



**ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**



## **Διπλωματική Εργασία**

**ΒΙΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗ ΡΥΠΑΣΜΕΝΗΣ ΑΜΜΟΥ ΜΕ IFO-180 ΜΕ  
ΧΡΗΣΗ ΑΖΩΤΟΥ(N) ΚΑΙ ΦΩΣΦΩΡΟΥ (P) ΒΡΑΔΕΙΑΣ  
ΑΠΟΔΕΣΜΕΥΣΗΣ**

**Ντάνος Ευάγγελος**

Εξεταστική Επιτροπή:

- Καλογεράκης Νικόλαος (Επιβλέπων Καθηγητής)
- Γεώργιος Καρατζάς
- Δανάη Βενιέρη

## Πρόλογος

Η συγκεκριμένη εργασία εκπονήθηκε κατά τη φοίτησή μου στο Πολυτεχνείο Κρήτης , στη σχολή Μηχανικών Περιβάλλοντος το έτος 2015 για την απόκτηση του διπλώματος.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κύριο Νικόλαο Καλογεράκη που μου έδωσε τη δυνατότητα να ασχοληθώ με το συγκεκριμένο θέμα που έχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον.

Επίσης θέλω να ευχαριστήσω θερμά τη Μαρία Νικολοπούλου για την πολύτιμη βοήθεια της στο εργαστηριακό κομμάτι και την επιτυχή διεξαγωγή των πειραμάτων.

Οφείλω επίσης ευχαριστίες στον κύριο Πασαδάκη για την παραχώρηση του εργαστηριακού του χώρου και του εξοπλισμού του εργαστηρίου του αλλά και για τη βοήθειά του στην ανάλυση των μετρήσεων, και στην κυρία Δανάη Βενιέρη για την παραχώρηση εξοπλισμού του εργαστηρίου της.

Τέλος θέλω να ευχαριστήσω ιδιαίτερα και να αφιερώσω αυτή την εργασία στους γονείς μου, Διονύση και Καλομοίρα, στον παππού μου Βαγγέλη και στην οικογένειά μου που είναι πάντα δίπλα μου . Ακόμα ευχαριστώ το Γιάννη Χατά που μοιραστήκαμε το πειραματικό κομμάτι και με βοήθησε σημαντικά, το Χάρη Λαγουδάκη, το Χάρη Τσαγδή, το Δημήτρη Ξυλά , το Νικόλα Μπατιστάτο και όλους τους φίλους που έκαναν τα χρόνια των σπουδών μου σημαντικά και αξέχαστα.

## Περίληψη

Στην παρούσα εργασία γίνεται μία σύντομη αναφορά στις επιπτώσεις της θαλάσσιας και κατ' επέκταση παράκτιας ρύπανσης από πετρελαιοειδή, καθώς επίσης και στις μεθόδους αποκατάστασης της θάλασσας και των ακτών. Στο πειραματικό σκέλος εξετάζεται η αποτελεσματικότητα της μεθόδου βιοαποδόμησης (landfarming) με διεργασίες βιοδιάσπασης από αυτόχθονες μικροοργανισμούς (βακτήρια) σε ρυπασμένη άμμο από IFO-180(μαζούτ), ρυπαντής που προσομοιάζει με ακρίβεια την πλειονότητα των περιστατικών παράκτιας ρύπανσης.. Τα θρεπτικά υλικά που χρησιμοποιήθηκαν είναι λιπάσματα αζώτου και φωσφόρου βραδείας αποδέσμευσης, διατηρήθηκε το ενδεδειγμένο ποσοστό υγρασίας και η κατάλληλη ανάδευση, για τον απαραίτητο αερισμό.

Για το σκοπό αυτό έγιναν μετρήσεις αποτελεσματικότητας και σύγκριση μετρήσεων χρονική, ποιοτική και ποσοτική, μεταξύ δειγμάτων διαφορετικών θρεπτικών μέσων (DT, B3M, RF) και ενός δείγματος control χωρίς την προσθήκη θρεπτικών μέσων, που προσομοιάζει την φυσική αποδόμηση. Οι μετρήσεις αφορούν την αποδόμηση των κορεσμένων και πολυαρωματικών υδρογονανθράκων.

Η μέθοδος για την εξέταση των παραγόντων βιοεξυγίανσης βασίζεται στο τροποποιημένο πρωτόκολλο δοκιμής της αποτελεσματικότητας των παραγόντων της μεθόδου που ανέπτυξε η EPA ("Swirling flask dispersant effectiveness test, revised standard dispersant toxicity test and bioremediation agent effectiveness test"/40 CFR Part 300 Appendix C). Το πρωτόκολλο δοκιμής επιδιώκει να καθορίσει την ικανότητα ενός προϊόντος να βιοδιασπάσει το πετρέλαιο μέσω της ποσοτικοποίησης των αλλαγών στη σύνθεση του πετρελαίου. Πιο συγκεκριμένα, εξετάζει τη μικροβιακή δραστηριότητα (μέσω των μικροβιακών αναλύσεων – CFUs και MPN) και φανερώνει την ποσοτική απομάκρυνση των κορεσμένων υδρογονανθράκων και των πολυαρωματικών αρωματικών υδρογονανθράκων (PAHs).

## Περιεχόμενα

Πρόλογος.....	2
Περίληψη.....	3
Περιεχόμενα.....	4
Εισαγωγή.....	6
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 .....	7
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ.....	7
1.1    Ιδιότητες πετρελαίου .....	7
Φυσικοχημικές ιδιότητες-μεταβολές πετρελαίου .....	7
1.2 Επιπτώσεις ρύπανσης πετρελαίου σε περιβάλλον και άνθρωπο .....	10
1.2.1 Εισαγωγή.....	10
1.2.2 Επιπτώσεις στο περιβάλλον.....	10
1.2.3 Επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία και δραστηριότητα .....	12
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 .....	13
ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΚΑΙ ΠΡΟΛΗΨΗΣ ΡΥΠΑΝΣΗΣ ΑΠΟ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΕΙΔΗ ΣΕ ΘΑΛΑΣΣΑ ΚΑΙ ΑΚΤΕΣ.....	13
2.1 Εισαγωγή .....	13
2.2 Τεχνικές αποκατάστασης θαλάσσιας ρύπανσης .....	14
2.2.1 Μηχανικές μέθοδοι.....	14
2.2.2 Χημικές μέθοδοι.....	16
2.2.3 Εναλλακτικές μέθοδοι.....	17
2.3 Αποκατάσταση ρύπανσης ακτών .....	17
2.3.1 Μέθοδοι αποκατάστασης παράκτιας ρύπανσης.....	18
2.3.2 Τεχνική βιοεξυγίανσης εδαφών landfarming .....	20
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 .....	23
ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ – ΔΟΚΙΜΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΒΙΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗΣ.....	23
3.1 Περίληψη μεθόδου .....	23
3.1 Αντιδραστήρια και Θρεπτικά Καλλιέργειας.....	25
3.1.1 Προετοιμασία Πετρελαίου .....	25
3.1.2 Προετοιμασία άμμου .....	25
3.1.3 Θρεπτικά μέσα εμπλουτισμού άμμου .....	26

3.1.4Δομή του Πειράματος .....	26
3.2 Μικροβιολογική Ανάλυση .....	27
3.2.1 Προετοιμασία Θρεπτικού Μέσου .....	27
3.2.2 Μικροβιακή Απαρίθμηση .....	27
3.3 Χημική Ανάλυση .....	28
3.3.1 Προετοιμασία Δείγματος .....	28
3.2.2 GC/MS Ανάλυση .....	31
Κεφάλαιο 4 .....	35
Επεξεργασία μετρήσεων-παρουσίαση αποτελεσμάτων .....	35
4.1 Χημικές Αναλύσεις .....	36
4.1.1 Αλκάνια.....	36
4.1.2 Αρωματικά.....	41
4.2 Μικροβιακές Αναλύσεις .....	46
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ .....	48
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	49

## Εισαγωγή

Ένα μεγάλο μέρος των ατυχημάτων στη θάλασσα που έχει ως αποτέλεσμα τη διαρροή καυσίμων και φορτίων πετρελαιοειδών σχηματίζουν πετρελαιοκηλίδες και συνήθως η θάλασσα ρύπανση επεκτείνεται και στις ακτές. Σε πολλές περιπτώσεις η ρύπανση επιφέρει εκτεταμένες βλάβες στο θαλάσσιο και παράκτιο περιβάλλον και οι επιπτώσεις επηρεάζουν αρνητικά τόσο την ανθρώπινη δραστηριότητα και υγεία όσο και την υγεία των οργανισμών που ζουν στα ρυπασμένα αυτά οικοσυστήματα. Η αποκατάσταση τέτοιων πεδίων είναι πολλές φορές χρονοβόρα και με υψηλό κόστος. Επίσης απαιτεί την απαραίτητη τεχνογνωσία και εξοπλισμό ώστε να τελεσφορήσει. Στη διπλωματική αυτή εργασία παρουσιάζονται αποτελέσματα (σύγκριση αποτελεσματικότητας) εργαστηριακών μετρήσεων για την τεχνική που εφαρμόζεται για την απορρύπανση ακτών με άμμο. Συγκεκριμένα με τη μέθοδο της βιοεξυγίανσης – landfarming και τη χρήση θρεπτικών ουσιών αζώτου και φωσφόρου. Στο θεωρητικό σκέλος που προηγείται, γίνεται αναφορά στις συνέπειες μιας τέτοιου τύπου ρύπανσης, καθώς επίσης και των μεθόδων απορρύπανσης θαλάσσιας και παράκτιας ρύπανσης από πετρελαιοειδή. Αυτές οι αναφορές βοηθούν στην κατανόηση του προβλήματος και τονίζουν τη σημασία της πειραματικής έρευνας για την εξέλιξη των μεθόδων αντιμετώπισης τέτοιων περιστατικών όπως γίνεται σε αυτή την εργασία.

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

## ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ

### 1.1 Ιδιότητες πετρελαίου

Το πετρέλαιο ή αργό πετρέλαιο είναι ένα σύνθετο μίγμα υδρογονανθράκων. Ανάλογα με την περιοχή καταγωγής-παραγωγής του πετρελαίου η αναλογία των συστατικών ποικίλει. Οι περιεκτικότητες των στοιχείων του πετρελαίου είναι ως εξής:

- Άνθρακας: 83.90 - 86.80 (% κ.β.)
- Υδρογόνο: 11.40 – 14.00 (%κ.β.)
- Θείο: 0.06 - 8.00 (%κ.β.)
- Άζωτο: 0.11-1.70 (%κ.β.)
- Οξυγόνο: 0.50 (%κ.β.)
- Μέταλλα: 0.03 (%κ.β.)

Τα συστατικά στοιχεία αυτά περιέχονται σε υγρή η και αέρια μορφή.

Οι φυσικές ιδιότητες του πετρελαίου :

- Χρώμα: Το χρώμα του πετρελαίου ποικίλει από ανοιχτό κίτρινο έως και το μαύρο.
- Οσμή: Η οσμή του πετρελαίου θεωρείται δυσάρεστη και οφείλεται κυρίως στις ενώσεις του θείου που περιέχει.
- Ειδικό βάρος: Από 0.75-1.06.

### Φυσικοχημικές ιδιότητες-μεταβολές πετρελαίου

Οι φυσικοχημικές μεταβολές του πετρελαίου επηρεάζουν τη συμπεριφορά του σε περίπτωση που αυτό αποτελέσει ρύπο για το φυσικό περιβάλλον. Σε περιπτώσεις δηλαδή διαρροής στη θάλασσα όπως δηλαδή στην περίπτωση που εξετάζουμε, η γενικότερα στην ανεξέλεγκτη εναπόθεσή του στο περιβάλλον.

Οι κατηγορίες των συστατικών του πετρελαίου χωρίζονται σε εμμένοντα και μη εμμένοντα και χαρακτηρίζουν τη συμπεριφορά τους σε περίπτωση απόθεσής τους στο θαλάσσιο περιβάλλον. Τα πρώτα είναι αυτά που κυρίως μας απασχολούν λόγω της ανάγκης τεχνητής απομάκρυνσής τους καθώς έχουν μεγάλο χρόνο αποικοδόμησης και οι ιδιότητές τους τα βοηθούν να εξαπλώνονται στο θαλάσσια περιβάλλον αλλά και να εναποτίθενται στις ακτές. Σε αντίθεση με τα μη εμμένοντα που με την απόθεσή τους στη θάλασσα λόγω της πτητικότητάς τους και της διάλυσης τους στο νερό δεν αποτελούν ουσιαστική πηγή ρύπανσης που να χρήζει τεχνητής απομάκρυνσης.

Μπορούμε να κατηγοριοποιήσουμε τις φυσικοχημικές ιδιότητες εξάπλωσης και μεταφοράς των πετρελαιοειδών ως εξής:

- **Εξάπλωση (spreading):**

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

- **Βιοαποικοδόμηση (biodegradation):**

Η βιοαποδόμηση του πετρελαίου από βακτήρια που ζουν στη θάλασσα συμβάλει σημαντικά στη μετατροπή του πετρελαίου σε οξειδωμένα προϊόντα. Ο ρυθμός αποικοδόμησης εξαρτάται από πλήθος παραγόντων όπως η θερμοκρασία, οι θρεπτικές ουσίες, η περίσσεια ή μη οξυγόνου, αλλά και τον τύπο του πετρελαίου. Στην περίπτωση αυτή τα βακτήρια είναι ενεργά στη διεπιφάνεια νερού-πετρελαίου και αυτό έχει σαν συνέπεια ο ρυθμός αποικοδόμησης να εξαρτάται από το μέγεθος των επιφανειών που σχηματίζονται. Σε μεγάλες επιφάνειες έχουμε δηλαδή μεγαλύτερες ταχύτητες. Τα κλάσματα μεγαλύτερου μοριακού βάρους έχουν και πιο αργούς ρυθμούς αποδόμησης. Υψηλές ταχύτητες αποδόμησης συναντάμε σε θερμοκρασίες άνω των 25° C ενώ σε θερμοκρασίες κάτω των 5° C η μικροβιακές δραστηριότητες ανάπτυξης σταματούν.

- **Γαλακτοματοποίηση (emulsification) :**

Μία περίπτωση γαλακτώματος είναι αυτή που έχουμε τυρβώδη ροή στο νερό το πετρέλαιο υπάρχει πιθανότητα να διασπαστεί σε σταγονίδια αιωρούμενα στο νερό, έτσι η κηλίδα του πετρελαίου δεν επηρεάζεται από τυχόν ανέμους και μπορεί να σχηματιστεί εκ νέου σε κάποια απόσταση από την αρχικά διαρροή.

Δεύτερη περίπτωση είναι αυτή στην οποία έχουμε σχηματισμό εντός λίγων ωρών και να περιέχει νερό σε ποσοστό επί του συνολικού όγκου έως 90%. Άρα όπως γίνεται εύκολα αντιληπτό έχουμε αύξηση του όγκου που πρέπει να ανακτήσουμε προκειμένου να καταπολεμήσουμε τη ρύπανση. Σε αυτές τις περιπτώσεις εκτός από την αύξηση του όγκου του ρύπου έως και στο δεκαπλάσιο, επιβραδύνει τις διαδικασίες γήρανσης και επηρεάζει και την ίδια τη μορφή του πετρελαίου που από υγρή τείνει να χαρακτηριστεί στερεή. Οι συνέπειες των γαλακτωμάτων όπως γίνεται αντιληπτό δυσχεραίνουν σε μεγάλο βαθμό τις μεθόδους – τεχνικές αποκατάστασης.

- **Φώτο-οξείδωση (oxidation):**

Οξείδωση καλούμε την αντίδραση των υδρογονανθράκων με το οξυγόνο. Αντιδράσεις τέτοιου τύπου λαμβάνουν χώρα στην επιφάνεια και όπως και στην περίπτωση της βιοαποδόμησης η ταχύτητα της διεργασίας μεγαλώνει όταν έχουμε μεγάλες επιφάνειες, όταν δηλαδή τα πετρελαιοειδή απλώνονται σε μεγάλες επιφάνειες- λεπτές μεμβράνες μέσα στο θαλάσσιο περιβάλλον. Η υπεριώδης ακτινοβολία από το φως του ηλίου επιταχύνει την οξείδωση

και κάτω από ιδανικές συνθήκες μπορεί να έχει σαν αποτέλεσμα την επίδραση των καιρικών συνθηκών σε ποσοστό μέχρι 1% του πετρελαίου που διέρρευσε ανά ημέρα. Λόγω της ταχείας μείωσης της διείσδυσης του φωτός σε στρώματα πετρελαίου μεγάλου πάχους οι επιπτώσεις φωτοοξείδωσης παρουσιάζονται σε κηλίδες μικρού πάχους ή στα επιφανειακά στρώματα κηλίδων μεγάλου πάχους. Οι επιπτώσεις αυτού μπορεί να ευνοούν ή να εμποδίζουν την περαιτέρω ανάπτυξη της ρύπανσης. Τα πετρέλαια που

οξειδώνονται με τη δράση του φωτός είναι γενικά περισσότερο διαλυτά και διασκορπίζονται καλύτερα στο θαλασσινό νερό και επομένως είναι βιοαποδομήσιμα. Σε βαρέα πετρέλαια ή σε εκείνα που έχουν χάσει τα ελαφρά συστατικά τους, η φωτοοξείδωση ευνοεί τις αντιδράσεις πολυμερισμού που εμποδίζει το χειρισμό αυτών των πετρελαίων και την τελική αποικοδόμησή τους.

