπτανικό (C17:0)	<0,30
Δεκαεπτενικό (C17:1)	<0,30
Στεατικό (C18:0)	0,05-5,00
Ελαϊκό (C18:1)	55,00-83,00
Λινελαϊκό (C18:2)	3,50-21,00
Λινολενικό (C18:3)	<1,00
Αραχιδικό (C20:0)	<0,60
Εικοσενικό (C20:1)	<0,40
Βρεχενικό (C22:0)	<0,20**
Λιγνοκηρικό (C24:0)	<0,20
* Τα όρια περιλαμβάνουν και την ακρίβεια της μεθόδου, ** <0,3 για τα πυρηνέλαια.	

Στα ασαπωνοποίητα συστατικά στηρίζεται η γεύση και η οσμή του ελαιόλαδου. Τα συστατικά αυτά είναι:

- Υδρογονάνθρακες
- Στερόλες
- Τοκοφερόλες
- Καροτινοειδείς χρωστικές
- Τριτερπενικές αλκοόλες
- Φαινόλες
- Φωσφολίπη
- Χρωστικές
- Πτητικά συστατικά
- Φαινολικά συστατικά [6]

1.1.3. Παραγωγή ελαιόλαδου

Η εξαγωγή του ελαιόλαδου γίνεται με τρεις τρόπους:

- A. Με την κλασική μέθοδο (πίεση του ελαιόπολτου σε υδραυλικό πιεστήριο)
- B. Με φυγοκεντρικά συστήματα τριών φάσεων (τριφασικά ελαιοτριβεία)
- C. Με φυγοκεντρικά συστήματα δύο φάσεων (διφασικά ελαιοτριβεία).

Αναλόγως τον τύπο του ελαιοτριβείου παρουσιάζονται διαφορές στο τελικό προϊόν, με τα ελαιοτριβεία κλασσικής μεθόδου (παραδοσιακού τύπου ελαιοτριβεία) να παράγουν το καλύτερης ποιότητας λάδι [12]. Τα ελαιοτριβεία που υπάρχουν στην Ελλάδα ανέρχονται στα 2310, σύμφωνα με τον οργανισμό ελέγχου επιδοτήσεων ελαιόλαδου. Από αυτά τα 282 είναι παραδοσιακής-κλασσικής επεξεργασίας και τα 2028 είναι φυγοκεντρικά [13] και κυρίως τριών φάσεων.

Υπάρχουν και άλλες μέθοδοι παραγωγής ελαιόλαδου οι οποίες δεν έχουν ευρεία χρήση. Ονομαστικά αυτές είναι : ηλεκτροφόρηση, χημικός διαχωρισμός, διεργασία αφαίρεσης του πυρήνα και διήθηση [13].

Παρακάτω θα αναλυθούν οι τρεις τρόποι επεξεργασίας:

A. Κλασσική Μέθοδος – Παραδοσιακά Πιεστήρια

Σε αυτή τη διαδικασία γίνεται ο διαχωρισμός της υδατικής φάσης (ελαιόλαδο) από την στέρεη φάση (ελαιοπυρήνας), ενώ ο τελικός διαχωρισμός του ελαιόλαδου πραγματοποιείται με φυγοκέντρωση. Η ελαιομάζα τοποθετείται σε ελαιοπανα και οδηγείται στο υδραυλικό πιεστήριο όπου με την σύνθλιψη η υγρή φάση διέρχεται από το ελαιοπανο και οδηγείται στο διαχωριστήρα όπου γίνεται η παραλαβή ελαιόλαδου. Η υγρή φάση αποτελείται από το ελαιόλαδο, τα φυτικά υγρά και μία μικρή ποσότητα στερεών που διαφεύγουν από τα ελαιοδιαφράγματα. Το μείγμα αυτό του ελαιόλαδου και των φυτικών υγρών πρέπει να διαχωριστεί. Δύο είναι οι μέθοδοι διαχωρισμού, η μέθοδος της καθίζησης και η μέθοδος της φυγοκέντρωσης. Στην πρώτη το μείγμα αφήνεται για μεγάλο χρονικό διάστημα σε μεγάλες δεξαμενές ώπου τα σταγονίδια του ελαιόλαδου να συγκεντρωθούν στην επιφάνεια. Όμως

λόγω της μεγάλης αναμονής και επαφής του ελαιόλαδου με τα φυτικά υγρά αλλοιώνεται η ποιότητα του. Στη δεύτερη μέθοδο χρησιμοποιούνται κατακόρυφοι φυγόκεντροι διαχωριστές οι οποίοι πολλαπλασιάζουν την βαρυτική δύναμη διαχωρίσεως που υπάρχει λόγω διαφοράς ειδικού βάρους του ελαιόλαδου και των φυτικών υγρών. Όμως με τις υψηλές ταχύτητες που αναπτύσσονται παγιδεύεται αέρας στην μάζα του ελαιόλαδου μειώνοντας την διαύγεια του και οξειδώνοντας το [14].

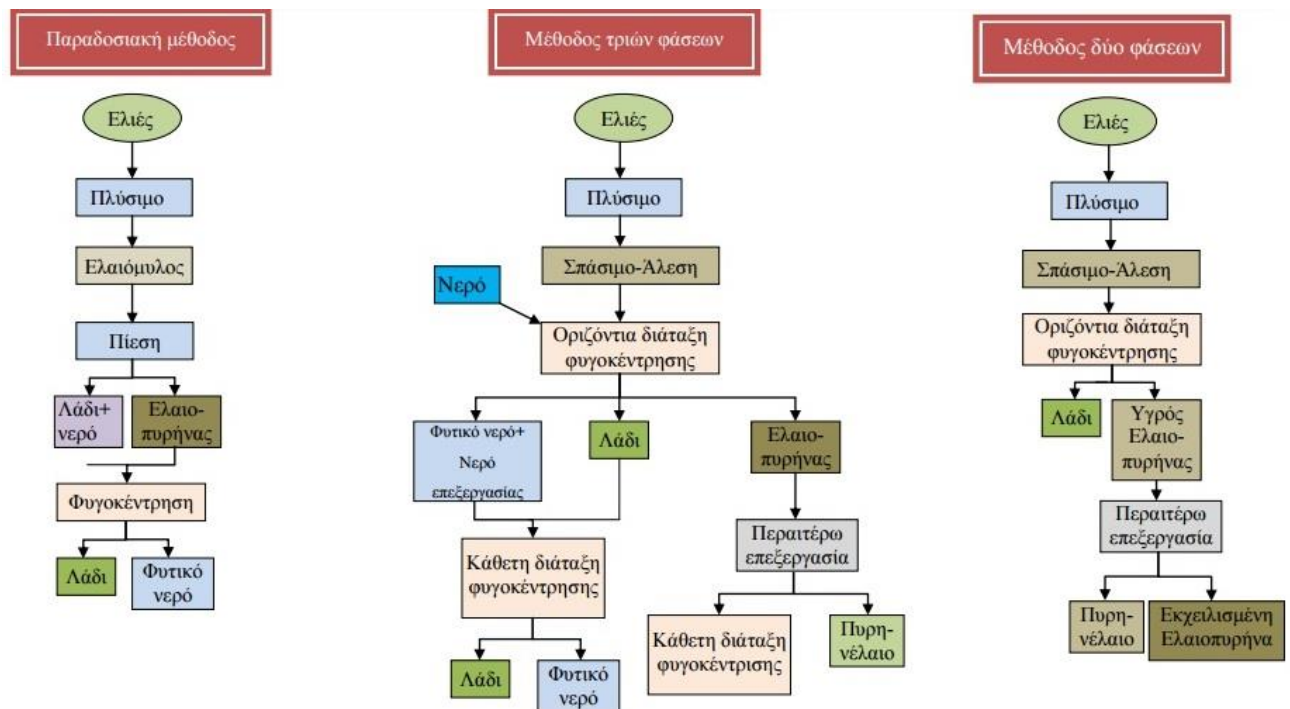
Β. Φυγοκέντρωση Τριών Φάσεων

Η φυγοκέντρωση είναι μια διαδικασία διαχωρισμού του ελαιόλαδου από την ελαιοζύμη, που βασίζεται στην διαφορά ειδικού βάρους που παρουσιάζουν τα συστατικά της ελαιοζύμης. Παράγει χωριστά λάδι, νερό (απόνερα) και στέρεο υπόλειμμα (πυρήνα). Η διαδικασία ξεκινά με την προσθήκη θερμού νερού στην ελαιοζύμη έτσι ώστε να αραιωθεί και στη συνέχεια οδηγείται σε έναν οριζόντιο φυγοκεντρικό διαχωριστήρα τριών φάσεων. Εκεί γίνεται ο διαχωρισμός σε τρία κλάσματα: ένα στερεό, ένα υγρό που αποτελείται κυρίως από ελαιόλαδο και μέρος των φυτικών υγρών και ένα δεύτερο υγρό κλάσμα που αποτελείται κυρίως από φυτικά υγρά και μέρος ελαιόλαδου. Στη συνέχεια ο διαχωρισμός του ελαιόλαδου από τα φυτικά υγρά και από μικρά διαμέτρου στερεά πραγματοποιείται σε κάθετους φυγοκεντρικούς διαχωριστήρες. Ένα μειονέκτημα αυτής της διαδικασίας είναι η αύξηση των ποσοτήτων των υγρών αποβλήτων που παράγονται λόγω αυξημένης κατανάλωσης νερού [15].

Γ. Φυγοκέντρωση Δύο Φάσεων

Σε αντίθεση με τα ελαιοτριβεία τριών φάσεων σε αυτά των δύο φάσεων ο φυγοκεντρικής δεν χρειάζεται αραιώση της ελαιοζύμης με νερό και τη διαχωρίζει τελικά σε δύο μέρη. Σε αυτή τη διαδικασία τα τελικά προϊόντα είναι το ελαιόλαδο και ο ελαιοπυρήνας στον οποίο ενσωματώνονται τα απόνερα [16].

Τα διφασικά συστήματα εξαγωγής ελαιόλαδου πλεονεκτούν έναντι των τριφασικών συστημάτων στα εξής σημεία: (α) η ποσότητα του ελαιόλαδου που παράγεται είναι μεγαλύτερη, καθώς δεν προστίθεται νερό για την αραιώση της ελαιοζύμης, οπότε αποφεύγεται ο σχηματισμός γαλακτώματος ελαίου/ύδατος, (β) η ποιότητα του ελαιόλαδου είναι καλύτερη λόγω της αυξημένης συγκέντρωσης του σε φυσικά αντιοξειδωτικά (πολυφαινόλες), που το καθιστούν σταθερότερο κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης του, (γ) η μειωμένη κατανάλωση νερού και η παραγωγή μίας μικρής ποσότητας υγρών αποβλήτων, (δ) το χαμηλό κόστος κατασκευής και λειτουργίας του καθώς και οι μειωμένες απαιτήσεις σε ενέργεια. Όμως το μειονέκτημα της διφασικής διαδικασίας είναι ότι ο ελαιοπυρήνας που προκύπτει, έχει αυξημένη υγρασία, υψηλές συγκεντρώσεις σε σάκχαρα και στερεά, οπότε καθίσταται δύσκολος χειρισμός, η μεταφορά και η επεξεργασία του [16].



Εικόνα 4: Διαγράμματα παραγωγής ελαιόλαδου.

1.2. Υγρά Απόβλητα Ελαιοτριβείων (ΥΑΕ)

Τα υγρά απόβλητα προέρχονται από την επεξεργασία του ελαιόκαρπου στα ελαιοτριβεία. Η διαχείριση τους αποτελεί σημαντικό πρόβλημα στις Μεσογειακές χώρες οι οποίες παράγουν το μεγαλύτερο μέρος της παγκόσμιας παραγωγής ελαιόλαδου. Σε αυτές τις χώρες παράγονται περίπου 11×10^6 tn ελιάς ετησίως από τις οποίες εξάγονται $1,7 \times 10^6$ tn ελαιόλαδου [17,18,19]. Από την συγκεκριμένη διαδικασία παράγονται περισσότερο από 30×10^6 m³ ΥΑΕ [20].

Τα φυτικά υγρά (κατσίγαρος) αποτελούν τον κυριότερο τύπο υγρών αποβλήτων λόγω της περιβαλλοντικής επιβάρυνσης που προκαλούν. Δευτερεύουσας σημασίας υγρά απόβλητα είναι το νερό πλύσης του καρπού και το νερό που χρησιμοποιείται στους διαχωριστήρες για την τελική διαύγαση του ελαιόλαδου [21].

Τα ΥΑΕ αποτελούν ένα όξινο υγρό, υψηλής ηλεκτρικής αγωγιμότητας και σκούρου κόκκινου χρώματος έως και μαύρου. Αναλόγως με την ποικιλία της ελιάς, των κλιματικών συνθηκών κατά την ανάπτυξη του καρπού, τις εφαρμοζόμενες καλλιεργητικές πρακτικές, το χρόνο αποθήκευσης των καρπών και την ακολουθούμενη διαδικασία παραλαβής ελαιόλαδου διαφοροποιείται ο όγκος και η σύνθεση των ΥΑΕ [22].

1.2.1. Σύνθεση Υγρών Αποβλήτων Ελαιουργείων

Τα υγρά απόβλητα αποτελούνται από ένα υδατικό εκχύλισμα, το οποίο περιέχει μία σειρά από ουσίες όπως σάκχαρα, Ν-ενώσεις, οργανικά οξέα, πολυαλκοόλες, πολυφαινόλες και υπολείμματα ελαίου. Τα ανόργανα συστατικά που εμπεριέχονται στα απόβλητα όπως το κάλιο, ο φώσφορος, το μαγνήσιο και πολλά άλλα ιχνοστοιχεία παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον λόγω της θρεπτικής τους αξίας. Όμως τα περισσότερα από αυτά βρίσκονται σε οργανική μορφή και έτσι δεν είναι άμεσα διαθέσιμα για την πρόσληψη τους από τα φυτά. Μετά την αποικοδομητική δράση των μικροοργανισμών των αποβλήτων μπορούν να γίνουν διαθέσιμα και αξιοποιήσιμα.

Τα ΥΑΕ κατατάσσονται στα κατ'εξοχήν βεβαρημένα γεωργικά βιομηχανικά απόβλητα λόγω του ρυπαντικού τους φορτίου. Συγκεκριμένα, ένα μεσαίου μεγέθους ελαιολατρείο παράγει ανά περίοδο συγκομιδής απόβλητα που αντιστοιχούν σε ετήσια απόβλητα μίας πόλης 30.000 κατοίκων [23].

Από χημικής άποψης τα ΥΑΕ αποτελούνται από 83-94% νερό, 4-16% οργανικές ενώσεις (πηκτίνες, λιπίδια, πρωτεΐνες, πολυαλκοόλες, πολυσακχαρίδια, οργανικά οξέα, αλκοόλες, αλδεΐδες και οργανικά μόρια χαμηλού βάρους) και 0,4-2,5% ανόργανα άλατα (άλατα ανθρακικού οξέος, φωσφορικά άλατα (0,25%), ιόντα νατρίου (0,12%), καλίου (0,87%), ασβεστίου (0,10%), σιδήρου, χαλκού, μαγνησίου, μαγγανίου, ψευδαργύρου και χλωρίου) [13,24].

Τα γενικά χαρακτηριστικά των υγρών αποβλήτων τα οποία παραμένουν ίδια σε όλα είναι:

- Έντονα ιώδες σκούρο καφέ έως και μαύρο χρώμα
- Έντονη μυρωδιά ελαιόλαδου
- Μεγάλο οργανικό φορτίο
- Τιμές pH 3 έως 6
- Υψηλή ηλεκτρική αγωγιμότητα
- Μεγάλη περιεκτικότητα σε στερεή ουσία
- Πλούσιο οργανικό φορτίο (N,P,K,Mg)
- Μεγάλη συγκέντρωση πολυφαινολικών ενώσεων
- Μεγάλη συγκέντρωση λιπιδίων και αλάτων [18].

Πίνακας 3:Σύνθεση υγρών αποβλήτων ελαιουργείων (σε mg/L, το PH δεν έχει μονάδες, η EC είναι σε dS/m)[19]

Παράμετροι	Τιμή
pH	4.9 (±0.17)
EC (mS/cm)	3.3 (±0.1)
Mg ²⁺ (mg/L)	104 (±2.5)
K ⁺ (mg/L)	4220 (±57)
Ca ²⁺ (mg/L)	148 (±2.4)
Cr (_g/L)	<0.08
Mn (_g/L)	1613 (±17)
Ni (_g/L)	184 (±4)
Zn (_g/L)	2943 (±30)
As (_g/L)	<0.016
Cd (_g/L)	<0.033
Hg (_g/L)	<0.51
Pb (_g/L)	6.7 (±0.06)
NO ₃ -N (mg/L)	224 (±37)
NH ₄ -N (mg/L)	455 (±28)
TKN (mg/L)	1536 (±158)
PO ₄ -P (mg/L)	653
COD (mg/L)	57.384 (±2500)
TOC (mg/L)	24,285
T. phenols (mg/L)	6337 (±356)

Οι πολυφαινολικές ενώσεις, συστατικό του καρπού συναντάται στα υγρά απόβλητα και τους προσδίδει τοξικές ιδιότητες, επίσης έχει αναφερθεί σημαντική επίδραση στον κύκλο του N [19,25,26]. Τα ΥΑΕ περιέχουν επίσης χρήσιμες και οι πολύτιμες ενώσεις όπως τα αζωτούχα, τα αμμωνιακά, τα φωσφορούχα και τα καλιούχα άλατα κατάλληλα για λίπανση κ.α. [23,27]. Τα οργανικά οξέα θεωρούνται δευτερευόντως υπεύθυνα για την φυτοτοξικότητα των ΥΑΕ και οι συγκεντρώσεις τους μπορούν να αυξηθούν υπό ορισμένες συνθήκες των αποβλήτων με αποτέλεσμα την αύξηση των τοξικών επιδράσεων τους και των δυσάρεστων οσμών [28].

