

ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

**ΑΠΟΔΟΜΗΣΗ ΒΑΡΕΩΝ ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΩΝ ΑΠΟ
ΔΙΑΡΡΟΕΣ ΜΑΖΟΥΤ ΣΤΗ ΘΑΛΑΣΣΙΑ ΠΕΡΙΟΧΗ
ΚΕΡΑΤΣΙΝΙΟΥ**

ΣΧΟΛΗ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΣΠΥΡΙΔΑΚΗ ΕΛΕΝΗ

22/7/2015



ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

ΚΑΛΟΓΕΡΑΚΗΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ (Επιβλέπων καθηγητής)

ΝΙΚΟΛΟΠΟΥΛΟΥ ΜΑΡΙΑ

ΠΑΣΑΔΑΚΗΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ

Περιεχόμενα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	6
ΠΡΟΛΟΓΟΣ	7
1)ΣΥΝΤΟΜΗ ΕΙΣΑΓΩΓΗ	8
1.1 ΙΣΤΟΡΙΑ ΤΟΥ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΥ	8
1.2 ΗΛΙΚΙΑ ΤΟΥ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΥ	8
2) ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΚΑΙ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟ	9
2.1 ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΑ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΚΗΛΙΔΩΝ	9
2.2 ΣΥΝΕΠΕΙΕΣ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΚΗΛΙΔΑΣ.....	12
2.3 ΤΡΟΠΟΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΚΗΛΙΔΩΝ.....	13
2.3.1 ΜΗΧΑΝΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ	13
2.3.2 ΧΗΜΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ	13
2.3.4 ΦΥΣΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	14
2.3.5 ΑΛΛΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ	14
2.4 Η ΒΙΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗ (BIOREMEDIATION) ΩΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΥ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΚΗΛΙΔΩΝ.....	15
2.4.1 ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΤΗΣ ΒΙΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗΣ	16
2.4.2 ΤΡΟΠΟΙ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ ΤΗΣ ΒΙΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗΣ	17
2.5 ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΥ	17
2.6 ΦΥΣΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΟΥ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΥ	21
2.7 ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΥ	22
2.8 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΩΝ ΔΙΕΡΓΑΣΙΩΝ ΠΟΥ ΛΑΜΒΑΝΟΥΝ ΧΩΡΑ ΣΤΗΝ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΚΗΛΙΔΑ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ ΤΗΣ ΣΤΟ ΥΔΑΤΙΝΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ	23
2.9 ΓΗΡΑΝΣΗ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΥ	24
2.10 ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΟΥ ΒΑΘΜΟΥ ΒΙΟΑΠΟΔΟΜΗΣΗ –ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΒΙΟΔΕΙΚΤΩΝ(BIOMARKERS)	25
3) ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	26
3.1 ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ	26
3.1.1 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΔΟΚΙΜΕΣ - ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ	27
3.2 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ ΣΤΟ ΑΡΧΙΚΟ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΣΤΑΔΙΟ	28
3.3 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΘΡΕΠΤΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ ΚΑΙ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΥ	28
3.4 ΜΕΘΟΔΟΣ MPN.....	29
3.5 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ ΣΤΟ ΣΤΑΔΙΟ ΤΩΝ ΧΗΜΙΚΩΝ ΑΝΑΛΥΣΕΩΝ	30
3.6 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΜΕΘΟΔΩΝ ΧΗΜΙΚΩΝ ΑΝΑΛΥΣΕΩΝ	30
3.7 ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΣΤΕΡΕΑΣ ΦΑΣΗΣ SOLID PHASE EXTRACTION (SPE).....	32
3.7.1 ΣΤΑΔΙΑ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ ΣΤΕΡΕΑΣ ΦΑΣΗΣ	33

3.7.2 ΤΕΧΝΙΚΗ ΔΙΑΒΙΒΑΣΗΣ ΤΟΥ ΔΙΑΛΥΤΗ	33
3.7.3 ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ SPE.....	34
3.8 ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΕΡΙΟ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ – ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ ΜΑΖΩΝ	35
3.9 ΣΥΣΤΗΜΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ GC/MS	36
3.9.1 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΝΑΛΥΤΗ	38
3.10 ΑΛΛΕΣ ΧΡΗΣΙΜΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ	39
4)ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	40
4.1 ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ.....	40
4.2 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΓΙΑ ΤΟ ΔΕΙΓΜΑ CONTROL (C)	41
4.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΓΙΑ ΤΟ ΔΕΙΓΜΑ ULB.....	43
4.4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΓΙΑ ΤΟ ΔΕΙΓΜΑ ANLB	45
4.5 ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	47
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α΄ ΜΕΡΟΣ	48
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	48
ΘΕΩΤΗΤΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ-ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ-ΥΛΙΚΑ	49
ΕΙΚΟΝΕΣ-ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΕΣ-ΠΙΝΑΚΕΣ.....	50
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Β΄ ΜΕΡΟΣ	51
ΠΡΩΤΕΥΟΝΤΑ ΙΟΝΤΑ ΚΑΙ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΑΝΑΦΟΡΑΣ	51
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Γ΄ ΜΕΡΟΣ.....	54
ΕΝΔΕΙΚΤΙΚΑ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΗΜΑΤΑ	54
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Δ΄ ΜΕΡΟΣ	58
ΑΡΙΘΜΗΤΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΚΑΙ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	58

Εικόνα 1 [1] Πετρελαιοκηλίδα στον Κόλπο του Μεξικό	9
Εικόνα 2 [2] Πηγές θαλάσσιων ρύπων.....	10
Εικόνα 3 [3] Αιτίες ατυχημάτων στο τομέα των θαλάσσιων μεταφορών	11
Εικόνα 4 [4] Πετρελαιοκηλίδες στη Μεσόγειο εντοπισμένες από δορυφόρο	11
Εικόνα 5 Τρόποι που οι πετρελαιοκηλίδες επηρεάζουν την θαλάσσια ζωή.....	12
Εικόνα 6 [5] Oil spill Exxon Valdez, Alaska από δορυφόρο	15
Εικόνα 7 Biostimulation	17
Εικόνα 8 [7] Διαχωρισμός των συστατικών του αργού πετρελαίου.....	19
Εικόνα 9 Κορεσμένοι υδρογονάνθρακες.....	20
Εικόνα 10 [8] Διεργασίες γήρανσης πετρελαίου	24
Εικόνα 11 [9] Δομές χοπανίου.....	25
Εικόνα 12 [10] Μηχανισμός δράσης των επιφανειοδραστικών ενώσεων	27
Εικόνα 13 Μέθοδος αραίωσης.....	29
Εικόνα 14 [11] Microtiter well	29
Εικόνα 15 Διάταξη εκχύλισης υγρού-υγρού μέσου (LLE).....	31
Εικόνα 16 [12] Χοάνη εκχύλισης με δείγμα κατά την πειραματική διαδικασία	32
Εικόνα 17 [13] Στήλες SPE	33
Εικόνα 18 [14] Συσκευή SPE	34
Εικόνα 19 [15] Διάταξη αέριου χρωματογράφου.....	35
Εικόνα 20 [16] Φασματογράφος.....	37

Πίνακας 1 [6] Βάρος υδρογονανθράκων επί τις εκατό	18
Πίνακας 2 Κυριότερα χοπανοειδή.....	26
Πίνακας 3 Ταξινόμηση αναλυτών σύμφωνα με το αντίστοιχο εσωτερικό πρότυπο που χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό των συντελεστών απόκρισης.....	39
Πίνακας 4 Αποτελέσματα MPN του δείγματος CONTROL(CD).....	42
Πίνακας 5 Αποτελέσματα MPN του δείγματος ULBD.....	44
Πίνακας 6 Αποτελέσματα MPN του δείγματος ANLBD	46
Πίνακας 7 Πρωτεύοντα ιόντα για κάθε αναλυτή στόχο	52
Πίνακας 8 Αναλυτές και συστατικά αναφοράς	53
Πίνακας 9 Αποτελέσματα εκχύλισης στερεής φάσης (CD)	59
Πίνακας 10 Αποτελέσματα εκχύλισης στερεής φάσης (ULBD)	59
Πίνακας 11 Αποτελέσματα εκχύλισης στερεής φάσης (ANLBD)	60
Πίνακας 12 Αποτελέσματα εκχύλισης υγρού-υγρού μέσου όλων των δειγμάτων.....	60
Πίνακας 13 Αποτελέσματα GC/MS των αλκανίων, κανονικοποιημένα ως προς το χοπάνιο	62
Πίνακας 14 Αποτελέσματα GC/MS των αρωματικών, κανονικοποιημένα ως προς το χοπάνιο 7 ^η με 56 ^η ημέρας.....	64
Πίνακας 15 Αποτελέσματα GC/MS των αρωματικών, κανονικοποιημένα ως προς το χοπάνιο των αρχικών δειγμάτων, CD0, ANLBD0, ULBD0.....	64

Χρωματοφράφημα 1: ULBD.7.1.F1	55
Χρωματοφράφημα 2: ULBD.7.1.F2	55
Χρωματοφράφημα 3: ULBD.561.F1.....	55
Χρωματοφράφημα 4: ULBD.56.1.F2.....	55
Χρωματοφράφημα 5: CD.0.F1	56
Χρωματοφράφημα 6: CD.0.F2	56

Χρωματοφράγμα 7: CD.28..2.F1.....	56
Χρωματοφράγμα 8: CD.28.2.F2.....	56
Χρωματοφράγμα 9: ANLBD.7.3.F1	57
Χρωματοφράγμα 10: ANLBD.7.3.F2	57
Χρωματοφράγμα 11: ANLBD.28.3.F1.....	57
Χρωματοφράγμα 12: ANLBD.28.3.F2.....	57

Διάγραμμα 1 Κανονικοποιημένη μεταβολή της περιεκτικότητας κανονικών αλκανίων και ισοπρενοειδών, κανονικοποιημένη ως προς το χοπάνιο, του κορεσμένου κλάσματος του δείγματος CONTROL ανά ημέρα δειγματοληψείας	41
Διάγραμμα 2 Μείωση ποσότητας του αρωματικού κλάσματος του δείγματος CONTROL ανά ημέρα δειγματοληψείας	41
Διάγραμμα 3 Μικροβιακή ανάπτυξη του δείγματος CONTROL.....	42
Διάγραμμα 4 Κανονικοποιημένη μεταβολή της περιεκτικότητας κανονικών αλκανίων και ισοπρενοειδών, κανονικοποιημένη ως προς το χοπάνιο, του κορεσμένου κλάσματος του δείγματος ULBD	43
Διάγραμμα 5 Μείωση ποσότητας του αρωματικού κλάσματος του δείγματος ULBD ανά ημέρα δειγματοληψείας.....	43
Διάγραμμα 6 Μικροβιακή ανάπτυξη του δείγματος ULBD	44
Διάγραμμα 7 Κανονικοποιημένη μεταβολή της περιεκτικότητας κανονικών αλκανίων και ισοπρενοειδών, κανονικοποιημένη ως προς το χοπάνιο, του κορεσμένου κλάσματος του δείγματος ANLBD	45
Διάγραμμα 8 Μείωση ποσότητας του αρωματικού κλάσματος του δείγματος ANLBD ανά ημέρα δειγματοληψείας.....	45
Διάγραμμα 9 Μικροβιακή ανάπτυξη του δείγματος ANLBD.....	46

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Παγκόσμιας διάστασης περιβαλλοντικό πρόβλημα αποτελούν οι διαρροές του πετρελαίου στο περιβάλλον και κυρίως στο θαλάσσιο χώρο. Η σημασία να υπάρχει το βέλτιστο αποτέλεσμα στις μεθόδους αντιμετώπισης αυτού του περιβαλλοντικού προβλήματος είναι μεγάλη. Το εργαστηριακό πείραμα που αναλύεται στην παρούσα διπλωματική εργασία αφορά τη διερεύνηση της αποδόμησης βαρέων υδρογονανθράκων από διαρροές μαζούτ στη θαλάσσια περιοχή του Κερατσινίου. Από το 1960 και έπειτα οι διαρροές πετρελαίου από το εργοστάσιο είχαν προκαλέσει ανεπανόρθωτες καταστροφές, κυρίως, στην υγεία των κατοίκων της ευρύτερης περιοχής, όπως και στο φυσικό περιβάλλον. Το λιμανάκι του Αγίου Νικολάου, Κερατσινίου αποτελούσε τόπο αναψυχής, αλλά και οικονομικής παροχής μέσω της αλιείας. Τη δεκαετία του '80, μετά από επίμονους αγώνες των κατοίκων της περιοχής, το εργοστάσιο της ΔΕΗ στο Κερατσίνι διέκοψε τη λειτουργία του. Τα 3 διαφορετικά δείγματα που μελετήσαμε περιέχουν πετρέλαιο τύπου μαζούτ που συλλέχθηκε από την ΔΕΗ στο Κερατσίνι (Αθήνα, Ελλάδα). Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε εξετάζει τη μικροβιακή δραστηριότητα με την Ανάλυση του πιο Πιθανού Αριθμού (Most Probable Number) και ποσοτικοποιεί την απομάκρυνση των κορεσμένων υδρογονανθράκων και των αρωματικών υδρογονανθράκων (PAHs) με τη χρήση GC-MS. Τεχνητά γηρασμένο σύμφωνα με το πρότυπο ASTM D86 (Standard Test Method for Distillation of Petroleum Product) ήταν το πετρέλαιο που χρησιμοποιήθηκε για τις πειραματικές δοκιμές.