- **Βύθιση και κατακάθιση (sedimentation and sinking):**

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

- **Κίνηση:**

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

- **Εξάτμιση (evaporation):**

Η διεργασία αυτή λαμβάνει χώρα μέσα σε λίγες ώρες ύστερα από τη διαρροή και τα πλέον πτητικά κλάσματα μίας πετρελαιοκηλίδας χάνονται στην ατμόσφαιρα με ρυθμό που καθορίζεται από την ταχύτητα του ανέμου, τη θερμοκρασία και τον τύπο του πετρελαίου. Όταν η θάλασσα είναι ταραγμένη ο ρυθμός εξάτμισης αυξάνεται, γιατί διευκολύνεται η απώλεια πετρελαίου από τις κορυφές των κυμάτων, υπό μορφή σταγονιδίων. Μεγάλες ταχύτητες ανέμου και υψηλές θερμοκρασίες αυξάνουν επίσης τους ρυθμούς εξάτμισης. Το υπόλοιπο πετρέλαιο που παραμένει στη θάλασσα έχει μεγαλύτερη πυκνότητα και ιξώδες απ' ότι το αρχικό. Στις περισσότερες κηλίδες αργού πετρελαίου χάνεται μέχρι το 40% του όγκου τους στις πρώτες 48 ώρες, ενώ το

βαρύ πετρέλαιο που περιέχει λίγες πτητικές ενώσεις θα παρουσιάσει λίγη εξάτμιση ακόμη και μετά από αρκετές ημέρες. Τα ελαφρά προϊόντα διύλισης, όπως βενζίνη, κηροζίνη και πετρέλαιο ντίζελ θα εξατμισθούν σχεδόν τελείως σε διάστημα ωρών, δημιουργώντας κίνδυνο πυρκαγιάς σε κλειστές περιοχές, όπως τα λιμάνια.

- **Διάλυση (dissolution):**

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

## **1.2 Επιπτώσεις ρύπανσης πετρελαίου σε περιβάλλον και άνθρωπο**

### **1.2.1 Εισαγωγή**

Οι συνέπειες της ρύπανσης στο θαλάσσιο περιβάλλον αλλά και στις ακτές είναι πολλές και αγγίζουν πολλούς τομείς των έμβιων οργανισμών που υπάρχουν στα οικοσυστήματα αυτά αλλά και την ανθρώπινη υγεία, δραστηριότητα και εκμετάλλευση των περιοχών αυτών. Η έμφαση στις συνέπειες της ρύπανσης θαλασσών και ακτογραμμών αναδεικνύουν την αναγκαιότητα λήψης μέτρων πρόληψης και αποκατάστασης των ακτών και θαλασσών όπως το Landfarming που εφαρμόζεται στην παρούσα εργασία.

### **1.2.2 Επιπτώσεις στο περιβάλλον**

Σημαντικές επιπτώσεις στο περιβάλλον έχει και μόνο η ύπαρξη πετρελαίου στην επιφάνεια των θαλασσών και των ακτών καθώς υποβαθμίζει την ποιότητα του θαλασσινού νερού και των χρήσεων του. Εμποδίζει διεργασίες απαραίτητες για το βιολογικό κύκλο της θαλάσσιας και παράκτιας ζωής. Προκαλεί αύξηση της θερμοκρασίας του νερού και εμποδίζει το ηλιακό φως να περάσει εμποδίζοντας τις φωτοσυνθετικές λειτουργίες οργανισμών όπως το φυτοπλαγκτόν στη θάλασσα και την καταστρέφει την παράκτια βλάστηση λόγω της προσκόλλησής του στις ακτές.

Οι άμεσες συνέπειες στους οργανισμούς μπορεί να είναι από ελάχιστες έως και τον άμεσο θάνατο λόγω της υψηλής τοξικότητας των ουσιών του πετρελαίου. Οι οργανισμοί που επηρεάζονται είναι αυτοί που έχουν άμεση επαφή με την περιοχή που ρυπάνθηκε αλλά και έμμεση μέσω της διατροφής. Επίσης η προσκόλληση πετρελαίου στη φτερά των πτηνών όπως και η εισπνοή των πτητικών τοξικών συστατικών του πετρελαίου προκαλεί το θάνατο σε ενδημικούς ή και αποδημητικούς πληθυσμούς που έρχονται σε επαφή με το πετρέλαιο.

Ενδεικτικά: Μόλις 0,2  $\mu\text{g/l}$  πετρελαίου στο θαλασσινό νερό μπορούν να επηρεάσουν την αναπαραγωγή ορισμένων αλγών (Steele, 1977). Σε συγκεντρώσεις 2-10  $\mu\text{g/l}$  το πετρέλαιο επηρεάζει την επιβίωση των νυμφών των ψαριών (Vandermeulen&Capuzzo, 1983) και ελαττώνει την παραγωγή αυγών και την πιθανότητα επιτυχούς ωοτοκίας (Kuhnholdetal, 1978). Σε συγκεντρώσεις 20-40  $\mu\text{g/l}$  το πετρέλαιο μπορεί να επιφέρει αλλαγές στη σύσταση του φυτοπλαγκτόν, ευνοώντας πχ. τα μικρότερα είδη, ανατρέποντας κατ' αυτό τον τρόπο τις ισορροπίες ολόκληρης της τροφικής αλυσίδας (Lee, 1977). Συγκεντρώσεις της τάξης των 0,1 g/Kg στα ιζήματα μπορούν να επιφέρουν δυσμενείς επιπτώσεις στους βενθικούς οργανισμούς (Elmgren&Frithsen, 1982).

Οι έμμεσες συνέπειες αφορούν τη γενική μείωση πληθυσμών και αναπαραγωγικής δραστηριότητας των ενδημικών οργανισμών της ρυπασμένης περιοχής, τις κακές επιπτώσεις στο ανοσοποιητικό σύστημα των οργανισμών αλλά και την κακή επιρροή μέσω της διατροφής σε οργανισμούς που δεν έχουν άμεση επαφή( τοπικά η χρονικά) με την περιοχή. Μέσω όμως της κατανάλωσης οργανισμών που έχουν στον οργανισμό τους τοξικές ουσίες προσβάλλονται και οι ίδιοι.



**Εικόνα 1:** Συνέπιες πετρελαϊκής ρύπανσης στο περιβάλλον

### 1.2.3 Επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία και δραστηριότητα

Μία από τις πιο προφανείς επιπτώσεις ενός τέτοιου τύπου ρύπανσης είναι η αισθητική υποβάθμιση των συγκεκριμένων περιοχών , η οποία ανάλογα με τη μέθοδο αποκατάστασης και την αρχική έκταση της ρύπανσης μπορεί να διαρκέσει μέχρι και αρκετά χρόνια.

Όπως γίνεται αντιληπτό η ανθρώπινη δραστηριότητα και εκμετάλλευση τέτοιων περιοχών μέχρι την αποκατάστασή τους είναι από μειωμένη έως αδύνατη .Η χρήση των περιοχών για αναψυχή αλλά και η τουριστική εκμετάλλευσή τους μηδενίζεται. Σημαντικές τοπικές οικονομικές πηγές επηρεάζονται όπως η αλιεία ,η τουριστική ανάπτυξη και η εκμετάλλευση των ακτών ως αλυκές .

Επίσης σημαντικές είναι οι συνέπειες ενός τέτοιου οικολογικού γεγονότος στην ανθρώπινη υγεία. Είναι γνωστό ότι το πετρέλαιο λόγω των τοξικών ουσιών του προκαλεί διάφορες επιπλοκές στη ανθρώπινη υγεία , στο αναπνευστικό σύστημα, στο ανοσοποιητικό αλλά και μέσω της άμεσης έκθεσης-εισπνοής πτητικών συστατικών αλλά και της συσσώρευσης μέσω της διατροφής, βλαβερών συστατικών και αρωματικών τοξικών ενώσεων που ευθύνονται για καρκινογενέσεις. Επίσης άμεσες είναι οι δερματικές παθήσεις που προκαλούνται με την επαφή βαρέων κλασμάτων πετρελαίου (μαζούτ) στο δέρμα.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

# ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗΣ ΚΑΙ ΠΡΟΛΗΨΗΣ ΡΥΠΑΝΣΗΣ ΑΠΟ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΕΙΔΗ ΣΕ ΘΑΛΑΣΣΑ ΚΑΙ ΑΚΤΕΣ

### 2.1 Εισαγωγή

Στο παραπάνω κεφάλαιο έγινε αναφορά στις συνέπειες της ρύπανσης της θάλασσας και κατά συνέπεια των ακτών από πετρελαιοειδή , έτσι γίνεται σαφής η αναγκαιότητα λήψης και εφαρμογής μέτρων αποκατάστασης . Στο παρόν κεφάλαιο ακολουθεί μια αναφορά στις τεχνικές καταπολέμησης αυτού του τύπου ρύπανσης και τεχνικές καταπολέμησης της παράκτιας ρύπανσης που είναι φυσικό επακόλουθο της θαλάσσιας .Μετά από την ανεξέλεγκτη απόθεση πετρελαίου στη θάλασσα η ρύπανση και των ακτών πρέπει να θεωρείται δεδομένη εκτός ελαχίστων εξαιρέσεων. Η επιχείρηση αποκατάστασης προϋποθέτει την απαραίτητη τεχνογνωσία, οργάνωση και το σωστό εξοπλισμό.



**Εικόνα 2:** Σχηματισμός πετρελαιοκηλίδας

## 2.2 Τεχνικές αποκατάστασης θαλάσσιας ρύπανσης

### 2.2.1 Μηχανικές μέθοδοι

- **Φράγματα**

Τα φράγματα είναι πλωτές συσκευές κατασκευασμένες για τον περιορισμό και τον έλεγχο κίνησης του πετρελαίου στην επιφάνεια της θάλασσας. Τα φράγματα τοποθετούνται στατικά ή μη με στόχο τον εγκλωβισμό της πετρελαιοκηλίδας, την προστασία της περιοχής και τη διευκόλυνση της περισυλλογής του ρύπου. Ανάλογα με το υλικό κατασκευής τους τα φράγματα διακρίνονται σε 3 κατηγορίες:

- Εύκαμπτα
- Ημιεύκαμπτα
- Δύσκαμπτα

Τα ημιεύκαμπτα αποτελούν την πλειοψηφία καθώς είναι τα κατάλληλα για συνθήκες ανοιχτής θάλασσας.

Ο τρόπος κατασκευής τους τα διακρίνει σε:

- Τύπου φράκτη
- Τύπου κουρτίνας

Ο τύπος των φραγμάτων που θα επιλεγεί εξαρτάται από τη θέση, το μέγεθος και την κίνηση της κηλίδας, της μετεωρολογικές και υδρολογικές συνθήκες, τη μορφολογία των πλησιέστερων ακτών αλλά και τις προτεραιότητες που θέτουμε για την προστασία του περιβάλλοντος.

Η απόδοσή τους εξαρτάται από την ομαλότητα των καιρικών συνθηκών της περιοχής (ταχύτητες ανέμου - ρευμάτων ύψος κυμματισμού).

- **Πετρελαιοσυλλέκτες**

Οι πετρελαιοσυλλέκτες είναι μηχανικές συσκευές σχεδιασμένες να συλλέγουν πετρέλαιο ή μίγμα νερού - πετρελαίου χωρίς να αλλοιώνουν τα φυσικά και χημικά χαρακτηριστικά του.

Οι πετρελαιοσυλλέκτες διακρίνονται ανάλογα με την αρχή λειτουργίας τους σε τρεις κατηγορίες:

➤ **Μηχανικοί πετρελαιοσυλλέκτες**

Η λειτουργία τους βασίζεται στη διαφορά πυκνότητας μεταξύ νερού και ρύπου και ανάλογα με τον τύπο τους απομονώνουν το πετρέλαιο και αυτό με τη σειρά του αντλείται προκειμένου να απομακρυνθεί. Οι επικρατέστεροι τύποι είναι οι εξής:

- Άμεσης απορρόφησης
- Τύπου WEIR
- Φυγοκεντρικοί (Δίνης)
- Κυλιόμενου ιμάντα
- 

➤ Ελαιόφιλοι πετρελαιοσυλλέκτες

Η λειτουργία τους βασίζεται στην ιδιότητα υλικών που χαρακτηρίζονται ως ελαιόφιλα μέσω της κινούμενης επιφάνειας που αυτά αποτελούν να απομακρύνουν το πετρέλαιο που προσκολλάται πάνω της. Οι επικρατέστεροι τύποι είναι οι εξής:

- Τύπου τυμπάνου
- Πετρελαιοσυλλέκτες δίσκου
- Πετρελαιοσυλλέκτες ιμάντα
- Πετρελαιοσυλλέκτες σχοινιού

Ανάλογα με την αυτονομία της κίνησής τους οι πετρελαιοσυλλέκτες επίσης διακρίνονται σε αυτοκινούμενες μονάδες ή μη αυτοκινούμενες. Ανάλογα με τη σχετική ταχύτητα των συσκευών σε σχέση με τη θάλασσα διακρίνονται σε δυναμικούς και στατικούς.

➤ Φράγματα περισυλλογής

Αυτός ο τύπος μονάδας ανάκτησης πετρελαίου είναι ένας συνδυασμός φράγματος και πετρελαιοσυλλέκτη. Είναι δηλαδή φράγματα με ενσωματωμένη συσκευή ανάκτησης.

Η χρήση των πετρελαιοσυλλεκτών αφορά την ανάκτηση του ρύπου τόσο στην ανοιχτή θάλασσα με τη χρήση τους από σκάφη όσο και την ανάκτηση του ρύπου κοντά στις ακτές. Η απόδοση τους εξαρτάται κυρίως από τις καιρικές συνθήκες στην περιοχή της εφαρμογής τους.

➤ Σκάφη περισυλλογής

Τα σκάφη αυτά είναι σχεδιασμένα με μηχανισμούς περισυλλογής του ρύπου από την επιφάνεια της θάλασσας. Οι τύποι των σκαφών διαφέρουν ανάλογα με το μέγεθός τους, το σύστημα περισυλλογής με ελαιόφιλες ή μηχανικές συσκευές, την παροχή ή μη δεξαμενής απόθεσης των ρύπων και άλλα κατασκευαστικά χαρακτηριστικά.

Η απόδοσή τους εξαρτάται από το μέγεθός τους και το κατά πόσο έχουν τη δυνατότητα κατασκευαστικά να λειτουργήσουν υπό δύσκολες συνθήκες. Η χρήση τους γίνεται σε ανοιχτή θάλασσα και σε κλειστούς κόλπους.

➤ Απορροφητικά υλικά

Τα απορροφητικά υλικά αποτελούνται από ένα σύνολο υλικών που έχουν την ιδιότητα να απορροφούν το πετρέλαιο ή να προσκολλάται αυτό πάνω τους. Αφού αφεθούν στο πεδίο ρύπανσης και κορεστούν συλλέγονται. Οι τύποι των υλικών χωρίζονται ως εξής:

- Κατεργασμένα φυτικά
- Κατεργασμένα ορυκτά
- Συνθετικά – πολυμερή

Ανάλογα με τη μορφή που έχουν χωρίζονται σε:

- Απορροφητικά Χύμα
- Απορροφητικά φράγματα – μαξιλάρια – φύλλα

Η απόδοση των απορροφητικών υλικών εξαρτάται από τα χαρακτηριστικά του εκάστοτε υλικού που θα χρησιμοποιηθεί (χρόνος κορεσμού, απορροφητικότητα του υλικού).

Η χρήση τους συνίσταται σε κηλίδες μικρής και μεσαίας έκτασης καθώς οι απαιτούμενες ποσότητες για μεγάλες πετρελαιοκηλίδες είναι απαγορευτικές.

### 2.2.2 Χημικές μέθοδοι

#### ▪ Χημικές διασκορπιστικές ουσίες

Η αρχή λειτουργίας τους βασίζεται στη λογική διάσπασης μιας πετρελαιοκηλίδας σε μικρά σταγονίδια που αργότερα μέσω της κίνησης του νερού διασκορπίζονται στη θάλασσα. Οι ενεργές ουσίες αυτές μειώνουν την επιφανειακή τάση μεταξύ νερού και ρύπου. Στην ουσία σε αντίθεση με τα μηχανικά μέσα η μέθοδος αυτή δε στοχεύει στην απομάκρυνση του ρύπου αλλά στο διασκορπισμό του στο θαλάσσιο περιβάλλον και την αποφυγή περεταίρω σοβαρής ρύπανσης των ακτών.