Τα σάκχαρα αποτελούνται από εύκολα αφομοιώσιμα σάκχαρα, γλυκόζη και φρουκτόζη. Σε μικρότερες συγκεντρώσεις απαντώνται ενώσεις όπως η μαννόζη, η σακχαρόζη και η ραφινόζη, καθώς και ένα σακχαριδικό σύμπλοκο η υδρόλυση του οποίο δίνει γαλακτόζη, γλυκόζη, αραβινόζη, ξυλόζη, και γαλακτουρονικό οξύ. Τα οργανικά οξέα που βρίσκονται στα απόβλητα είναι το οξικό, το φουμαρικό, το γλυκερικό, το γαλακτικό, το μαλικό, το μαλονικό, το τρυγικό και τρικαρβαλυλικό οξύ [29].

1.2.2. Επιπτώσεις στο έδαφος

Σύμφωνα με πρόσφατες μελέτες σε εδάφη τα οποία έχουν δεχθεί ποσότητες ΥΑΕ είτε ως λίπασμα είτε ως διάθεση τα αποτελέσματα δεν μπορούν να θεωρηθούν καθοριστικά. Παρόλα αυτά έχουν παρατηρηθεί επιπτώσεις, όπως αναστολή της βλάστησης των σπόρων, πρόωρη ανάπτυξη των φυτών [30], μεταβολές των χημικών ιδιοτήτων του εδάφους [31] και αλλαγές στην σύνθεση της μικροβιακής ποικιλότητας του εδάφους [32]. Πιο συγκεκριμένα, η εφαρμογή ΥΑΕ στο έδαφος επηρεάζει την ορμονική λειτουργία των φυτών, νεκρώνει τα νεαρά σποριόφυτα, αποκόπτει τα φύλλα και τους καρπούς, εμποδίζει την ανάπτυξη των σπόρων και των νέων φυτών ιδιαίτερα τα ποώδη φυτά. Όταν όλα τα προηγούμενα συστατικά βρεθούν σε υψηλές συγκεντρώσεις, δηλαδή να γίνει απευθείας διάθεσης των ΥΑΕ σε καλλιεργήσιμες εκτάσεις, τότε επηρεάζουν αρνητικά ιδιαίτερα τα φυτά που βρίσκονται στο σταδίο της βλαστικής ανάπτυξης. Η τοξικότητα των αποβλήτων οφείλεται στα φαινολικά συστατικά που εμπεριέχονται και στα μονομερή τους, ωστόσο η μείωση της περιεκτικότητας τους δεν ισοδυναμεί και με μείωση της τοξικότητας των αποβλήτων [32].

Παρά την τοξικότητα των αποβλήτων έχει παρατηρηθεί μια σημαντική επανάκαμψη του εδάφους. Το έδαφος αμέσως μετά την εναπόθεση των υγρών αποβλήτων παρουσιάζει μία φυτοτοξικότητα. Όμως μέσα σε διάρκεια έξι μηνών υπάρχει σχεδόν πλήρη ανάκαμψη της βλαστικής ικανότητας του εδάφους [33]. Μία πρόσφατη μελέτη που αφορά την βραχυπρόθεσμη επίδραση των υγρών αποβλήτων σε αρκετές χημικές και βιοχημικές ιδιότητες ενός εδάφους από στην περιοχή της Μεσογείου, έδειξε ότι η εφαρμογή των αποβλήτων προκάλεσε προσωρινές αλλά και μόνιμες αλλαγές στις ιδιότητες του εδάφους. Αρχικά παρατηρήθηκε απότομη αύξηση του ολικού οργανικού C και του διαθέσιμου P και ταυτόχρονα αύξηση της εδαφικής αναπνοής, της μικροβιακής βιομάζας και της ενεργότητας της LDH και της ουρίας. Το έδαφος έγινε έντονα φυτοτοξικό μετά την προσθήκη των αποβλήτων. Ωστόσο μετά από διάστημα 42 ημερών παρατηρήθηκε ανάκαμψη της βλαστικής ικανότητας του εδάφους. Οι επιπτώσεις στο έδαφος εξαρτώνται από τα ποσά των ευεργετικών και τοξικών οργανικών και ανόργανων συστατικών που βρίσκονται στα απόβλητα [33].

1.3. Μέθοδοι επεξεργασίας ΥΑΕ

Η διαχείριση και η επεξεργασία των ΥΑΕ αντιπροσωπεύουν ένα πολύπλοκο πρόβλημα που έχει κεντρίσει το ενδιαφέρον της διεθνούς επιστημονικής κοινότητας τις τελευταίες δεκαετίες. Αυτό οφείλεται τόσο στη φύση τους όσο και στις σοβαρές περιβαλλοντικές επιπτώσεις που μπορούν να προκαλέσουν. Τα ΥΑΕ έχουν διπλή φύση, καθώς αποτελούν ταυτόχρονα ισχυρό ρύπο αλλά και πηγή πολύτιμων συστατικών, όπως πολυφαινόλες, φλαβονοειδή, ανθοκυανίνες, ανόργανα ιχνοστοιχεία κ.λπ. Οι έρευνες επικεντρώνονται σε ευέλικτες και αποτελεσματικές διαδικασίες επεξεργασίας που εξασφαλίζουν την επαναχρησιμοποίηση των ΥΑΕ, ενώ ταυτόχρονα αντισταθμίζουν το υψηλό κεφάλαιο και λειτουργικό κόστος. Επίσης αρκετές σύγχρονες θεωρήσεις θεωρούν την δυνατότητα ανάκτησης και ανακύκλωσης πολύτιμων συστατικών [34].

Στις ενότητες που ακολουθούν παρουσιάζονται μερικές από τις πιο διαδεδομένες μεθόδους επεξεργασίας παγκοσμίως, κατηγοριοποιημένες ως βιολογικές, φυσικές/μηχανικές, χημικές και θερμικές.

1.3.1. Βιολογικές διεργασίες

Οι βιολογικές διεργασίες αξιοποιούν μικροοργανισμούς για την διάσπαση των οργανικών ενώσεων που υπάρχουν στα ΥΑΕ). Αυτές οι διεργασίες είναι επιτυχείς ως προς την μείωση της περιεκτικότητας των ΥΑΕ σε οργανική ύλη και ανόργανα θρεπτικά συστατικά. Διακρίνονται σε αερόβιες και αναερόβιες, ανάλογα με τις επικρατούσες συνθήκες (παρουσία ή απουσία O_2) [34]. Αυτές οι διεργασίες χαρακτηρίζονται για την φιλικότητά τους προς το περιβάλλον, την αποδοτικότητά τους, και η εφαρμογή τους είναι σχετικά οικονομική.

Αερόβιες διεργασίες

Οι μέθοδοι αυτοί έχουν αποδειχθεί αποτελεσματικές στη μείωση της τοξικότητας των εκροών, του COD και της περιεκτικότητας σε φαινολικές ενώσεις. Συγκεκριμένα, μελετητές έχουν χρησιμοποιήσει μικροοργανισμούς όπως ο *Candida boidinii*, ο *Geotrichum candidum*, ο *Penicillium sp.* και ο *Aspergillus niger*, επιτυγχάνοντας σημαντική μείωση των φαινολικών ενώσεων και του COD στα υγρά απόβλητα [35]. Επιπλέον, μελέτες έχουν αναγνωρίσει στελέχη μυκήτων από τα γένη *Geotrichum*, *Saccharomyces*, *Pichia*, *Rhodotorula* και *Candida* ως αποτελεσματικά στη μείωση της συγκέντρωσης των φαινολικών ενώσεων [36]. Αυτή η μείωση επετεύχθη ανεξάρτητα από τις αρχικές συγκεντρώσεις των ενώσεων αυτών.

Τέλος, προτείνεται ότι η αερόβια συνεπεξεργασία υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείου με αστικά λύματα μπορεί να αποτελεί αποδοτικότερη μέθοδο, υπό την προϋπόθεση ότι το ρυπαντικό φορτίο των ΥΑΕ είναι μικρότερο από εκείνο των αστικών λυμάτων.

Αναερόβιες διεργασίες

Κατά τη συγκεκριμένη διαδικασία πραγματοποιείται μία σειρά από μικροβιολογικές διεργασίες που μετατρέπουν τις οργανικές ενώσεις σε μεθάνιο και διοξείδιο του άνθρακα. Η αποδόμηση των οργανικών ουσιών γίνεται απουσία οξυγόνου και περιλαμβάνει τρία κύρια στάδια, την υδρόλυση, την οξεογένεση και την μεθανογένεση [37].

Ένα μειονέκτημα της μεθόδου παρατηρείται στο γεγονός ότι, όπως και στην αερόβια επεξεργασία, θεωρείται απαραίτητη η προεπεξεργασία των αποβλήτων. Αυτό περιλαμβάνει την επαρκή απομάκρυνση των πολυφαινολών ή την εφαρμογή πολλαπλών αραιώσεων του κλάσματος, με σκοπό την πιο αποτελεσματική αποικοδόμηση του οργανικού φορτίου [37].

1.3.2. Φυσικές/μηχανικές μέθοδοι

Αν και απλές φυσικές διεργασίες, όπως η αραιώση, η καθίζηση, η διήθηση και η φυγοκέντριση, έχουν χρησιμοποιηθεί με επιτυχία παγκοσμίως για την επεξεργασία των υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείων (ΥΑΕ), θεωρείται ότι καμία από αυτές τις διαδικασίες δεν είναι ικανή να επιτύχει μόνη της τη μείωση του οργανικού φορτίου και της τοξικότητας των μελετώμενων αποβλήτων σε αποδεκτά όρια [38].

Αραίωση

Η αραιώση αποτελεί μία από τις πιο απλές μεθόδους απομάκρυνσης του οργανικού φορτίου από τα υγρά απόβλητα. Αυτή η διαδικασία επιτυγχάνεται μέσω της ανάμειξής τους με νερό ή άλλα λύματα. Συχνά χρησιμοποιείται το νερό άρδευσης ή ακόμη και τα απόνερα που προκύπτουν από άλλα στάδια επεξεργασίας του ελαιοκάρπου, όπως η πλύση ή η μάλαξη. Η αραιώση οδηγεί σε σημαντική μείωση των ρυπογόνων ουσιών στα υγρά απόβλητα, καθιστώντας πιο εφικτή την επίτευξη των προβλεπόμενων προδιαγραφών για το επεξεργασμένο κλάσμα [38].

Συνήθως, η αραιώση εφαρμόζεται πριν από τη βιολογική επεξεργασία για τη μείωση της τοξικότητας στους μικροοργανισμούς που συμμετέχουν στην αποσύνθεση της οργανικής ύλης. Ένα μειονέκτημα αυτής της μεθόδου είναι ότι αυξάνεται ο όγκος των υγρών αποβλήτων που υπόκεινται σε επεξεργασία, με αντίστοιχη αύξηση των λειτουργικών κοστών της μονάδας [38].

Καθίζηση

Η καθίζηση αποτελεί μια απλή φυσική διεργασία που στοχεύει στον διαχωρισμό του υγρού κλάσματος των αποβλήτων από το στερεό μέσω της βαρύτητας. Τα απόβλητα παραμένουν σε ειδικές δεξαμενές καθίζησης για περίπου 10 ημέρες, επιτρέποντας στη διαλυμένη οργανική ύλη να καθίσει και να απομακρυνθεί ως λάσπη. Αυτή η μέθοδος οδηγεί σε μείωση της ποσότητας των υγρών αποβλήτων κατά περίπου 70-75%, ενώ παράλληλα σημειώνεται σημαντική μείωση του BOD (Βιολογικής Ανάγκης Οξυγόνου) [14].

Παρόλα αυτά, τόσο το υποκείμενο συμπύκνωμα όσο και το υπερκείμενο υγρό κλάσμα χρειάζονται περαιτέρω επεξεργασία. Η διαδικασία καθίζησης είναι γενικά αργή, αλλά μπορεί να επιταχυνθεί με την προσθήκη κατάλληλων κροκιδωτικών μέσων που επιταχύνουν τη συσώματωση και την τελική καθίζηση της διαλυμένης ύλης. Ωστόσο, αυτές οι ουσίες είναι συνήθως δαπανηρές, και το κόστος της χρήσης τους πρέπει να ληφθεί υπόψη από τη μονάδα επεξεργασίας.

Διήθηση

Στη μέθοδο της διήθησης, χρησιμοποιείται πορώδες υλικό (φίλτρο) με σκοπό την κατακράτηση των στερεών και κολλοειδών συστατικών από το υγρό κλάσμα των αποβλήτων. Συνήθως, ως υλικό φίλτρανσης χρησιμοποιείται άμμος ή αμμοχάλικο, ενώ υπάρχουν περιπτώσεις που χρησιμοποιείται και φίλτρο ενεργού άνθρακα για μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα στην κατακράτηση ακόμα και των μικρότερων υλικών. Ωστόσο, η διήθηση ως μέθοδος προεπεξεργασίας έχει το σημαντικό μειονέκτημα του κορεσμού του μέσου φίλτρανσης, μειώνοντας αισθητά τη ροή του υγρού κλάσματος. Αυτό οδηγεί σε συχνή αντικατάσταση του υλικού φίλτρανσης, καθιστώντας τη μέθοδο περιορισμένα αποδοτική και σχεδόν αδύνατη σε πρακτικό επίπεδο [39].

Φυγοκέντρωση

Οι μέθοδοι της φυγοκέντρωσης και της διήθησης αυξάνουν το pH και την αγωγιμότητα των αποβλήτων, ενώ απομακρύνουν την οργανική ύλη μέσω διαχωρισμού των διαφορετικών φάσεων. Κατά τη φυγοκέντρωση, το υγρό κλάσμα διαχωρίζεται σε τρεις διαφορετικές φάσεις: μια φάση ελαίου, μια υγρή φάση με διαλυμένα συστατικά και μια φάση καθιζάμενων υλών με κολλοειδή συστατικά και αιωρούμενα στερεά. Η φυγοκέντρωση έχει οικονομικά πλεονεκτήματα και σχετικά καλή αποτελεσματικότητα στη μείωση του COD των αποβλήτων έως και 70%. Επίσης, μπορεί να ανακτηθεί έως και 30% του ελαίου, το οποίο είναι επαναχρησιμοποιήσιμο. Παρ' όλα αυτά, τα επεξεργασμένα απόβλητα θεωρούνται υψηλού οργανικού φορτίου, καθώς τα διαλυμένα συστατικά δεν εξαλείφονται επαρκώς. Επομένως, συνήθως απαιτείται περαιτέρω βιολογική επεξεργασία ή συνδυασμός φυσικοχημικών και βιολογικών [39].

1.3.3. Χημικές μέθοδοι

Οι χημικές μέθοδοι επεξεργασίας αποβλήτων περιλαμβάνουν τη χρήση πρόσθετων χημικών ενώσεων με σκοπό την διάσπαση της αιωρούμενης και κολλοειδούς ύλης στα απόβλητα. Με αυτόν τον τρόπο, δημιουργείται ένα αδιάλυτο στερεό που μπορεί εύκολα να αφαιρεθεί από το υγρό κλάσμα. Οι χημικές μέθοδοι μπορούν να συμβάλουν στη μείωση των ελαιώδων συστατικών, των αιωρούμενων στερεών, καθώς και του COD και BOD. Ωστόσο, πρέπει να ληφθούν υπόψη ορισμένα

προβλήματα και περιορισμοί των χημικών μεθόδων, όπως το κόστος των αντιδραστηρίων, η πιθανότητα δημιουργίας επικίνδυνων υποπροϊόντων, και οι επιπτώσεις στο περιβάλλον. Επιπλέον, αυτές οι μέθοδοι συχνά χρειάζονται προσεκτική ρύθμιση για να εξασφαλιστεί η αποτελεσματική επεξεργασία των αποβλήτων.

Εξουδετέρωση

Η αποσταθεροποίηση των κολλοειδών ουσιών στα υγρά απόβλητα μπορεί να πραγματοποιηθεί με διάφορους τρόπους, όπως η μείωση ή αύξηση του pH (εξουδετέρωση) ή η προσθήκη ενός κροκιδωτικού παράγοντα επαγωγής ιζήματος (καθίζηση).

Εξουδετέρωση μείωσης του pH: Η μείωση του pH σε κοντά στο μηδενικό φορτίο έχει ως στόχο την αποσταθεροποίηση των κολλοειδών. Αυτή η διαδικασία δεν έχει λάβει πολλή προσοχή, αλλά αναμένεται ότι θα συμβάλει στην όξινη υδρόλυση των ελαίων, καθιστώντας τα πιο διαχωρίσιμα από τα υπόλοιπα κλάσματα.

Εξουδετέρωση αύξησης του pH με ασβέστη (CaO): Η προσθήκη ασβέστη για την αύξηση του pH, περίπου στο 11, έχει μελετηθεί προσεκτικά. Η επεξεργασία των υγρών αποβλήτων με ασβέστη, συνήθως εντός των δεξαμενών καθίζησης, εκτός από τη μείωση του COD, οδηγεί σε αποχρωματισμό των αποβλήτων και σημαντική μείωση των εκπεμπόμενων οσμών. Ωστόσο, παρά τα πλεονεκτήματα αυτής της μεθόδου, δημιουργεί μεγάλες ποσότητες ιλύος υψηλού ρυπαντικού φορτίου, προκαλώντας προβλήματα στη διάθεσή της.

Γενικά, παρόλο που η προεπεξεργασία με ασβέστη θεωρείται πρακτική και σχετικά οικονομική, υπάρχουν και μειονεκτήματα που πρέπει να ληφθούν υπόψη, όπως η παραγωγή ρυπαντικής ιλύος και η πιθανή επίδραση στα θρεπτικά συστατικά του εδάφους σε περιοχές όπου χρησιμοποιείται ως μέθοδος τελικής διάθεσης ή υδρολίπανσης αγροτεμαχίων [38].

Κροκίδωση

Η κροκίδωση αποτελεί μια χημική διεργασία που εφαρμόζεται για την αποσταθεροποίηση και τη συσσωμάτωση των αιωρούμενων σωματιδίων στα υγρά απόβλητα. Κατά αυτή τη μέθοδο, προστίθενται κατάλληλες χημικές ουσίες, γνωστές ως κροκιδωτικές ουσίες, προκειμένου να επιτευχθεί η αποσταθεροποίηση και η δημιουργία ιζήματος που μπορεί να διαχωριστεί εύκολα από το υγρό κλάσμα. Οι κροκιδωτικές ουσίες διακρίνονται σε ανόργανες και οργανικές.