Κάποια βασικά χαρακτηριστικά του πειράματος:

- ✓ Το πετρέλαιο που μελετάμε είναι τύπου μαζούτ από διαρροές στη ΔΕΗ στο Κερατσίνι
- ✓ Επιλέξαμε ένα ελαφρύ ιρανικό αργό πετρέλαιο για τις πειραματικές δοκιμές
- ✓ Οι δειγματοληψίες για τις μικροβιολογικές αναλύσεις πραγματοποιούνταν σε εβδομαδιαίο επίπεδο και έπειτα ακολουθούσε η προετοιμασία των δειγμάτων για τις χημικές αναλύσεις.
- ✓ Η εκτίμηση της αποτελεσματικότητας στηρίχτηκε στις αλλαγές της συγκέντρωσης των αλκανίων, των ισοπρενοειδών και των επιλεγμένων αρωματικών συστατικών του πετρελαίου κανονικοποιημένες ως προς ένα βιοδείκτη.
- ✓ Ο βιοδείκτης που επιλέξαμε ήταν το χοπάνιο.
- ✓ Η Βιοδιέγερση (biostimulation) χρησιμοποιήθηκε ως μέθοδος βιοεξυγίανσης.

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

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

Στον κ. **Καλογεράκη Νικόλαο**, καθηγητή του Πολυτεχνείου Κρήτης και επιβλέποντα της παρούσας εργασίας, για την επιλογή του θέματος, την άριστη συνεργασία καθώς επίσης και για τις συμβουλές αλλά και τη διόρθωση της εργασίας αυτής.

Την κα. **Νικολοπούλου Μαρία**, μεταδιδακτορική στο εργαστήριο *Βιοχημικής Μηχανικής & Περιβαλλοντικής Βιοτεχνολογίας*, για την καθοδήγηση, την αμέριστη συμπαράσταση, τις πολύτιμες συμβουλές και την άριστη συνεργασία που είχαμε καθ' όλη τη διάρκεια της εργασίας, καθώς επίσης και για τη πολύτιμη βοήθειά της στην επεξεργασία των μετρήσεων.

Στον κ. **Πασαδάκη Νίκο**, αναπληρωτή καθηγητή του πολυτεχνείου Κρήτης για τις πολύτιμες συμβουλές και συμπαράστασή του κατά την εκπόνηση των πειραμάτων, την άριστη συνεργασία, καθώς επίσης και για το χρόνο που διέθεσε για τη διόρθωση και την εξέταση της εργασίας αυτής.

Επίσης θα ήθελα να αναφερθώ στη μεγάλη και σημαντική συμβολή από:

Την υπεύθυνη του εργαστηρίου Ανάλυσης Ρευστών και Πυρήνων Υπογείων Ταμιευτήρων, κα Χαμηλάκη Ελένη για την άψογη συνεργασία που είχαμε.

Την συνάδελφο και συνεργάτιδα, κατά τις πειραματικές δοκιμές, Μητροπούλου Όλγα, για την άριστη συνεργασία μας και την ευχάριστη συντροφιά σε όλη την πορεία των εργαστηριακών πειραμάτων.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω **την οικογένεια μου**, την αδερφή μου και τους φίλους μου για τη στήριξη τους σε κάθε μου απόφαση και την υπομονή τους στις εκάστοτε δυσκολίες.

1)ΣΥΝΤΟΜΗ ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 ΙΣΤΟΡΙΑ ΤΟΥ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΥ

Η λέξη πετρέλαιο προέρχεται από την ελληνική λέξη πέτρα στα λατινικά *petroleum* και χρησιμοποιήθηκε πρώτη φορά από το Γερμανό ορυκτολόγο Agricola το 1556. Είναι παχύρρευστο, μαύρο ή βαθύ καφετί ή πρασινωπό υγρό πέτρωμα, που αποτελεί και τη σπουδαιότερη σήμερα φυσική πηγή ενέργειας. Είναι ορυκτό που αποτελεί κυρίως μείγμα υδρογονανθράκων και άλλων οργανικών ενώσεων φυσικής προέλευσης. Η ακριβής του σύσταση παρουσιάζει μεγάλη ποικιλία, ανάλογα με την περιοχή άντλησής του, ενώ συχνά στις υπόγειες κοιλότητες που βρίσκονται τα κοιτάσματά του συναντάται και φυσικό αέριο. Τα κύρια συστατικά του είναι αλκάνια, κυκλοεξάνια και αρωματικοί υδρογονάνθρακες και σε μικρότερες ποσότητες οξυγονούχες, αζωτούχες και θειούχες ενώσεις.

1.2 ΗΛΙΚΙΑ ΤΟΥ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΥ

Η ηλικία του πετρελαίου:

- 10% : από την Παλαιozoική εποχή (>240 εκατ. χρόνια)
- 70% : από την Μεσοζωική εποχή (<240 και >65 εκατ. χρόνια)
- 20% : από την Καινοζωική εποχή (<65 εκατ. χρόνια)

Κατά τη Μεσοζωική εποχή:

- Το κλίμα ήταν τροπικό.
- Το πλαγκτόν ήταν άφθονο στους ωκεανούς.
- Οι πυθμένες των ωκεανών ήταν στάσιμοι και χωρίς οξυγόνο, σε αντίθεση με τη σημερινή κατάσταση.
- Εκεί είχε συσσωρευτεί μία μαύρη, πλούσια σε οργανικά, λάσπη.

2) ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ ΚΑΙ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟ

2.1 ΠΕΡΙΣΤΑΤΙΚΑ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΚΗΛΙΔΩΝ

Σε μια εποχή όπου το πετρέλαιο, ή αλλιώς ο μαύρος χρυσός, αποτελεί την κινητήρια οικονομική δύναμη του κόσμου, είναι ειρωνικό το πόσο μεγάλες ποσότητες καταλήγουν σκόπιμα ή μη στη θάλασσα επιφέροντας, σύμφωνα με τους επιστήμονες, ιδιαίτερα επιβλαβείς συνέπειες στον υδάτινο κόσμο. Πρόκειται φυσικά για το φαινόμενο των πετρελαιοκηλίδων και τη ρύπανση που αυτές μπορούν να δημιουργήσουν. Στην εικόνα [1] βλέπουμε την διαρροή πετρελαίου στον κόλπο του Μεξικού, το πετρέλαιο διέρρεε για περίπου 100 ημέρες στην ευρύτερη περιοχή έχοντας δημιουργήσει ανεπανόρθωτες συνέπειες στο περιβάλλον. Το συμβάν έχει χαρακτηριστεί ως μια από τις μεγαλύτερες οικολογικές καταστροφές της προηγούμενης δεκαετίας.



Εικόνα 1[1]

Στο σημείο αυτό είναι σημαντικό να διευκρινίσουμε τι εννοούμε με τον όρο θαλάσσια ρύπανση και πώς αυτή προκαλείται από την διαρροή πετρελαίου. Σύμφωνα με το περιβαλλοντικό τμήμα των Ηνωμένων Εθνών (UNAPT) που καλύπτει και την περίπτωση της διαρροής πετρελαίου στη θάλασσα από πλοία, «...Ρύπανση θεωρείται η άμεση ή έμμεση εισαγωγή διαφόρων ουσιών ή ενέργειας στο θαλάσσιο περιβάλλον από τον άνθρωπο που μπορούν να έχουν επιζήμιες επιπτώσεις, όπως είναι η επιβάρυνση της θαλάσσιας χλωρίδας και πανίδας, οι κίνδυνοι για την ανθρώπινη

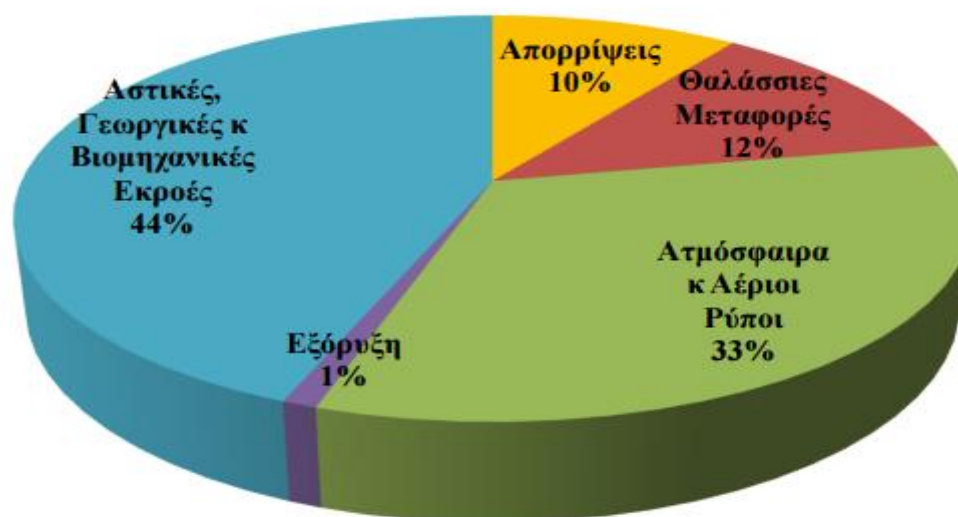
υγεία, η παρεμπόδιση πολλών θαλασσίων δραστηριοτήτων και η μείωση του επιπέδου της ποιότητας, της χρήσης και του πλούτου του θαλασσινού νερού...»

Pravdic, 1981, Βεντίκος (2004)

Υπάρχουν έξι κύριες πηγές ρύπανσης του θαλάσσιου περιβάλλοντος [2]:

- Ρύπανση από απορρίψεις
- Ρύπανση από χερσαίες πηγές
- Ρύπανση από την εξόρυξη και την εκμετάλλευση της υφαλοκρηπίδας του βυθού των θαλασσών
- Ρύπανση από την ατμόσφαιρα
- Ρύπανση από τις θαλάσσιες μεταφορές

Αλεξόπουλος (2009)



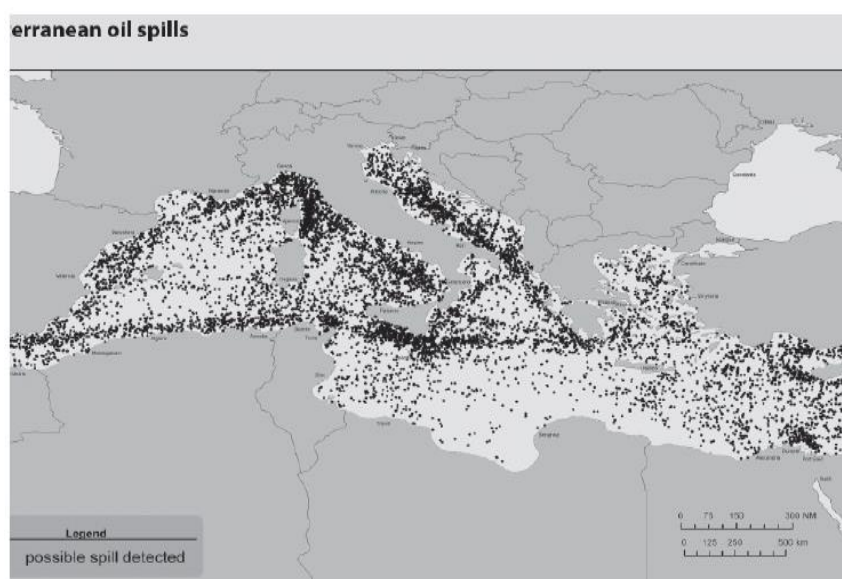
Εικόνα 2[2]

Οι βιομηχανικές εκροές όπως και οι θαλάσσιες μεταφορές αποτελούν παρά την εξέλιξη της τεχνολογίας μια σοβαρή αιτία πετρελαϊκής ρύπανσης. Η πλειοψηφία των πετρελαιοκηλίδων οφείλεται σε αιτίες που δεν έχουν σχέση με μεγάλα ατυχήματα, αλλά αποτελούν 'λειτουργικές' διαρροές. Η μακροχρόνια ζημιά στο θαλάσσιο περιβάλλον οφείλεται σε αιτίες που εκδηλώνονται σχεδόν καθημερινά σε συστηματική βάση και περνούν σχεδόν απαρατήρητες, αλλά και σε μεμονωμένα ατυχήματα που δημιουργούν ανεπανόρθωτες επιπτώσεις στο θαλάσσιο περιβάλλον. Οι λόγοι των θαλάσσιων ατυχημάτων ποικίλουν όπως φαίνεται και στην εικόνα[3].