Οι τύποι των χημικών διακρίνονται σε:

- Συμβατικά διασκορπιστικά (2<sup>ης</sup> γενιάς)
- Συμπυκνωμένα διασκορπιστικά (3<sup>ης</sup> γενιάς)

Η χρήση τους γίνεται είτε από πλοία είτε από αεροσκάφη ή και από τις ακτές.

Η αποτελεσματικότητά τους εξαρτάται από μια σειρά στοιχείων που αφορούν την ποιότητα του νερού που εφαρμόζεται, την ποιότητα του ρύπου αλλά και το είδος των χημικών.

#### ▪ Άλλα χημικά

Τέτοιες ουσίες χρησιμοποιούνται σπάνια ή πειραματικά ακόμα, και συνήθως η χρήση τους στοχεύει στη διευκόλυνση των μηχανικών μεθόδων ανάκτησης αλλά και τη διάσπαση των γαλακτωμάτων που δημιουργούνται.

### **2.2.3 Εναλλακτικές μέθοδοι**

#### **▪ Βιοαποικοδόμηση**

Η μέθοδος αυτή περιγράφει όλες τις τεχνικές βιοδιέγερσης δηλαδή τεχνικές που ενισχύουν και επιταχύνουν τους ρυθμούς της φυσικής αποδόμησης των πετρελαιοειδών από αυτόχθονες μικροοργανισμούς. Η τεχνική αυτή περιλαμβάνει διαδικασίες ενίσχυσης των πληθυσμών των βακτηρίων που αποικοδομούνται πετρέλαιο με τη χρήση ενισχυτικών λιπασμάτων .

#### **▪ Επί τόπου καύση**

Η διαδικασία αυτή περιγράφει την εκούσια καύση του πετρελαίου συνήθως κοντά στην πηγή ρύπανσης. Το αποτέλεσμα αυτής της μεθόδου είναι η γρήγορη απομάκρυνση μεγάλης ποσότητας του ρύπου από την επιφάνεια των υδάτων. Οι αρνητικές όμως επιπτώσεις της μεθόδου αυτής περιορίζουν τη χρήση της. Τέτοιες συνέπειες είναι η πιθανή βύθιση στον πυθμένα της θάλασσας παχύρρευστων υπολειμμάτων, οι περιβαλλοντικές συνέπειες (ατμοσφαιρική ρύπανση λόγω της καύσης και ο δύσκολος έλεγχος της ανάφλεξης και της καύσης.

#### **▪ Φυσική αποικοδόμηση**

Η τακτική αυτή δεν χρησιμοποιείται συχνά και γενικά δύσκολα δικαιολογείται. Η τεχνική συνίσταται μόνο στην παρακολούθηση της κίνησης της κηλίδας. Συνήθως εφαρμόζεται στις περιπτώσεις εκείνες όπου πετρέλαιο και συνηθέστερα ελαφριά κλάσματα διαρρέουν στην ανοικτή θάλασσα, μακριά από ακτές και σε καταστάσεις θαλασσοταραχής.

### **2.3 Αποκατάσταση ρύπανσης ακτών**

Στις περισσότερες περιπτώσεις θαλάσσιας ρύπανσης από πετρελαιοειδή μετά το σχηματισμό πετρελαιοκηλίδας παρά την εφαρμογή κάποιων από τις παραπάνω τεχνικές, μικρές ή μεγάλες ποσότητες του ρύπου καταλήγουν στις ακτές. Οι ποσότητες αυτές εξαρτώνται από την ταχύτητα και την αποτελεσματικότητα της ανθρώπινης παρέμβασης για τον περιορισμό της, αλλά και την αρχική απόσταση της από την ακτογραμμή. Η απομάκρυνση των ρύπων από τις ακτές χρίζει ιδιαίτερης προσοχής καθώς οι επιχειρήσεις απορρύπανσης μπορεί να είναι πολύ δαπανηρές και αν δεν ενδείκνυνται για την περιοχή μπορεί να αποδειχτούν πολύ επιζήμιες για το περιβάλλον . Άρα συμπεραίνει κανείς ότι οι τεχνικές που θα αναφερθούν πρέπει να είναι επιλεγμένες σύμφωνα με τα σωστά κριτήρια και την

απαραίτητη τεχνογνωσία αλλά και την επάρκεια σε ανθρώπινο δυναμικό και εξοπλισμό.

Τα κριτήρια για την επιλογή της μεθόδου είναι :

- η ποιότητα, το είδος και τα χαρακτηριστικά του ρύπου
- η χρήση της συγκεκριμένης ακτής
- οι καιρικές συνθήκες της περιοχής
- η διαθεσιμότητα σε χρήματα, ανθρώπινο δυναμικό, εξοπλισμό
- η μορφολογία της ακτής

Τα απαραίτητα βήματα για να είναι αποτελεσματικές οι διαδικασίες απορρύπανσης είναι:

1. Περισυλλογή μεγάλων ποσοτήτων πετρελαίου ιδιαίτερα αυτών που επιπλέουν.
2. Περισυλλογή πετρελαίου που αποτέθηκε στην ακτή
3. Περισυλλογή διάσπαρτων – μεμονωμένων πετρελαιοκηλίδων

### **2.3.1 Μέθοδοι αποκατάστασης παράκτιας ρύπανσης**



**Εικόνα 3:** πετρελαϊκή ρύπανση στην παράκτια ζώνη

Οι αποδεκτές μέθοδοι σύμφωνα με τις οδηγίες του ευρωπαϊκού οργανισμού REMEC είναι οι εξής :

- Χειρονακτική Περισυλλογή Υλικών (που προσβλήθηκαν από το πετρέλαιο)

Η μέθοδος μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε όλους τους τύπους ακτών, για την περισυλλογή πετρελαίου και ρυπασμένου υλικού, ιδιαίτερα σε προσβολές μικρής και μεσαίας έκτασης. Η τεχνική αυτή απαιτεί τη στελέχωση ομάδων από πολλά άτομα αλλά είναι χρήσιμη σε ευαίσθητες περιβαλλοντικά ακτές.

- Μηχανική Περισυλλογή Υλικών (που προσβλήθηκαν από το πετρέλαιο)

Η μέθοδος μπορεί να χρησιμοποιηθεί μόνο σε ακτές που είναι προσπελάσιμες από την ξηρά και μπορούν να αντέξουν την κίνηση βαρέων οχημάτων. Η τεχνική αυτή είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική αν γίνει σε συνδυασμό με την χειρονακτική περισυλλογή.

- Χρησιμοποίηση Βυτιοφόρων

Η μέθοδος αυτή είναι πολύ διαδεδομένη στα περισσότερα σοβαρά περιστατικά ρύπανσης και συνίσταται στη απομάκρυνση του πετρελαίου που είναι συσσωρευμένο σε εσοχές της ακτής και των ποσοτήτων που επιπλέουν κοντά στην ακτογραμμή. Απαραίτητη είναι η προϋπόθεση , η ακτή να είναι προσπελάσιμη.

- Χρήση Μηχανημάτων Καθαρισμού Ακτών

Είναι ειδικά κατασκευασμένα μηχανήματα για τον καθαρισμό της άμμου και των χαλικιών από κομμάτια στερεοποιημένου πετρελαίου αλλά και για καθαρισμό απλών απορριμμάτων .

- Αμμοβολή

Η αποτελεσματικότητα της τεχνικής είναι υψηλή , όμως απευθύνεται σε τεχνικές κατασκευές ακτών και όχι σε ευαίσθητα παραθαλάσσια οικοσυστήματα.

- Πλύση με Χαμηλή Πίεση

Με αυτή τη μέθοδο επιτυγχάνεται η απομάκρυνση μόνο του ελαφρού πετρελαίου και προτείνεται η ταυτόχρονη χρήση συσκευών περισυλλογής για να μην επεκταθεί το πετρέλαιο στην ακτή.

- Πλύση με Υψηλή Πίεση

Η μέθοδος χρησιμοποιείται σε βραχώδεις ακτές ή σε μεγάλες πέτρες και τεχνικές κατασκευές. Λόγω της εκτόξευσης του ρύπου στην περιοχή αφού αποκολληθεί από τα βράχια συστήνεται η παράλληλη χρήση συσκευών περισυλλογής κοντά στις ακτές .

- Καθαρισμός με Ατμό

Οι πολύ υψηλές θερμοκρασίες που παρατηρούνται κατά τη μέθοδο αυτή, αφανίζουν κάθε ζωντανό οργανισμό του οικοσυστήματος και παρά το γεγονός ότι είναι αποτελεσματική μέθοδος καθώς μειώνει το ιξώδες του πετρελαίου και απομακρύνεται ευκολότερα, η χρήση της μεθόδου περιορίζεται.

- Καύση

Η καύση είναι συνήθως αναποτελεσματική και μη οικολογική μέθοδος απορρύπανσης.

- Μετατόπιση Υλικών ( που προσβλήθηκαν από το πετρέλαιο στη Θάλασσα)

Η μέθοδος είναι αποτελεσματική κυρίως κατά τη χειμερινή περίοδο όταν αναμένεται έντονος κυματισμός. Δεν στοχεύει στην απομάκρυνση ή αποικοδόμηση του πετρελαίου αλλά στην απελευθέρωση του προσκολλημένου ρύπου στη θάλασσα μέσω της επίδρασης των κυμάτων.

- Ανάμειξη με το Υπόστρωμα

Εφαρμόζεται στις περιπτώσεις εκείνες ακτών με χαλίκια ή άμμο οι οποίες δεν παρουσιάζουν κάποιο ενδιαφέρον και ουσιαστικά η μόνη παρέμβαση είναι η ανάμειξη με το υπόστρωμα που αυξάνει σχετικά τους ρυθμούς αποικοδόμησης.

- Αποφυγή Επέμβασης

Περιπτώσεις που δεν γίνεται καμία ενέργεια απομάκρυνσης του ρύπου με τεχνικά μέσα και το πετρέλαιο αφήνεται στην φυσική αποικοδόμησή του είναι λίγες. Δικαιολογείται όμως αυτή η τακτική όταν διαπιστώσουμε ότι η περιοχή ρύπανσης είναι τέτοια που ή πρέπει να αποφύγουμε οποιαδήποτε παρέμβαση λόγω υψηλής περιβαλλοντικής ευαισθησίας ή αν η περιοχή δεν έχει κανένα οικολογικό κόστος αν μείνει περισσότερο χρόνο ρυπασμένη ή κανένα οικονομικό ενδιαφέρον που να αφορά την ανθρώπινη δραστηριότητα.

### **2.3.2 Τεχνική βιοεξυγίανσης εδαφών landfarming**

Η μέθοδος landfarming αποτελεί μια πολύ αποτελεσματική τεχνική βιοεξυγίανσης. Η τεχνική βασίζεται στην βιοαποδόμηση των ρύπων του εδάφους από αυτόχθονες μικροοργανισμούς. Η αποτελεσματικότητα της μεθόδου προϋποθέτει τη διατήρηση και ενίσχυση παραγόντων που ευνοούν την αύξηση πληθυσμού των μικροοργανισμών και διασφαλίζουν τη δράση τους όσον αφορά την αποικοδόμηση του ρύπου.

Τέτοιοι παράγοντες είναι οι εξής:

#### -PH

Οι τιμές του pH του εδάφους που θεωρούνται ευνοϊκές για τους μικροοργανισμούς είναι μεταξύ 5.5-8.5.

#### -Αερισμός

Ο αερισμός είναι απαραίτητος για την ανάπτυξη και διατήρηση του μικροβιακού φορτίο στα επιθυμητά επίπεδα. Επιτυγχάνεται οργώνοντας το χώμα ή την άμμο .

#### -Θρεπτικές ουσίες

Συχνά προκρίμενου να έχουμε το επιθυμητό αποτέλεσμα σε πληθυσμιακή επάρκεια μικροοργανισμών προσθέτουμε θρεπτικές ουσίες αζώτου(N) φωσφόρου(P), θείου (S) καλίου (K) και άλλων στοιχείων.

#### -Δέκτες ηλεκτρονίων

Είναι άτομα ή ρίζες που δέχονται ηλεκτρόνια που προκύπτουν από την οξείδωση των οργανικών ενώσεων.

#### -Υγρασία

Σημαντικός παράγοντας στη δράση των μικροοργανισμών είναι η υγρασία . το επιθυμητό εύρος είναι 15-25% καθώς κάτω του 15% έχουμε αναστολή της δράσης τους ενώ άνω του 25% δεν επιτυγχάνεται ικανοποιητικός αερισμός του εδάφους.

#### -Θερμοκρασία

Οι μικροοργανισμοί επηρεάζονται καθοριστικά από τη θερμοκρασία που επικρατεί στο περιβάλλον τους, Θερμοκρασίες χαμηλότερες των 5°C αδρανοποιούνται ενώ σε περίπτωση που η θερμοκρασία ξεπεράσει τους 60°C καταστρέφονται. Ιδανικές τιμές θεωρούνται αυτές μεταξύ 20-30°C.

#### -τοξικότητα

Σε περίπτωση υψηλής τοξικότητας του εδάφους είναι απαραίτητη η πλύση ή ανάμειξη του εδάφους με μη τοξικό χώμα ή άμμο καθώς οι συνθήκες πολύ υψηλής τοξικότητας δεν βοηθούν τους μικροοργανισμούς να αναπτυχθούν.

Για την ομαλή εφαρμογή της συγκεκριμένης μεθόδου απαιτούνται μια σειρά προϋποθέσεων σε σχεδιαστικά στοιχεία στο πεδίο εφαρμογής . Αυτά θα συντελέσουν στην επιτυχημένη έκβαση των διεργασιών :

- Σωστή διαμόρφωση του χώρου με τις απαραίτητες μετακινήσεις αντικείμενων που στέκονται εμπόδιο στη διαδικασία (ρίζες, μεγάλα αντικείμενα στο έδαφος).

- Συχνά ανάλογα με την ευαισθησία του υδροφορέα και το είδος του ρύπου απαιτείται η τοποθέτηση μη διαπερατής μεμβράνης στο υπόστρωμα του εδάφους, αλλά και σύστημα συλλογής διασταλλαγμάτων.
- Σε περίπτωση που το ύψος της βροχής της περιοχής είναι μεγάλο, μπορεί να χρηστεί απαραίτητη η τοποθέτηση στέγης τύπου θερμοκηπίου ώστε να διατηρούμε τα επίπεδα υγρασίας σε επιθυμητά πλαίσια.

Όπως σε κάθε μέθοδο έτσι και σε αυτή μπορούμε να παρατηρήσουμε μειονεκτήματα και πλεονεκτήματα που αφορούν το σχεδιασμό, την αποτελεσματικότητα, το κόστος και το πεδίο εφαρμογής.

Πλεονεκτήματα:

- Το σχεδιαστικό κομμάτι της τεχνικής είναι απλό.
- Τα λειτουργικά έξοδα της μεθόδου είναι λίγα.
- Ο χρόνος αποκατάστασης είναι σχετικά μικρός (6- 24 μήνες).
- Η αποκατάσταση είναι σε ικανοποιητικό επίπεδο με άνω του 95% επί της συγκέντρωσης, απομάκρυνση του ρύπου (διαφέρει ανάλογα με το είδος του ρύπου).
- Οι περιβαλλοντικές επιπτώσεις της μεθόδου είναι μηδαμινές.

Μειονεκτήματα:

- Οι παράγοντες που επηρεάζουν τη σωστή εφαρμογή της μεθόδου είναι πολλοί και απαιτούν πλήρη έλεγχο.
- Όταν το έδαφος έχει πολλούς ρύπους μεγάλης τοξικότητας η διαδικασία εξυγίανσης του εδάφους επιμηκύνεται χρονικά.
- Η μείωση των συγκεντρώσεων των ρύπων σε ποσοστά άνω του 95% είναι σχεδόν αδύνατη στα χρονικά πλαίσια που έχουμε θέσει.