Ορισμένα παραδείγματα ανόργανων κροκιδωτικών ουσιών περιλαμβάνουν το χλωριούχο σίδηρο (FeCl_3), το θειικό σίδηρο (Fe_2SO_4), το θειικό αργίλιο (Al_2SO_3), το πυριτικό νάτριο (Na_2SiO_3), το οξείδιο (CaO) ή υδροξείδιο του ασβεστίου (Ca(OH)_2). Αυτές οι ουσίες προστίθενται στα υγρά απόβλητα για να προκαλέσουν τη δημιουργία ιζήματος.

Από την άλλη πλευρά, τα οργανικά κροκιδωτικά αποτελούν υδατοδιαλυτά πολυμερή, όπως ανιονικοί, κατιονικοί και ουδέτεροι παράγοντες. Ενώ αυτή η μέθοδος δε θεωρείται αποδοτική για την εξάλειψη των οργανικών ρυπαντών των υγρών αποβλήτων, μπορεί να εφαρμοστεί επιτυχώς ως στάδιο περαιτέρω επεξεργασίας μετά από βιολογικές διεργασίες [37].

Προσρόφηση

Η προσρόφηση αποτελεί χημική μέθοδο επεξεργασίας υγρών αποβλήτων, κατά την οποία τα απόβλητα αναμιγνύονται με προσροφητικά υλικά, όπως ο ενεργός άνθρακας ή ο μπετονίτης. Σκοπός αυτής της διαδικασίας είναι η προσκόλληση των διαλυμένων συστατικών στην επιφάνεια των προσροφητικών υλικών. Παρόλο που ο ενεργός άνθρακας έχει κοκκώδη σύσταση και μεγάλη πορώδη επιφάνεια, καθιστώντας τον ένα ισχυρό προσροφητικό, η μέθοδος αυτή δεν έχει ευρεία εφαρμογή λόγω του κόστους του ενεργού άνθρακα.

Η προσρόφηση χρησιμοποιείται συνήθως ως συμπληρωματική μέθοδος επεξεργασίας και κυρίως με χρήση πιο οικονομικών προσροφητικών υλικών όπως ο μπετονίτης, ο οποίος είναι ένα φυσικό αργιλικό ορυκτό. Αυτή η μέθοδος μπορεί να επιτύχει μείωση πολυφαινολικών ενώσεων και COD σε ικανοποιητικό βαθμό, αλλά παραμένει περιορισμένη στη χρήση της, κυρίως εξαιτίας του κόστους των προσροφητικών υλικών.

Χημική Οξείδωση

Κατά τη χημική οξείδωση χρησιμοποιούνται οξειδωτικοί παράγοντες για τον εξευγενισμό και τον καθαρισμό των υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείου. Αυτή η διαδικασία αποσκοπεί στη διάλυση των ανθεκτικών και τοξικών ουσιών που μπορεί να περιέχονται στα υγρά απόβλητα. Οξειδωτικοί παράγοντες που έχουν χρησιμοποιηθεί περιλαμβάνουν το υπεροξείδιο του υδρογόνου, το όζον, το χλώριο, χλωριωμένα παράγωγα (όπως το διοξείδιο του χλωρίου, το υποχλωριούχο νάτριο, κ.λπ.) και συνδυασμοί αυτών. Τα συστήματα όζοντος και υπεροξειδίου του υδρογόνου προτιμώνται για το υψηλό οξειδωτικό τους δυναμικό και τη δυνατότητα λειτουργίας υπό ατμοσφαιρική πίεση και θερμοκρασία περιβάλλοντος χωρίς τη δημιουργία τοξικών παραπροϊόντων αποικοδόμησης του οξειδωτικού παράγοντα. Αυτές οι διεργασίες βοηθούν στον καθαρισμό των αποβλήτων ελαιοτριβείου από επικίνδυνες και ανθεκτικές ουσίες, προετοιμάζοντας τα για περαιτέρω επεξεργασία ή τελική διάθεση.

1.3.4. Θερμικές μέθοδοι

Ένας τρόπος διαχείρισης και επεξεργασίας ΥΑΕ είναι επίσης οι θερμικές διεργασίες που αφορά κυρίως, την αεριοποίηση, την πυρόλυση και την αποτέφρωση.

Αεριοποίηση

Η αεριοποίηση της βιομάζας είναι μια σύγχρονη μέθοδος για την επεξεργασία του ελαιοπυρήνα, ειδικά όταν έχει αφαιρεθεί το λάδι. Αυτή η μέθοδος βασίζεται σε έναν συνδυασμό ρευστοποιημένου (fluidised) και κινούμενου συστήματος (moving

system). Η διάταξη του εξαερωτή (gasifier) περιλαμβάνει διάφορες ζώνες αντίδρασης. Στο κατώτατο τμήμα, υπάρχει μια ρευστοποιημένη κλίνη που διατηρεί την απαραίτητη καύση (εξώθερμη αντίδραση). Αυτή η καύση εξασφαλίζει τη διατήρηση της θερμικής ισορροπίας σε ολόκληρο τον αντιδραστήρα. Στο ανώτερο τμήμα του εξαερωτή, υπάρχει μια κινούμενη κλίνη. Σε αυτή την κλίνη δεν πραγματοποιείται καύση, αλλά μια σειρά ενδόθερμων αεριοποιήσεων. Η μέθοδος βασίζεται στο ότι το αέριο που φθάνει στο ανώτερο τμήμα του εξαερωτή περιέχει χαμηλή συγκέντρωση O_2 και έχει υψηλή θερμοκρασία, περίπου 800-850 °C. Οι μεταβλητές λειτουργίας περιλαμβάνουν τη θερμοκρασία και την αναλογία αέρα/νερού. Αυτές οι παράμετροι επηρεάζουν τη σύνθεση του παραγόμενου αερίου και τη θερμαντική ισχύ [39].

Πυρόλυση

Η πυρόλυση αποτελεί μια διαδικασία αποσύνθεσης στερεών αποβλήτων σε απουσία οξυγόνου, χρησιμοποιώντας θερμότητα. Κατά τη διάρκεια αυτής της διαδικασίας, τα απόβλητα αντιδρούν με ατμό υπό υψηλή θερμοκρασία και πίεση, δημιουργώντας ένα συνθετικό αέριο (syngas) που αποτελείται κυρίως από μονοξείδιο του άνθρακα και υδρογόνο. Αυτό το συνθετικό αέριο μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως καύσιμο για την παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας, για την παραγωγή ηλεκτρικού ρεύματος ή ως χημικό αντιδραστήριο [39].

Η διαδικασία αυτή έχει περιορισμένη εφαρμογή και εφαρμόζεται σπάνια. Τα προϊόντα που προκύπτουν περιλαμβάνουν συμπυκνωμένο νερό, στερεά και υγρά υπολείμματα. Παρά τα οφέλη της πυρόλυσης, υπάρχουν και μειονεκτήματα, όπως η δημιουργία υγρών και στερεών υπολειμμάτων, καθώς και μεγάλες ποσότητες συμπυκνωμένου νερού που απαιτούν επιπρόσθετη διαχείριση. Η πυρόλυση μπορεί να εφαρμοστεί επιτυχώς σε διάφορα υλικά, όπως ξύλο, κυτταρίνη, αποξηραμένη λάσπη (ιλύς), απόβλητα φρούτων και λαχανικών με χαμηλή περιεκτικότητα σε νερό περίπου 5% [40].

Αποτέφρωση

Η αποτέφρωση αποτελεί μια αποτελεσματική μέθοδο επεξεργασίας υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείου. Κατά την αποτέφρωση, το οργανικό περιεχόμενο των αποβλήτων καταστρέφεται παρουσία αέρα σε υψηλή θερμοκρασία, παρακολουθούμενο από πλήρη εξάτμιση του νερού. Αυτή η διαδικασία είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική για τα υγρά απόβλητα ελαιοτριβείου λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς τους σε οργανικές ουσίες. Υπάρχουν διάφοροι τύποι αποτεφρωτήρων που χρησιμοποιούνται για αυτήν τη διαδικασία, όπως ο φούρνος ρευστοποιημένης κλίνης και οι θάλαμοι στατικής αποτέφρωσης. Επίσης, οι θάλαμοι αποτέφρωσης με περιστροφικούς σωλήνες χρησιμοποιούνται για τη συνδυασμένη αποτέφρωση στερεών και υγρών αποβλήτων. Σημαντικές παράμετροι κατά την αποτέφρωση είναι η θερμοκρασία, η οποία κυμαίνεται από 650°C μέχρι 1600°C, και η ποιότητα των υγρών αποβλήτων, καθώς το ιξώδες πρέπει να είναι μικρότερο από

10.000 SSU (Saybolt Universal Seconds). Παρά τα οφέλη της αποτέφρωσης, υπάρχουν προκλήσεις όπως η δημιουργία τέφρας και τα καυσαέρια, τα οποία απαιτούν επιπρόσθετη διαχείριση [40].

Στον παρακάτω πίνακα συγκρίνονται οι διάφορες μέθοδο επεξεργασίας αποβλήτων όπως παρουσιάστηκαν και παραπάνω:

Τύπος επεξεργασίας	Αποτελέσματα	Παρατηρήσεις
Φυσικοχημική επεξεργασία	Μείωση COD 30-50%, 80-95% με συνδυασμό μεθόδων	Φυγοκέντρωση, διήθηση, κροκίδωση, προσρόφηση
Αναερόβια χώνευση	Μείωση COD 60-80% με χρόνο παραμονής 2-5 ημέρες, ως 90% με αύξηση χρόνου ή προσθήκη υποστηρικτικών ουσιών	Αραίωση, ρύθμιση αλκαλικότητας, προσθήκη θρεπτικών
Αναερόβια χώνευση ύστερα από φυσικοχημική προεπεξεργασία	Μείωση COD ως 95% και φαινολών άνω του 90%	Προεπεξεργασία με διήθηση, προσρόφηση, οξείδωση
Αναερόβια χώνευση ύστερα από αερόβια προεπεξεργασία	Μείωση COD 40-60% στην προεπεξεργασία, 60-90% μείωση φαινολών, μείωση τοξικότητας	Προεπεξεργασία με επιλεγμένους μικροοργανισμούς
Αερόβια επεξεργασία	58-74% μείωση COD και 81-84% για μεγαλύτερους χρόνους παραμονής	Ενεργός ιλύς, τεχνητοί υγρότοποι
Συνδυασμένες βιολογικές μέθοδοι	Ως 90% μείωση COD και φαινολών	Συνδυασμοί δύο και τριών σταδίων
Αναερόβια χώνευση με άλλα απόβλητα	75-90% μείωση COD ανάλογα με την μετά-επεξεργασία και την αραίωση	Αραίωση με άλλα απόβλητα (αστικά λύματα)
Μέθοδοι οξείδωσης	40-60% μείωση COD ή 70-90% κάτω από έντονες συνθήκες οξείδωσης ή μετά από προεπεξεργασία	Όζον, ηλεκτροχημική οξείδωση, υγρή οξείδωση, AOPs, οξείδωση Fenton
Συνδυασμένες μέθοδοι	80-99% μείωση COD	Οξείδωση, βιολογική επεξεργασία, μεμβράνες

(Πηγή: Paraskeva and Diamadopoulos, 2006)

1.4. Μελέτες για την επίδραση της μακροχρόνιας προσθήκης Υ.Α.Ε στο έδαφος

Έχουν διενεργηθεί αρκετές μελέτες σε Πανεπιστήμια και Ερευνητικά Κέντρα των κυριότερων ελαιοπαραγωγικών χωρών της Μεσογείου, αναφορικά με τις πιθανές αλλαγές στις φυσικοχημικές ιδιότητες του εδάφους, το οποίο δεχόταν ανεπεξέργαστα απόβλητα ελαιοτριβείων. Επίσης, θέμα συζήτησης είναι η δυνατότητα αξιοποίησης των υγρών αποβλήτων (Υ.Α.Ε.) στο έδαφος και στις καλλιέργειες των φυτών. Μία άποψη βασίζεται στο γεγονός ότι η ευρεία χρήση μεθόδων διαχείρισης των Υ.Α.Ε., είτε φυσικοχημικών είτε βιολογικών, με δυνατότητα διάθεσής τους σε υδάτινους αποδέκτες, αντιμετωπίζει προκλήσεις λόγω του υψηλού κόστους, της απαίτησης περίπλοκου και δαπανηρού εξοπλισμού, καθώς και της δυσκολίας μείωσης του αρχικού ρυπαντικού φορτίου σε επιτρεπτά επίπεδα σύμφωνα με την Κοινοτική Περιβαλλοντική Νομοθεσία. Εξαιτίας αυτών των προκλήσεων, προτάθηκε η μέθοδος της παροχέτευσης των Υ.Α.Ε. στα καλλιεργούμενα εδάφη, γνωστή ως “φερτάρδευση” ή υδρολίπανση (fertirrigation), η οποία έχει αποδειχθεί ότι διαθέτει αξιοσημείωτη ερευνητική υπόσταση και επιφέρει θετικά αποτελέσματα. Στην προκειμένη μέθοδο, η εφαρμογή των Υ.Α.Ε. στο έδαφος μπορεί να γίνει είτε με προκατεργασία είτε χωρίς, χρησιμοποιώντας απλή τεχνολογία με χαμηλό κόστος, εκμεταλλευόμενη δύο βασικά χαρακτηριστικά των αποβλήτων που είναι η φυτική τους προέλευση και η λιπαντική τους αξία.

Σύμφωνα με τον Fiestas (1977, 1982), στην Ισπανία υπάρχει ευρεία πρακτική της άρδευσης ελαιώνων με ΥΑΕ σε περιοχές με υψηλές θερμοκρασίες και έλλειψη αρδευτικού νερού. Πριν από αυτή την εφαρμογή, τα απόβλητα εξουδετερώνονταν με τη χρήση ασβέστη [9]. Κατά τη διάρκεια των εφαρμογών των αποβλήτων, η τιμή της αγωγιμότητας αυξήθηκε από τα 0,3 mSc/cm, που ήταν πριν την εφαρμογή ΥΑΕ. Αυτή η αύξηση συνδέθηκε με τη μείωση της βλαστικότητας των σπόρων. Κατόπιν, η αγωγιμότητα μειώθηκε σε επίπεδα 0,82 mSc/cm και 0,57 mSc/cm μετά από 16 και 71 ημέρες αντίστοιχα μετά το τέλος της εφαρμογής των Υ.Α.Ε. στο έδαφος. Επίσης, παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση στην Ιονική Ανταλλαγή Κατιονικών (Ι.Α.Κ.) και στα επίπεδα Na, Mg και ιδίως K. Το K έχει ευεργετική επίδραση στη γονιμότητα των εδαφών. Επιπλέον, παρατηρήθηκε αύξηση στον οργανικό άνθρακα και τον συνολικό άζωτο του εδάφους, με την αναλογία C/N να αυξάνεται κατά 30-40% λόγω του υψηλού C/N των αποβλήτων. Αν και τα απόβλητα έχουν όξινη αντίδραση, το pH του εδάφους παρέμεινε σχεδόν αμετάβλητο [41]. Ενώ κάποιες άλλες μελέτες αναφέρουν ότι μετά την προσθήκη των Υ.Α.Ε. στο έδαφος, το pH μειώνεται αρχικά και στη συνέχεια επανέρχεται στις αρχικές τιμές του. Καμία μεταβολή δεν παρατηρήθηκε σε βάθος μεγαλύτερο από 40 cm από την επιφάνεια του εδάφους [41].

Σε έδαφος που δεχόταν συνεχείς προσθήκες Υ.Α.Ε., αυξάνεται ο οργανικός άνθρακας και το ολικό άζωτο, μειώνεται το νιτρικό και αμμωνιακό άζωτο και αυξάνεται το pH και η ηλεκτρική αγωγιμότητα [42].

Σε μια άλλη μελέτη εξετάστηκε η επίδραση των υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείων στον κύκλο του Ν. Τα αποτελέσματα αυτής της έρευνας έδειξαν ότι η περιεκτικότητα σε νιτρικά ιόντα ($\text{NO}_3\text{-N}$) στο έδαφος που είχε δεχθεί την εφαρμογή των υγρών αποβλήτων ήταν χαμηλότερη κατά τις πρώτες οκτώ εβδομάδες του πειράματος σε σύγκριση με το έδαφος-μάρτυρα. Επιπλέον, παρατηρήθηκε ότι η συνολική περιεκτικότητα σε άζωτο (N) εμφάνισε τάσεις μείωσης καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος, εκτός από τις πρώτες τέσσερις εβδομάδες. Κατά τη διάρκεια της πειραματικής περιόδου, το έδαφος που είχε δεχθεί τα υγρά αποβλήτων εμφάνισε χαμηλότερους ρυθμούς νιτροποίησης, με αποτέλεσμα την μείωση της διαθέσιμης ποσότητας αζώτου για τα φυτά. Η εμφανής μείωση των αμμωνιακών και νιτρικών ιόντων μετά την 8η εβδομάδα του πειράματος πιθανότατα αποδίδεται στην αφομοίωσή τους από την αυξημένη μικροβιακή χλωρίδα του εδάφους ή σε απώλειες λόγω απονιτροποίησης. Συνολικά, η μελέτη αυτή υποδεικνύει ότι η εφαρμογή των υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείων μπορεί να επηρεάσει τον κύκλο του Ν στο έδαφος, με δυνητικές επιπτώσεις στη διαθεσιμότητα του αζώτου και την απόδοση των καλλιέργειών [43].