Εικόνα 3[3]

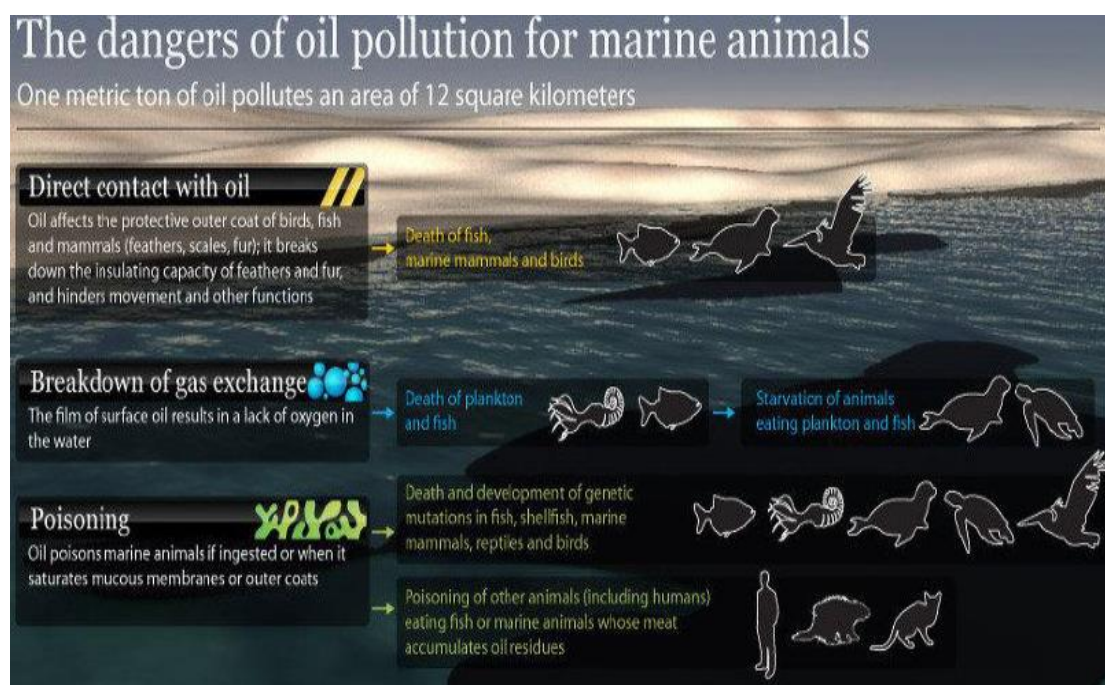
Εκτός από την προσπάθεια για ελαχιστοποίηση των ατυχημάτων, η επιστημονική κοινότητα πρέπει να είναι προετοιμασμένη και για την αντιμετώπιση των επικείμενων καταστροφών. Η στρατηγική που πρέπει να εξελιχθεί είναι η κατάλληλη μελέτη του φαινομένου της πετρελαιοκηλίδας και η προετοιμασία, μέσω ενός σχεδίου δράσης, το οποίο, σε περίπτωση πραγματικού ατυχήματος, είτε σε αστικό εργοστασιακό χώρο είτε σε θαλάσσιο περιβάλλον να συμβάλει στην έγκαιρη, οργανωμένη και αποτελεσματική αντιμετώπιση της πετρελαιοκηλίδας. Σε παγκοσμίου μεγέθους κλίμακα τα περιστατικά εντοπισμένων πετρελαιοκηλίδων είναι πάρα πολλά. Αυτό γίνεται πιο σαφές αν παρατηρήσουμε την εικόνα παρακάτω όπου παρουσιάζεται ένας χάρτης της Μεσογείου με εντοπισμένες πετρελαιοκηλίδες από δορυφόρο κατά της προηγούμενης δεκαετίας[4].



Εικόνα 4[4]

2.2 ΣΥΝΕΠΕΙΕΣ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΚΗΛΙΔΑΣ

Το πετρέλαιο είναι ελαφρύτερο από το νερό και για αυτό επιπλέει στην επιφάνειά του. Καθώς λοιπόν το στρώμα των πετρελαιοειδών έρχεται σε επαφή με τη θάλασσα και εγκαθίσταται στην επιφάνειά της με αποτέλεσμα να μειώνεται η διαλυτότητα του οξυγόνου στο νερό. Το πετρέλαιο έχει καταστροφικές συνέπειες στην υδρόβια ζωή επιδρώντας άμεσα και τοξικά. Συγκεκριμένα, εμποδίζει το φυτοπλαγκτόν να φωτοσυνθέσει, θανατώνονται τα αυγά και οι προνύμφες των ψαριών, τα ψάρια πεθαίνουν από ασφυξία καθώς το πετρέλαιο μπαίνει στα βράγχια τους ενώ μεγάλα θύματα αποτελούν και τα πουλιά, τα οποία ή καταπίνουν το πετρέλαιο και πεθαίνουν ή όταν το πετρέλαιο καλύψει τα φτερά τους αφού έρθουν σε επαφή μ αυτό, καταστρέφεται η μονωτική τους ικανότητα με αποτέλεσμα να βυθίζονται ή να πεθαίνουν από το κρύο. Καταστροφικές είναι οι συνέπειες του πετρελαίου και για τα οστρακοειδή, τα μαλάκια, τα θηλαστικά και τις χελώνες που ζουν στις θάλασσες.



Εικόνα 5

Οι συνέπειες κορυφώνονται όταν η πετρελαιοκηλίδα καταλήξει στις ακτές, καταστρέφοντας όχι μόνο την χλωρίδα και την πανίδα των περιοχών αυτών, αλλά πλήττοντας και πολλούς ακόμα τομείς. Πρόκειται για τις λεγόμενες κοινωνικές-οικονομικές επιπτώσεις που έχουν επίδραση:

- στην αλιεία,
- στον τουρισμό,
- στους ενεργειακούς πόρους,
- στο έμψυχο υλικό,
- στο κόστος απομάκρυνσης του πετρελαίου και καθαρισμού της περιοχής,
- στο κόστος πιθανής απώλειας πλοίου
- στην αισθητική του τοπίου
- στην δημόσια υγεία.

Η δημόσια υγεία όπως και η καταστροφή του περιβάλλοντος αποτελεί ένα παράγοντα που μεγεθύνει την διάσταση των προβλημάτων και χρήζει άμεσης αναγκαιότητας για την έρευνα της αποτελεσματικότερης λύσης.

2.3 ΤΡΟΠΟΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΚΗΛΙΔΩΝ

Λόγω των πολύπλοκων μηχανισμών διασποράς της πετρελαιοκηλίδας επιβάλλεται χρήση συνδυασμένων φυσικών και χημικών μεθόδων για τον περιορισμό της διασποράς. Οι μέθοδοι είναι μηχανικές, φυσικές και χημικές. Η απόφαση για την επιλογή της κατάλληλης μεθόδου εξαρτάται από σειρά παραγόντων που θα πρέπει να ληφθούν σοβαρά υπόψη κατά τον σχεδιασμό δράσης.

Tramier, (1987)

2.3.1 ΜΗΧΑΝΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

Οι μηχανικοί τρόποι επιτυγχάνουν συλλογή, παρεκτροπή, περιορισμό της πετρελαιοκηλίδας και προστασία της ακτής, κυρίως όταν πρόκειται για ακτή με χρήσεις αναψυχής, οικονομικών δραστηριοτήτων ή οικολογικής αξίας. Γενικώς ενθαρρύνεται η χρήση μηχανικών μέσων συλλογής του πετρελαίου όπως είναι ειδικά σκάφη περισυλλογής, skimmers, και σε ειδικές περιπτώσεις απορροφητικά υλικά. Η χρήση διασκορπιστικών πρέπει να είναι περιορισμένη αφενός λόγω της σχετικής τους τοξικότητας αφετέρου διότι λόγω της διασποράς που προκαλούν αυξάνουν την βιοδιαθεσιμότητα των τοξικών συστατικών του πετρελαίου.

2.3.2 ΧΗΜΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

Χρησιμοποιούνται ουσίες που επιτυγχάνουν γαλακτοματοποίηση και ταυτόχρονα διάλυση κλασμάτων πετρελαίου, αναλόγως του τύπου της πετρελαιοκηλίδας.

- **Διασκορπιστές:** Οι ουσίες αυτές χρησιμοποιούνται για να ελαττώσουν την τάση αλληλεπίδρασης μεταξύ νερού και πετρελαίου. Επιταχύνουν την διάσπαση του πετρελαίου σε μικρά σταγονίδια στην επιφάνεια και στη στήλη του νερού. Αποτρέπουν την δημιουργία συσσωματωμάτων σταγονιδίων. διασκορπίζουν ταχέως το πετρέλαιο, ελατώνοντας την συγκέντρωσή του. Επιτείνουν τις διαδικασίες βιοαποικοδόμησης. Οι διασκορπιστές χρησιμοποιούνται και στο νερό και στην ακτή.

Gillot, Mercer et al. (1973)

- **Χημικές ενώσεις διασποράς:** Η πρακτική χρησιμοποιείται με σκοπό να ελαττωθούν οι τοξικές επιδράσεις του πετρελαίου μέσω της διάλυσης του σε κατώτερες συγκεντρώσεις αλλά ταυτόχρονα να επιτευχθεί ο ρυθμός βιοδιάσπασης.
- **Απορροφητές:** Οι ουσίες αυτές απορροφούν ή προσροφούν πετρέλαιο και εξαιτίας της χαμηλής πυκνότητάς τους εξακολουθούν να επιπλέουν. Αυτό επιτρέπει στη συνέχεια τη μηχανική συλλογή τους. Σαν απορροφητές μπορεί να χρησιμοποιηθούν φυσικά προϊόντα όπως άχυρο ή πριονίδι, ή συνθετικά προϊόντα όπως πολυπροπυλένιο ή αφρός πολυουρεθάνης.
- **Surface film chemicals:** Μέθοδος που χρησιμοποιείται για να αποτραπεί η προσκόλληση πετρελαίου στα υποστρώματα των ακτών και επίσης η αφαίρεση του πετρελαίου που εμμένει στις επιφάνειες με διαδικασίες έκπλυσης με πίεση να είναι όσο το δυνατόν πιο ενισχυμένη.

Νικολοπούλου Μ.2005

2.3.4 ΦΥΣΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

Η βιοεξυγίανση είναι μια μέθοδος που ουσιαστικά το πετρέλαιο αφήνεται να απομακρυνθεί ή να αποικοδομηθεί με φυσικά μέσα χωρίς να χρησιμοποιηθεί κάποιο άλλο μέτρο. Οι πετρελαιοκηλίδες που βρίσκονται σε απρόσιτες τοποθεσίες όταν τα φυσικά ποσοστά απομάκρυνσης είναι γρήγορα αποτελεί ένα παράδειγμα τέτοιας αναγκαιότητας. Επίσης υπάρχουν οι περιπτώσεις που οι ενέργειες καθαρισμού μπορούν να προκαλέσουν μεγαλύτερο πρόβλημα παρά να επιφέρουν τα επιθυμητά αποτελέσματα. Σε αυτές τις περιπτώσεις είναι καλύτερο να χρησιμοποιήσουμε φυσική βιοεξυγίανση ως μέθοδο καθαρισμού. Η απόδοση της μεθόδου και η αξιολόγηση της αποτελεί ένα πολύ σημαντικό κομμάτι έρευνας .