Συμπερασματικά θα λέγαμε ότι πρόκειται για μια οικολογική και αποτελεσματική τεχνική αποκατάστασης με πολλά πεδία εφαρμογής. Τα πεδία αυτά αφορούν την ελεγχόμενη αποδόμηση οργανικών ρύπων αστικών λυμάτων, υπόγειων υδάτων, απορρύπανση εδαφών και ακτών από πολυαρωματικούς υδρογονάνθρακες, πτητικές οργανικές ουσίες, και άλλες οργανικές ενώσεις. Το προϊόν της δράσης της αποσύνθεσης των ενώσεων από τους μικροοργανισμούς (βακτήρια, μύκητες) είναι διοξείδιο του άνθρακα και νερό και σε περιπτώσεις ατελούς αποσύνθεσης ενώσεις όπως μεθάνιο, υδρόθειο, νιτρικά άλατα.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

# ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ – ΔΟΚΙΜΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΒΙΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗΣ

### 3.1 Περίληψη μεθόδου

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για την εξέταση των παραγόντων βιοεξυγίανσης βασίζεται στο τροποποιημένο πρωτόκολλο δοκιμής της αποτελεσματικότητας των παραγόντων βιοεξυγίανσης της EPA (40 CFR Ch. I, Pt 300, App. C). Το πρωτόκολλο δοκιμής της αποτελεσματικότητας των παραγόντων βιοεξυγίανσης σχεδιάστηκε για να καθορίσει την ικανότητα ενός προϊόντος να βιοδιασπάσει το πετρέλαιο ποσοτικοποιώντας τις αλλαγές στη σύνθεση του πετρελαίου ως αποτέλεσμα της βιοδιάσπασης. Το πρωτόκολλο εξετάζει τη μικροβιακή δραστηριότητα και ποσοτικοποιεί την απομάκρυνση των κορεσμένων υδρογονανθράκων και των πολυαρωματικών αρωματικών υδρογονανθράκων (PAHs). Η διαδικασία προετοιμασίας των δειγμάτων περιλαμβάνει την εκχύλιση της φάσης του πετρελαίου στο διχλωρομεθάνιο (DCM), με μια επόμενη ανταλλαγή διαλύτη σε εξάνιο. Για να ολοκληρωθούν αποτελεσματικά οι στόχοι του πρωτοκόλλου δοκιμής, είναι απαραίτητο να κανονικοποιηθεί η συγκέντρωση των διάφορων αναλυτών στο πετρέλαιο σε έναν μη-βιοδιασπάσιμο δείκτη, είτε C2-ή C3-φθενανθρένιο, C2-χρυσένιο, ή χοπάνιο. Η μέθοδος δοκιμής στοχεύει τα σχετικά εύκολα να διασπαστούν κανονικά αλκάνια και τα ανθεκτικότερα και τοξικά PAHs. Κανονικοποιεί τις συγκεντρώσεις τους σε C2-ή C3- φθενανθρένιο, C2- χρυσένιο, ή C30 17α(H), 21β (H)- χοπάνιο σε μια βάση βάρους πετρελαίου (mg δείκτη/kg πετρελαίου, mg αναλύτη στόχου/kg πετρελαίου).

Η αναλυτική τεχνική χρησιμοποιεί έναν αέριο χρωματογράφο/φασματομέτρο μάζας υψηλής ανάλυσης (GC/MS) λόγω του υψηλού βαθμού χημικού διαχωρισμού και φασματικής ανάλυσης. Το GC/MS έχει χρησιμοποιηθεί από καιρό για να μελετήσει τη γήρανση και τη τύχη των διαρροών πετρελαίου στο περιβάλλον. Για τις ποσοτικές αναλύσεις, το όργανο λειτουργεί στον selective ion detection (SIM) με ρυθμό ανίχνευσης μεγαλύτερο από 1,5 ανιχνεύσεις ανά δευτερόλεπτο για να μεγιστοποιηθεί το εύρος της γραμμικής ποσοτικοποίησης και η ακρίβεια του οργάνου. Η μέθοδος προετοιμασίας των δειγμάτων δεν αποκλείει την ανάλυση των επιλεγμένων δειγμάτων από το GC/MS σε fullscanning τρόπο λειτουργίας για να αξιολογηθούν ποιοτικά οι αλλαγές στο πετρέλαιο που δεν ελήφθησαν από την προσέγγιση SIM. Εκτελείται ταυτόχρονα με τη χημική ανάλυση που περιγράφεται ανωτέρω και μικροβιολογική ανάλυση. Η μικροβιολογική ανάλυση εκτελείται για να καθοριστεί και να ελεγχθεί η βιωσιμότητα των υπό μελέτη μικροβιακών πληθυσμών. Κάτω από αυτήν την διαδικασία, οι μικροβιακές απαριθμήσεις των βιοαποδομητών υδρογονανθράκων εκτελούνται σε κάθε δειγματοληψία χρησιμοποιώντας έναν microtiter Most Probable Number (MPN) προσδιορισμό.

## ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ ΓΙΑ ΤΙΣ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ:

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

## ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ ΓΙΑ ΤΙΣ ΧΗΜΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ:

1. Πιπέτες Pasteur
2. Σφαιρικές φιάλες
3. Υαλοβάμβακας
4. Υποδοχείς
5. Εκχυλιστήρες SOXHLET
6. Ογκομετρικές φιάλες
7. Ξηραντήρας
8. Vials 2, 5, 20, 40 ml
9. Στήλες SPE (Solid Phase Extraction)
10. Μηχάνημα Αζώτου (Nitrogen flow)
11. GC/MS όργανο

### 3.1 Αντιδραστήρια και Θρεπτικά Καλλιέργειας

#### 3.1.1 Προετοιμασία Πετρελαίου

Το πετρελαιοειδές που χρησιμοποιήθηκε είναι τύπου IFO-180 και δεν χρειάστηκε ιδιαίτερη επεξεργασία. Το IFO-180 γνωστό και ως μαζούτ, είναι ένα βαρύ κλάσμα πετρελαίου που συναντάμε σε πολλές περιπτώσεις παράκτιας ρύπανσης.

#### 3.1.2 Προετοιμασία άμμου

Όλα τα προϊόντα εξετάζονται σε καθαρή φυσική άμμο. Καθαρή φυσική άμμος σημαίνει ότι η πηγή αυτής της άμμου δεν θα πρέπει να έχει ρυπανθεί βαριά με βιομηχανικά ή άλλου είδους απόβλητα. Για παράδειγμα η ποσότητα της άμμου που θα συλλεχθεί δεν θα πρέπει να βρίσκεται πλησίον κάποιου εμπορικού λιμένα ή δίπλα σε κανάλια απόρριψης βιομηχανικών/δημοτικών αποβλήτων. Έτσι η άμμος συλλέχθηκε από την περιοχή του Αγ. Ονούφριου, προς τα τέλη του Μαρτίου. Αμέσως μετά τη μεταφορά της στο χώρο των εργαστηρίων, η άμμος κοσκινίζεται χειροκίνητα περνώντας από κόσκινο του οποίου οι οπές έχουν διάμετρο 2mm. Η διαδικασία αυτή έγινε για την απομάκρυνση τυχόν μεγαλύτερων σωματιδίων αλλά και για τον καθαρισμό της από μικρό-σωματίδια σκουπιδιών και φυκιών. Η άμμος εν τέλει τοποθετείται σε pyrex μεγέθους 20cm × 20cm × 6cm και 1 kgr περίπου σε ποσότητα. Για την ρύπανση της άμμου χρησιμοποιήθηκαν 5gr IFO-180 ανά 1 kgr άμμου ( $5 \cdot 10^3$  ppm).

### 3.1.3 Θρεπτικά μέσα εμπλουτισμού άμμου

- 1 DT: Λίπασμα βραδείας αποδέσμευσης, περιέχει σταθεροποιημένο αμμωνιακό άζωτο 14% , και 7% φώσφορο.
- 2 B3M: Λίπασμα βραδείας αποδέσμευσης, με διάρκεια δράσης έως 3 μήνες. Περιέχει 16% συνολικό άζωτο και 8% φώσφορο.
- 3 RF: Λίπασμα βραδείας αποδέσμευσης, με διάρκεια δράσης έως 4 μήνες. Περιέχει 20% συνολικό άζωτο , 5% φώσφορο.

### 3.1.4 Δομή του Πειράματος

	Δευτέρα	Τρίτη	Τετάρτη	Πέμπτη	Παρασκευή	Σάββατο	Κυριακή
Μάρτιος	28	29	30	31		1	2
	3	4	5	6	7	8	9
	10	11	12	13	14	15	16
	17	18	19	20	21	22	23
	24	25	26	27	28	29	30
Απρίλιος	31	1	2	3	4	5	6
	7	8	9	10	11	12	13
	14	15	16	17	18	19	20
	21	22	23	24	25	26	27
Μάιος	28	29	30	1	2	3	4
	5	6	7	8	9	10	11
	12	13	14	15	16	17	18
	19	20	21	22	23	24	25
	26	27	28	29	30	31	1
Ιούνιος	2	3	4	5	6	7	8
	9	10	11	12	13	14	15
	16	17	18	19	20	21	22
	23	24	25	26	27	28	29
	30	1	2	3	4	5	6

**Πίνακας 1:** Πρόγραμμα Πειραμάτων

Με κόκκινο: Έναρξη πειράματος (μέτρηση 0 days)

Με πράσινο: Ημέρες δειγματοληψίας (μετρήσεις 15,30,45,60,100 days)

## 3.2 Μικροβιολογική Ανάλυση

Για να ελεγχθεί η βιωσιμότητα των υπό μελέτη μικροβιακών καλλιεργειών, εκτελούνται μικροβιακές απαριθμήσεις των βιοαποδομητών υδρογονανθράκων σε κάθε γεγονός δειγματοληψίας χρησιμοποιώντας έναν microtiter MPN προσδιορισμό και CFU π. Αυτός χρησιμοποιείται ως δείκτης της σχετικής αλλαγής στη βιομάζα. Αυτή η δοκιμή στηρίζεται στη χρήση της απόκρισης ανάπτυξης ως ένδειξη ενισχυμένης δραστηριότητας σε σύγκριση με έναν έλεγχο (μάρτυρα) "καμίας προσθήκης".

### 3.2.1 Προετοιμασία Θρεπτικού Μέσου

Τα θρεπτικά για τις μικροβιακές απαριθμήσεις προετοιμάζονται προσεκτικά σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή και αποστειρώνονται ακολουθώντας συγκεκριμένες μεθόδους.

#### *Προετοιμασία Τριβλίων με marineagar*

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

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

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

#### *Προετοιμασία Bushnell-Haas (B-H) Θρεπτικού.*

- Διαθέτουμε έτοιμο εμπορικό θρεπτικό μέσο, ζυγίζουμε 3,27g Bushnell-Hassmedium και τα βάζουμε σε μια ογκομετρική φιάλη του 1 L προσθέτοντας 1 L απιονισμένο νερό. Αναδεύουμε και στη συνέχεια το τοποθετούμε στον αποστειρωτικό κλίβανο.

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

### 3.2.2 Μικροβιακή Απαρίθμηση

Πριν τις αναλύσεις, εκτελούμε τις απαραίτητες αραιώσεις. Η διαδικασία περιλαμβάνει τα ακόλουθα βήματα:

- Ανάμιξη 5gr δείγματος ρυπασμένης άμμου με 50mlBH-medium και ανάδευση για 30min.
- Μεταφορά 1ml ύδατος από τη φιάλη που αναδεύσαμε σε αποστειρωμένο σωλήνα αραιώσης που περιέχει 9ml αποστειρωμένου Bushnell-Haas.
- Εκτέλεση τμηματικών αραιώσεων (1ml από την προηγούμενη κάθε φορά αραιώση σε σωλήνα αραιώσης που περιέχει 9ml αποστειρωμένου Bushnell-Haas), μέχρι την  $10^{-12}$  αραιώση.

➤ CFUs

Η μέτρηση της ποσότητας των μικροοργανισμών με την μέθοδο CFUs (Colony-FormingUnit) μας παρέχει πληροφορία για την ανάπτυξη ή μη των μικροοργανισμών. Πιο συγκεκριμένα, καταγράφεται ο μικροβιακός πληθυσμός ανά τακτά χρονικά διαστήματα ώστε να είναι δυνατή η αναγνώριση της ένδειξης της αποτελεσματικότητας της βιοαποικοδόμησης.

Σε τριβλία, τα οποία περιέχουν θρεπτικό υλικό(άγαρ), τοποθετούμε υγρό δείγμα από τις κατάλληλες κάθε φορά αραιώσεις(ώστε να είναι δυνατή η καταμέτρηση), τα τοποθετούμε στον επωαστικό θάλαμο για 48 ώρες και τελικά γίνεται η καταμέτρηση των αποικιών των μικροοργανισμών.

➤ MPN (MostProbableNumber):

Η μέθοδος αυτή εξάγει ποσοτικά αποτελέσματα σε σχέση με τις εξεταζόμενες συγκεντρώσεις) και παρέχει πληροφορίες για την βιωσιμότητα των υπό μελέτη μικροβιακών καλλιεργειών. Σε κάθε δειγματοληψία, πραγματοποιείται μικροβιακή απαρίθμηση των βιοαποδομητών υδρογονανθράκων με χρήση ενός microtiter MPN προσδιορισμό.

Η διαδικασία περιλαμβάνει τα εξής βήματα (σε συνθήκες αποστείρωσης, με κάθε σκεύος που χρησιμοποιούμε να είναι αποστειρωμένο):

- 180 μl B-H broth προστίθενται σε κάθε πηγαδάκι.
- μL πετρελαίου προστίθενται σε κάθε πηγαδάκι.
- 20μL δείγματος από κάθε διάλυση προστίθενται σε κάθε πηγαδάκι στη σωστή σειρά ξεκινώντας από το πιο πυκνό. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται 3 φορές για κάθε διάλυση. Οι δυο τελευταίες στήλες είναι έλεγχοι (μάρτυρες) (δεν προστίθεται καθόλου δείγμα).
- Τα πλακίδια επωάζονται στους 20 °C.
- Προστίθενται 50μl INT μετά από 15 μέρες επώασης.
- Μετά από μία μέρα επώασης, προσδιορίζεται η αλλαγή χρώματος στα πηγαδάκια (Η εμφάνιση κόκκινου η ροζ χρώματος πιστοποιεί θετική ένδειξη).
- Ο αριθμός των θετικών ενδείξεων (και της κατάλληλης διάλυσης στην οποία αντιστοιχούν) καταγράφεται.

### 3.3 Χημική Ανάλυση

#### 3.3.1 Προετοιμασία Δείγματος

##### 3.3.1.1 Εκχύλιση δειγμάτων με συσκευή Soxhlet.

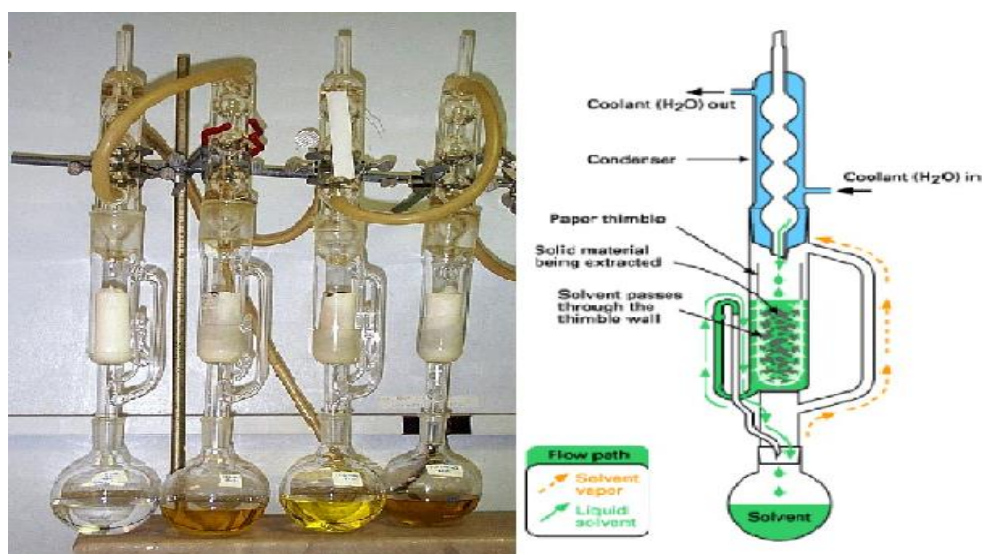
Η εκχύλιση είναι μία από τις πιο συχνά χρησιμοποιούμενες μεθόδους διαχωρισμού. Η μέθοδος αυτή εφαρμόζεται στο πετρέλαιο και σε δείγματα πετρωμάτων.

Η πλέον διαδεδομένη εργαστηριακή τεχνική είναι η εκχύλιση των δειγμάτων σε συσκευή Soxhlet (Εικόνα 4), χρησιμοποιώντας διαλύτες όπως το χλωροφόρμιο ή διχλωρομεθάνιο.

Τοποθετούμε το δείγμα ρυπασμένης άμμου (10g αφού πρώτα έχει ξηραθεί με αντίστοιχη ποσότητα  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) και ξαναζυγίζουμε. Στη συνέχεια καλύπτουμε το δείγμα με υαλοβάμβακα, και τοποθετείται τον υποδοχέα μέσα στον εκχυλιστήρα Soxhlet.