Μετά τη συνεχή εφαρμογή των νωπών υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείων σε έδαφος για τρία συνεχόμενα έτη, δεν παρατηρήθηκαν αρνητικά αποτελέσματα στην κατάσταση του εδάφους και των φυτών. Οι σημαντικές αλλαγές που παρατηρήθηκαν στη σύνθεση του εδάφους κατά τη διάρκεια των πειραμάτων περιλάμβαναν την αύξηση της περιεκτικότητας του εδάφους σε κάλιο (K) και τις ολικές φαινόλες. Επιπλέον, η εφαρμογή των υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείων στο έδαφος αυξάνει την αναπνευστική δραστηριότητα των μικροοργανισμών σε σχέση με το έδαφος που δεν δέχθηκε ΥΑΕ. Αυτό συνδέεται σε μεγάλο βαθμό με την αποσύνθεση της οργανικής ύλης στο έδαφος. Η υψηλότερη αναπνευστική δραστηριότητα δείχνει την ικανότητα των μικροοργανισμών να αξιοποιούν και να αποσυνθέτουν τα μεταβλητά οργανικά υποστρώματα που εισέρχονται με τον κατσίγαρο. Η περιεκτικότητα του καλίου και των φαινολικών ενώσεων στο έδαφος ήταν σημαντικά υψηλότερη στο επιφανειακό στρώμα του εδάφους (0-25 cm), υποδεικνύοντας ότι παρά την εφαρμογή των υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείων κατά τη διάρκεια της περιόδου βροχών, η αύξηση του καλίου και των φαινολικών ενώσεων δεν είχε διαδοθεί σε όλο το βάθος του εδάφους [44].

Η προσθήκη ΥΑΕ στο έδαφος φαίνεται να έχει επιδράσεις και στον πληθυσμό των μικροοργανισμών του εδάφους. Σύμφωνα με τις έρευνες, η προσθήκη των αποβλήτων οδηγεί σε αύξηση του πληθυσμού των μικροοργανισμών, καθώς και σε αλλαγές στη σύστασή τους. Πιο συγκεκριμένα:

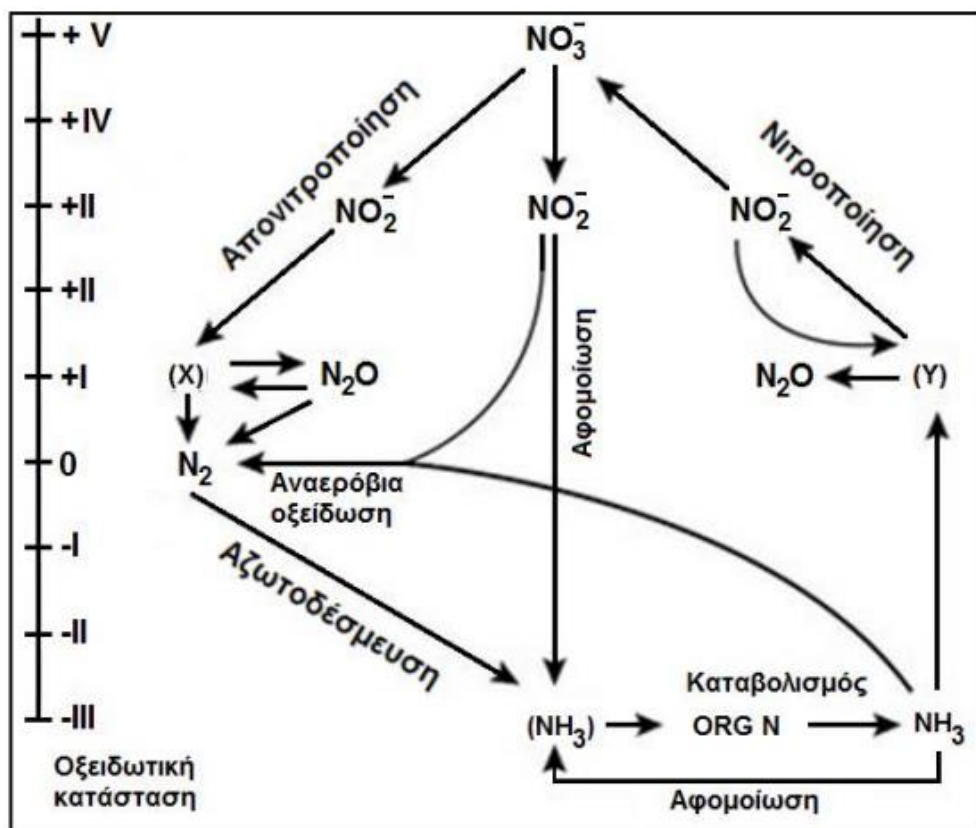
- Μετά την προσθήκη των Υ.Α.Ε. στο έδαφος, παρατηρήθηκε αύξηση του πληθυσμού των μικροοργανισμών. Συγκεκριμένα, ο αριθμός των βιώσιμων αναπαραγωγικών μονάδων (c.f.u.) αυξήθηκε κατά 20 φορές.
- Η προσθήκη των Υ.Α.Ε. φαίνεται να οδηγεί σε μεταβολή στην αναλογία των διαφορετικών πληθυσμών μικροοργανισμών στο έδαφος.

- Έρευνες έχουν δείξει ότι η προσθήκη των αποβλήτων ελαιοτριβείων αύξησε τον πληθυσμό των βακτηρίων και αύξηση της αγωγιμότητας τους εδάφους
- Η προσθήκη των Υ.Α.Ε. στο έδαφος φαίνεται να ευνοεί τα αζωτοδεσμευτικά βακτήρια. Λόγω του υψηλού περιεχομένου τους σε άνθρακα, τα Υ.Α.Ε. δημιουργούν ένα ευνοϊκό περιβάλλον για την ανάπτυξη των αζωτοδεσμευτικών μικροοργανισμών, κυρίως ειδών του γένους *Azotobacter* [45].

Συνολικά, οι επιδράσεις των ΥΑΕ στον πληθυσμό των μικροοργανισμών είναι πολύπλοκες και μπορεί να έχουν σημαντικές επιπτώσεις στη βιολογική και χημική δυναμική του εδάφους καθώς και στην απόδοση των καλλιεργειών.

1.5.Ο κύκλος του αζώτου

Μετά τον άνθρακα, το οξυγόνο και το υδρογόνο το άζωτο είναι το πιο συχνά παρατηρούμενο στοιχείο. Το άζωτο εμπεριέχεται σε πολλά συστατικά των ζωντανών κυττάρων όπως πρωτεΐνες, αμινοξέα, νουκλεια οξέα, πουρίνες, πυριμιδίνες, πορφυρίνες, αλκαλοειδή και βιταμίνες. Τα άτομα του αζώτου αυτών των ενώσεων προκύπτουν από τον κύκλο του αζώτου, ο οποίος στηρίζεται στα αποθέματα της ατμόσφαιρας [46]. Το άζωτο αφαιρείται από τη ατμόσφαιρα με την αζωτοδέσμευση και επιστρέφει με την απονιτρίτιση.



Εικόνα 5: Ο κύκλος του αζώτου [47]

Κάθε χρόνο με τη συγκομιδή των αγροτικών προϊόντων και την άρδευση των εδαφών, απομακρύνονται αρκετοί τόνοι αζώτου από το έδαφος. Παράλληλα προστίθενται και αρκετοί τόνοι αζώτου στο έδαφος, είτε με τη χρήση λιπασμάτων είτε με τη βροχόπτωση, όταν τα οξείδια του αζώτου που προκαλούν ηλεκτρικές εκκενώσεις ενυδατώνονται. Ένα σημαντικό μέρος από αυτό το άζωτο επιστρέφει μέσω της βιολογικής δέσμευσης του.

Διάφορες ανόργανες και οργανικές ενώσεις του αζώτου, όπως το N_2 , το NH_3 , το NO_x , το N_2O και το NH_2OH , μπορούν να θεωρηθούν στοιχεία του κύκλου του αζώτου. Έτσι, το άζωτο στη φύση μπορεί να βρίσκεται είτε σε μορφή υψηλά οξειδωμένη (NO_3) είτε σε μορφή αζώτου σε κατάσταση αναγωγής.

Στη φύση η αζωτοδέσμευση πραγματοποιείται από ορισμένα γένη βακτηρίων, συμπεριλαμβανομένων των κυανοπράσινων φυκών. Τα ανώτερα φυτά δεν διαθέτουν τη δυνατότητα αζωτοδέσμευσης, αν και ορισμένα συμμετέχουν έμμεσα μέσω συμβίωσης με βακτήρια.

1.5.1. Αζωτοδέσμευση και αναγωγή αζώτου προς αμμωνία

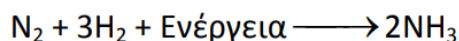
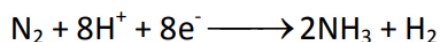
Για να μπορέσει το άζωτο να αφομοιωθεί από την φύση θα πρέπει να μετατραπεί σε αμμωνία (NH_3) ή σε νιτρικά ιόντα (NO_3^-) με τη βοήθεια της αζωτοδέσμευσης. Η αζωτοδέσμευση μπορεί να είναι είτε ατμοσφαιρική είτε βιολογική. Με την δεύτερη να προσφέρει μεγαλύτερα ποσά αφομοιώσιμου N για τα έμβια όντα (90% της συνολικής αζωτοδέσμευσης).

Αναλυτικότερα,

Κατά την ατμοσφαιρική αζωτοδέσμευση, το N της ατμόσφαιρας αντιδρά με είτε με τους υδρατμούς σχηματίζοντας αμμωνία είτε με το ατμοσφαιρικό οξυγόνο σχηματίζοντας νιτρικά ιόντα. Αυτά με τη σειρά τους μεταφέρονται στο έδαφος μέσω των βροχοπτώσεων.

Η βιολογική αζωτοδέσμευση πραγματοποιείται από ειδικούς μικροοργανισμούς που υπάρχουν στο έδαφος και στο νερό δηλαδή τα βακτήρια. Αυτά μπορεί να είναι είτε ριζόβια είτε ανεξαρτήτως δρώντα [47] [48].

Η αναγωγή του αζώτου προς αμμωνία περιγράφεται με την παρακάτω αντίδραση [49] [50]:

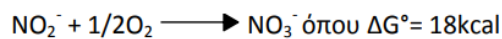
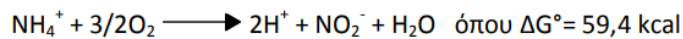


1.5.2. Νιτροποίηση

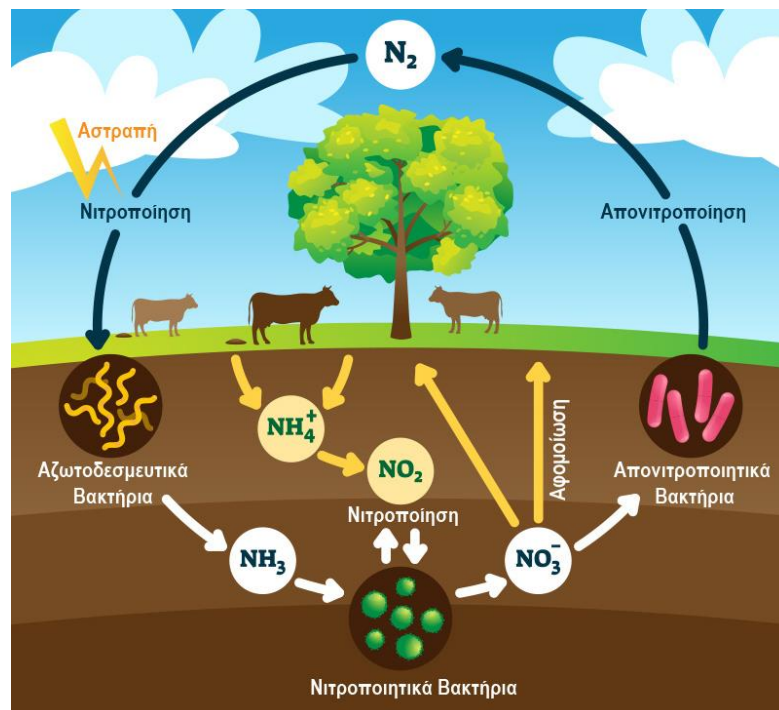
Η επιστροφή του αζώτου στο έδαφος πραγματοποιείται με την αποσύνθεση της οργανικής ύλης από τα βακτήρια. Αυτά μετατρέπουν την πλούσια σε άζωτο οργανική ύλη σε αμμωνία και αμμωνιακά άλατα. Στη συνέχεια η αμμωνία και τα αμμωνιακά άλατα μετατρέπονται σε νιτρώδη και νιτρικά άλατα τα οποία μπορούν να ενσωματωθούν στις ρίζες των φυτών [47] [49].

Τα βακτήρια που παίζουν ρόλο στην νιτροποίηση ανήκουν σε δύο ομάδες. Στην πρώτη είναι τα βακτήρια που οξειδώνουν την αμμωνία μετατρέποντας την σε νιτρώδη [51] και στη δεύτερη τα βακτήρια που οξειδώνουν τα νιτρώδη σε νιτρικά. Τα βακτήρια αυτά είναι είτε αερόβια είτε αναερόβια τα οποία είναι ή προσκολλημένα σε σωματιδιακή ύλη ή ζουν ελεύθερα.

Η νιτροποίηση πραγματοποιείται σε δύο στάδια αρχικά τα αμμωνιακά ιόντα οξειδώνονται σε νιτρώδη και στη συνέχεια τα νιτρώδη οξειδώνονται σε νιτρικά ιόντα, όπως φαίνεται και στις παρακάτω χημικές αντιδράσεις [49] [50]:



Τα βακτήρια που συμμετέχουν στο πρώτο στάδιο της νιτροποίησης είναι των γενών *Nitrosomonas* στο έδαφος και *Nitrosococcus* στα θαλάσσια οικοσυστήματα. Τα βακτήρια που συμμετέχουν στο δεύτερο στάδιο και μετατρέπουν τα νιτρώδη σε νιτρικά ανήκουν στα γένη *Nitrobacter* στο έδαφος και *Nitrococcus* στις θάλασσες.



Εικόνα 6: Ο κύκλος του αζώτου στο έδαφος

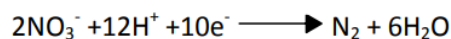
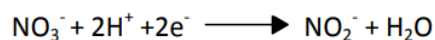
Τέλος άλλοι μηχανισμοί νιτροποίησης είναι οι εξής:

- Καταλυτική οξείδωση με οργανικές ουσίες που παράγονται από τα βακτήρια έξω από τον ίδιο τους τον οργανισμό
- Φωτοχημική οξείδωση με την βοήθεια της ηλιακής υπεριώδους ακτινοβολίας
- Οξείδωση από το ατμοσφαιρικό οξυγόνο στα επιφανειακά στρώματα της θάλασσας.

1.5.3. Απονιτροποίηση

Η απονιτροποίηση είναι η απελευθέρωση αζώτου στην ατμόσφαιρα. Θεωρείται η αναγωγή των νιτρικών σε νιτρώδη αλλά και η αναγωγή αυτών των δύο μορφών του αζώτου σε μοριακό άζωτο ή οξείδιο του αζώτου. Συντελείται από ένα μεγάλο βαθμό βακτηρίων και σε αναερόβιες συνθήκες. Τα νιτρώδη ιόντα που σχηματίζονται με τον τρόπο αυτό ανάγονται σε υποοξείδιο του αζώτου ή και σε στοιχειακό άζωτο [49] [50].

Κατά την απονιτροποίηση τα νιτρικά ιόντα δέχονται ηλεκτρόνια και ανάγονται προς N_2 όπως φαίνεται και στην παρακάτω χημική αντίδραση:



1.6. Το άζωτο στο έδαφος

Το άζωτο στο έδαφος συναντάται σε περιεκτικότητες από 0,02% έως 0,4%. Αυτό εξαρτάται από τον εδαφικό τύπο, από τις κλιματικές συνθήκες οι οποίες επικρατούν στην κάθε περιοχή και από την υπάρχουσα βλάστηση του εδάφους. Παραδείγματος χάρη ελαφριά αμμώδη εδάφη είναι πολύ φτωχά σε άζωτο, ενώ σε εδάφη σε βαλτώδες περιοχές το άζωτο βρίσκεται σε μεγάλες ποσότητες.

Στα εδάφη το άζωτο βρίσκεται σε τρεις μορφές, η πρώτη ως οργανικό άζωτο στην οργανική ουσία- χουμικές ενώσεις του εδάφους, η δεύτερη ως αμμωνιακό άζωτο στους ενδοκρυσταλικούς χώρους των αργιλοπυριτικών ορυκτών ή σε ανταλλάξιμη μορφή και η τρίτη ως νιτρικό άζωτο σχηματίζοντας ευδιάλυτα άλατα ή ορυκτά. Το μεγαλύτερο ποσοστό του αζώτου που εμπεριέχεται στο έδαφος βρίσκεται στους πρώτους 20 πόντους της επιφάνειας του εδάφους. Αυτό οφείλεται στα υπολείμματα φυτών και ζωικών οργανισμών, στους μικροοργανισμούς του εδάφους και στις χουμικές ουσίες του εδάφους.

Η δραστηριότητα του αζώτου εξαρτάται από τη σχέση του C/N, δηλαδή όταν παρατηρείται $C/N > 30$ τότε εμφανίζεται ακινητοποίηση του εδαφικού αζώτου. Αν $C/N = 20-30$ τότε το άζωτο ούτε ακινητοποιείται αλλά ούτε απελευθερώνεται και αν $C/N < 20$ τότε το άζωτο απελευθερώνεται με διάσπαση οργανικής ουσίας [52] [53] [54].

Η ανοργανοποίηση των N-ούχων ενώσεων γίνεται σε τρία στάδια:

1. Αμινοποίηση: Οι πρωτεΐνες υδρολύονται και απελευθερώνονται αμίνες και αμινοξέα. Γίνεται με την βοήθεια ετερότροφων οργανισμών.
2. Αμμωνιοποίηση: Ο σχηματισμός NH_3 από το αμινικό άζωτο με ετερότροφους οργανισμούς. Στη συνέχεια η αμμωνιακή μορφή του άζωτου νιτροποιείται και απορροφάτε από τα φυτά ή δεσμεύεται από τα ορυκτά της αργίλου.
3. Νιτροποίηση: Η αμμωνιακή μορφή του αζώτου οξειδώνεται σε νιτρική μορφή. Η οξείδωση γίνεται με δύο ομάδες βακτηρίων που καλούνται νιτροποιητικά.