2.3.5 ΑΛΛΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

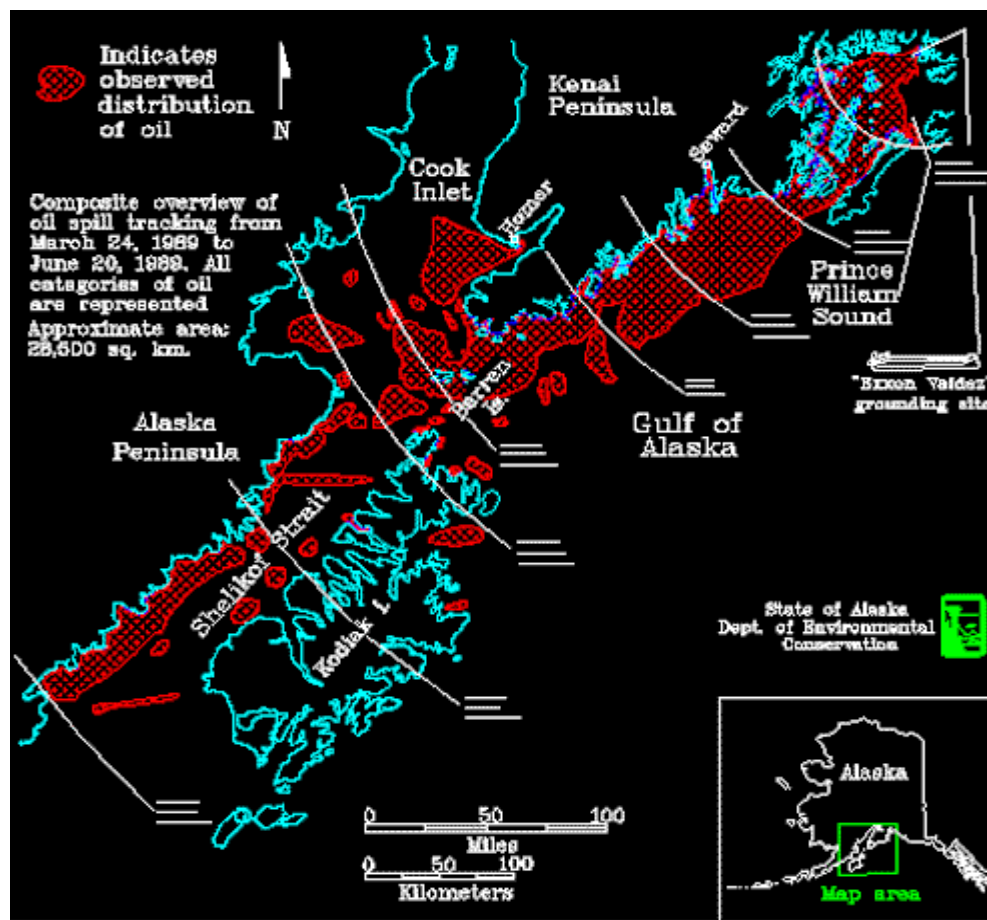
Μια σχετικά νέα μέθοδος που ακόμα βρίσκεται υπό μελέτη είναι η απομάκρυνση του πετρελαίου με μαγνήτες. Ερευνητές στο MIT επινόησαν μία τεχνική μαγνητικού διαχωρισμού του πετρελαίου από το νερό, η οποία θα μπορούσε να εφαρμοστεί σε συνδυασμό με τις υπάρχουσες, ενισχύοντας σημαντικά την αποτελεσματικότητά τους. Η νέα αυτή μέθοδος που ερευνά η ομάδα του MIT είναι πολλά υποσχόμενη. Όπως εξηγεί ο Σαχριάρ Χουσρουσάχι, μέλος της ερευνητικής ομάδας. «Με υπάρχουσες τεχνολογίες, τα νανοσωματίδια απομακρύνονται από το πετρέλαιο, το οποίο στη

συνέχεια μπορεί να διοχετευθεί σε διυλιστήρια και να ξαναχρησιμοποιηθεί.» Το πετρέλαιο φυσικά δεν είναι μαγνητικό, όμως εάν του προστεθούν μαγνητικά νανοσωματίδια, μπορεί να μετατραπεί σε ένα μαγνητικό υγρό γνωστό ως ferrofluid. Οι ερευνητές υποστηρίζουν ότι η τεχνική τους είναι πολύ απλή στην εφαρμογή της, ακόμη και σε περιπτώσεις τεράστιων πετρελαιοκηλίδων, σε περιοχές με πολύ φτωχές υποδομές. Σε λίγους μήνες θα παρουσιάσουν την έκθεσή τους σε διεθνές συνέδριο στην Ινδία, ενώ ήδη έχουν καταθέσει αίτηση για κατοχύρωση ευρεσιτεχνίας.

2.4 Η ΒΙΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗ (BIOREMEDIATION) ΩΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΥ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΚΗΛΙΔΩΝ

Όπως αναφέρθηκε η βιοεξυγίανση αποτελεί μια φυσική διαδικασία βιοδιάσπασης, η οποία έχει προκύψει ως μια από τις πιο ελπιδοφόρες δευτεροβάθμιες επεξεργασίες απομάκρυνσης πετρελαίου μετά από την επιτυχή εφαρμογή στο ατύχημα Exxon Valdez το 1989 [5].

Bragg J.R et al, (1994)



Εικόνα 6[5]

Ένα μεγάλο μέρος του πετρελαίου είναι βιοδιασπώμενο, αυτό οφείλεται στην μεταβολική δραστηριότητα μεταξύ μικροοργανισμών-καταναλωτών και υδρογονανθράκων. Ουσιαστικά χρησιμοποιούνται βακτήρια ή μύκητες που έχουν την ικανότητα να καταναλώνουν τους υδρογονάνθρακες. Γίνεται χρήση κατάλληλων ενζύμων για την αποσύνθεση των οργανικών ενώσεων από τους μικροοργανισμούς. Το τελικό προϊόν της διεργασίας της βιοαποδόμησης είναι βιομάζα , διοξείδιο του άνθρακα και νερό.

2.4.1 ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΕΙΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΤΗΣ ΒΙΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗΣ

Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι:

- ✓ Οι μικροοργανισμοί που αποικοδομούν το πετρέλαιο υπάρχουν παντού και για τον λόγο αυτό μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε πολλές ακτές.
- ✓ Ελάχιστη φυσική διάσπαση της περιοχής.
- ✓ Εφόσον χρησιμοποιηθεί σωστά, δεν έχει αρνητικές επιδράσεις.
- ✓ Απομακρύνει τα τοξικά συστατικά του πετρελαίου
- ✓ Απλούστερη και πιο λεπτομερής λύση για τις ρυπασμένες περιοχές σε σχέση με τις μηχανικές μεθόδους.
- ✓ Οικονομική τεχνολογία.
- ✓ Φυσική διεργασία.
- ✓ Δεν παράγει περαιτέρω απόβλητα.

Τα μειονεκτήματα της βιοεξυγίανσης είναι:

- × Είναι περισσότερο χρονοβόρα σε σχέση με τις φυσικές και χημικές μεθόδους.
- × Δε μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε βαριά ρυπασμένες ακτές εκτός και αν χρησιμοποιηθεί ως δευτερεύουσα μέθοδος αντιμετώπισης.
- × Εξαρτάται από τις περιβαλλοντικές συνθήκες και τα χαρακτηριστικά του πετρελαίου.
- × Δε μπορεί να χρησιμοποιηθεί στα ανοιχτά νερά λόγω διάλυσης.

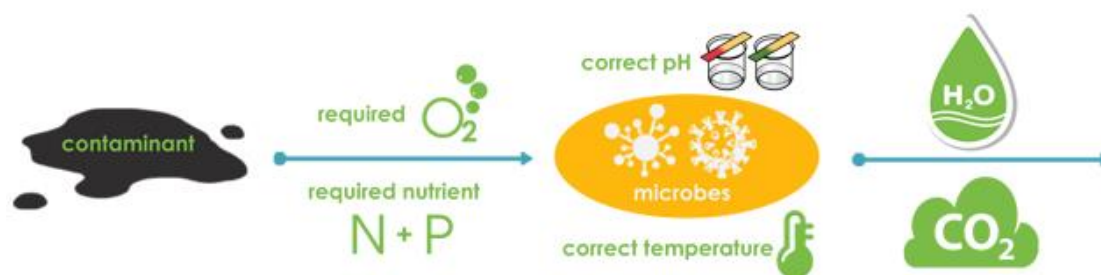
Μυστακοπούλου, 2010

2.4.2 ΤΡΟΠΟΙ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ ΤΗΣ ΒΙΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗΣ

Η βιοεξυγίανση μπορεί να εφαρμοστεί με δυο τρόπους:

- Biostimulation (Βιοδιέγερση)
- Bioaugmentation (Βιοενίσχυση)

Βιοδιέγερση (biostimulation), στην οποία η αύξηση των γηγενών μικροβιακών αποδομητών πετρελαίου υποκινείται με την προσθήκη θρεπτικών ουσιών όπως άζωτο, φώσφορος ή οξυγόνο αλλά και άλλων περιοριστικών υποστρωμάτων. Η προσθήκη των ουσιών γίνεται κυρίως μέσω οργανικών ή ανόργανων λιπασμάτων με σκοπό να επιτευχθεί η αναλογία C:N:P= 120:10:1 mol η οποία απαιτείται για την ανάπτυξη, επιβίωση των καταναλωτών. Τα ελαιοφιλικά και τα βραδείας αποδέσμευσης είναι τα πιο διαδεδομένα λιπάσματα που χρησιμοποιούνται σε αυτή την περίπτωση.



Εικόνα 7

Βιοενίσχυση (bioaugmentation), στην οποία ουσιαστικά γίνεται χρήση γνωστών βακτηρίων που αποικοδομούν το πετρέλαιο. Αυτά προστίθενται για να συμπληρώσουν τον υπάρχοντα μικροβιακό πληθυσμό και να επιτύχουν το βέλτιστο ρυθμό βιοδιάσπασης.

2.5 ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΟΥ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΥ

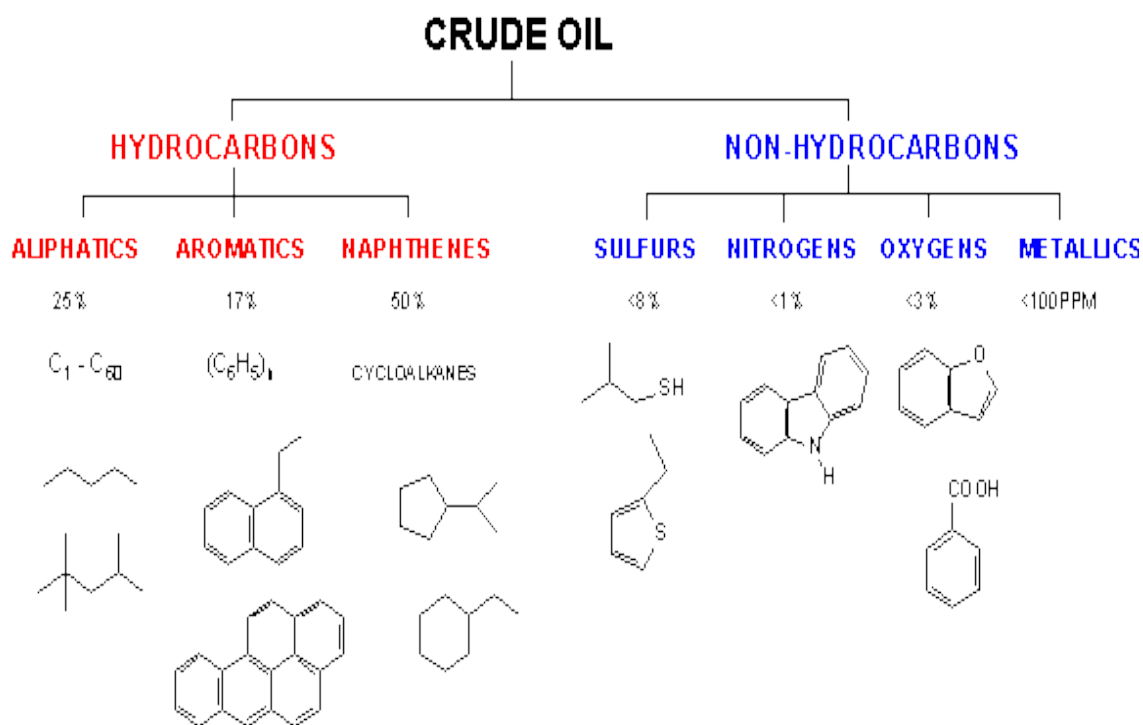
Το αργό πετρέλαιο είναι ένα ανομοιογενές υγρό που αποτελείται από πληθώρα υδρογονανθράκων. Περισσότερες από 3000 ενώσεις έχουν ταυτοποιηθεί στο αργό πετρέλαιο και περιλαμβάνουν από αέρια, όπως το μεθάνιο, μέχρι και βαριές ασφατικές ενώσεις που δεν αποστάζουν. Η σύστασή του κατά βάρος όπως φαίνεται και παρακάτω [6] είναι κατά 83-87% από άνθρακα (ενώσεις με αριθμό ατόμων C από 5 μέχρι και 100) και κατά 10-14% από υδρογόνο (πολύ μεγαλύτερο ποσοστό από ότι τους άνθρακες), ενώ βρίσκονται σε μικρότερες ποσότητες οξυγόνο (<1,5%) και

άζωτο (<2%). Επίσης απαντώνται και πολύ μικρές συγκεντρώσεις (μέχρι 0,1%) μετάλλων, όπως σίδηρος, νικέλιο, χρώμιο, βανάδιο.