Στην συνέχεια τοποθετούνται περίπου 300ml DCM(από απόσταξη) στη σφαιρική φιάλη των 500ml. Στην ίδια φιάλη αφού έχει προζυγιστεί τοποθετούνται και 5-10 σφαιρίδια βρασμού ώστε να εξασφαλίζεται ομαλός βρασμός. Η φιάλη τοποθετείται στη θερμαντική συσκευή και προσαρμόζονται σε αυτή ο εκχυλιστήρας Soxhlet και ο ψυκτήρας. Στην συνέχεια αρχίζει η θέρμανση ενώ διοχετεύεται και νερό στον ψυκτήρα. Η διαδικασία της εκχύλισης διαρκεί 24h.

Με την ολοκλήρωση της, αφήνεται το εκχύλισμα να κρυώσει και κατόπιν μεταφέρεται σε περιστροφικό εξατμιστήρα (rotaryevaporator) όπου εξατμίζεται ο διαλύτης. Συλλέγεται το απόσταγμα από τον συμπυκνωτή και στη συνέχεια μεταφέρεται για περίπου 24h στον ξηραντήρα, και έπειτα ζυγίζεται και μεταφέρεται σε φιαλίδια. Τα φιαλίδια τοποθετούνται σε θερμαντική συσκευή και εξατμίζεται ο διαλύτης σε ρεύμα αζώτου. Το φιαλίδιο ξαναζυγίζεται και προσδιορίζεται το βάρος των υδρογονανθράκων από τη διαφορά των δύο ζυγίσεων.



**Εικόνα 4:** Συσκευές Εκχύλισης Soxhlet

### 3.3.1.2 Εκχύλιση Στερεάς Φάσης (SolidPhaseExtraction-SPE) – Κλασματοποίηση Πετρελαίου

Μετά από το τέλος της εκχύλισης, ζυγίζουμε 5-10mg πετρελαίου και τα μεταφέρουμε σε προζυγισμένο φιαλίδιο όπου το διαλύουμε σε 1 mL εξανίου.

1. Αφού προσαρμόσουμε την διάταξη SPE κάνουμε ένα PRECONDITIONING της στήλης με 6 mL εξανίου

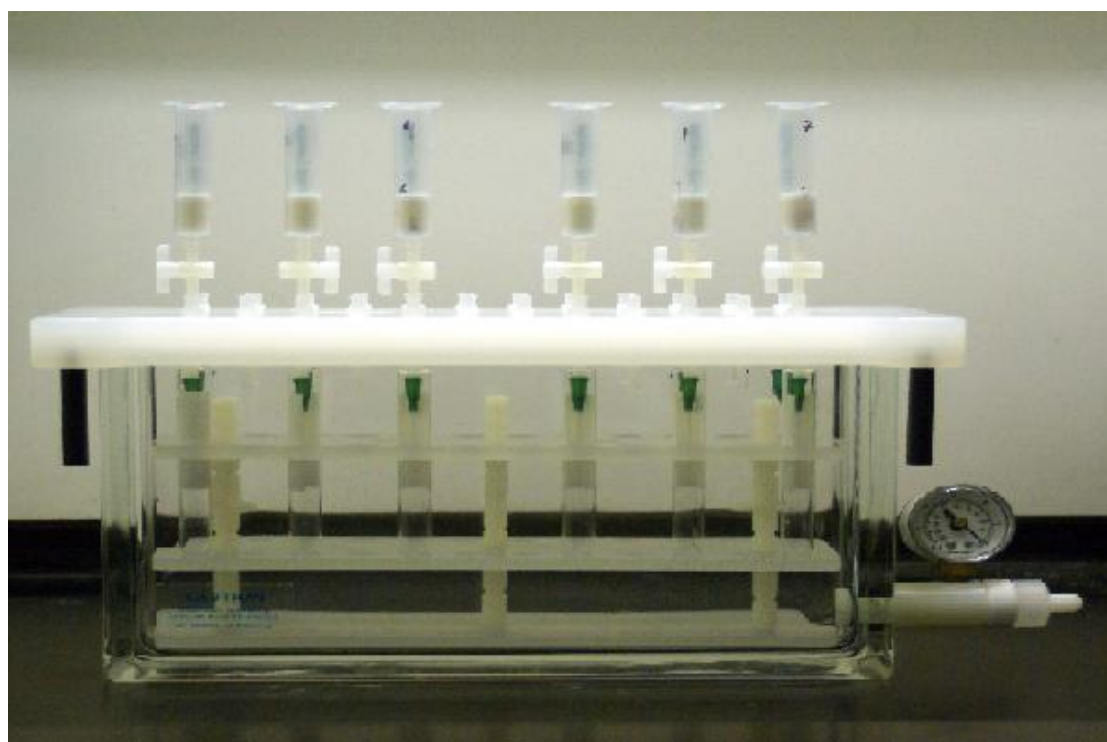
2. παίρνουμε το δείγμα και το βάζουμε μονομιάς με μια πιπέτα στην στήλη.

Προσθέτουμε 4 mL εξανίου με μια πιπέτα σε κάθε στήλη για να πάρουμε το 1ο κλάσμα που είναι τα κορεσμένα (αλκάνια) FI.

3. Στη συνέχεια περνάμε από τη στήλη 4 mL DCM (1:1) για να ανακτήσουμε το κλάσμα των αρωματικών υδρογονανθράκων (FII).

4. Αφού ολοκληρωθεί η διαδικασία μεταφέρουμε σε προζυγισμένα φιαλίδια τα 2 κλάσματα για ξήρανση σε ρεύμα αζώτου και τα τοποθετούμε για περίπου 24 ώρες στο ξηραντήρα .Την επόμενη ημέρα ζυγίζονται και πάλι.

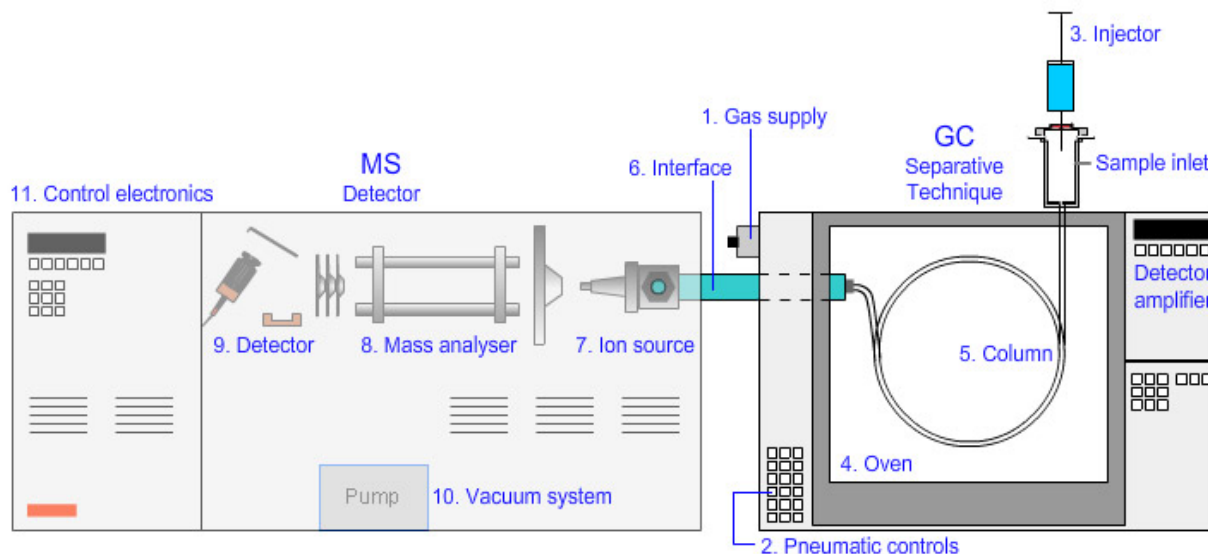
5. Ξεπλένουμε την συσκευή με τον τελευταίο διαλύτη που χρησιμοποιήσαμε.



Εικόνα 5: Στήλες SPE

### 3.2.2 GC/MS Ανάλυση.

Στο σύστημα ανάλυσης αέριας χρωματογραφίας-φασματογραφίας μάζας (Εικόνα 5.11), ο αέριος χρωματογράφος χρησιμοποιείται για τον διαχωρισμό των συστατικών του δείγματος και ο φασματογράφος μάζας για την ανίχνευση, ταυτοποίηση αλλά και ποσοτικοποίησή τους. Αυτό επιτυγχάνεται διασπώντας τις ενώσεις σε ηλεκτρικά φορτισμένα μέρη, ιόντα. Η πορεία διάσπασης κάθε μιας ένωσης εξαρτάται από την χημική της δομή και παρέχει ένα και μοναδικό αποτύπωμα (ίχνος) που είναι χαρακτηριστικό για αυτή.



Εικόνα 6: Αέριος Χρωματογράφος συνδεδεμένος με Φασματογράφο (GC/MS)

#### 3.2.2.1 Διαδικασία Ανάλυσης στο GC/MS

Αμέσως πριν από την έγχυση, ένα εσωτερικό πρότυπο (internal standard) διάλυμα τεσσάρων δευτεριωμένων ενώσεων προστίθεται στα εκχυλίσματα των δειγμάτων. Τα δείγματα ποσοτικοποιούνται χρησιμοποιώντας την τεχνική εσωτερικού προτύπου για τα αλειφατικά και τα αρωματικά κλάσματα των εκχυλισμάτων πετρελαίου προκειμένου να παρασχεθούν ικανοποιητικές πληροφορίες ότι το πετρέλαιο αποδομείται. Για να διασφαλιστεί ότι η παρατηρηθείσα πτώση στους αναλύτες στόχους προκαλείται από βιοαποικοδόμηση παρά από φυσική απώλεια από την κακομεταχείριση ή την ανεπαρκή εκχύλιση, είναι απαραίτητο να κανονικοποιηθούν οι συγκεντρώσεις των αναλυτών στόχων μέσω εσωτερικών δεικτών "conserved internal marker". Εσωτερικοί δείκτες που έχουν βρεθεί χρήσιμοι για την ποσοτικοποίηση είναι C2- ή C3-φθενανθρένιο, C2-χρυσένιο και C3017α(H),21β(H)-χοπάνιο. Τα δευτεριωμένα εσωτερικά πρότυπα χρησιμοποιούνται για να υπολογιστεί το ο σχετικός συντελεστής απόκρισης (relative response factor - RRF) για τους αναλύτες στόχους. Για να υπολογιστούν οι "κανονικοποιημένες συγκεντρώσεις," η συγκέντρωση του αναλύτη στόχου σε έναν δεδομένο χρόνο δειγματοληψίας διαιρείται απλά με την επιλεγμένη διατηρημένη συγκέντρωση αναλύτη στην ίδια χρονική. Η GC/MS ανάλυση διεξάγεται χρησιμοποιώντας την ακόλουθη διαδικασία.

1 Ένα (1) mL από το διάλυμα εξανίου C6 (από τη προετοιμασία δείγματος παραπάνω) τοποθετείται σε 1.5-mL φιαλίδιο για το πρώτο κλάσμα FI (αλκάνια).

2 Ένα (1) mL από το διάλυμα διάλυμα DCM ( τοποθετείται σε 1,5 mL φιαλίδιο για το δεύτερο κλάσμα FI (αρωματικοί υδρογονάνθρακες).

3 Σε αυτό το διάλυμα 5 µL από το διάλυμα 200 ppm των εσωτερικών προτύπων προστίθεται και το δείγμα είναι έτοιμο για ένεση στο GC. Η τελική συγκέντρωση των εσωτερικών προτύπων σε κάθε δείγμα είναι 1 ppm. Αυτό το διάλυμα περιέχει 4 δευτεριωμένα συστατικά: d8-naphthalene, d10-anthracene, d12-chrysene και d12- perylene.

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

5 Οι απαραίτητες πληροφορίες (όνομα, ποσότητα, συνθήκες, κ.λ.π.) σε σχέση με το δείγμα που εισάγεται κάθε φορά προς ανάλυση περιγράφονται στο acquisitionform του προγράμματος του αέριου χρωματογράφου

6 Το MS βαθμονομείται με βάση μια τροποποιημένη εκδοχή της μεθόδου της EPA 8270. Συγκεκριμένα, οι συγκεντρώσεις των εσωτερικών προτύπων είναι 10 ppm αντί 40 ppm. Έτσι αποκτάται μια καμπύλη βαθμονόμησης πέντε σημείων για κάθε συστατικό όπως φαίνεται στον πίνακα 4.5 πριν την ανάλυση των δειγμάτων στα 1, 5, 10, 25 και 50 ppm. Η βαθμονόμηση των 5 σημείων πρέπει να διεξαχθεί σε πρότυπο μείγμα συστατικών για να προσδιοριστούν τα RRFs για κάθε αναλύτη. Το πρότυπο μείγμα (εκτός του βιοδείκτη) για την καμπύλη βαθμονόμησης αποκτήθηκε από την AbsoluteStandards, Inc. Οι βιοδείκτες C3017β(H),21α(H)-hopane και C3017α(H),21β(H)-hopane που χρησιμοποιήθηκαν αποκτήθηκαν από την Chiron.

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

$$RF = (Ax \times Cis) / (Cx \times Ais)$$

όπου:

**RRF** =Σχετικός συντελεστής απόκρισης

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

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

**Cx** =Συγκέντρωση του συστατικού που μετράται (ng/µl)

**Cis**= Συγκέντρωση του συγκεκριμένου εσωτερικού προτύπου (1 ng/µl). (Αυτή η συγκέντρωση είναι σταθερή στην εξίσωση για την καμπύλη βαθμονόμησης).

Αναγνωρίζεται κάθε αναλύτης βασιζόμενοι στη integratedabundance από το πρωτεύον χαρακτηριστικό ιόν. Ποσοτικοποιείται ο κάθε αναλύτης χρησιμοποιώντας την τεχνική εσωτερικού προτύπου. Το εσωτερικό πρότυπο που χρησιμοποιείται πρέπει να είναι αυτό που έχει χρόνο έκλουσης κοντά στον δοσμένο αναλύτη.

Εσωτερικό	D8-naphthalene	d10-anthracene	d12-chrysene	d12-perylene
Αλκάνια	nC10-nC15	nC16-nC23 Pristane Phytane 5α-androstane	nC24-nC29	nC30-nC35 C3017β(H),21α(H)-hopane
Αρωματικές Ενώσεις	Naphthalene	Dibenzothiophene Fluorene Anthracene Phenanthrene	Fluoranthene Pyrene Chrysene	Benzo(b)fluoranthene Benzo(k)fluoranthene Benzo(e)pyrene Benzo(a)pyrene Perylene Indeno(g,h,i)pyrene Dibenzo(a,h)anthracene Benzo(1,2,3-cd)perylene

**Πίνακας 2.** Ταξινόμηση Αναλυτών σύμφωνα με το αντίστοιχο εσωτερικό πρότυπο που χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό των συντελεστών απόκρισης

Συστατικό	Ιόν
n-alkanes (C10-C35)	85
Pristane	85
Phytane	85
Naphthalene	128
C1-naphthalenes	142
C2-naphthalenes	156
C3-naphthalenes	170
C4-naphthalenes	184
Fluorene	166
C1-fluorenes	180
C2-fluorenes	194
C3-fluorenes	208
Dibenzothiophenes	184
C1-dibenzothiophenes	198
C2-dibenzothiophenes	212
C3-dibenzothiophenes	226
Anthracene	178
Phenanthrene	178
C1-phenanthrenes	192
C2-phenanthrenes	206
C3-phenanthrenes	220
Fluoranthene/pyrene	202
C1-pyrenes	216
C2-pyrenes	230
Chrysene	228

C1-chrysenes	242
C2-chrysenes	256
Hopanes (177 family)	177
Hopanes (191 family)	191
Steranes (217 family)	217
Benzo(b)fluoranthene	252
Benzo(k)fluoranthene	252
Benzo(e)pyrene	252
Benzo(a)pyrene	252
Perylene	252
Ideno(g,h,i)pyrene	276
Dibenzo(a,h)anthracene	278
Benzo(1,2,3-cd)perylene	276
d8-naphthalene	136
d10-anthracene	188
d10-phenanthrene	188
d12-chrysene	240
d12-perylene	264
$\alpha$ -androstande	260