Οι αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα είναι εξώθερμες και οι μικροοργανισμοί που εμφανίζονται σε αυτές είναι αυτότροφοι. Δηλαδή συνθέτουν όλες τις ενώσεις του άνθρακα από το διοξείδιο του άνθρακα. Κατά την νιτροποίηση απαιτείται μοριακό O_2 που εμφανίζεται στα καλά αεριζόμενα εδάφη. Επιπλέον απελευθερώνεται H^+ το οποίο οξινίζει το έδαφος.

Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν τη νιτροποίηση είναι οι εξής:

- Η υγρασία του εδάφους. Σε συνθήκες υπερβολικής υγρασίας ή μειωμένης υγρασίας μειώνεται η νιτροποίηση.
- Η θερμοκρασία του εδάφους. Σε θερμοκρασία 9-10°C παρατηρείται πλήρης νιτροποίηση εντός εννέα εβδομάδων και σε θερμοκρασία 45° C αναστέλλεται.
- Το pH. Νιτροποίηση παρατηρείται σε pH=5,5-10
- Η ύπαρξη NH_4 στο έδαφος και νιτροποιητικών βακτηρίων
- Ο επαρκής εφοδιασμός του εδάφους σε Ca, P, Fe, Mn και Cu.

1.6.1. Απώλειες του εδαφικού αζώτου

Τρεις διαδικασίες παίζουν τον κύριο ρόλο στις απώλειες του εδαφικού αζώτου. Αρχικά η απορροή των νιτρικών ιόντων σε εδάφη με ελαφριά σύσταση και σε περιοχές με αυξημένη βροχόπτωση ή εντατική άρδευση. Τα νιτρικά και τα νιτρώδη ανιόντα μπορούν εύκολα να εκπλυθούν και να μεταφερθούν από τη ζώνη των ριζών στα κατωτέρα στρώματα του εδάφους μέσω του νερού στράγγισης [55]. Αντιθέτως τα αμμωνιακά συγκρατούνται από τα κolloειδή της αργίλου [56]. Η μεταφορά των νιτρικών στα βαθύτερα στρώματα του εδάφους μπορεί να προκαλέσει τη ρύπανση τους.

Απώλειες αζώτου έχουμε και μέσω της εξάτμισης στην επιφάνεια του εδάφους, όπως της αμμωνίας με λίπανση με ουρία.

Τέλος μελέτες έχουν δείξει ότι η κύρια πηγή της απώλειας του αζώτου είναι η απονιτροποίηση, κατά την οποία πάνω από το 50% του συνολικού αζώτου διαφεύγει από τα οικοσυστήματα στην ατμόσφαιρα [57].

1.7.Εισροές και εκροές αζώτου στο έδαφος

Η βιολογική δέσμευση του αζώτου μπορεί να προσφέρει στο έδαφος ποσότητες αζώτου που κυμαίνονται από 90 έως 140 εκατομμύρια τόνους ετησίως.

Ταυτόχρονα, ανθρωπογενείς δραστηριότητες προσθέτουν στο έδαφος και στην ατμόσφαιρα περίπου 140 εκατομμύρια τόνους αζώτου ετησίως (FIA, 1998). Αυτές οι δραστηριότητες περιλαμβάνουν την καύση ορυκτών καυσίμων, την παραγωγή ηλεκτρικής ενέργειας, τη γεωργία με την παραγωγή ζωικής κόπρου από τα κτηνοτροφικά απόβλητα, τη χρησιμοποίηση αυτής και τέλος την παραγωγή και χρησιμοποίηση ανόργανων αζωτούχων λιπασμάτων.

Το 1978 τα γεωργικά εδάφη του Ηνωμένου Βασιλείου δέχτηκαν συνολικές ποσότητες αζώτου περίπου 2,66 εκατομμυρίων τόνων ενώ η γεωργική παραγωγή και οι απώλειες αζώτου λόγω εξάερωσης της αμμωνίας και έκπλυσης $\text{NO}_3\text{-N}$ απομάκρυναν συνολικά 2,24 εκατομμύρια τόνους. Η διαφορά αυτή που ανέρχεται σε περίπου 380.000 τόνους N, ενσωματώθηκε στην οργανική ουσία των εδαφών είτε απονιτροποιήθηκε με αποτέλεσμα την επιβάρυνση της ατμόσφαιρας (Royal Society, 1993).

Οι απώλειες N μέσω της απονιτροποίησης παρατηρούνται όταν επικρατούν τουλάχιστον μερικώς αναερόβιες συνθήκες και υπάρχει υψηλή διαθεσιμότητα C και NO_3 παρουσία μικροοργανισμών όπως *Pseudomonas* και *Micrococcus*. Επιπλέον το άζωτο μπορεί να αποδρά και με τη μορφή αμμωνίας.

1.8.Αντικείμενα εργασίας

Ο κύριος σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η διερεύνηση της εφαρμογής ΥΑΕ στο έδαφος ως πιθανή φιλική και περιβαλλοντικά ασφαλή μέθοδος διαχείρισης τους και ωφέλιμης επαναχρησιμοποίησης θρεπτικών στοιχείων και οργανικού-C στο έδαφος. Ειδικότερα τα κύρια αντικείμενα της μελέτης μπορούν να συνοψισθούν στα παρακάτω:

- i) Ποσοτικοποίηση των εκλύσεων CO_2 κατά την εφαρμογή ΥΑΕ στο έδαφος
- ii) Ποσοτικοποίηση των εκλύσεων N_2O κατά την εφαρμογή ΥΑΕ στο έδαφος
- iii) Την διαθεσιμότητα ανόργανων μορφών N
- iv) Τις μεταβολές στην μικροβιακή βιομαζα του εδάφους
- v) Τις μεταβολές στην σύνθεση και ποικιλότητα των μικροοργανισμών

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1. Πειραματική Διάταξη και Προετοιμασία

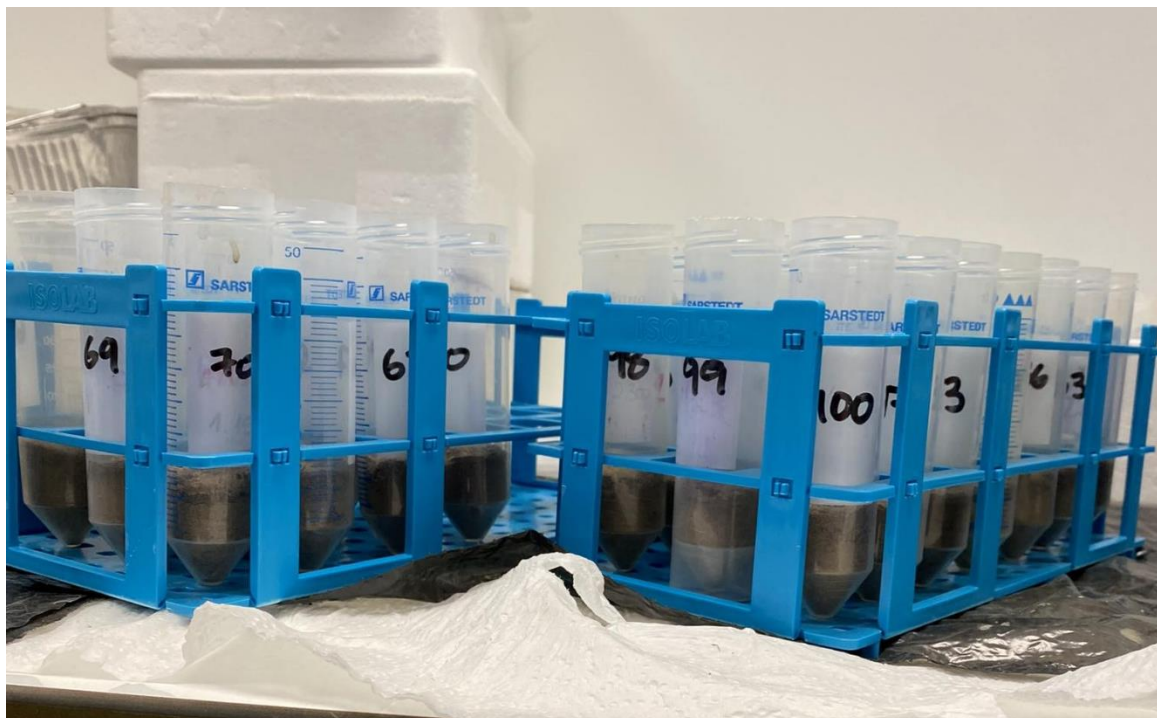
Η παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε υπό ελεγχόμενες συνθήκες σε μικρόκοσμους εδάφους. Ειδικότερα η πειραματική διάταξη της περιελάμβανε δοκιμαστικούς σωλήνες (Falcon Tubes 50 ml) και πλαστικά δοχεία τύπου γλάστρες χωρητικότητας 0,75 l. Σε όλα τα δοχεία προστέθηκε ξηρό χώμα μετά από κατάλληλη επεξεργασία. Αρχικά αφαιρέθηκαν τυχόν πετραδάκια, ξύλα και ρίζες και στη συνέχεια το έδαφος κοσκινίστηκε σταδιακά με τη χρήση κόσκινού με άνοιγμα πόρων 2 mm. Έπειτα με τη βοήθεια του εργαστηριακού ζυγού το δείγμα χωρίστηκε ανά 15 g σε κάθε ένα δοκιμαστικό σωλήνα (Falcon Tube) και ανά 400 g στο κάθε δοχείο.



Για την αξιολόγηση της επίδρασης των ΥΑΕ στο έδαφος εφαρμόσθηκαν διαφορετικές μεταχειρίσεις που συνδέονταν με την ισχύ του αποβλήτου. Αρχικά προσδιορίσθηκε η υδατοικανότητα του εδάφους και εφαρμόσθηκε εφαρμογή αραιωμένου ή μη αραιωμένου ΥΑΕ στο 80% της υδατοικανότητας του εδάφους. Ειδικότερα οι μεταχειρίσεις ήταν οι εξής:

1. Νερό χωρίς ΥΑΕ (0%): 75 mL νερό στα 400 g ξηρού χώματος και αντίστοιχα 2,81 mL νερό στα 15 g ξηρού χώματος
2. 100% ΥΑΕ: 75 mL ΥΑΕ στα 400 g ξηρού χώματος και αντίστοιχα 2,81 mL ΥΑΕ στα 15 g ξηρού χώματος
3. 50% ΥΑΕ: 75 mL αραιωμένου ΥΑΕ (50% νερό, 50% ΥΑΕ) στα 400 g ξηρού χώματος και αντίστοιχα 2,81 mL αραιωμένου ΥΑΕ (50% νερό, 50% ΥΑΕ) στα 15 g ξηρού χώματος

4. 25% YAE: 75 mL αραιωμένου YAE (75% νερό, 25% YAE) στα 400 g ξηρού χώματος και αντίστοιχα 2,81 mL αραιωμένου YAE (75% νερό, 25% YAE) στα 15 g ξηρού χώματος



Τέλος, μέσω αυτών των δειγμάτων πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις για τον προσδιορισμό της βιομάζας του εδάφους καθώς τον προσδιορισμό των νιτρικών και των αμμωνιακών τους εδάφους. Μετρήσεις έγιναν σε έξι χρονικά διαστήματα. Επίσης πραγματοποιήθηκε μέτρηση της συγκέντρωσης DNA μέσω φθοριομετρου QFLEX το DNA και τα αέρια του θερμοκηπίου των δειγμάτων.

Τα μεγάλα δοχεία χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό των εκλύσεων CO₂, N₂O, μικροβιακής βιομάζας και εξαγωγή DNA ενώ τα μικρότερα (falcons) χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό των μορφών ανόργανου N.

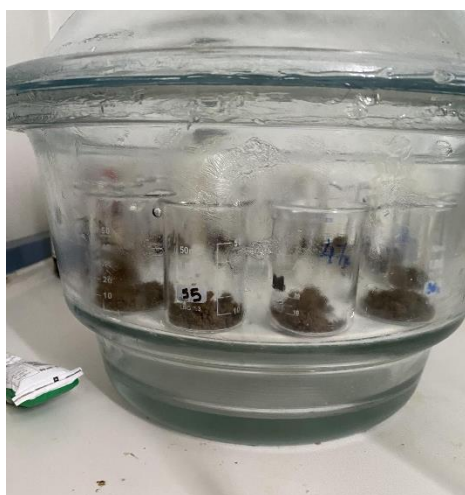
2.2. Υποκαπνισμός με χλωροφόρμιο

2.2.1. Οργανολογία

Τα όργανα από τα οποία αποτελείται η διάταξη αυτού του πειράματος είναι:

Η ηλεκτρική αντλία η οποία βοηθά στην απομάκρυνση του αέρα από τον ξηραντήρα. Ο αέρας μέσα στον ξηραντήρα αναρροφάται από τους ελαστικούς σωλήνες όταν η βαλβίδα κλείσει δημιουργώντας έτσι κενό.

Το δοχείο ψύξης υδρατμών σκοπός του οποίου είναι να υγροποιήσει τους ατμούς χλωροφορμίου. Κατά τη δημιουργία του κενού αέρος, οι υδρατμοί του χλωροφορμίου διέρχονται μέσω ελαστικού σωλήνα προς την ηλεκτρική αντλία με κίνδυνο να προκαλέσουν βλάβη. Συγκεκριμένα δεν θα δημιουργούταν κενό αέρος για επιθυμητό χρονικό διάστημα επειδή η αντλία δεν θα μπορούσε να διατηρήσει την πίεση μέσα στον ξηραντήρα σε σταθερά επίπεδα και χωρίς διαρροές. Για αποδοτικότερη υγροποίηση η κωνική φιάλη τοποθετείται πάνω σε πάγο.



Ο ξηραντήρας κενού είναι η συσκευή στην οποία τοποθετούνται τα δείγματα και δημιουργείται το κενό αέρος. Ο σκοπός της δημιουργίας του είναι η θέρμανση του χλωροφορμίου μέχρι το σημείο βρασμού του, καθώς και ο εμποτισμός των δειγμάτων του εδάφους με χλωροφόρμιο. Στη βάση του ξηραντήρα τοποθετείται μία κυκλική κεραμική πλάκα διαμέτρου 24.2 cm στην οποία τοποθετούνται τα γυάλινα ποτήρια ζέσεως με τα δείγματα εδάφους καθώς και ένα που περιέχει το χλωροφόρμιο. Στο καπάκι του ξηραντήρα βρίσκεται μία βαλβίδα για την ρύθμιση της εκκένωσης του. Τέλος, για να εξασφαλίσουμε τη μείωση των απωλειών και τη διατήρηση του κενού αέρος το καπάκι σφραγίζεται με τη χρήση ειδικού γράσου.

2.2.2. Εκχύλιση εδαφους

Για την απευθείας εκχύλιση απαιτείται φιλτράρισμα των δειγμάτων μέσω φίλτρων Whatman No. 1442-10-Diameter 110 mm. Το θειικό κάλιο (K_2SO_4) χρησιμοποιείται για την εκχύλιση της βιομάζας στα υποκαπνισμένα και μη δείγματα.

2.2.3. Διαδικασία προσδιορισμού βιομάζας

Για τον προσδιορισμό της βιομάζας επιλέγονταν 3 τυχαία falcon ανά δειγματοληψία και μεταχείριση. Από την αρχική ποσότητα που υπήρχε μέσα στους δοκιμαστικούς σωλήνες αφαιρέθηκαν 5 g και τοποθετήθηκαν σε γυάλινα ποτήρια ζέσεως. Ταυτόχρονα θερμαίνονταν η πορσελάνινη βάση του ξηραντήρα ώστε να φθάσει πιο εύκολα στο σημείο βρασμού του το χλωροφόρμιο ($61,2\text{ }^{\circ}C$). Στην συνέχεια τοποθετούνταν η βάση στον ξηραντήρα και πάνω της ένα ποτήρι ζέσεως με 25 ml χλωροφόρμιο και 5-6 boiling chips. Έπειτα, τοποθετούνταν τα ποτήρια ζέσεως με τα δείγματα εδάφους και εφαρμόζονταν 3 κύκλοι κενού-αέρος. Στη συνέχεια τα δείγματα αφέθηκαν μέσα στο ξηραντήρα για 3 μέρες στο σκοτάδι.

Μετά το πέρας των τριών ημερών τα δείγματα μεταφέροντας σε falcon των 50 ml μαζί με 20 ml θειικού καλίου και ανακινήθηκαν για 1 h. Ακολουθούσε η διήθηση τους από τα φίλτρα τα οποία είχαν υγρανθεί με K_2SO_4 πριν την εκχύλιση των δειγμάτων με σκοπό τη μείωση των απωλειών. Τα εκχυλίσματα αποθηκεύονταν στην κατάψυξη μέχρι την ανάλυση τους. Αντίστοιχη εκχύλιση πραγματοποιούνται επίσης και σε δείγματα εδάφους τα οποία δεν είχαν υποκαπνιστεί.