Πίνακας 1[6]

Element	Weight %	Hydrocarbon	Weight %
Carbon	83-87	Paraffins	30
Hydrogen	10-14	Naphthenes	49
Nitrogen	0.1-2	Aromatics	15
Oxygen	0.1-1.5	Asphaltics	6
Sulfur	0.5-6		
Metals	< 0.1		
The hydrocarbon weight % values are averages.			

Σημειώνεται ότι παρά τις μικρές ποσότητες του θείου και του αζώτου, η παρουσία τους προκαλεί τα γνωστά περιβαλλοντικά προβλήματα με τις εκπομπές οξειδίων θείου και αζώτου. Το αργό πετρέλαιο παρουσιάζει μεγάλες διαφορές σε όλες τις φυσικές ιδιότητές του, εξαιτίας της έντονης διαφοροποίησής της σύστασής του. Το χρώμα του μπορεί να είναι μαύρο, πράσινο ή φαιοκίτρινο. Η πυκνότητά του και το ιξώδες ποικίλλουν αρκετά. Το σημείο ζέσεως των διαφόρων συστατικών του πετρελαίου κυμαίνεται από -160°C μέχρι 540°C. Οι κυριότερες οργανικές ενώσεις στο αργό πετρέλαιο ανήκουν στις παραφινικές, τις ολεφινικές, τις ναφθενικές και τις αρωματικές σειρές υδρογονανθράκων και περιέχουν συνήθως από πέντε μέχρι είκοσι άτομα άνθρακα. Οι παραφίνες συγκεντρώνονται κυρίως στα χαμηλού σημείου ζέσεως κλάσματα, οι ναφθενικές και οι μονοαρωματικές ενώσεις στα μέσου σημείου ζέσεως κλάσματα, ενώ τα πολυαρωματικά μόνο στα βαριά κλάσματα. Η σύσταση του αργού και, συνεπώς, οι ιδιότητές του εξαρτώνται σημαντικά από την περιοχή από την οποία προέρχεται το κοίτασμα. Τα πετρέλαια που είναι πλούσια σε θείο παρουσιάζουν ιδιαίτερα προβλήματα κατά την επεξεργασία και την αξιοποίησή τους, όπως είναι η διάβρωση των μεταλλικών επιφανειών, οι οσμές, η χαμηλή απόδοση και οι εκπομπές οξειδίων του θείου. Οι φυσικές διεργασίες της διύλισης πετρελαίου (κλασματική απόσταξη, απορρόφηση και ψύξη) επηρεάζονται σημαντικά από τις ιδιότητες των υδρογονανθράκων, ενώ οι χημικές διεργασίες (π.χ. αποθείωση, πυρόλυση) επηρεάζονται από την παρουσία του θείου, του αζώτου και του οξυγόνου και από το είδος των υδρογονανθράκων.



Εικόνα 8[7]

Οι υδρογονάνθρακες μπορούν να διαχωριστούν σε[7]:

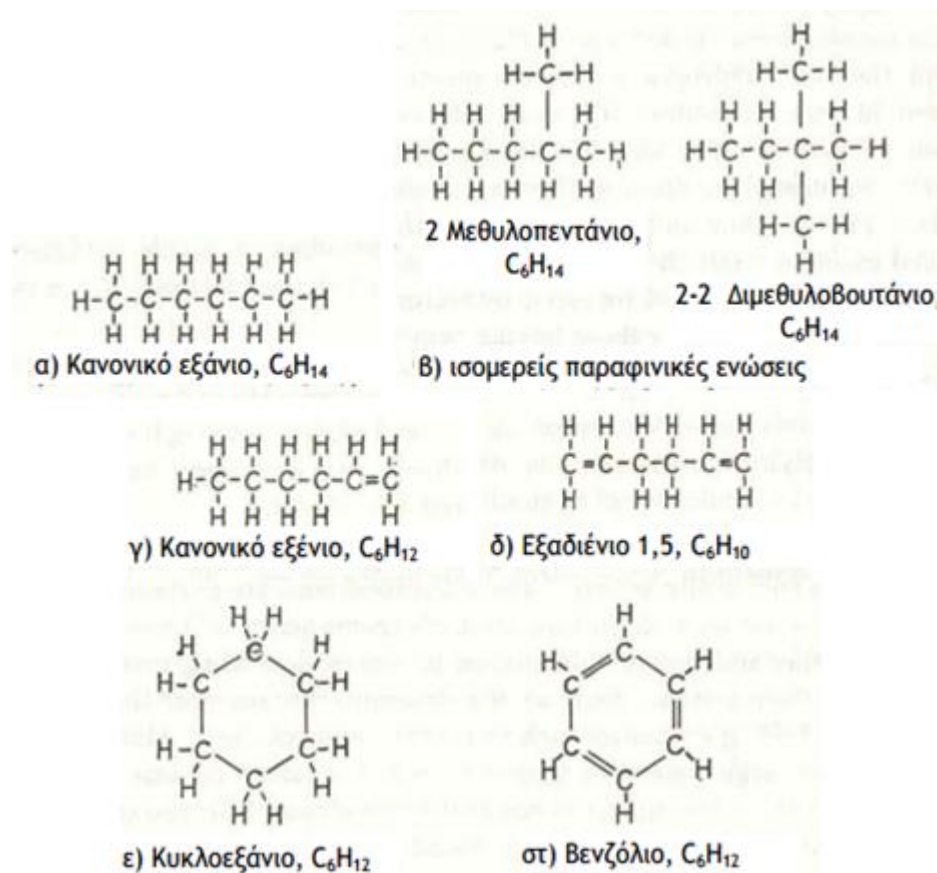
1. Κορεσμένοι υδρογονάνθρακες:

- Οι παραφίνες ή αλκάνια είναι κορεσμένοι υδρογονάνθρακες με χημικό τύπο C_nH_{2n+2} και χαρακτηρίζονται από σταθερότητα. Το όνομα κάθε μέλους της ομάδας αυτής των υδρογονανθράκων έχει κατάληξη -άνιο, όπως το αιθάνιο και το εξάνιο. Υπάρχουν κανονικές και διακλαδισμένες παραφίνες, όπως το 2-2 διμέθυλοβουτάνιο. Οι παραφίνες με $n < 5$ βρίσκονται σε αέρια κατάσταση σε συνθήκες περιβάλλοντος, ενώ οι παραφίνες με $n > 15$ είναι ιξώδη (κηρώδη) υγρά. Παραφίνες υπάρχουν σε κάθε αργό πετρέλαιο, αν και έχει αναφερθεί αργό πετρέλαιο από το Οχάιο (Η.Π.Α.) που δεν περιέχει καθόλου παραφινικά συστατικά.
- Οι ολεφίνες ή αλκένια (χημικός τύπος C_nH_{2n}) αποτελούν ακόρεστους υδρογονάνθρακες που μπορούν να ενωθούν με άλλα στοιχεία ή ομάδες (Cl, Br, κ.α.). Το όνομα κάθε μέλους της ομάδας αυτής καταλήγει -ένιο, όπως αιθυλένιο και εξένιο. Οι ολεφίνες αντιδρούν και διαλύονται στο θειικό οξύ και έτσι μπορούν να απομακρυνθούν από άλλους υδρογονάνθρακες. Οι

ελαφρότερες ολεφίνες δεν απαντώνται στο πετρέλαιο, αλλά βρίσκονται στα προϊόντα πυρόλυσης.

- Οι ναφθενικές ενώσεις (χημικός τύπος C_nH_{2n}), αν και έχουν τον ίδιο χημικό τύπο με τις ολεφίνες, είναι κυκλικές, κορεσμένες ενώσεις. Στην ονομασία προηγείται το πρόθεμα κύκλο- (κυκλοβουτάνιο, κυκλοπεντάνιο, κυκλοεξάνιο). Τα ναφθένια βρίσκονται σχεδόν σε όλα τα είδη πετρελαίου.

- 2. Αρωματικοί υδρογονάνθρακες:** Είναι ακόρεστοι κυκλικοί υδρογονάνθρακες που αποτελούνται από συμπυκνωμένες ενώσεις ή συστήματα αρωματικών δακτυλίων (PAHs). Έχουν χαρακτηριστικό άρωμα και πολλές από αυτές τις ενώσεις έχουν χαρακτηριστεί καρκινογόνες. Οι υδρογονάνθρακες αυτοί είναι ιδιαίτερα επιδεκτικοί στην οξείδωση και παραγωγή οργανικών οξέων. Μερικά πετρέλαια, όπως της Σουμάτρας, είναι πλούσια σε αρωματικά συστατικά.



Εικόνα 9

2.6 ΦΥΣΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΟΥ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΥ

Οι φυσικές ιδιότητες του πετρελαίου περιλαμβάνουν τα παρακάτω:

1) *Ιξώδες*

Το ιξώδες είναι η ιδιότητα των ρευστών να αντιστέκονται στην μετακίνηση ή σε μια αλλαγή στη μορφή. Όσο μεγαλύτερο ιξώδες έχει ένα ρευστό τόσο δυσκολότερα ρέει. Όσο αναφορά το πετρέλαιο, το ιξώδες αποτελεί ένα σημαντικό δείκτη για να μελετήσουμε το ρυθμό εξάπλωσης μια πετρελαιοκηλίδας. Η διαφορετικότητα της σύνθεσης του πετρελαίου και η θερμοκρασία περιβάλλοντος σχετίζονται με το πόσο διαφορετικό θα είναι το ιξώδες του κάθε φορά.

2) *Πυκνότητα*

Υπάρχουν δύο διαφορετικές εκφράσεις της πυκνότητας του πετρελαίου :

α) Η ειδική πυκνότητα (specific gravity) που είναι ο λόγος της μάζας μιας ουσίας προς τη μάζα του ισοδύναμου όγκου του νερού σε μια συγκεκριμένη θερμοκρασία.

β) Η πυκνότητα API (API gravity) του American Petroleum Institute η οποία ορίζει αυθαίρετα μια τιμή 10 για το καθαρό νερό στους 10 °C.

Υπάρχει ένας τύπος που συσχετίζει τις δύο πυκνότητες:

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

Το αργό πετρέλαιο έχει ειδική πυκνότητα με εύρος από 0,79 έως 1,00. Η πυκνότητα του πετρελαίου είναι εξίσου σημαντικός δείκτης γιατί χρησιμοποιείται για να προβλέψει την κατάληξη της πορείας του στο νερό.

3) *Σημείο Ροής (Pour Point)*

Η θερμοκρασία στην οποία γίνεται ημιστερεό ή σταματά να ρέει το πετρέλαιο είναι το σημείο ροής του. Το σημείο ροής του αργού πετρελαίου κυμαίνεται από -57° C έως 32° C. Το χαρακτηριστικό αυτό σχετίζεται με τις στρατηγικές καθαρισμού του πετρελαίου.

4) *Διαλυτότητα στο νερό*

Με τον όρο διαλυτότητα χαρακτηρίζεται η ικανότητα μιας χημικής ουσίας να διαλυθεί μέσα σε άλλη. Αυτή η ικανότητα προσδιορίζεται από τη μεγίστη ποσότητα της που μπορεί να διαλυθεί, σε καθορισμένη πάντα ποσότητα διαλύτη και σε ορισμένη θερμοκρασία. Για ένα χαρακτηριστικό αργό πετρέλαιο, η διαλυτότητα είναι περίπου 30 mg/L. Τα πιο διαλυτά τμήματα του πετρελαίου είναι οι χαμηλού μοριακού βάρους αρωματικές ουσίες όπως το τολουόλιο, το βενζόλιο και το ξυλόλιο. Αυτή η ιδιότητα είναι σημαντική όσον αφορά την τύχη του πετρελαίου, τις διεργασίες βιοεξυγίανσης και την τοξικότητα του πετρελαίου.