**Πίνακας 3:.** Πρωτεύοντα ιόντα για τον κάθε αναλύτη στόχο κατά την ανάλυση στο GC/MS

## Κεφάλαιο 4

### Επεξεργασία μετρήσεων-παρουσίαση αποτελεσμάτων

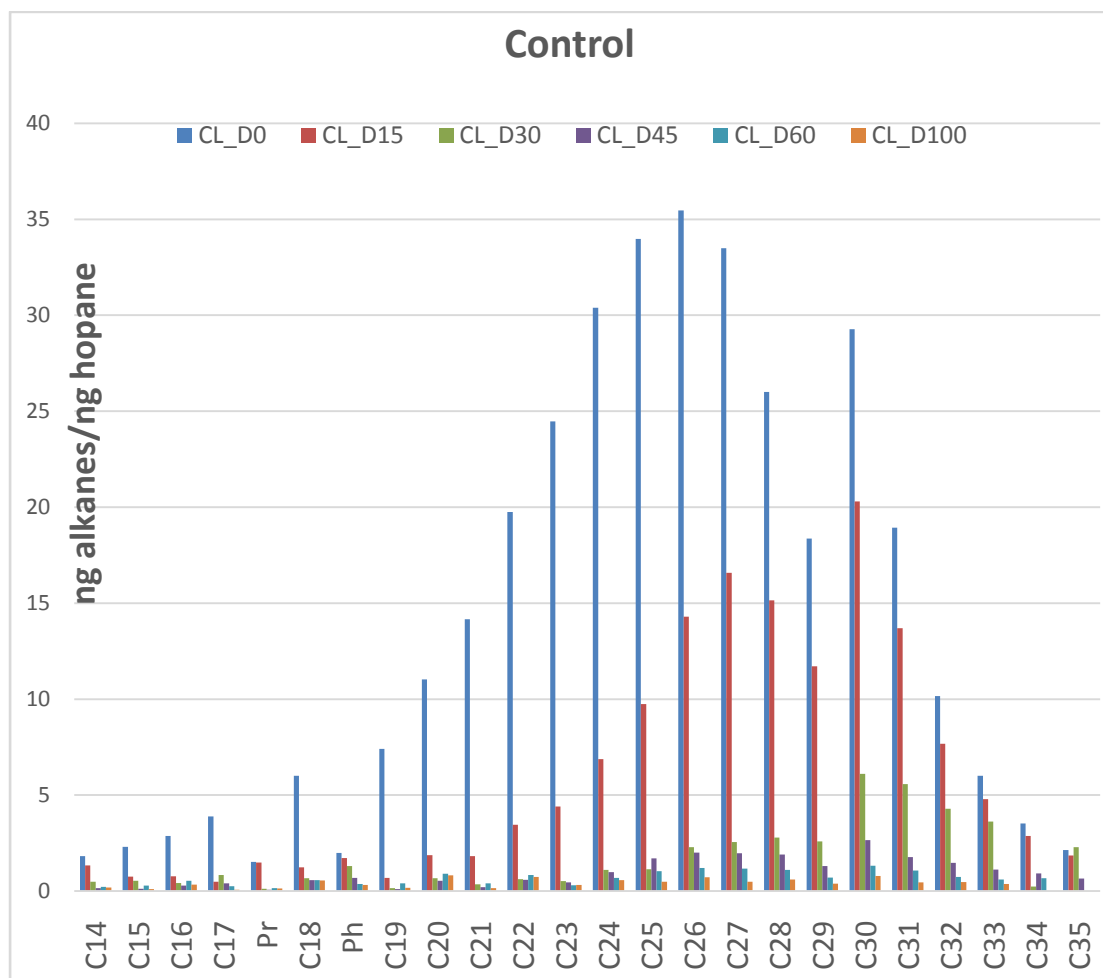
Στο παρόν κεφάλαιο ακολουθεί η ποσοτική , ποιοτική και χρονική παρατήρηση και σύγκριση των πειραματικών μετρήσεων μέσω γραφημάτων και σχολιασμού επί ομάδων γραφημάτων για να είναι πιο εύκολη η συσχέτισή τους και η εξαγωγή χρήσιμων συμπερασμάτων.

Τα δείγματα παρατήρησης είναι τα εξής:

- Control: το δείγμα αυτό αφορά ρυπασμένη με IFO-180 άμμος, χωρίς προσθήκη θρεπτικών
- DT: το δείγμα αυτό αφορά ρυπασμένη με IFO-180 άμμος, με την προσθήκη θρεπτικών βραδείας αποδέσμευσης τύπου DuraTec.
- RF: το δείγμα αυτό αφορά ρυπασμένη με IFO-180 άμμος, με την προσθήκη θρεπτικών βραδείας αποδέσμευσης τύπου Floraid.
- B3M: το δείγμα αφορά ρυπασμένη με IFO-180 άμμος, με την προσθήκη θρεπτικών βραδείας αποδέσμευσης τύπου BasacodePlus.

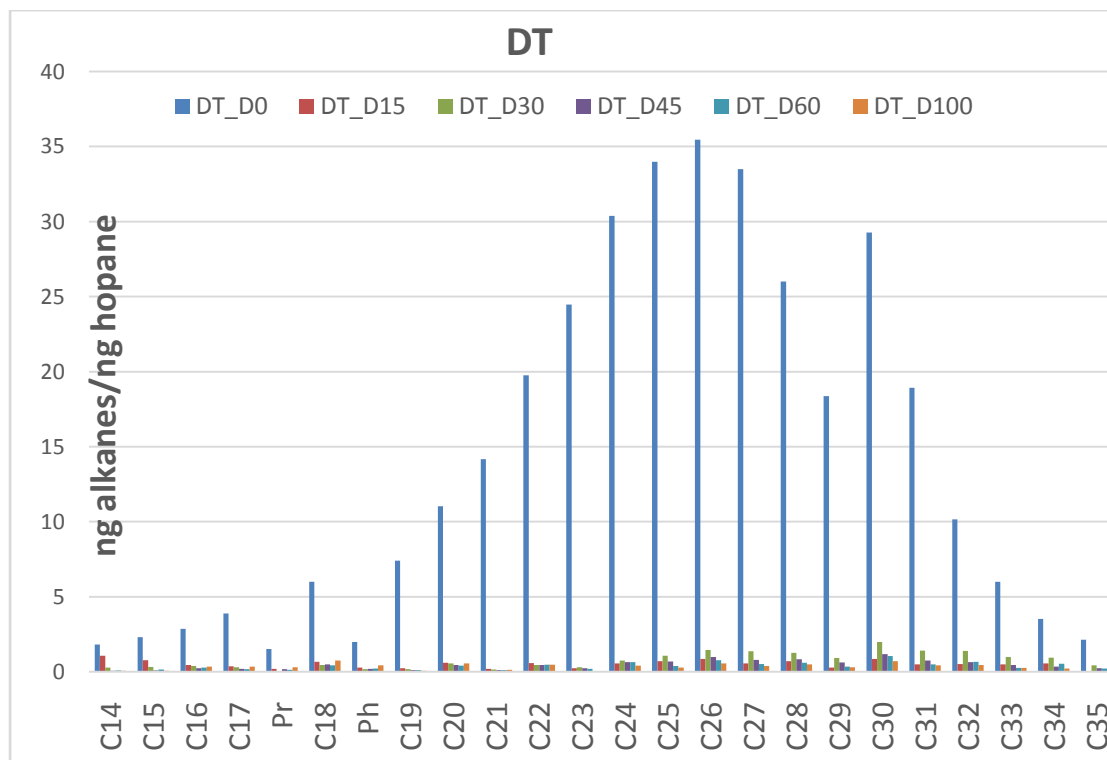
## 4.1 Χημικές Αναλύσεις

### 4.1.1 Αλκάνια

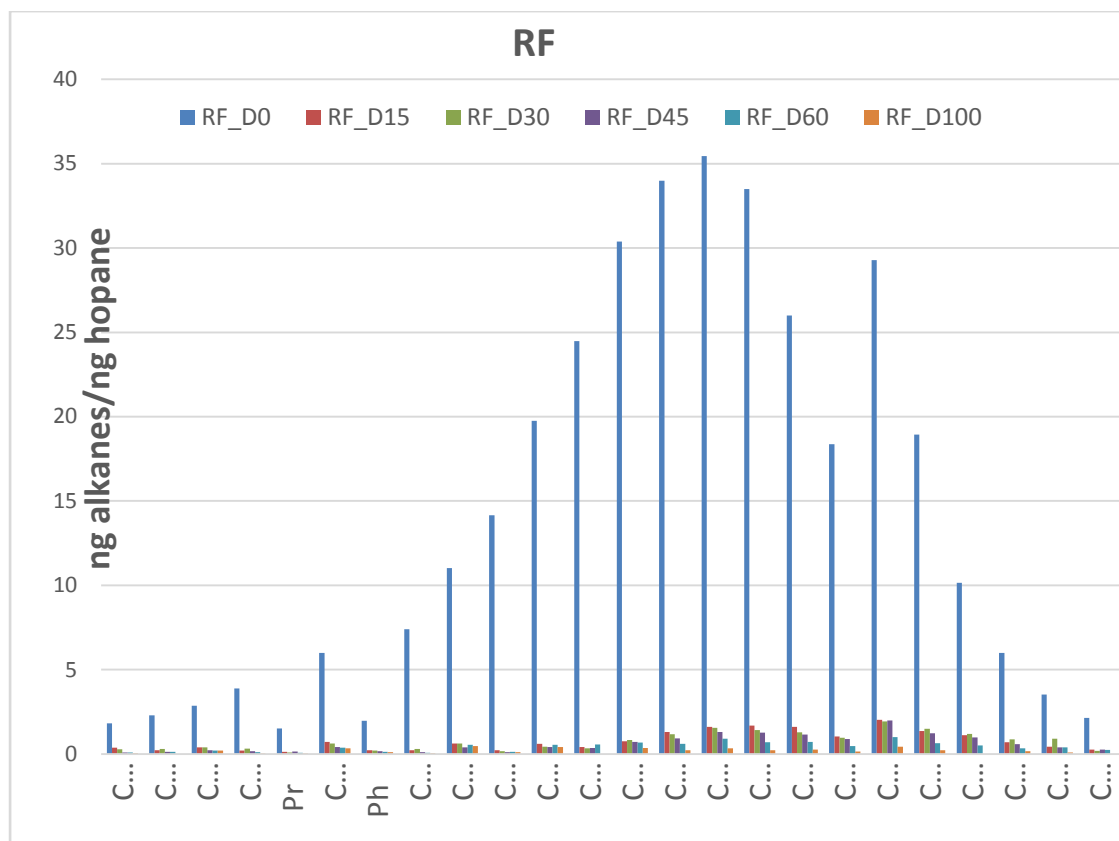


Γράφημα 1: Συσχέτιση συγκέντρωσης των αλκανίων του δείγματος control σε σχέση με τον χρόνο

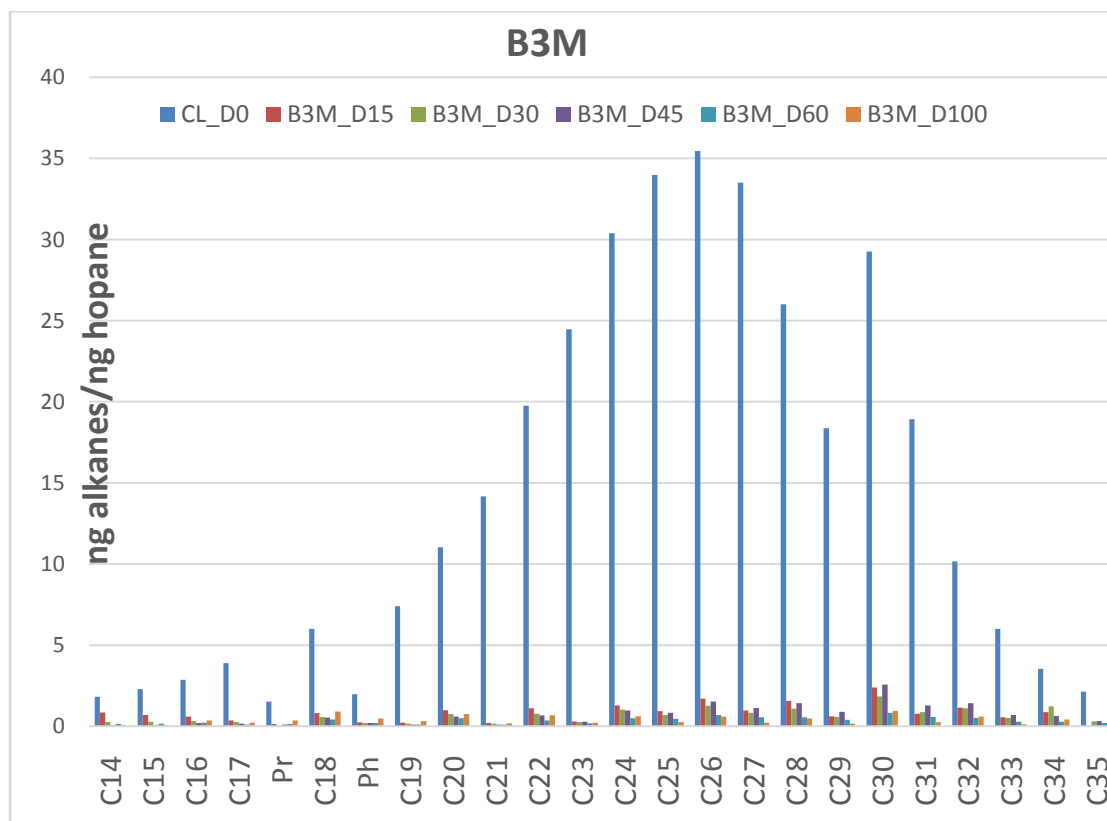
Στο παραπάνω διάγραμμα φαίνεται η αποδόμηση των αλκανίων σε συγκέντρωση σχετική με αυτή του χοπανίου, στο δείγμα control( χωρίς προσθήκη θρεπτικών) σχετικά με το χρόνο δειγματοληψίας. Αυτό που γίνεται αντιληπτό είναι ότι υψηλά ποσοστά απομάκρυνσης παρατηρούνται μετά το πέρας των 15 ημερών με σημαντικά ποσοστά (άνω του 90%) από τις 30 ημέρες και μετά. Να σημειωθεί ότι στην πειραματική αυτή εφαρμογή το δείγμα αυτό προσομοιάζει την τυπική αποδόμηση των πετρελαιοειδών χωρίς την προσθήκη θρεπτικών , απλώς διατηρώντας τις ίδιες ( ευνοϊκές ) συνθήκες για τη δραστηριότητα των βακτηρίων .



**Γράφημα 2: Συσχέτιση συγκέντρωσης των αλκανίων του δείγματος DT σε σχέση με τον χρόνο**

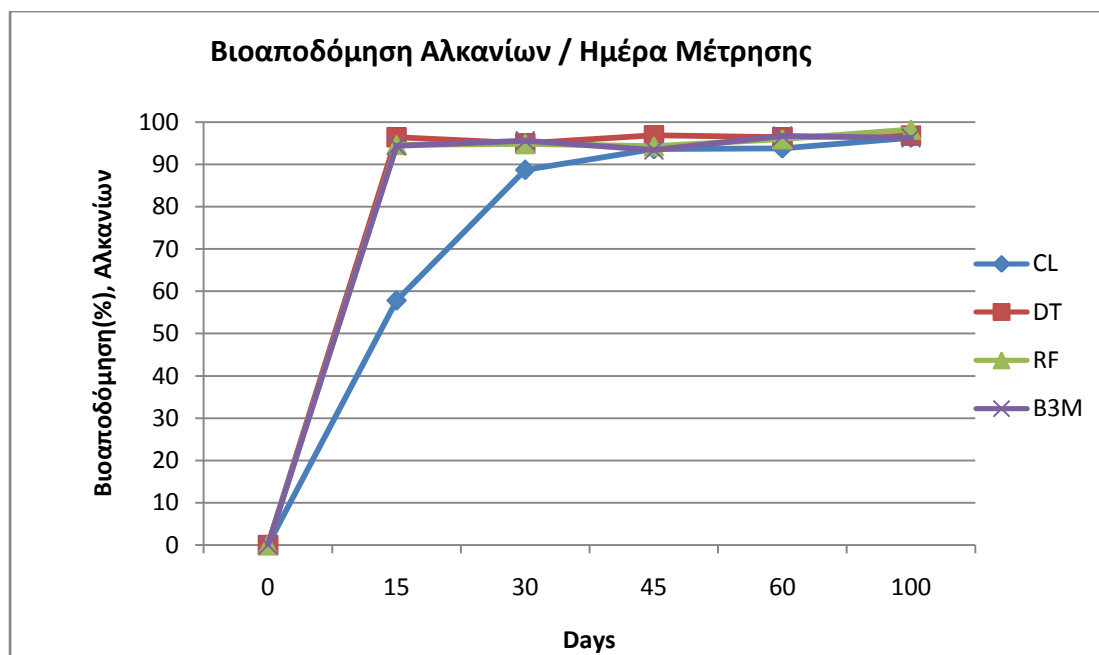


**Γράφημα 3: Συσχέτιση συγκέντρωσης των αλκανίων του δείγματος RF σε σχέση με τον χρόνο**



**Γράφημα 4:** Συσχέτιση συγκέντρωσης των αλκανίων του δείγματος B3M σε σχέση με τον χρόνο

Τα παραπάνω τρία διαγράμματα γίνεται παρουσίαση της συγκέντρωσης των αλκανίων σχετικά με το χοπάνιο στα δείγματα με την παρουσία θρεπτικών βραδείας αποδέσμευσης DT(DuraTec) , B3M(BasacodePlus), RF(Floraid) αντίστοιχα. Σε αντίθεση με το δείγμα control εδώ παρατηρούμε ότι μέχρι τη μέτρηση των 15 ημερών έχουμε ήδη πολύ υψηλά ποσοστά απομάκρυνσης. Άρα σε σύγκριση με το δείγμα control έχουμε αισθητά πιο άμεση αποκατάσταση και έτσι γίνεται αντιληπτή και η αποτελεσματικότητα της μεθόδου. Οι διαφορές μεταξύ των δειγμάτων με θρεπτικά, τουλάχιστον όσο αφορά τα αλκάνια δεν είναι αξιοσημείωτη. Η απομάκρυνση στα πιο βαριά συστατικά (από C20-C32) φαίνεται να είναι σημαντική αλλά ελαφρώς λιγότερη. Αυτή η ικανότητα των τριών δειγμάτων είναι πολύ σημαντική για την απορρύπανση των ακτών ταχύτερα και πιο αποτελεσματικά από τη φυσική αποικοδόμηση.