2.3. Προσδιορισμός συγκέντρωσης NO_3-N

Ο υπολογισμός των νιτρικών των εδαφικών δειγμάτων έγινε με βάση την μεθοδολογία Soil Sampling and Methods of Analysis και συνοψίζεται στα παρακάτω βήματα:

1. Ζύγιση 2.5 g εδαφικού δείγματος από κάθε μεταχείριση και προσθήκη 15 ml απιονισμένου H_2O σε δοκιμαστικούς σωλήνες falcon των 50 ml
2. Ανακίνηση των falcon για 15 min σε θερμοκρασία δωματίου
3. Αφαίρεση 1 ml από το ελαιώρημα που έχει δημιουργηθεί και μεταφορά του σε erpendorf
4. Φυγοκέντριση για 3 min σε ταχύτητα 10,000 xg
5. Αφαίρεση 100 μ l φυγοκεντρίμενου δείγματος και μεταφορά του σε νέο erpendorf

6. Προσθήκη 100 μ l βανάδιου, 500 μ l σουλφανιλαμίδη και 500 μ l διαλύματος NED
7. Επώαση στους 37°C για 1 ώρα
8. Ανίχνευση απορρόφηση μέσω φασματοφωτόμετρου στα 540 nm

2.4. Προσδιορισμός συγκέντρωσης $\text{NH}_4\text{-N}$

Ο υπολογισμός των αμμωνιακών των εδαφικών δειγμάτων έγινε με βάση την μεθοδολογία Soil Sampling and Methods of Analysis και συνοψίζεται στα παρακάτω βήματα:

1. Ζύγιση 2.5 g εδαφικού δείγματος από κάθε μεταχείριση και προσθήκη 15 ml απιονισμένου νερού και 2,2 g KCl σε σωλήνες falcon των 50 ml
2. Ανακίνηση των falcon για 1 h σε θερμοκρασία δωματίου
3. Αφαίρεση 2 ml από το εναιώρημα που έχει δημιουργηθεί και τοποθέτηση του σε erpendorf
4. Φυγοκέντριση για 3 min σε ταχύτητα 10,000 xg
5. Αφαίρεση 1 ml φυγοκεντρίμενου δείγματος και τοποθέτηση του σε νέο Erpendorf
6. Προσθήκη 200 μ l διαλύματος σαλικυλικού άλατος, 20 μ l νιτροπρουσικού άλατος και 20 μ l διαλύματος υποχλωρικού άλατος με τη βοήθεια της πιπέτας
7. Επώαση σε θερμοκρασία δωματίου για 1 ώρα
8. Μέτρηση απορρόφηση μέσω φασματοφωτόμετρου στα 697 nm

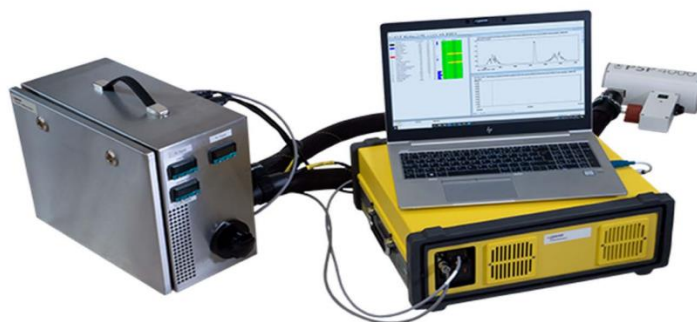
2.5. Απομόνωση και προσδιορισμός συγκέντρωσης DNA

Για την πραγματοποίηση αυτής της διαδικασίας χρησιμοποιήθηκε το PowerSoil® DNA Isolation Kit. Ο εξοπλισμός, καθώς και τα αντιδραστήρια περιλαμβάνονται μέσα στο κιτ. Τα δείγματα DNA που εξάχθηκαν αποθηκεύτηκαν στην κατάψυξη μέχρι την ανάλυσή τους. Τα δείγματα τα οποία ελήφθησαν από τα 16 δοχεία την χρονική περίοδο που έπρεπε να γίνει η μέτρηση. Η ανάλυση των δειγμάτων έγινε με τη μέθοδο φθορισμού, χρησιμοποιώντας το φθοριόμετρο Denovix QFX Fluorometer. Για την ποσοτικοποίηση του DNA χρησιμοποιήθηκε το Qubit® dsDNA HS kit. Συνολικά πραγματοποιήθηκαν 4 εκχυλίσσεις τις ημερομηνίες 5/5, 16/5, 1/6 και 7/7.

2.6. FTIR Gas Analyzer

Μια αξιόπιστη και αποτελεσματική τεχνολογία για την παρακολούθηση του ρυθμού έκλυσης των αερίων του θερμοκηπίου είναι ο αναλυτής Gasmeter 4015. Ο αναλυτής αυτός αποτελεί την πιο ισχυρή τεχνολογία για την ταυτόχρονη μέτρηση πολλών αερίων. Έτσι μετρήθηκαν τα διαφορετικά αέρια του θερμοκηπίου που εκπέμπονταν από κάθε μεταχείριση. Η μεγάλη ευελιξία και ικανότητα προσαρμογής της καθιστούν ένα πολύ αποδοτικό εργαλείο με πολλαπλές εφαρμογές για τη μέτρηση όλων των αερίων του θερμοκηπίου και άλλων ενώσεων. Έτσι μέσα σε λίγα δευτερόλεπτα μπορεί να γίνει η μέτρηση όλων των αερίων.

Οι μετρήσεις στη συγκεκριμένη πειραματική διαδικασία πραγματοποιήθηκαν με την μέθοδο του κλειστού θαλάμου για την μέτρηση της ροής των αερίων του θερμοκηπίου. Η διάταξη της διαδικασίας αυτής αποτελείται από τον θάλαμο, μέσα στον οποίο τοποθετείται το προς μέτρηση δείγμα, τον αναλυτή και έναν φορητό υπολογιστή για την καταγραφή των μετρήσεων. Οι μετρήσεις λήφθηκαν τις ημέρες 4/7, 7/7, 10/7, 12/7, 14/7, 17/7 και 21/7 (Ημέρα 0, Ημέρα 3, Ημέρα 6, Ημέρα 8, Ημέρα 10, Ημέρα 13 και Ημέρα 17).



2.6.1. Λειτουργία FTIR Gas Analyzer

Η μέτρηση ξεκινάει αφού τοποθετηθεί το δοχείο του εδάφους μέσα στον θάλαμο ο οποίος είναι κλεισμένος αεροστεγώς για να αποφευχθούν διαρροές από τον θάλαμο. Έτσι τα αέρια συσσωρεύονται μέσα στον θάλαμο και πραγματοποιείται η ποσοτικοποίησή τους.

2.7. Δυναμικός Ρυθμός Νιτροποίησης (PNR)

Αναλυτικότερα αναφερόμαστε στον ρυθμό νιτροποίησης κάτω από ιδανικές συνθήκες, όπως παρουσία άφθονου υποστρώματος, η διάχυση του οποίου δεν περιορίζεται και υπό συνθήκες αερισμού. Αρχικά για κάθε μεταχείριση ελήφθησαν τρία δείγματα. Έτσι τοποθετήθηκαν 10 g εδάφους σε δοκιμαστικούς σωλήνες falcon των 50 ml και προστέθηκε νερό έτσι ώστε η υγρασία των δειγμάτων να φτάσει στα 60% της υδατοικανότητας του εδάφους. Στη συνέχεια τα δείγματα καλυφθήκαν με parafilm, έτσι ώστε να έχουμε όσο το δυνατόν λιγότερες απώλειες νερού και αέρα και επωάστηκαν για 3 ημέρες. Έπειτα από την επώαση τους στο ήμισυ δειγμάτων προστέθηκαν 2 ml διαλύματος $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ και στα υπόλοιπα προστέθηκε 2 ml διαλύματος $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ παρουσία παρεμποδιστή δικυανοδιάμιο (DCD). Έπειτα μετρήθηκε η συγκέντρωση των $\text{NO}_3\text{-N}$ για κάθε μεταχείριση και τα δείγματα αφέθηκαν ξανά να επωαστούν για επαναληπτική μέτρηση μετά από 3 ημέρες.

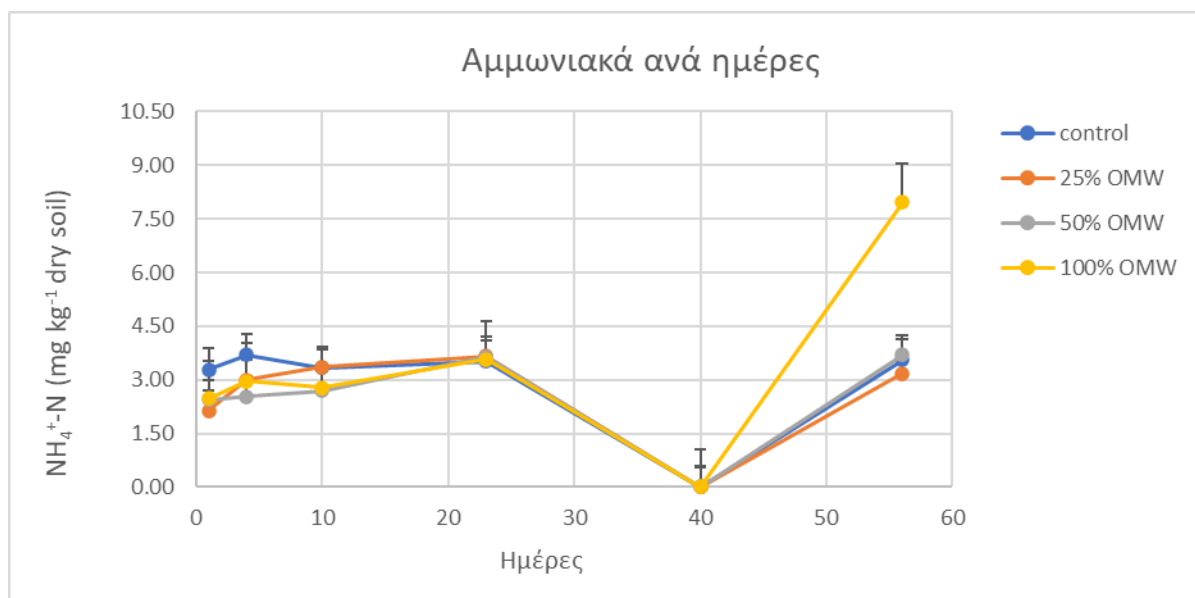
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

3.1. Αποτελέσματα

Στο χρονικό διάστημα τεσσάρων μηνών όπου διεξήχθη η πειραματική μελέτη πραγματοποιήθηκαν πληθώρα μετρήσεων σε διαφορετικές παραμέτρους για την αξιολόγηση της επίδρασης των ΥΑΕ στην ποιότητα του εδάφους. Αυτές βοήθησαν στην κατανόηση του κύκλου του C και του N μέσω της παρακολούθησης του ρυθμού αναπνοής, της βιομάζας του εδάφους, και της σύνθεσης της κατά την εφαρμογή υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείων (ΥΑΕ) στο έδαφος. Στις ενότητες που ακολουθούν παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των πειραματικών διαδικασιών που αφορούν τις επιδράσεις των ΥΑΕ στη συγκέντρωση νιτρικών και αμμωνιακών του εδάφους, στη βιομάζα του εδάφους, στο δυναμικό ρυθμό νιτροποίησης και στο ρυθμό έκλυσης CO₂ από το έδαφος.

3.1.1. Επίδραση ΥΑΕ στην συγκέντρωση NH₄⁺-N στο έδαφος

Οι μετρήσεις της συγκέντρωσης του NH₄⁺-N πραγματοποιήθηκαν την πρώτη (Ημέρα 1), τέσσερις (Ημέρα 4), δέκα (Ημέρα 10), είκοσι τριών (Ημέρα 23), σαράντα (Ημέρα 40) και πενήντα έξη (Ημέρα 56) ημέρες από την εφαρμογή των διαφορετικών δόσεων ΥΑΕ στο έδαφος. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν παρουσιάζονται στο Γράφημα 1.



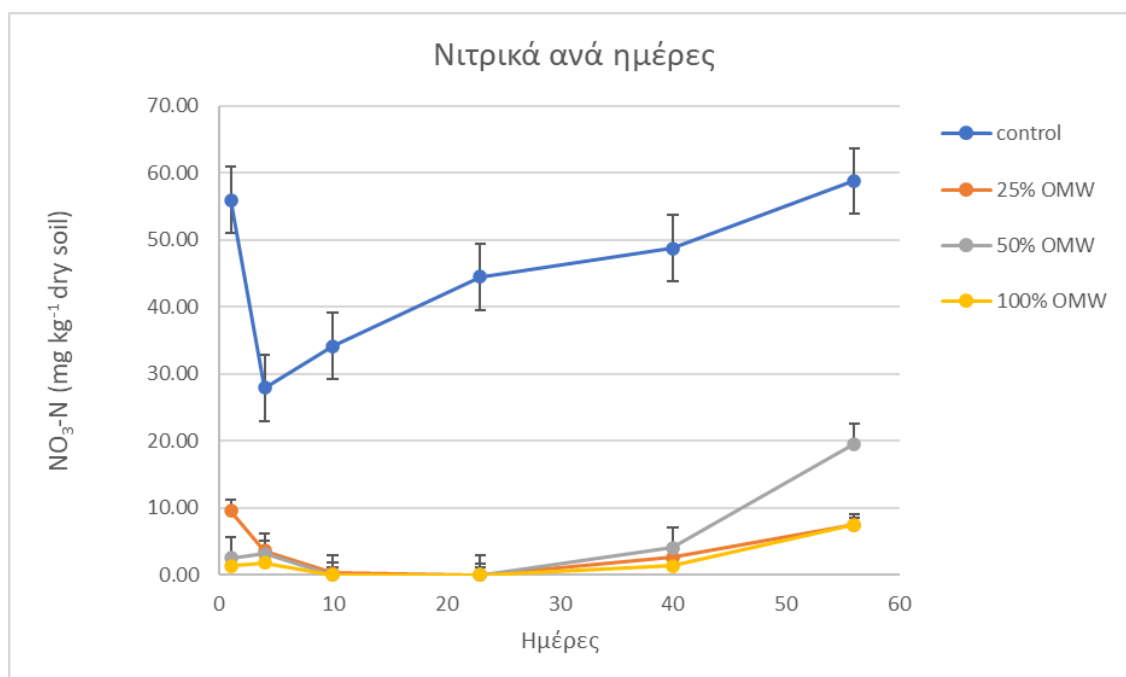
Γράφημα 1: Συγκεντρώσεις αμμωνιακών εδάφους ανά τις ημέρες

Η προσθήκη ΥΑΕ δεν είχε αρχικά ως αποτέλεσμα κάποια σημαντική μεταβολή στην συγκέντρωση NH₄⁺-N στο έδαφος. Αρχικά, τις ημέρες 1 και 4 μετά την εφαρμογή ΥΑΕ όπως φαίνεται στο διάγραμμα η υψηλότερη τιμή παρατηρήθηκε στην μεταχείριση

με το 0% OMW γεγονός που άλλαξε από την ημέρα 10 και μετά, όπου τη θέση του πήρε το δείγμα με τη μεταχείριση με 25% OMW. Τα δείγματα 50% OMW και 100 % τα οποία είχαν τις μεγαλύτερες ποσότητες σε ΥΑΕ είχαν και τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις $\text{NH}_4^+\text{-N}$ κατά τη διάρκεια του πειράματος. Σε όλα τα δείγματα παρατηρήθηκε αύξηση της συγκέντρωσης μέχρι τις δύο πρώτες εβδομάδες με την μεγαλύτερη τιμή να εμφανίζεται στις είκοσι τρεις ημέρες μετά την εφαρμογή των ΥΑΕ. Ωστόσο στο δείγμα που δεν εμπεριέχονταν ΥΑΕ η μεγαλύτερη τιμή εμφανίστηκε την τέταρτη ημέρα και από εκεί είχε μικρές αυξομειώσεις έως την εικοστή τρίτη (23). Μετά το πέρας της εικοστής τρίτης ημέρας οι συγκεντρώσεις μειώθηκαν έως την ημέρα 40 όπου παρουσιάστηκε η μικρότερη τιμή της σε όλες τις μεταχειρίσεις. Τέλος, από την ημέρα 40 και έπειτα όλες οι συγκεντρώσεις αυξήθηκαν έως ότου συνάντησαν την μεγαλύτερη τιμή τους την ημέρα 56.

3.1.2. Επίδραση ΥΑΕ στην συγκέντρωση $\text{NO}_3\text{-N}$ στο έδαφος

Η μέτρηση της συγκέντρωσης του $\text{NO}_3\text{-N}$ πραγματοποιήθηκε σε διάστημα μίας (Ημέρα 1), τεσσάρων (Ημέρα 4), δέκα (Ημέρα 10), είκοσι τριών (Ημέρα 23), σαράντα (Ημέρα 40) και πενήντα έξι (Ημέρα 56) ημερών από την έναρξη εφαρμογής των μεταχειρίσεων ΥΑΕ στα δείγματα εδάφους. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν παρουσιάζονται στο Γράφημα 2.