2.7 ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΥ

Τα πετρελαιοειδή , διαχωρίζονται σε εμμένοντα και μη εμμένοντα , ανάλογα με τις φυσικές και χημικές διεργασίες. Εμμένοντα ονομάζουμε εκείνα τα πετρελαιοειδή, που όταν διαρρέουν στην θάλασσα αποικοδομούνται με αργούς ρυθμούς και εξαπλώνονται. Αντιθέτως, τα μη εμμένοντα κατά την είσοδο τους στο θαλάσσιο περιβάλλον , υπόκεινται , σε φυσικό διασκορπισμό ή εξατμίζονται γρήγορα.

Οι φυσικοχημικές μεταβολές των πετρελαιοειδών είναι οι εξής :

Εξάπλωση (spreading) : Το χαρακτηριστικό του πετρελαίου που διαρρέει στην επιφάνεια της θάλασσας είναι η τάση του να διασκορπίζεται οριζόντια, κάτω από τη δράση των συνδυασμένων δυνάμεων βαρύτητας, ιξώδους και επιφανειακής τάσης. Κατά κανόνα, επικρατεί αρχικά η βαρύτητα , επηρεαζόμενη από το ιξώδες του πετρελαίου. Μετά από λίγες ώρες το πάχος του πετρελαίου μειώνεται κατά πολύ και η επιφανειακή τάση διαδέχεται τη βαρύτητα σαν κύρια δύναμη εξάπλωσης. Τα περισσότερα είδη αργού πετρελαίου εξαπλώνονται σε στρώμα πάχους περίπου 0,3 mm εντός χρονικού διαστήματος 12 ωρών.

Εξάτμιση (evaporation) : Η διεργασία αυτή λαμβάνει χώρα σε λίγες ώρες από τη διαρροή και τα πλέον πτητικά κλάσματα μίας πετρελαιοκηλίδας χάνονται στην ατμόσφαιρα με ρυθμό που καθορίζεται από την ταχύτητα του ανέμου, τη θερμοκρασία και τον τύπο του πετρελαίου. Οι μεγάλες ταχύτητες του ανέμου και οι υψηλές θερμοκρασίες αυξάνουν τους ρυθμούς εξάτμισης, το ίδιο συμβαίνει και όταν η θάλασσα είναι ταραγμένη. Το υπόλοιπο πετρέλαιο που παραμένει στη θάλασσα έχει μεγαλύτερη πυκνότητα και ιξώδες σε σχέση με το αρχικό. Στις περισσότερες κηλίδες του αργού πετρελαίου χάνεται μέχρι το 40% του όγκου τους κατά τις πρώτες 48 ώρες, ενώ το βαρύ πετρέλαιο που περιέχει λίγες πτητικές ενώσεις θα παρουσιάσει χαμηλότερου επιπέδου εξάτμιση ακόμη και μετά από αρκετές ημέρες. Τα ελαφρά προϊόντα διύλισης , όπως η βενζίνη , η κηροζίνη και το πετρέλαιο ντίζελ εξατμίζονται σχεδόν τελείως μέσα σε διάστημα ωρών, δημιουργώντας κίνδυνο πυρκαγιάς σε κλειστές περιοχές, όπως τα λιμάνια.

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

Βιοαποικοδόμηση (biodegradation) : Η βιοαποικοδόμηση του πετρελαίου από τα βακτηρίδια που ζουν στη θάλασσα, συμβάλει σημαντικά στη μετατροπή του πετρελαίου σε οξειδωμένα προϊόντα. Ο ρυθμός αποικοδόμησης εξαρτάται από την θερμοκρασία , τις θρεπτικές ουσίες, την ύπαρξη οξυγόνου καθώς και τον τύπο πετρελαίου. Επειδή τα βακτηρίδια είναι ενεργά στη διαχωριστική επιφάνεια

πετρελαίου/ νερού , ο ρυθμός αποικοδόμησης αυξάνεται όταν σχηματίζονται λεπτές μεμβράνες ή σταγονίδια διασκορπισμένου πετρελαίου σε μεγάλη επιφάνεια. Τα ελαφρότερα κλάσματα αποικοδομούνται γρηγορότερα από ότι τα κλάσματα μεγαλύτερου μοριακού βάρους. Οι πλέον ευνοϊκές θερμοκρασίες για μικροβιακή ανάπτυξη είναι άνω των 25° C. Κάτω των 5° C οποιαδήποτε ανάπτυξη σταματά. Η διαλυτότητα του οξυγόνου στο θαλασσινό νερό είναι χαμηλή σε σύγκριση με τις ποσότητες που απαιτούνται για την πλήρη οξείδωση των υδρογονανθράκων : 3 έως 4 mg οξυγόνου ανά mg υδρογονάνθρακα για τη μετατροπή σε CO₂ και H₂O.

Γαλακτωματοποίηση (emulsification) : Πολλοί τύποι αργού πετρελαίου εμφανίζουν την τάση να απορροφούν νερό σχηματίζοντας γαλακτώματα πετρελαίου νερού. Με τον τρόπο αυτό αυξάνεται ο όγκος του ρυπαντή κατά 3-4 φορές. Το ποσοστό του νερού στο γαλακτώμα μπορεί να φτάσει το 75-80%. Καθώς το ποσοστό αυτό αυξάνεται το χρώμα μεταβάλλεται μεταξύ μαύρου, πορτοκαλί και κόκκινου. Η ταχύτητα γαλακτωματοποίησης εξαρτάται από την κατάσταση της θάλασσας. Η διαδικασία της απορρόφησης του νερού ολοκληρώνεται σε μερικές ώρες. Η όλη διαδικασία δυσκολεύει την εξάτμιση και την όλη διαδικασία καθαρισμού. Όταν τα γαλακτώματα είναι ιδιαίτερα σταθερά, έχουν καφέ σκούρο χρώμα και περιέχουν 80% νερό.

Φωτοχημική οξείδωση (oxidation) : Είναι η επίδραση του οξυγόνου και της ηλιακής ακτινοβολίας στην κηλίδα. Η αντίδραση αυτή γίνεται στην επιφάνεια και λαμβάνει χώρα ταχύτερα. Εξαρτάται από το πάχος του "φιλμ". Υπό την επίδραση έντονου ηλιακού φωτός, λεπτά "φιλμ" διασπώνται με ταχύτητες 0,1% την ημέρα. Η φωτοχημική οξείδωση παχέων στρωμάτων μπορεί να οδηγήσει στη δημιουργία ενώσεων μεγάλου μοριακού βάρους (πχ. κομμάτια πίσσας) με μεγάλους χρόνους ζωής.

2.8 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΩΝ ΔΙΕΡΓΑΣΙΩΝ ΠΟΥ ΛΑΜΒΑΝΟΥΝ ΧΩΡΑ ΣΤΗΝ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΚΗΛΙΔΑ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ ΤΗΣ ΣΤΟ ΥΔΑΤΙΝΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ

Η τύχη και η συμπεριφορά μιας ποσότητας πετρελαίου που έχει διαρρεύσει μπορεί να επηρεαστεί από φυσικές, χημικές και βιολογικές διεργασίες:

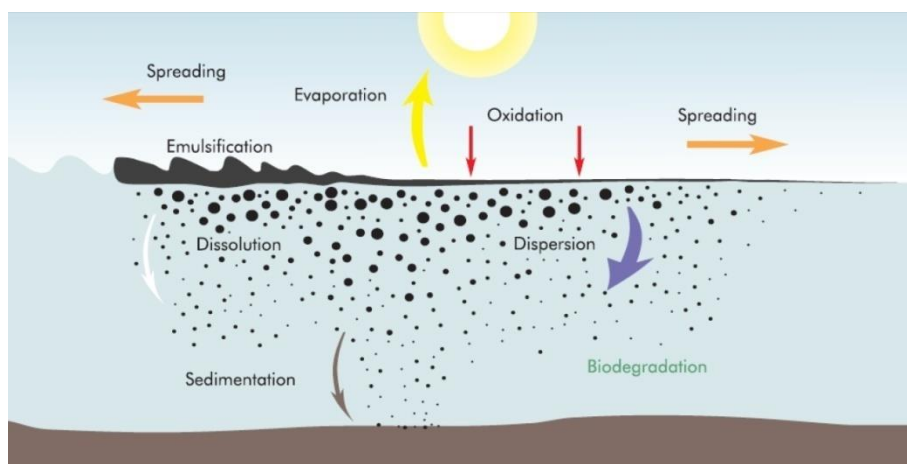
- ❖ μετατόπιση/μετακίνηση (advection)
- ❖ εξάπλωση (spreading)
- ❖ εξάτμιση (evaporation)
- ❖ διάλυση (dissolution)
- ❖ γαλακτωματοποίηση (emulsification)
- ❖ διασπορά (dispersion)

- ❖ οξείδωση (oxidation)
- ❖ βιοαποικοδόμηση (biodegradation)
- ❖ βύθιση/καθίζηση (ιζηματοποίηση) (sinking/sedimentation)

Το σύνολο αυτών των διεργασιών [8] είναι γνωστό ως «γήρανση» ή «αποχρωματισμός» (weathering) του πετρελαίου.

2.9 ΓΗΡΑΝΣΗ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΥ

Η μεταφορά και η πορεία μιας πετρελαιοκηλίδας στο θαλάσσιο περιβάλλον, εξαρτάται από ένα σύνολο φυσικών, χημικών και βιολογικών διεργασιών, οι οποίες καθορίζονται σε μεγάλο βαθμό, τόσο από τις ιδιότητες του πετρελαίου που βρίσκεται στην υδάτινη επιφάνεια, όσο και από τις περιβαλλοντικές, μετεωρολογικές και υδροδυναμικές συνθήκες που επικρατούν στη δεδομένη περιοχή. Όταν το πετρέλαιο διαφύγει στη θαλάσσια επιφάνεια, διαχέεται, με σκοπό το σχηματισμό ενός λεπτού υμένιου, της πετρελαιοκηλίδας. Η μετακίνηση της πετρελαιοκηλίδας, εξαρτάται από την κίνηση των αερίων μαζών στη θαλάσσια επιφάνεια και την τυρβώδη διάχυση, είτε λόγω των τοπικών υποθαλάσσιων ρευμάτων, είτε λόγω των ανέμων που επικρατούν. Η πετρελαιοκηλίδα εξαπλώνεται στην επιφάνεια του νερού, εξαιτίας της ισορροπίας δυνάμεων, μεταξύ ιξώδους, επιφανειακής τάσης και βαρύτητας, ενώ παράλληλα η σύσταση του πετρελαίου μεταβάλλεται με το χρόνο. Τα ελαφρύτερα συστατικά εξατμίζονται, τα υδροδιαλυτά συστατικά διαλύονται στο θαλάσσιο περιβάλλον, ενώ άλλα γαλακτωματοποιούνται και διασκορπίζονται στην υδάτινη μάζα σαν μικρά σταγονίδια. Ο σχηματισμός γαλακτώματος πετρελαίου σε νερό ή νερού σε πετρέλαιο, εξαρτάται κατά κύριο λόγο από τον κυματισμό στην περιοχή και εμφανίζεται εντός λίγων ημερών μετά τη διαρροή.



Εικόνα 10[8]

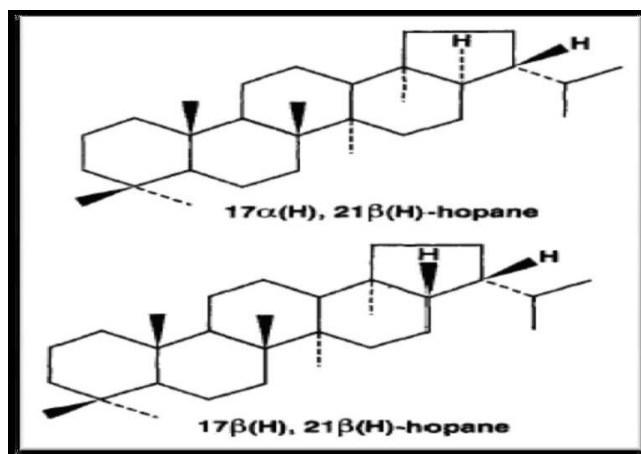
2.10 ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΟΥ ΒΑΘΜΟΥ ΒΙΟΑΠΟΔΟΜΗΣΗΣ –ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΒΙΟΔΕΙΚΤΩΝ(BIOMARKERS)

Η χρήση βιοδεικτών καθιστάτε αναγκαία στην πληθώρα των περιπτώσεων. Η διαδικασία αξιολόγησης του βαθμού αποδόμησης είναι μια πολύ δύσκολη επίτευξη. Αυτό συμβαίνει γιατί οι ρυπασμένες με πετρέλαιο περιοχές συνήθως χαρακτηρίζονται από μεγάλη ετερογένεια ως προς τις συγκεντρώσεις των συστατικών του.