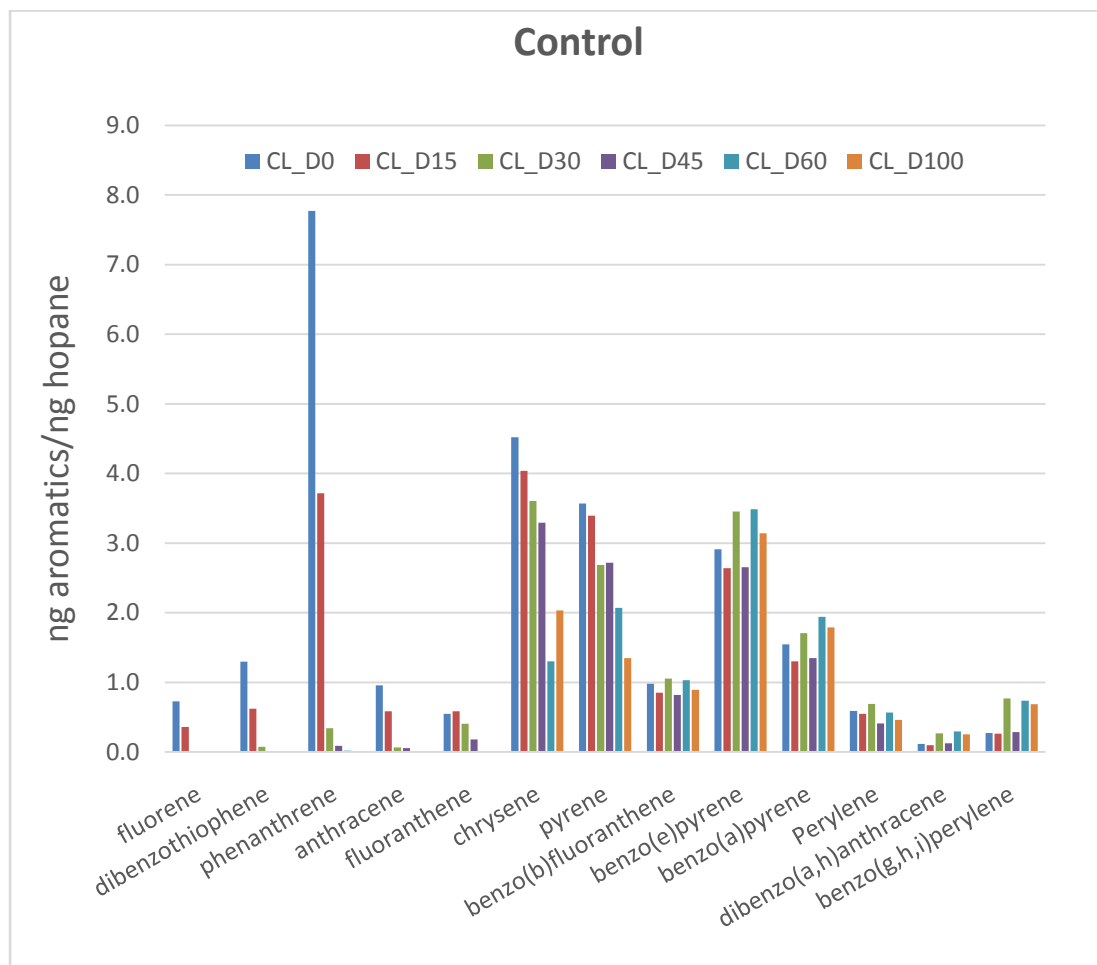


**Γράφημα 5: Βιοαποδόμηση των αλκανίων (%) της αρχικής τους συγκέντρωσης σε σχέση με τον χρόνο**

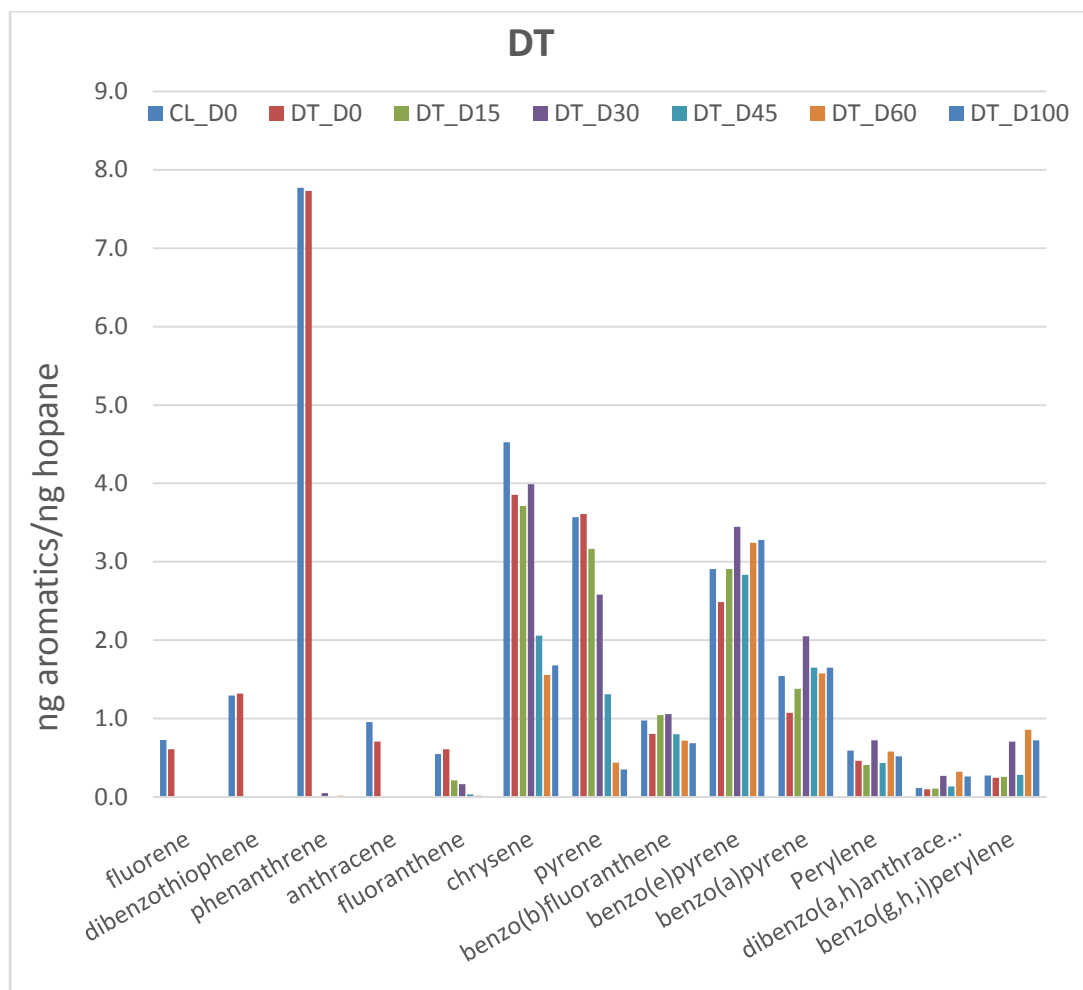
Στο παραπάνω διάγραμμα φαίνεται η επί τοις εκατό αποδόμηση των αλκανίων σε σχέση με της αρχική τους ποσότητα. Εδώ διαπιστώνουμε πιο ξεκάθαρα τη διαφοροποίηση των δειγμάτων που έχουν εμπλουτιστεί με τα προαναφερόμενα θρεπτικά στοιχεία σε σχέση με το δείγμα control. Παρά το γεγονός ότι η απομάκρυνση στις 45 ημέρες ( είναι άνω του 95% ) είναι σχεδόν ίδια σε όλα τα δείγματα, και ταυτίζεται έως την τελευταία μέτρηση 100 ημερών, είναι σαφής η διαφοροποίηση του control δείγματος, που ξεκάθαρα υπολείπεται των δειγμάτων B3M, DT ,RF σε ταχύτητα βιοαποδόμησης που από τις πρώτες 15 ημέρες έχουν φτάσει κοντά στο τελικό ποσοστό που αγγίζει και ξεπερνάει το 95%.

Όσον αφορά τις μεταξύ τους διαφορές στα δείγματα DT, B3M, RF , δεν μπορούμε να κάνουμε κάποια παρατήρηση καθώς οι διαφοροποιήσεις τους αγγίζουν το πειραματικό σφάλμα είναι δηλαδή μικρότερες του 2%.

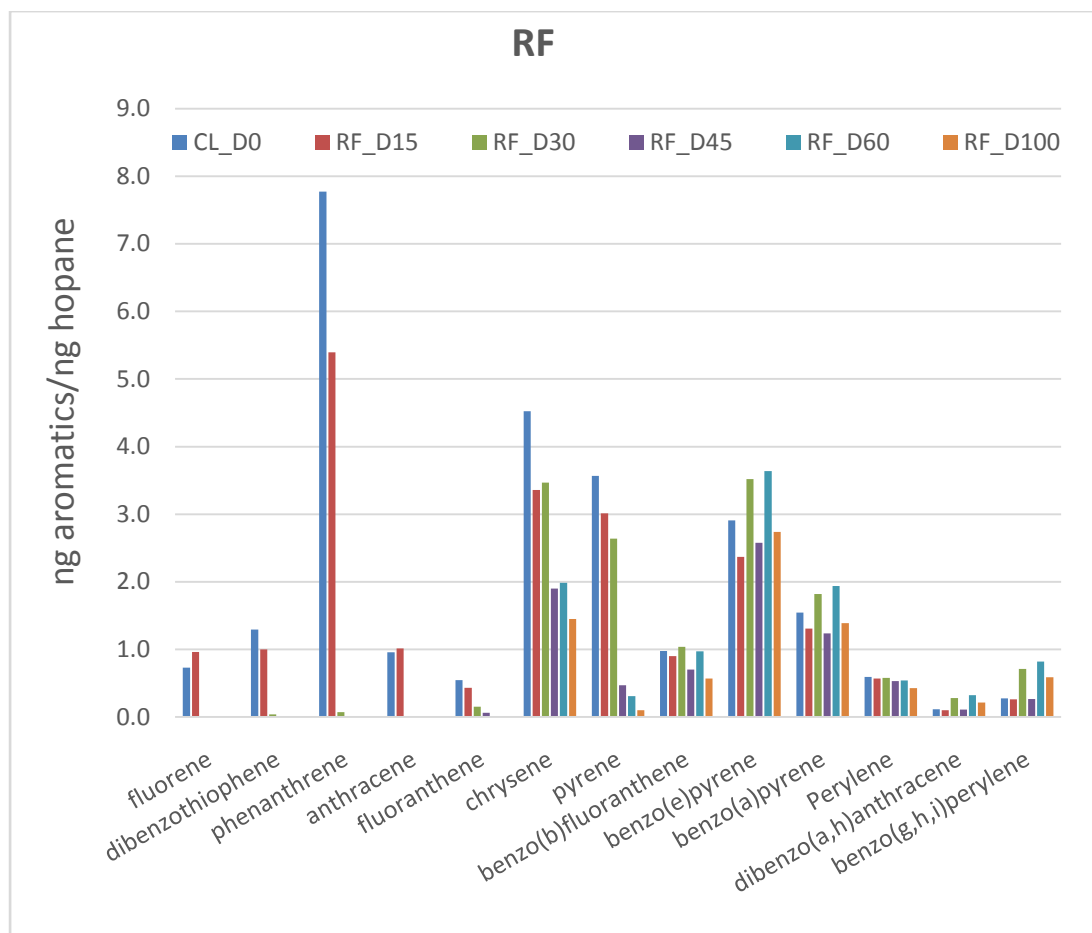
## 4.1.2 Αρωματικά



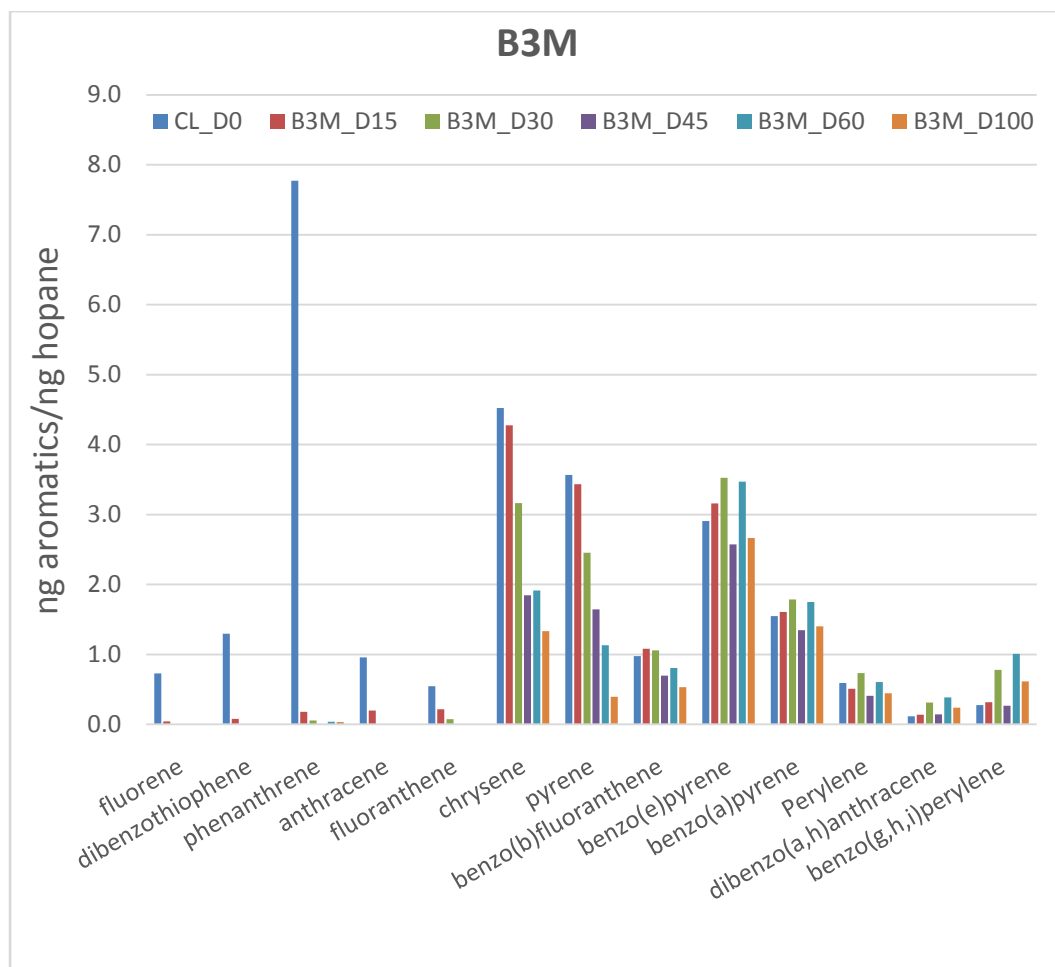
**Γράφημα 6:** Συσχέτιση συγκέντρωσης των αρωματικών του δείγματος control σε σχέση με τον χρόνο



**Γράφημα 7: Συσχέτιση συγκέντρωσης των αρωματικών του δείγματος DT σε σχέση με τον χρόνο**



**Γράφημα 8: Συσχέτιση συγκέντρωσης των αρωματικών του δείγματος RF σε σχέση με τον χρόνο**



**Γράφημα 9:** Συσχέτιση συγκέντρωσης των αρωματικών του δείγματος B3M σε σχέση με τον χρόνο

Στα παραπάνω διαγράμματα αναπαριστάται η ποσοτική και χρονική απομάκρυνση αρωματικών στοιχείων του IFO-180 σχετικά με το χοπάνιο. Εδώ είναι χρήσιμη η ομαδοποίηση των επί μέρους συστατικών για την εξαγωγή συμπερασμάτων.