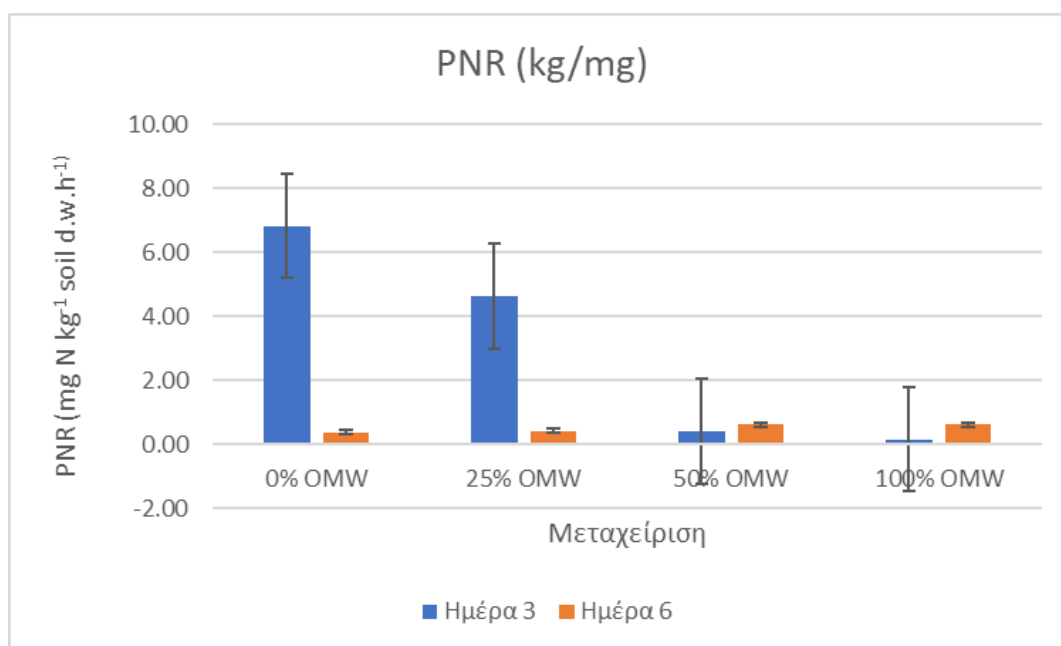
Γράφημα 2: Μεταβολή της συγκέντρωσης νιτρικών εδάφους στις διαφορετικές επεμβάσεις ΥΑΕ συναρτήσει του χρόνου

Ειδικότερα, στην μεταχείριση που δεν είχε δεχτεί εφαρμογή ΥΑΕ (Μάρτυρας) παρατηρήθηκαν υψηλότερες συγκεντρώσεις $\text{NO}_3\text{-N}$, σε όλη την διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας σε σχέση με τις μεταχειρίσεις που δέχθηκαν επίδραση με

ΥΑΕ. Στις μεταχειρίσεις αυτές διαπιστώθηκε μία τάση αύξησης της συγκέντρωσης των $\text{NO}_3\text{-N}$ μετά την ημέρα 40 (Γραφ. 2). Στα εδάφη τα οποία δέχτηκαν τις μεταχειρίσεις ΥΑΕ παρατηρήθηκαν αρκετά χαμηλότερες συγκεντρώσεις $\text{NO}_3\text{-N}$ οι οποίες μάλιστα ήταν αντιστρόφως ανάλογες με την δόση εφαρμογής. Η υψηλότερη τιμή μετρήθηκε στη μεταχείριση με 50% OMW. Η χαμηλότερη τιμή της συγκέντρωσης για τα δείγματα με τις μεταχειρίσεις προσδιορίστηκε την ημέρα 23, ενώ για τον μάρτυρα την ημέρα 4. Μετά το πέρας τις ημέρας 23 τα δείγματα με τις μεταχειρίσεις 50% OMW και 25% OMW παρουσίασαν μια αύξηση με σημαντικότερη εκείνη της μεταχείρισης των 100% OMW. Τέλος, στο έδαφος με τη υψηλότερη εφαρμογή OMW η συγκέντρωση νιτρικών δεν είχε μεγάλες μεταβολές και παρέμεινε σε χαμηλά επίπεδα σε όλη τη διάρκεια του πειράματος.

3.1.3. Δυναμικός Ρυθμός Νιτροποίησης (PNR)

Ο δυναμικός ρυθμός νιτροποίησης προσδιορίστηκε για όλες τις μεταχειρίσεις τρεις και έξι ημέρες μετά την εφαρμογή των ΥΑΕ. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν συνοψίζονται παρακάτω.

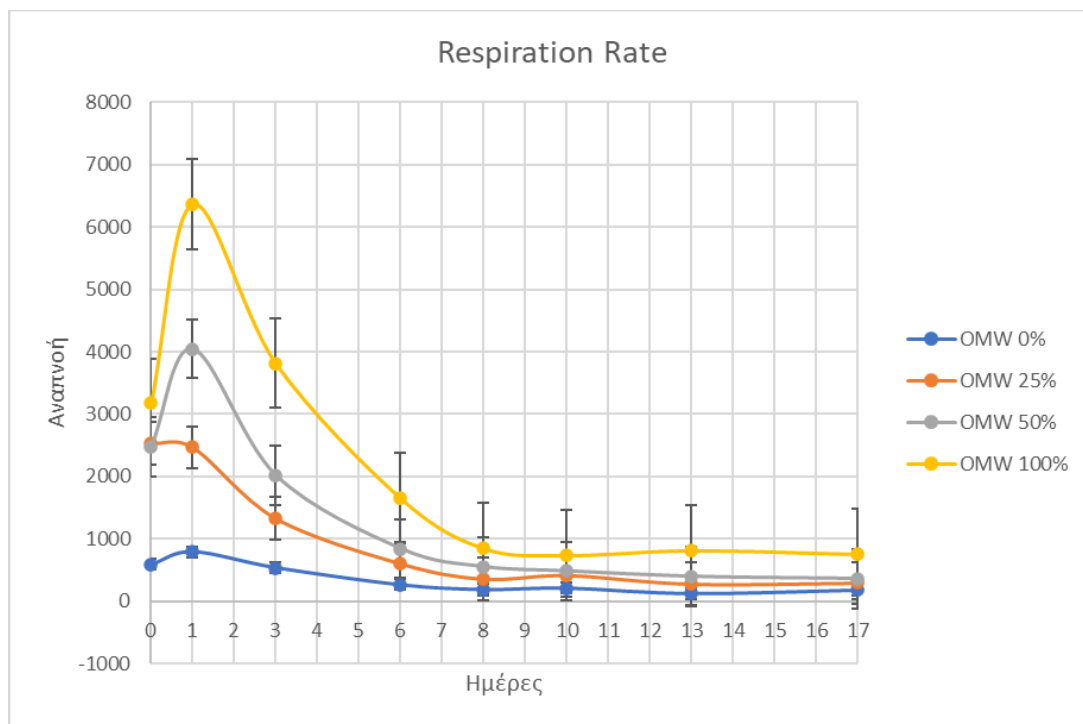


Γράφημα 3: Σύγκριση αποτελεσμάτων

Από το Γράφημα 3 μπορούμε να διακρίνουμε πως ο δυναμικός ρυθμός νιτροποίησης την τρίτη ημέρα για τον μάρτυρα αλλά και για την μικρότερη μεταχείριση εφαρμογής ΥΑΕ έχει μία σημαντικά μεγαλύτερη τιμή από ότι για την έκτη ημέρα. Ενώ για τις άλλες δύο μεγαλύτερες μεταχειρίσεις (50 και 100%) οι τιμές της τρίτης ημέρας δεν διέφεραν σημαντικά από εκείνες της έκτης και για τις δύο μεταχειρήσεις.

3.1.4. Ρυθμός αναπνοής

Η αναπνευστική δραστηριότητα της μικροβιακής κοινότητας του εδάφους προσδιορίστηκε για τις αντίστοιχες μεταχειρίσεις σε έδαφος που είχε τοποθετηθεί στα δοχεία. Οι μετρήσεις ξεκίνησαν ταυτόχρονα με την εφαρμογή ΥΑΕ και στην συνέχεια μετά από 1, 3, 6, 8, 10, 13 και 17 ημέρες. Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στο Γράφημα 4.



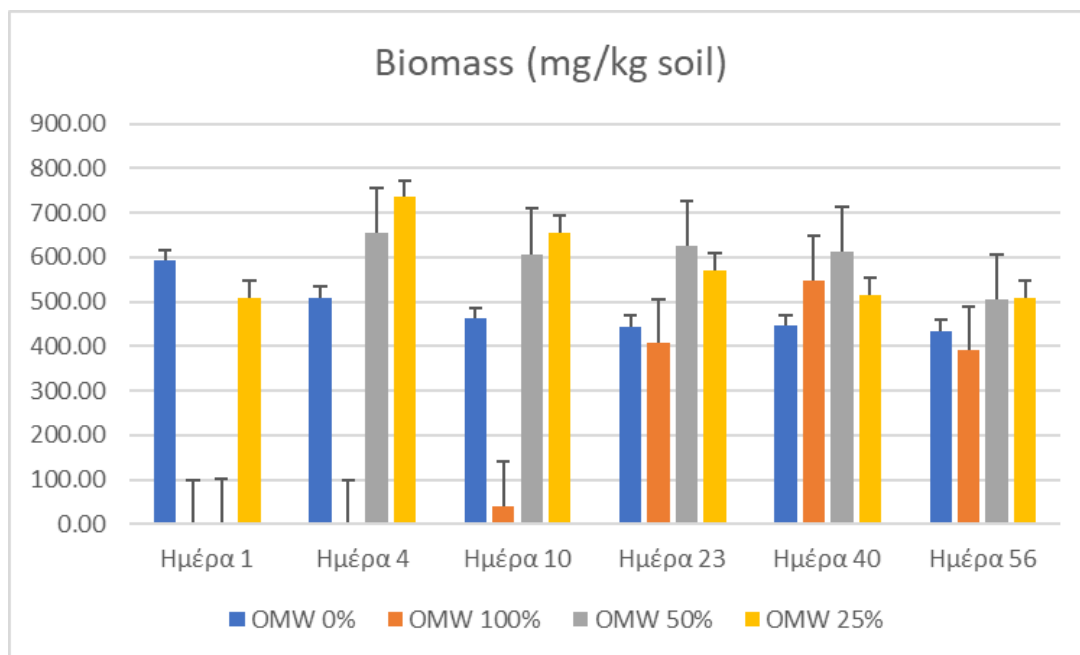
Γράφημα 4: Αναπνευστική δραστηριότητα μεταχειρίσεων

Ο ρυθμός αναπνοής, δηλαδή η βιολογική οξείδωση του οργανικού υλικού και ελευθέρωση CO₂ αποτελεί δείκτη της μικροβιακής δραστηριότητας. Όπως προκύπτει από το Γράφημα 5, ο ρυθμός αναπνοής με τις μεγαλύτερες τιμές καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος είναι αυτός της μεταχείρισης 100% OMW, ενώ αυτός με τις μικρότερες τιμές είναι του μάρτυρα. Επιπλέον, σε όλες τις μεταχειρίσεις παρατηρήθηκε μία αρχική αύξηση και ακολούθησε μία μείωση με την πάροδο του χρόνου από την ημέρα εφαρμογής. Τέλος, από την ημέρα 8 και μετά, οι τιμές έτειναν να είναι σταθερές χωρίς να παρατηρούνται μεγάλες μεταβολές μεταξύ τους.

Με εξαίρεση την 1^η μέτρηση αμέσως μετά την εφαρμογή ΥΑΕ δεν παρατηρήθηκε ανιχνεύσιμη έκλυση N₂O (100% ΥΑΕ) ή NH₃ από το έδαφος ανεξάρτητα της μεταχείρισης.

3.1.5. Μικροβιακή Βιομάζα

Η βιομάζα του εδάφους μετρήθηκε για τις ίδιες ημέρες για οποίες μετρήθηκαν και οι συγκεντρώσεις των $\text{NO}_3\text{-N}$ και των $\text{NH}_4^+\text{-N}$ του εδάφους. Δηλαδή για μία, τέσσερις, δέκα (Ημέρα 10), είκοσι τρεις (Ημέρα 23), σαράντα (Ημέρα 40) και πενήντα έξη (Ημέρα 56) ημέρες μετά την εφαρμογή των ΥΑΕ στις μεταχειρίσεις. Οι μετρήσεις αυτές έγιναν με τη βοήθεια της διαδικασίας υποκαπνισμού των δειγμάτων με χλωροφόρμιο. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται παρακάτω.



Γράφημα 5: Βιομάζα μεταχειρίσεων μετά την προσθήκη ΥΑΕ

Όπως φαίνεται από το διάγραμμα η βιομάζα των δειγμάτων δεν έχει μεγάλες μεταβολές σε όλη τη διάρκεια της διεξαγωγής του πειράματός. Με μοναδική εξαίρεση στην ημέρα 1 όπου βλέπουμε την τιμή της μεταχείρισης 100% OMW να έχει μία μηδενική τιμή η οποία συνεχίζεται και στην ημέρα 4 και μετά με το πέρας των ημερών επανέρχεται στο επίπεδο που είναι και οι υπόλοιπες τιμές. Επίσης μια ακόμα μεταχείριση έχει μηδενική τιμή την ημέρα ένα και αυτή είναι των 50% OMW. Αυτές οι τιμές είναι πιθανών να οφείλονται σε σφάλματα τα οποία προέκυψαν κατά τη διεξαγωγή του πειράματος καθώς αυτό δεν μπορεί να ισχύει με βάση τις παρατηρούμενες τιμές αναπνοής. Όσον αφορά τις υπόλοιπες τιμές παρουσιάζονται μικρές διακυμάνσεις μεταξύ τους χωρίς καμία να είναι εμφανώς μεγαλύτερη ή μικρότερη από την άλλη. Κάτι που ισχύει για όλες τις μεταχειρίσεις αλλά και για τον μάρτυρα.

3.2. Συζήτηση

3.2.1. Αμμωνιακό και νιτρικό N ($\text{NH}_4^+\text{-N}$, NO_3^-N)

Όπως έχει προαναφερθεί στο κεφάλαιο 1.6 το άζωτο παρατηρείται στα εδάφη σε τρεις μορφές. Η πρώτη ως οργανικό άζωτο, η δεύτερη ως αμμωνιακό άζωτο και η τρίτη ως νιτρικό άζωτο. Το άζωτο μέσα στο έδαφος μπορεί να υποστεί οξείδωση, να εξαχνωθεί, να προσροφηθεί στα εδαφικά τεμαχίδια και να ακινητοποιηθεί στην οργανική ουσία. Στην παρούσα εργασία μελετήσαμε την συμπεριφορά του $\text{NH}_4^+\text{-N}$ και του NO_3^-N στο έδαφος μετά την προσθήκη ΥΑΕ. Αναλυτικότερα παρατηρήθηκε η αρχική αύξηση της συγκέντρωσης $\text{NH}_4^+\text{-N}$ τις αρχικές ημέρες 1 και 4. Γεγονός που οφείλεται στην αύξηση ενεργότητας των ενζύμων που περιέχονται στα υγρά απόβλητα και κυρίως της ουρεάσης (42). Στη συνέχεια η μείωση της συγκέντρωσης του μετά την ημέρα 23 αποδίδεται στην αύξηση των μικροοργανισμών του εδάφους οι οποίοι με την αξιοποίηση των οργανικών υποστρωμάτων από τα ΥΑΕ αυξήθηκαν και ακινητοποίησαν το αμμωνιακό άζωτο (43). Τέλος η αύξηση του στις τελευταίες μέρες υποδηλώνει πως η επίδραση υποχωρεί μέχρι να ανακάμψει εντελώς το έδαφος.

Η αρχική μείωση του $\text{NO}_3\text{-N}$ και οι χαμηλές τιμές του έως την ημέρα 40 οφείλεται στην αφομοίωση των νιτρικών ιόντων από την αυξημένη μικροβιακή χλωρίδα του εδάφους ή σε απονιτροποίηση (Morisot and Tournier, 1986), όπως και η ακόλουθη αύξηση τους μετά το πέρας της ημέρας 40 στο ότι η επίδραση αυτή υποχωρεί σιγά σιγά. Παρόμοια επίδραση στις συγκεντρώσεις $\text{NH}_4^+\text{-N}$ και $\text{NO}_3\text{-N}$ του εδάφους έχουν αναφερθεί στις μελέτες Fiestas (1977,1982) οι οποίες παρουσιάζονται αναλυτικά στο κεφάλαιο 1.4.

Σύμφωνα με τα παραπάνω αποτελέσματα κατανοούμε πως η εφαρμογή ΥΑΕ στο έδαφος, ακόμα και σε μεγάλες ποσότητες δεν προκαλεί τοξικότητα στην λειτουργική κοινότητα του εδάφους που ρυθμίζει τον κύκλο του άνθρακα και του αζώτου.

3.2.2. Δυναμικός Ρυθμός Νιτροποίησης

Ο δυναμικός ρυθμός νιτροποίησης αναφέρεται στην ταχύτητα με την οποία τα αμμωνιακά άλατα (NH_4^+) μετατρέπονται σε νιτρικά άλατα (NO_3^-) από τα νιτροποιητικά βακτήρια στο έδαφος. Το γεγονός ότι στην πρώτη δειγματοληψία η μεταχείριση με την υψηλότερη εφαρμογή σε ΥΑΕ έχει το μικρότερο PNR υποδηλώνει πως υπάρχει κάποια τοξική επίδραση των φαινολών στην διαδικασία της οξείδωσης της αμμωνίας. Γεγονός που αναφέρεται και σε μελέτες (Bonaro & al.1993) και στο κεφάλαιο 1.3, όπου αναφέρεται πως με την απευθείας διάθεση ΥΑΕ στο έδαφος παρατηρείται φυτοτοξικότητα [32]. Η φυτοτοξικότητα των αποβλήτων έχει αποδοθεί από αρκετούς συγγραφείς στο φαινολικό περιεχόμενο και σε ορισμένα οργανικά οξέα όπως το οξικό οξύ και το μυρμηκικό οξύ (Niaounakis M. et al.,2004).

Ένα πρόβλημα το οποίο μπορεί να παρατηρηθεί είναι όπως προαναφέραμε αυτό της φυτοτοξικότητας αφού τα φυτά τα οποία επηρεάζονται άμεσα από τα ΥΑΕ είναι αυτά που βρίσκονται στο στάδιο της βλάστησης. Αυτό γιατί ο δυναμικός ρυθμός νιτροποίησης ορίζει τη διαθεσιμότητα του αζώτου για τα φυτά, το οποίο είναι κρίσιμο συστατικό για την ανάπτυξη τους [43]. Παρόλα αυτά, παρατηρήθηκε πως την έκτη ημέρα ο δυναμικός ρυθμός νιτροποίησης άρχισε να παρουσιάζει μια αύξηση στα δείγματα με τις υψηλές μεταχειρίσεις με ΥΑΕ, αφού παρά την τοξικότητα που έχει παρατηρηθεί το έδαφος παρουσιάζει μια ανάκαμψη [33].

3.2.3. Αναπνευστική δραστηριότητα

Η αναπνευστική δραστηριότητα αποτελεί δείκτη της μικροβιακής δραστηριότητας και είναι ενδεικτική του ρυθμού με το SOM του εδάφους οξειδώνεται σε CO₂. Ειδικότερα, η αναπνευστική δραστηριότητα στο συγκεκριμένο πείραμα αυξήθηκε ανάλογα με την εφαρμογή ΥΑΕ. Γεγονός που μας κάνει να συμπεράνουμε πως όσο περισσότερα απόβλητα εφαρμόζαμε τόσο μεγαλύτερη αναπνευστική δραστηριότητα είχαμε. Αυτό οφείλεται στα άμεσα διαθέσιμα υποστρώματα C τα οποία όσο αυξάνονταν τόσο μεγαλύτερη ανάπτυξη ετερότροφων οργανισμών είχαμε (Levi-Minzi & al. 1992, Balis & al. 1996). Έτσι ως αποτέλεσμα οξειδώθηκαν περισσότερες ποσότητες οργανικού υλικού που εφαρμόσθηκε στο έδαφος μέσω των ΥΑΕ. Η αύξηση του εκλυόμενου CO₂ συνδέεται και με την παρουσία εύκολα διασπώμενου οργανικού-C ο οποίος πιθανότατα ενίσχυσε τους μικροβιακούς πληθυσμούς και την δραστηριότητα τους, προκαλώντας την αποδόμηση της οργανικής ύλης. Με το πέρασμα του χρόνου αυτές οι τιμές μειώθηκαν πράγμα που φανερώνει ότι με την πάροδο του χρόνου η εξάντληση του εύκολα αποδομούμενου οργανικού-C οδήγησε στη μείωση της μικροβιακής βιομάζας και στο ρυθμού αναπνοής αντίστοιχα.