Βιοδείκτες

- Ονομάζονται τα οργανικά απολιθώματα που διατηρούνται εκατομμύρια χρόνια μέσα στα ιζηματογενή πετρώματα και προέρχονται από βιολογικά λιπίδια.
- Αποτελούνται από άνθρακα και υδρογόνο (υδρογονάνθρακες) και σε μικρότερες ποσότητες από ετεροσυστατικά όπως το άζωτο και το οξυγόνο.
- Είναι τα μη ή αργά βιοδιασπώμενα συστατικά του πετρελαίου και μεταξύ άλλων χρησιμοποιούνται για να μετριάσουν την υψηλή μεταβλητότητα των συγκεντρώσεων των υπόλοιπων συστατικών του πετρελαίου.
- Σε πειραματικό επίπεδο η χρησιμότητά τους είναι ιδιαίτερος σημαντική καθώς επιβεβαιώνουν ότι ο βαθμός αποδόμησης οφείλεται όντως στη διάσπαση των συστατικών του πετρελαίου.
- Η εκτίμηση του βαθμού αποδόμησης γίνεται μέσω των λόγων των συγκεντρώσεων των υδρογονανθράκων στόχων προς τη συγκέντρωση αυτών των σταθερών βιοδεικτών.

Κύριες κατηγορίες βιοδεικτών των αργών πετρελαίων είναι τα ισοπρενοειδή (πριστάνιο και φυτάνιο), τα στεράνια και τα χοπανοειδή. Στο σημείο αυτό θα πρέπει να σημειωθεί, ότι τα ισοπρενοειδή δεν θεωρούνται ιδιαίτερα αξιόπιστοι δείκτες, καθώς σε σχετικές μελέτες για την αποδόμηση πετρελαιοειδών που έχουν γίνει, τα συστατικά αυτά έχουν σημειώσει ως και ολική απομάκρυνση. Ο πλέον διαδεδομένος βιοδείκτης είναι το χοπάνιο (πεντακυκλικά τερπενοειδή [9]), κυρίως λόγω της ιδιαίτερης ανθεκτικότητας που παρουσιάζει στην αποδόμηση. Ωστόσο η χρήση του θα πρέπει να γίνεται με προσοχή σε περιπτώσεις όπου το δείγμα πετρελαίου που μελετάται δεν έχει υποστεί σημαντικές επιδράσεις από τις διεργασίες γήρανσης.



Εικόνα 11[9]

Πίνακας 2

ΕΝΩΣΗ	ΜΟΡΙΑΚΟΣ ΤΥΠΟΣ
18α(H)-22,29,30- Τρισ-νορ-νεοχοπάνιο, Ts	C ₂₇ H ₄₆
17α(H)-22,29,30-Τρισνορχοπάνιο, Tm	C ₂₇ H ₄₆
17α(H), 18α(H), 21β(H)-28, 30-Δισνορχοπάνιο	C ₂₈ H ₄₈
17α(H), 21β(H)-30-Νορχοπάνιο	C ₂₉ H ₅₀
17α(H), 21β(H)-χοπάνιο	C ₃₀ H ₅₂
17β(H), 21α(H)-Μορετάνιο	C ₃₀ H ₅₂
17α(H), 21β(H)-30-Ομοχοπάνιο	C ₃₁ H ₅₄
17α(H), 21β(H)-30, 31-Δισομοχοπάνιο	C ₃₂ H ₅₆
17α(H), 21β(H)-30, 31, 32-Τρισομοχοπάνιο	C ₃₃ H ₅₈
17α(H), 21β(H)-30, 31, 32, 33-Τετραομοχοπάνιο	C ₃₄ H ₆₀
17α(H), 21β(H)-30, 31, 32, 33, 34-Πεντομοχοπάνιο	C ₃₅ H ₆₂

3) ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

3.1 ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Στη παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκε το τροποποιημένο πρωτόκολλο δοκιμής της αποτελεσματικότητας των παραγόντων βιοεξυγίανσης της Environmental Protection Agency (EPA). Το πρωτόκολλο αυτό σχεδιάστηκε για να αξιολογήσει την ικανότητα ενός προϊόντος να βιοδιασπά το πετρέλαιο ποσοτικοποιώντας τις αλλαγές στην σύνθεση του πετρελαίου ως αποτέλεσμα της βιοδιάσπασης. Ουσιαστικά ποσοτικοποιεί την απομάκρυνση των κορεσμένων υδρογονανθράκων και των πολυαρωματικών υδρογονανθράκων (PAHs) χρησιμοποιώντας την ανάλυση στο GC/MS.

ΣΤΑΔΙΑ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ

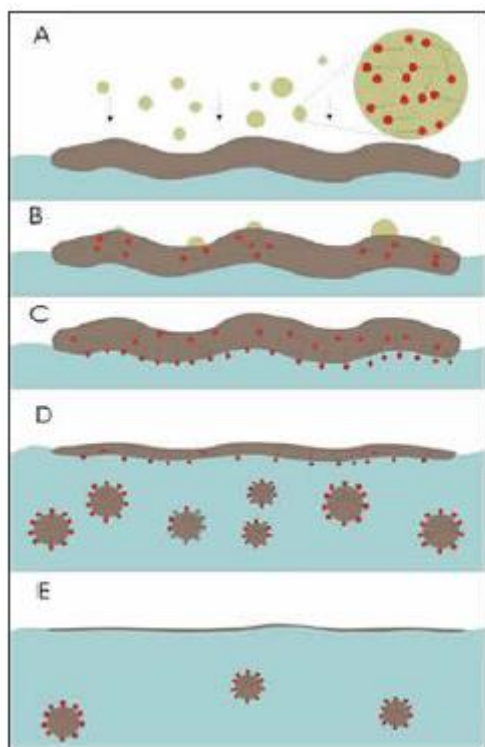
- ΒΙΟΑΠΟΔΟΜΗΣΗ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΥ ΣΕ ΘΑΛΑΣΣΙΝΟ ΝΕΡΟ
- ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΥ (LLE)
- ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΥ ΣΕ ΚΟΡΕΣΜΕΝΟ ΚΑΙ ΑΡΩΜΑΤΙΚΟ ΚΛΑΣΜΑ (SPE)
- GC/MS ΑΝΑΛΥΣΗ ΚΟΡΕΣΜΕΝΩΝ ΚΑΙ ΑΡΩΜΑΤΙΚΩΝ ΚΛΑΣΜΑΤΩΝ

3.1.1 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΔΟΚΙΜΕΣ - ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ

Σκοπός μας ήταν να διαπιστώσουμε αν το πετρέλαιο αποδομείται. Όπως αναφέρθηκε νωρίτερα, για να το επιτύχουμε αυτό επιλέξαμε σαν μέθοδο τη βιοεξυγίανση με βιοδιέργεση. Η αποτελεσματικότητα της μεθόδου βασίζεται στην δράση κάποιων θρεπτικών συστατικών που θα χρησιμοποιηθούν στα δείγματά μας. Για αυτό το λόγο δημιουργήσαμε τα παρακάτω δείγματα.

Το δείγμα με την ονομασία **CD** είναι η δοκιμή ελέγχου (CONTROL). Ονομάζεται δοκιμή ελέγχου γιατί περιέχει μόνο θαλασσινό νερό, πετρέλαιο και δεν περιέχει θρεπτικά συστατικά. Προσθέσαμε 20mL θαλασσινό νερό (seawater) και 102μL πετρέλαιο τύπου μαζούτ (mazut oil).

Το δείγμα με ονομασία **ULBD** περιέχει ουρικό οξύ ως πηγή αζώτου, λεκιθίνη ως πηγή φωσφόρου και ένα βιολογικό βιοεπιφανειοδραστικό υπόστρωμα (oil begone)[10] που βοηθά τα σταγονίδια του πετρελαίου να προσκολλούνται στην επιφάνεια. Προσθέσαμε 19,688 mL θαλασσινό νερό (seawater), 100 μL ουρικό οξύ (Uric acid), 60 μL λεκιθίνη, 50μL oil begone και 102μL πετρέλαιο τύπου μαζούτ.



Εικόνα 12[10]

Το δείγμα με ονομασία **ANLBD** περιέχει Avant natur που είναι ένα βιολογικό λίπασμα, λεκιθίνη ως πηγή φωσφόρου και βιολογικό βιοεπιφανειοδραστικό υπόστρωμα (oil begone) [10] που βοηθά τα σταγονίδια του πετρελαίου να προσκολλούνται στην επιφάνεια. Προσθέσαμε 19,691 mL θαλασσινό νερό (seawater), 60 μL λεκιθίνη, 50μL oil begone, 147 μL Avant natur και 102μL πετρέλαιο τύπου μαζούτ.

3.2 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ ΣΤΟ ΑΡΧΙΚΟ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΣΤΑΔΙΟ

1. Απιονισμένο νερό
2. Bushnell –hass medium
3. Βαφή INT
4. Χαρτί ζύγισης
5. Ζυγαριά ακριβείας 0.1mg
6. Ογκομετρικοί κύλινδροι
7. 250 ml κωνικές φιάλες με βιδωτό καπάκι
8. Πιπέτες των 2,10,25 ml
9. Falcons των 25 ml
10. Pans (αλουμινένια κεσεδάκια)
11. Microtiter MPN [11]
12. Σωλήνες αραίωσης και καπάκια
13. Αποστειρωτικός κλίβανος
14. Loops
15. Επωαστικός θάλαμος
16. Θαλασσινό νερό
17. Crude oil
18. Microtiter well

3.3 ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΘΡΕΠΤΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟΥ ΚΑΙ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΥ

Βάζουμε σε μια ογκομετρική φιάλη του 1L , ίδια ποσότητα απιονισμένου νερού. Ζυγίζουμε με προσοχή 3,27 gr Bushnell-Hass medium και τα βάζουμε στην ογκομετρική φιάλη. Αναδεύουμε καλά και έπειτα το τοποθετούμε στον αποστειρωτικό κλίβανο. Όμοια με πριν, αφού το βγάλουμε το αφήνουμε σε θερμοκρασία δωματίου και το τοποθετούμε στο ψυγείο.

Για τις ανάγκες του πειράματος χρησιμοποιήθηκε ένα ελαφρύ ιρανικό αργό πετρέλαιο (crude oil), το οποίο πριν την χρήση του υποβλήθηκε σε τεχνητή γήρανση με θέρμανση στου 200 °C (392 °F) σύμφωνα με τη μέθοδο ASTM D86 (Standard Test Method for Distillation of Petroleum Products), έτσι ώστε να απομακρυνθεί το ελαφρύ κλάσμα των υδρογονανθράκων (<C15). Η διαδικασία της γήρανσης πραγματοποιείται με σκοπό την όσο το δυνατόν καλύτερη προσομοίωση περιβαλλοντικών συνθηκών, δεδομένου ότι από το πετρέλαιο που ρυπαίνει μια περιοχή, μέχρι και το 50% των πιο τοξικών ελαφρών συστατικών του θα εξατμιστούν μέσα στις πρώτες δώδεκα ώρες από την εμφάνιση της πετρελαιοκηλίδας.

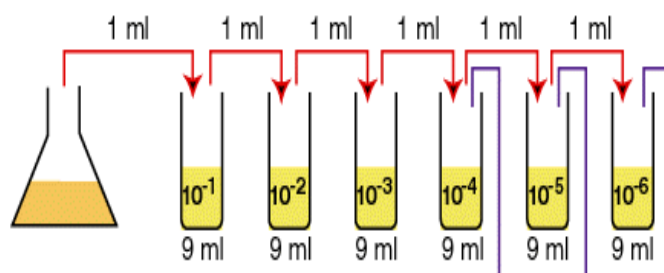
U.S.EPA, (1999)

3.4 ΜΕΘΟΔΟΣ MPN

- Αραιώσεις

Παίρνουμε 10 αποστειρωμένους σωλήνες και προσθέτουμε 9 ml αποστειρωμένου Bushnell-Huss στον καθένα ,έπειτα παίρνουμε από το δείγμα πετρελαίου μας 1 ml και το προσθέτουμε στον πρώτο σωλήνα. Χρησιμοποιώντας τεχνικές αποστείρωσης εκτελούμε τμηματικές αραιώσεις μέχρι την 10^{-9} αραιώση {αραίωση 1:10}.