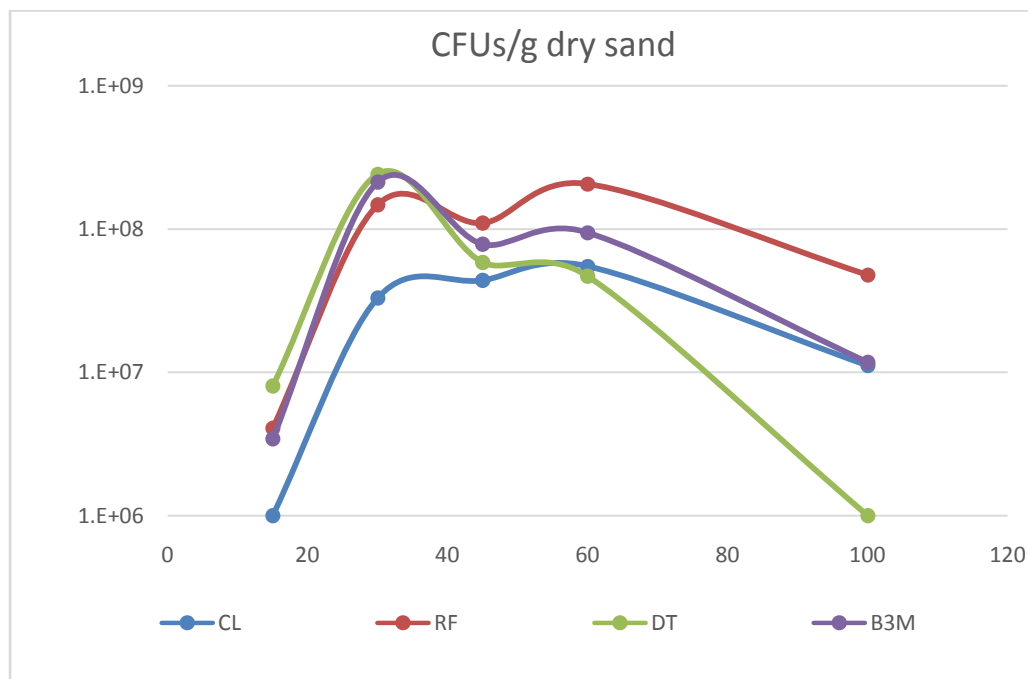
Παρατηρούμε λοιπόν ότι τα πρώτα κλάσματα αρωματικών από το fluorine έως το fluoranthene (σύμφωνα με τη σειρά του άξονα των γραφημάτων) έχουμε ικανοποιητική απομάκρυνση προϊόντος του χρόνου. Σαφής είναι η υπεροχή των δειγμάτων B3M και DT με γρήγορη αποδόμηση (άνω του 90%) από τις πρώτες 15 μέρες. Το δείγμα RF φαίνεται να υστερεί σε σχέση με τα άλλα δύο (B3M και DT) ενώ το control παρουσιάζει σημαντική απομάκρυνση στα συστατικά αυτής της ομάδας μετά τις 15 ημέρες.

Σε αυτό το σημείο αξίζει να γίνει ειδική αναφορά στα στοιχεία chrysene, pyrene, benzo(b)fluoranthene στα οποία παρατηρείται μια μικρότερη στο πέρας του χρόνου μείωση που όμως είναι σημαντική στο τέλος των μετρήσεων (100 ημέρες). Η αποδόμηση τους για τα δείγματα DT, RF, B3M φτάνει και υπερβαίνει το 70% της αρχικής τους ποσότητας στα στοιχεία chrysene, pyrene και 50% περίπου στο benzo(b)fluoranthene. Αντίθετα για το δείγμα control έχουμε πολύ μικρότερη

αποδόμηση στα στοιχεία chrysene, pyrene (περίπου 40%) και μηδενική στο στοιχείο benzo(b)fluoranthene.

Για τα στοιχεία από το benzo(e)pyrene έως το benzo(g,h,i)perylene που αποτελούν τα πιο βαριά στοιχεία των αρωματικών έχουμε πολύ μικρότερη ποσοτική μείωση σχετικά με το χρόνο. Θα μπορούσαμε να πούμε ότι θα ήταν χρήσιμη η περεταίρω παρατήρηση και μέτρησή τους προϊόντος του χρόνου(άνω των 100 ημερών) , για να διαπιστώσουμε την αποτελεσματικότητα ή μη της μεθόδου έναντι των φυσικών ρυθμών αποδόμησης. Τέλος μπορούμε να παρατηρήσουμε την υπεροχή αποτελεσματικότητας απομάκρυνσης στην πρώτη ομάδα στοιχείων από το δείγμα B3M.

## 4.2 Μικροβιακές Αναλύσεις



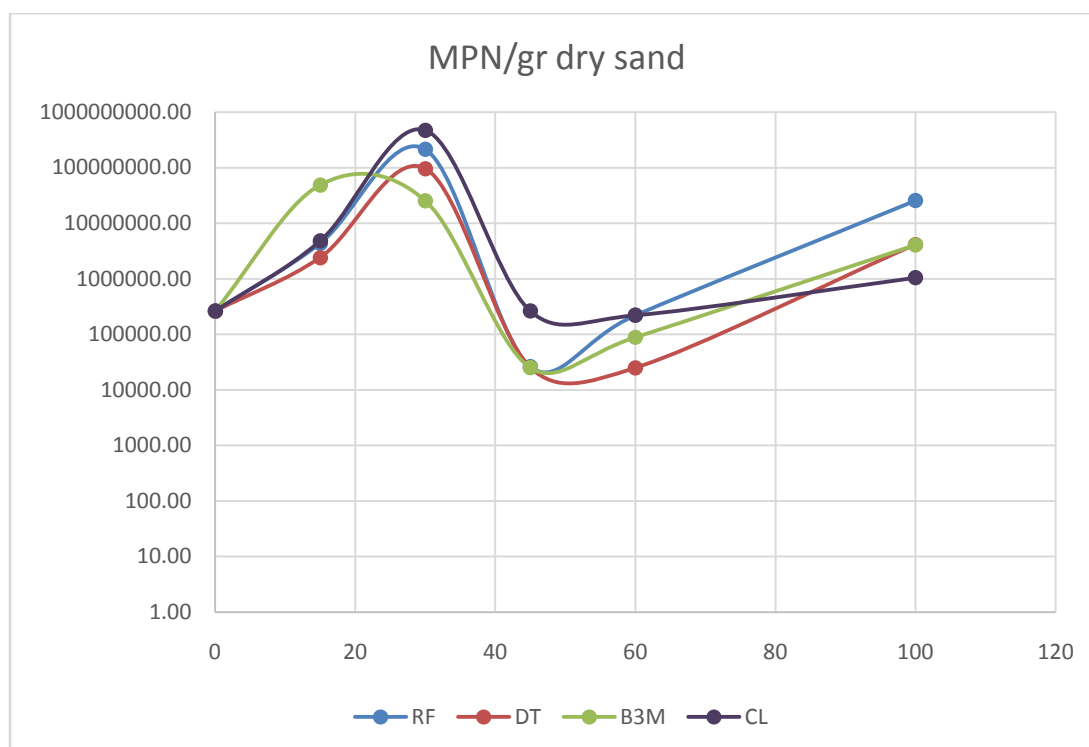
Γράφημα 10: Συσχέτιση CFUs/gr ξηρής άμμου σε σχέση με τον χρόνο για όλα τα δείγματα

Στο ανωτέρω διάγραμμα φαίνεται η πορεία των πληθυσμών στα δείγματα, σε ποσότητα σχετικά με το χρόνο στις πέντε διαφορετικές μετρήσεις. Οι πληθυσμοί που έχουν μετρηθεί στο διάγραμμα είναι αποτέλεσμα των τριβλίων παρατήρησης και αφορά συνολικό αριθμό πληθυσμών ετερότροφων θαλάσσιων βακτηρίων ανεξάρτητα από τη συμμετοχή τους στην αποδόμηση του πετρελαιοειδούς.

Από το διάγραμμα φαίνεται ομοιόμορφη μεταβολή των πληθυσμών σε όλα τα δείγματα αλλά και η σαφής υπεροχή των υπολοίπων δειγμάτων έναντι του control στην ποσότητα των πληθυσμών τις πρώτες 45 ημέρες αλλά, με εξαίρεση το DT, και αργότερα. Αυτό προφανώς εξηγεί και την ανάλογη συμπεριφορά τους στην αποδόμηση των αλκανίων όπως είδαμε και στα προηγούμενα διαγράμματα.

Η μεγαλύτερες τιμές συμπίπτουν με τη μέτρηση των 30 ημερών που είναι η μέτρηση στην οποία τα αλκάνια σταθεροποιούνται σε απομάκρυνση στο 95% για τα δείγματα DT, RF, B3M.

Η πτώση των πληθυσμών στις 45 ημέρες και η επανάκαμψη τους αν δεν οφείλεται σε κάποια πειραματική αστοχία (όπως πτώση υγρασίας κάτω από το επιθυμητό), πιθανόν οφείλεται στη απουσία αλκανίων (απομάκρυνση άνω του 95%) και στην επανάκαμψη των πληθυσμών για την αποδόμηση ορισμένων αρωματικών στοιχείων με σχετικά μικρή αποδόμηση μέχρι τις 60 ημέρες.



**Γράφημα 11: Συσχέτιση MPN/gr ξηρής άμμου σε σχέση με τον χρόνο για όλα τα δείγματα**

Σε αυτό το διάγραμμα φαίνεται η ποσοτική αναπαράσταση αποκλειστικά των βακτηρίων που συμβάλουν στην αποδόμηση των συστατικών στοιχείων του IFO-180 με τη μέθοδο MPN στα πηγάδια παρατήρησης. Εδώ διακρίνουμε μεγαλύτερη ομοιομορφία μεταξύ των δειγμάτων και η αναπαράσταση της πληθυσμιακής πτώσης και επανάκαμψης παρατηρείται επίσης όπως και στο προηγούμενο διάγραμμα. Προς το τέλος των μετρήσεων 100 ημέρες παρατηρούμε τη σταδιακή τάση για στασιμότητα των πληθυσμών για το δείγμα control και τη σταδιακή τάση για περεταίρω αύξηση στα υπόλοιπα δείγματα. Για αυτό το λόγο θα ήταν χρήσιμο να εξετάζαμε την επίδραση της μεθόδου και μετά τις 100 ημέρες στα αρωματικά στοιχεία. Και εδώ όπως και στο διάγραμμα CFUs οι μεγαλύτερες τιμές πληθυσμών εντοπίζονται στο σημείο της – σχεδόν εξ ολοκλήρου μείωσης των αλκανίων (μέτρηση 15- 30 ημερών). Μία χρήσιμη παρατήρηση είναι ότι στο παραπάνω διάγραμμα ενώ δεν παρατηρείται σαφής διαφοροποίηση στους πληθυσμούς, η υπεροχή των δειγμάτων DT, B3M, RF στα επίπεδα αποδόμησης τις πρώτες 45 ημέρες φανερώνει την επίδραση των θρεπτικών όχι τόσο στην πληθυσμιακή τους αύξηση αλλά στη βελτίωση της απόδοσής τους στις αποδομητικές τους δραστηριότητες.

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Εξετάζοντας την παρούσα διπλωματική εργασία μπορούμε να βγάλουμε κάποια χρήσιμα συμπεράσματα για την αποτελεσματικότητα των θρεπτικών που επιλέξαμε έναντι του δείγματος control, άρα και της συγκεκριμένης εφαρμογής του landfarming, αλλά και κάποια στοιχεία για την επί μέρους σύγκριση της δράσης των θρεπτικών μεταξύ τους.

Ένα πρώτο συμπέρασμα που βγάζουμε είναι η υπεροχή των δειγμάτων DT, B3M, RF έναντι του control στην αρχική αύξηση του πληθυσμού των βακτηρίων-αποικοδομητών, ιδίως τις πρώτες 30 ημέρες της διεργασίας αλλά και της αποτελεσματικότητας στην αποδομητική τους δράση. Επίσης παρά το γεγονός ότι παρατηρούμε ομοιόμορφη ανάπτυξη στο διάγραμμα MPN η αποδόμηση των αλκανίων κυρίως αλλά και των αρωματικών είναι σαφώς πιο γρήγορη στα δείγματα RF, DT, B3M. Αυτό φαίνεται από τις μετρήσεις απομάκρυνσης των αλκανίων από τις πρώτες 15 ημέρες που πλησιάζει το 95% και είναι πολύ υψηλότερα από την αντίστοιχη απομάκρυνση του control.

Η μεταξύ των δειγμάτων με θρεπτικά, διαφορά στην απόδοση εντοπίζεται κυρίως στην αποδόμηση των πιο ελαφρών στοιχείων των αρωματικών με το δείγμα B3M και DT να υπερέχουν του RF στην απομάκρυνσή τους τις πρώτες 30 ημέρες. Κατά τα άλλα μεταξύ των δειγμάτων (B3M, RF, DT) δεν παρατηρούμε ουσιαστικές διαφορές στη δράση τους ενώ μετά τις 60 ημέρες δεν υπάρχει ουσιαστική διαφοροποίηση σε κανένα δείγμα.

Συμπερασματικά θα λέγαμε ότι η μέθοδος που εξετάσαμε ενδείκνυται για την εφαρμογή της σε υψηλού περιβαλλοντικού ενδιαφέροντος περιοχές, ή περιοχές που κρίνεται επείγουσα η απορρύπανσή τους. Αυτά τα χαρακτηριστικά έχει η μέθοδος που αναλύθηκε στην εργασία καθώς αποτελεί μία οικολογικά μέθοδο αποκατάστασης με την ιδιότητα λεπτομερούς εφαρμογής στο πεδίο λόγω της δράσης των βακτηρίων σε όλα τα σημεία της επιφάνειας του εδάφους, που όμως υπερέχει σημαντικά της φυσικής αποδόμησης λόγω της πολύ μεγαλύτερης απορρυπαντικής δράσης της, τις πρώτες 30 ημέρες εφαρμογής.

Μελλοντικά θα ήταν χρήσιμη η εφαρμογή της μεθόδου σε ανοιχτό πεδίο και όχι σε εργαστηριακή κλίμακα, για τη σύγκριση των διάφορων θρεπτικών και της αποτελεσματικότητάς τους, εκεί τα αποτελέσματα θα ήταν τα πλησιέστερα σε αυτά που θα αντιμετωπίζαμε σε πραγματικό περιστατικό παράκτιας ρύπανσης. Επίσης θα είχε ενδιαφέρον η αύξηση του πειραματικού χρόνου για την παρατήρηση και τον προσδιορισμό του χρόνου ολικής απομάκρυνσης των αρωματικών συστατικών του πετρελαίου. Η πειραματική εφαρμογή βέβαια των παραπάνω δοκιμών στα πλαίσια διπλωματικής εργασίας είναι πολύ δύσκολη και η διατήρηση των ενδεδειγμένων συνθηκών στο ανοιχτό πεδίο γίνεται ακόμα δυσκολότερη.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 1) Μαρία Νικολοπούλου, Χανιά (2005). Υλικά και Μέθοδοι- Δοκιμή Αποτελεσματικότητας των Παραγόντων Βιοεξυγίανσης. Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά.
- 2) Ν.Καλογεράκης, Χανιά 2010, «Βιολογικές Μέθοδοι Εξυγίανσης Περιβάλλοντος». Πολυτεχνείο Κρήτης, Χανιά.
- 3) Μ. Βεργέτης, Αθήνα 2004. Περιβάλλον και Ανάπτυξη. Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο, Αθήνα.
- 4) Μ.Α. Ευστρατίου, Μ. Καρύδης, Μυτιλήνη. Τεχνικές και Πρακτικές Διαχείρισης Περιστατικών Πετρελαϊκής Ρύπανσης στα Παράκτια Ύδατα. Σχολή Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Αιγαίου.
- 5) Greenpeace: [www.greenpeace.org](http://www.greenpeace.org)
- 6) Environmental Protection Agency: [www.epa.gov](http://www.epa.gov)
- 7) Brandy NC. The Nature and Properties of soils. McMillan Publishing Co. Inv, New York
- 8) Διεύθυνση Προστασίας Θαλασσίου Περιβάλλοντος του Υπουργείου Εμπορικής Ναυτιλίας, Αιγαίου και Νησιωτικής πολιτικής, εγχειρίδιο "ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΡΥΠΑΝΣΗΣ ΤΗΣ ΘΑΛΑΣΣΑΣ"