Τα αποτελέσματα της αναπνευστικής δραστηριότητας φανερώνουν την έλλειψη τοξικής επίδρασης των ΥΑΕ στο έδαφος όσο αναφορά τις ποσότητες που εφαρμόστηκαν στη δική μας περίπτωση. Αυτά τα αποτελέσματα συμφωνούν και με τις μελέτες που προαναφέρθηκαν.

3.2.4. Βιομάζα

Με τον όρο βιομάζα αναφερόμαστε στη μάζα των κυττάρων που μπορούν να αναπτυχθούν και πολλαπλασιαστούν (Postage 1969). Επιπλέον ένας νέος ορισμός έχει αναφερθεί, όπου ορίζει ως βιομάζα το ζωτικό μέρος του οργανικού υλικού του εδάφους. Από τα παραπάνω αποτελέσματα μπορούμε να καταλάβουμε ότι η προσθήκη υγρών αποβλήτων στο έδαφος δεν επηρεάζει την ύπαρξη μικροοργανισμών, ούτε την ανάπτυξη τους. Συγκεκριμένα οι μετρήσεις με τις υψηλότερες τιμές ήταν όλες τις ημέρες στα δείγματα με τις μεταχειρίσεις 50% και 100% ΥΑΕ. Γεγονός που δικαιολογείται μέσω ερευνών οι οποίες στηρίζουν πως η παρουσία των οργανικών υλικών των ΥΑΕ μπορεί να ενισχύσει την μικροβιακή δραστηριότητα στο έδαφος, βοηθώντας στη διάσπαση των οργανικών ουσιών και τη δημιουργία ευνοϊκών συνθήκων για την ανάπτυξη της βιομάζας (Sierra J. 2001). Παρόμοιες μελέτες παρουσιάζονται στο κεφάλαιο 1.4 όπου μετά την προσθήκη των ΥΑΕ παρατηρήθηκε αύξηση του πληθυσμού των μικροοργανισμών και συγκεκριμένα ο αριθμός των βιώσιμων αναπαραγωγικών μονάδων (c.f.u.) αυξήθηκε κατά 20 φορές [45].

Όσον αφορά τις δύο πρώτες μετρήσεις για τη μεταχείριση 100% OMW είναι φανερό ότι έχει συμβεί κάποιο σφάλμα. Αυτό μπορεί να έχει συμβεί από την προεπεξεργασία των δειγμάτων. Για παράδειγμα κατά διαδικασία καθαρισμού του χώματος από τυχών ρίζες, πέτρες και φύλλα. Επιπλέον η χρήση μικρότερης μάζας δείγματος κατά τη διαδικασία αλλά και η ξήρανση των δειγμάτων μπορεί να οφείλεται στην μείωση της μικροβιακής κοινότητας. Τέλος σφάλματα μπορεί να συνέβησαν κατά τη διαδικασία του πειράματος με τον ξηραντήρα. Όπως στη μη διατήρηση κενού αέρος λόγω κακής μόνωσης, κάτι που δημιούργησε μη κορεσμένο περιβάλλον για τα δείγματα.

4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Μέσω της παρούσας εργασίας μπορούμε να συμπεράνουμε πως η εναπόθεση των υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείου στο έδαφος αποτελεί μία αξιόλογη πρακτική για την διαχείριση τους. Επιπλέον διαπιστώθηκε πως και ακόμα και σε μεγάλες ποσότητες τα υγρά απόβλητα δεν αποτελούν απειλή για το έδαφος αλλά και ούτε για την χλωρίδα.

Τα αποτελέσματα επί των πλείστων έδειξαν πως όποια αλλαγή και αν παρατηρείται αρχικά με το πέρασμα των ημερών επανέρχεται στα ίδια επίπεδα που ήταν και πριν την εναπόθεση των αποβλήτων. Γεγονός αρκετά θετικό, το οποίο αποδεικνύει πως δεν παρατηρείται κάποια μόνιμη βλάβη στα εδάφη η οποία δεν μπορεί να αλλάξει.

Τέλος παρά αυτά τα θετικά αποτελέσματα πρέπει να διενεργηθούν ακόμα πιο μακροχρόνια πειράματα για να υπάρξει μια σαφής απάντηση για την επίδραση των ΥΑΕ. Ακόμη πρέπει να μελετηθεί η επίδραση τους στη δομή αλλά και στη λειτουργία των εδαφών. Έτσι ώστε μελλοντικά να μπορέσουν να καθοριστούν οι μέγιστες δόσεις αποβλήτων οι οποίες θα είναι επιτρεπτό να εφαρμοστούν στα εδάφη.

5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Ιορδάνης Γ. Χατζηπαυλίδης, Διδακτορική διατριβή με τίτλο: Επιπτώσεις των υγρών αποβλήτων των ελαιοτριβείων στη δυναμική και τις δράσεις των μικροβιακών πληθυσμών εμπλουτισμού στο έδαφος, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας, 1999.
- [2] Aktas E.S., Imre S. and Ersoy L. (2001). Characterization and lime treatment of olive mill wastewater. *Water Research*, pp. 2336-2340.
- [3] Israilides C.J., Vlyssides V.N., Mourafeti V.N. and Karvouni G. (1997). Olive oil wastewater treatment with the use of an electrolysis system. *Bioresource Technology*, 61, pp. 163-170.
- [4] Fedeli, E. (1997). *Lipids of Olives. Progress in the Chemistry of Fats and Other Lipids*. Academic Press, Oxford, pp. 57-74
- [5] Kiritsakis, A. (1990). Deterioration of Olive Oil. In: *Olive Oil*. A. Kiritsakis (Ed). AOCS PRESS, Champaign, Illinois. pp 13-15, 104-127
- [6] Ευάγγελος Κωνσταντίνος, Ζήκος, Διδακτορική διατριβή με τίτλο: Μελέτη των ποιοτικών χαρακτηριστικών του ελαιόλαδου όπως επηρεάζονται από την καλλιέργεια της ελιάς και τη διαδικασία εξαγωγής, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Τμήμα Χημείας, 2017.
- [7] Μαρίνα, Γεωργαλάκη, Διδακτορική διατριβή με τίτλο: Ενζυμικές δράσεις στις ελιές και το ελαιόλαδο, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, 1999.
- [8] Boskou, D. (1996), *Olive Oil Composition. Olive Oil Chemistry and Technology*. Champaign, Illinois. 117, pp. 55-83.
- [9] Μπαλατσούρας, Γ.Δ. (1997)., “Σύγχρονη Ελαιοκομία (Το Ελαιόδεντρο – Το Ελαιόλαδο - Η επιτραπέζια Ελιά)” Τόμος Δεύτερος. Το Ελαιόλαδο. Αφοί Φραγκούδη Ο.Ε
- [10] Inglese, P., Famiani, F., Galvano, F., Servili, M., Esposto, S., & Urbani, S.(2010) Factors Affecting Extra-Virgin Olive Oil Composition. *Horticultural Reviews*, 38, 83-147.
- [11] IOC. (2013c). International Olive Council: Trade standard applying to olive oils and olive-pomace oils COI/T. 15/NC No 3/Rev. 7. May 2013.
- [12] Francisco Cabrera, Piedad Martin-Olmedo, Rafael Lopez, Jose Manuel Murillo, (2004): Nitrogen mineralization in soils amended with composted olive mill sludge
- [13] Tzanakakis, V.E., Paranychianakis, N.V., Angelakis, A.N., 2007. Nutrient removal and biomass production in land treatment systems receiving domestic effluent. *Ecological Engineering* in press.

- [14] Ντόλια Σ., (2006). Διαχείριση αποβλήτων ελαιουργείων. Ανασκόπηση ερευνών και προβλήματα. Μεταπτυχιακή Εργασία, Διατμηματικό Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών «Συστήματα Διαχείρισης Ενέργειας και Προστασίας Περιβάλλοντος», Εθνικό Μετσόβειο Πολυτεχνείο, Πανεπιστήμιο Πειραιά, Αθήνα 2006.
- [15] Vlyssides A.G., Loukakis H.N., Israilides C., Barampouti E.M. and Mai S. (2003). Detoxification of olive mill wastewater using a Fenton process. Proc 2nd Eur. Bioremediation Conf Chania, pp. 531-534.
- [16] Roig A., Cayuela M.L. and Sanchez-Monedero M.A. (2006). An overview on olive mill wastes and their valorisation methods. Waste Management, 26, pp. 960-969.
- [17] Dimitrios Georgios Karpouzas, Constantina Rousidou, Kalliope Papadopoulou, Fotios Bekris, Georgios I. Zervakis, Brajesh K. Singh, Constantinos Ehaliotis (2009): Effect of continuous olive mill wastewater application, in the presence and absence of nitrogen fertilization, on the structure of rhizosphere -soil fungal communities
- [18] Anna Piotrowska, Maria Antonietta Rao, Riccardo Scotti, Liliana Gianfreda, (2010): Changes in soil chemical and biochemical properties following amending with crude and dephenolized olive mill waste water
- [19] D. Moraetis, F.E. Stamati, N.P. Nikolaidis, N. Kalogerakis, (2011): Olive mill wastewater irrigation of maize: Impacts on soil and groundwater
- [20] M. Belaqqiz, E.K. Lakhal, H.D. Mbouobda, I.E. Hadrami (2008): Land spreading of olive mill wastewater:Effect on maize (zea mays) crop
- [21] Φωτεινόπουλος, Ι. (2016). Διαχείριση των Αποβλήτων της Ελαιουργικής Δραστηριότητας στο Νομό Μεσσηνίας. Μεταπτυχιακή Διατριβή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης.
- [22] Dermeche, S., Nadour, M., Larroche, C., Moulti-Mati, F., & Michaud, P. (2013). Olive mill wastes: biochemical characterizations and valorization strategies. Process Biochemistry, 48 (10), 1532-1552.
- [23] Saviozzi A., Levi-Minzi R., Riffadi R., Lupetti A., Effetti dello spandimento do acque di vegetazione sul terreno agrario. Agrochimica 35, 135,148.
- [24] Reed et al. (1995): Use of olive mill wastewater as an organic amendment for *Mentha spicata* L.
- [25] Jordi Sierra, Esther Marti, M. Antonia Garau, Robet Cruanas, (2007): Effects of the agronomic use of olive oil mill wastewaters: Field experiment
- [26] M. Belaqqiz, E.K. Lakhal, H.D. Mbouobda, I.E. Hadrami (2008): Land spreading of olive mill wastewater:Effect on maize (zea mays) crop
- [27] Cabrera, F, Lopez, R.,Martinez-Bortiu, A, Dupuy de Lomeb, E, and J.M. Murillo (1996). Land Treatment of Olive Oil Mill Wastewater. Internutional Biodeterioration & Biodegradation (1996) 215.-225.

- [28] Tchobanoglous G., Burton F. L., Stensel D.H. (2003), "Wastewater Engineering, Treatment & Reuse ", Fourth Edition, McGraw Hill, USA
- [29] Manuel Jimenez Aguilar (2009): Olive oil mill wastewater for soil nitrogen and carbon conservation
- [30] Saez L, Perez J, Martinez J. (1992). Low molecular weight phenolics attenuation during simulated treatment of wastewaters from olive oil mills in evaporation ponds. *Water Research*. 26(9): 1261–1266
- [31] Ben Sassi A, Boularbah A, Jaouad A, Walker G, Boussaid A. (2006). A comparison of Olive oil Mill Wastewaters (OMW) from three different processes in Morocco. *Process Biochemistry*. 41(1): 74–78.
- [32] Karpouzas DG, Ntougias S, Iskidou E, et al. (2010). Olive mill wastewater affects the structure of soil bacterial communities. *Applied Soil Ecology*. 45(2): 101–111
- [33] Piotrowska A. Iamarino G., Rao M.A & Gianfreda L. (2005) Short-term effects of olive oil mill waste water (OMW) on chemical and biochemical properties of a semiarid Mediterranean soil. *Soil Biology & Biochemistry* 1-11.
- [34] Tsagaraki E., Lazarides H.N., Petrotos K.B., (2006). Olive Mill Wastewater Treatment. *Utilization of By-Products and Treatment of Waste in the Food Industry*, p.133–157.
- [35] Aissam H., Penninckx M.J., Benlemlih M., (2007). Reduction of phenolics content and COD in olive oil mill wastewaters by indigenous yeasts and fungi. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, Vol. 23, p.1203–1208, 2007.
- [36] Bleve G., Lezzi C., Chiriatti M., D'Ostuni I., Tristezza M., Di Venere D., Sergio L., Mita, G., Grieco F., (2011). Selection of nonconventional yeasts and their use in immobilized form for the bioremediation of olive oil mill wastewaters. *Bioresource Technology*, Vol. 102, p.982–989, 2011.
- [37] Speltini A., Sturini M., Maraschi F., Dondi D., Fisogni G., Annovazzi E., Profumo A., Buttafava A., (2015). Evaluation of UV-A and solar light photocatalytic hydrogen gas evolution from olive mill wastewater. *Int. Journal of Hydrogen Energy* Vol. 40 (12), p.4303–4310, 2015.
- [38] Paraskeva P., Diamadopoulos E. (2006). Technologies for olive mill wastewater (OMW) treatment: a review. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 81(9), p.1475–1485.
- [39] Mittrakas M., Papageorgiou G., Docoslis A., Sakellaropoulos G., (1996). Evaluation of various pretreatment methods for olive mill wastewaters. *European Water Pollution Control*, Vol. 6, p.10-16, 1996.
- [40] Bodini, S. F., Cicalini, A. R., and Santori, F. (2011). Rhizosphere dynamics during phytoremediation of olive mill wastewater. *Bioresource Technology*, 102(6), 4383-4389

- [41] Tomati U. and Galli E. (1992). The fertilizing value of waste waters from the olive processing industry. In: Kubat J. ed. Humus, its Structure and Role in Agriculture and Environmental. Barking: Elsevier Science Publisher, pp. 117-126
- [42] Χατζηπαυλίδης Ι. (1999). Επιπτώσεις των υγρών αποβλήτων ελαιοτριβείων στην δυναμική και τις δράσεις των μικροβιακών πληθυσμών εμπλουτισμού στο έδαφος. Διδακτορική διατριβή, Τμήμα Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.
- [43] Morisot A. and Toumier J-P. (1986). Repercussions agronomiques de l'épandage d'effluents et déchets de moulins à huile d'olive. *Agronomie*, 6, pp. 235-241
- [44] Di Serio M.G., Lanza B., Mucciarella M.R., Russi F., Iannucci E., Marfisi P. and Madeo A. (2008). Effects of olive mill wastewater spreading on the physico-chemical and microbiological characteristics of soil. *Intern. Biodet. Boidegr.*, 62 (4), pp. 403-407.
- [45] Balis C., Chatzipavlidis I. and Flouri F. (1996). Olive mill waste as a substrate for nitrogen fixation. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 38, pp. 169-178.
- [46] Μήτσιος Ι.Κ. (2003) Γονιμότητα εδαφών. Πανεπιστημιακή έκδοση, Βόλος.
- [47] Βαλαβανίδης Α., Βλαχογιάννη Θ. (2009) Περιβαλλοντική Χημεία & Οικοτοξικολογία Διαχείριση Οικοσυστημάτων Εκτίμηση Οικολογικού Κινδύνου. Αθήνα. Εκδόσεις Σύγχρονα Θέματα
- [48] Watanabe Marcos D.B., Ortega E., (2011) Ecosystem services and biogeochemical cycles on a global scale: valuation of water, carbon and nitrogen processes. *Environmental science & policy* 14, 594-604
- [49] Σκούλλος Μ. (2010) Χημεία Περιβάλλοντος. Αθήνα Εκδόσεις Συμμετρία
- [50] Bernhard A., (2012) The Nitrogen Cycle
- [51] Suzuki I., Dular U., and Kwok S.C., (1974) Ammonia or ammonium ion as substrate for oxidation by *Nitrosomonas europaea* cells and extracts. *J. Bacteriol.* 120:556-558.
- [52] Χουλιάρης Ν. (2009) Λίπανση καλλιεργειών και μέθοδοι προσδιορισμού, Εκδόσεις ΙΩΝ, Αθήνα 2009
- [53] Μπόβη Κ. (1991) Θρέψη του φυτού, Γεωργικό Πανεπιστήμιο Αθηνών 1991
- [54] Μακρίδης Χ. (1982) Η υποβάθμιση της γονιμότητας των εδαφών σαν αποτέλεσμα της μη ορθολογικής χρήσης των μέσων της παραγωγικής διαδικασίας – Πρακτικά τόμος Α΄ Πανελληνίου συνεδρίου ΓΕΩ.Τ.Ε.Ε για την " Προστασία περιβάλλοντος και γεωργική παραγωγή"

[55] Evert R. F., Eichhorn, S.E., (2014) Βιολογία των φυτών, 8^η αμερικανική έκδοση- 1^η ελληνική έκδοση. Εκδόσεις Utopia, Αθήνα.

[56] Σινάνης Κ. (2016) Έδαφος- Διαχείριση- Περιβάλλον. Εκδόσεις Ψύχαλου, Αθήνα

[57] Ding B., Chen Z., Li Z., Qin Y., Chen S. (2019) 'Nitrogen loss through anaerobic ammonium oxidation coupled to iron reduction from ecosystem habitants in the Taihu estuary region', Science of the Total Environment pp.600-606.