Wrenn and Venosa



Εικόνα 13

- Εμβολιασμός των microtiter well MPN plates (μικροβιακοί αποδομητές πετρελαίου)

Χρησιμοποιώντας το θάλαμο αποστείρωσης , προσθέτουμε 180 μ l Bushnell-Hass σε κάθε πηγαδάκι. Έπειτα , προσθέτουμε 5 μ l πετρελαίου σε κάθε πηγαδάκι. Από κάθε αραιώση που κάναμε νωρίτερα τοποθετούμε στα πηγαδάκια 20 μ l δείγματος ξεκινώντας από το πιο πυκνό μέχρι την δέκατη αραιώση με τη σειρά. Επαναλαμβάνουμε την διαδικασία 3 φορές για να έχουμε πιο έγκυρα αποτελέσματα. Οι δύο τελευταίες στήλες από τα πηγαδάκια είναι έλεγχοι και για αυτό το λόγο δεν προστίθεται δείγμα.



Εικόνα 14[11]

Αφού τελειώσουμε με την παραπάνω διαδικασία, τοποθετούμε τα πηγαδάκια στους 20 ° C . Έπειτα από 14 μέρες επώασης , προσθέτουμε 20 μl INT σε κάθε πηγαδάκι. Αυτή η προσθήκη γίνεται για να προσδιοριστεί η μικροβιακή ανάπτυξη. Μετά από ένα 24 ώρο επώασης ή καμιά φορά και νωρίτερα, παρατηρείται η εμφάνιση αλλαγής χρώματος. Η εμφάνιση ροζ ,μωβ ή κόκκινου πιστοποιεί θετική ένδειξη. Καταγράφουμε τον αριθμό των θετικά πιστοποιημένων πηγαδιών και σε ποια διάλυση αντιστοιχούν αυτές και εισάγουμε τα δεδομένα σε πρόγραμμα.

EPA, (2003 edition)

3.5 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ ΣΤΟ ΣΤΑΔΙΟ ΤΩΝ ΧΗΜΙΚΩΝ ΑΝΑΛΥΣΕΩΝ

- 1) Σφαιρικές φιάλες
- 2) Υποδοχείς
- 3) Ογκομετρικές φιάλες
- 4) Ξηραντήρας
- 5) Πιπέτες Pasteur
- 6) Υαλοβάμβακας
- 7) Ξηραντήρας
- 8) Vials
- 9) Στήλες SPE(Solid Phase Extraction)
- 10) Μηχάνημα Αζώτου (Nitrogen flow)
- 11) GC/MS όργανο
- 12) Θεικό νάτριο
- 13) Διχλωρομεθάνιο (Suprasolve)
- 14) Εξάνιο (Suprasolve)
- 15) Περιστροφικός εξεατμιστήρας
- 16) Διαχωριστική χοάνη[12]

3.6 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΜΕΘΟΔΩΝ ΧΗΜΙΚΩΝ ΑΝΑΛΥΣΕΩΝ

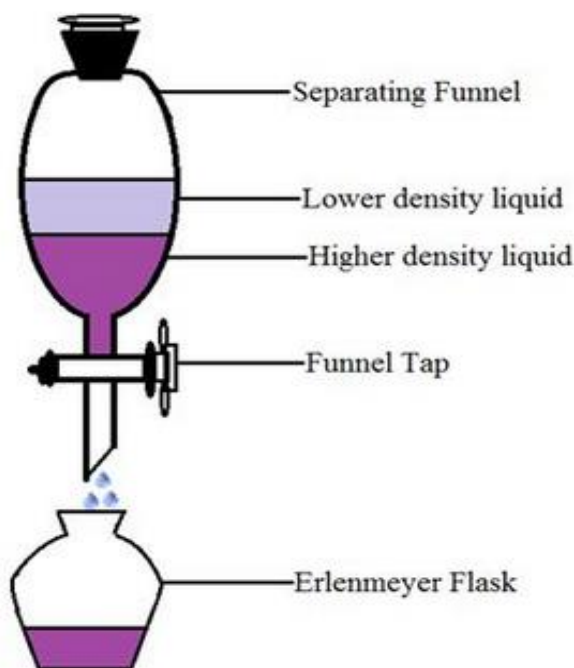
Ο σκοπός της εκχύλισης είναι η απομόνωση μιας ουσίας από το δείγμα, γεγονός που επιτυγχάνεται με τη στενή επαφή του δείγματος με ένα διαλυτικό μέσο, το οποίο τη διαλύει εκλεκτικά.

Η εκχύλιση πραγματοποιείται σε τρία στάδια:

- ✓ την επαφή,
- ✓ τον διαχωρισμό και
- ✓ την ανάκτηση διαλύτη

Η διαδικασία λαμβάνει χώρα εντός διαχωριστικής χοάνης. Η επαφή του διαλύτη με το με το δείγμα γίνεται με ανάδευση, στη συνέχεια το μίγμα διαλύτη- διαλύματος αφήνεται έως ότου γίνει ο διαχωρισμός των δύο φάσεων. Ένας από τους βασικούς παράγοντες στην διεργασία της εκχύλισης αποτελεί η επιλογή διαλύτη. Υπάρχουν αρκετοί διαφορετικοί διαλύτες που μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη διεργασία της εκχύλισης.

Liquid-liquid Extraction



Εικόνα 15

Τα βασικότερα χαρακτηριστικά για την επιλογή ενός κατάλληλου διαλύτη είναι:

- ✓ να διαλύει εκλεκτικά την οργανική ουσία
- ✓ να μην αντιδρά με αυτήν
- ✓ ο βαθμός απομάκρυνσης του να είναι μεγάλος
- ✓ να μην είναι εύφλεκτος ή τοξικός

Ως διαλύτης στο πείραμα μας χρησιμοποιήθηκε διχλωρομεθάνιο (DCM- dichloromethene, CH_2Cl_2), το οποίο πρόκειται για έναν οργανικό διαλύτη, μη αναμίξιμο με το νερό. Πριν από την διεργασία της εκχύλισης προστέθηκε στο δείγμα ένα πρότυπο διάλυμα ανάκτησης (surrogate recovery standard) το οποίο αποτελεί ένδειξη του βαθμού αποτελεσματικότητας της εκχύλισης.



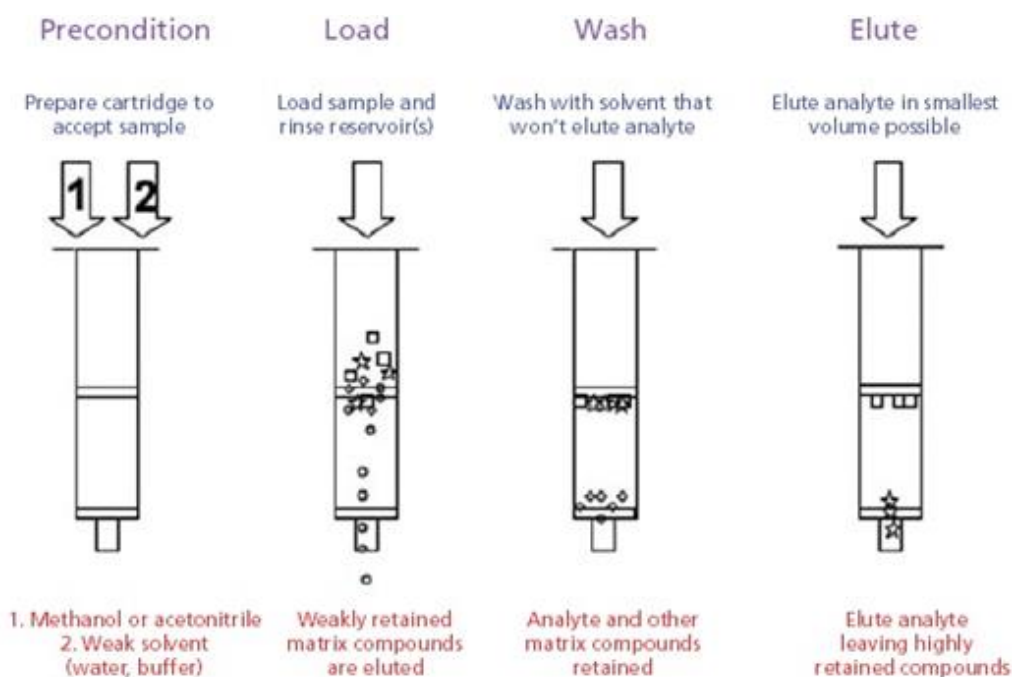
Εικόνα 16[12]

3.7 ΕΚΧΥΛΙΣΗ ΣΤΕΡΕΑΣ ΦΑΣΗΣ SOLID PHASE EXTRACTION (SPE)

Χρησιμοποιήσαμε την διαδικασία SPE για τον διαχωρισμό των κορεσμένων και αρωματικών κλασμάτων του πετρελαίου. Θεωρείται μια ιδιαίτερος αποτελεσματική τεχνική προκατεργασίας δειγμάτων (καθαρισμός, απομόνωση). Στην διαδικασία αυτή χρησιμοποιείται προσροφητικό υλικό προσυσκευασμένο σε μικροφυσίγγια μιας χρήσεως (sep-pak)[13].

3.7.1 ΣΤΑΔΙΑ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ ΣΤΕΡΕΑΣ ΦΑΣΗΣ

1. Εξισορρόπηση στερεής φάσης για την ενεργοποίηση των δραστικών ομάδων του προσροφητικού υλικού
 - Διαβίβαση κατάλληλου διαλύτη
 - Διαβίβαση διαλύματος δείγματος
 - Κατακράτηση επιθυμητής ουσίας
2. Έκπλυση με διαλύτη
 - Απομάκρυνση ανεπιθύμητων ουσιών
3. Εκλεκτική έκλυση (παραλαβή) με κατάλληλο διαλύτη

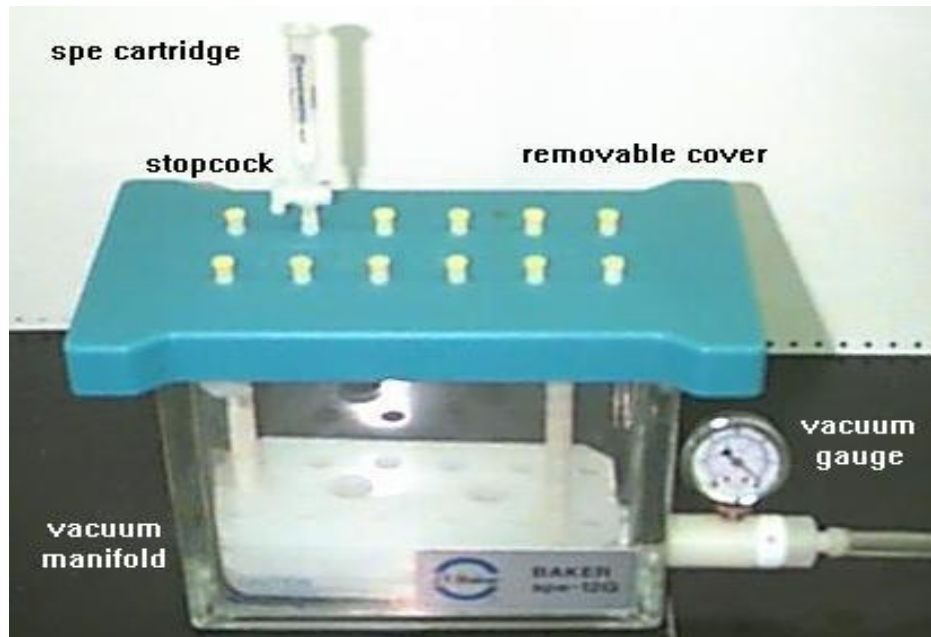


Εικόνα 17[13]

3.7.2 ΤΕΧΝΙΚΗ ΔΙΑΒΙΒΑΣΗΣ ΤΟΥ ΔΙΑΛΥΤΗ

Στο παρόν πείραμα κάναμε χρήση της τεχνικής διαβίβασης του διαλύτη από φυσίγγια SPE με τη βοήθεια κενού σε ειδική συσκευή. Κατά την πειραματική διαδικασία για το διαχωρισμό των δυο κλασμάτων ως διαλύτες χρησιμοποιήθηκαν DCM (για τα

αρωματικά) και εξάνιο (για τα κορεσμένα). Η διάταξη SPE [14] που χρησιμοποιήθηκε αποτελείται από δώδεκα θέσεις κάθε μια από τις οποίες μπορεί στεγανοποιηθεί ξεχωριστά από το σύστημα. Η ροή του δείγματος μέσα από την στήλη SPE πραγματοποιήθηκε με φυσικό τρόπο, εκτός από ορισμένες περιπτώσεις όπου κρίθηκε αναγκαία η εφαρμογή κενού.



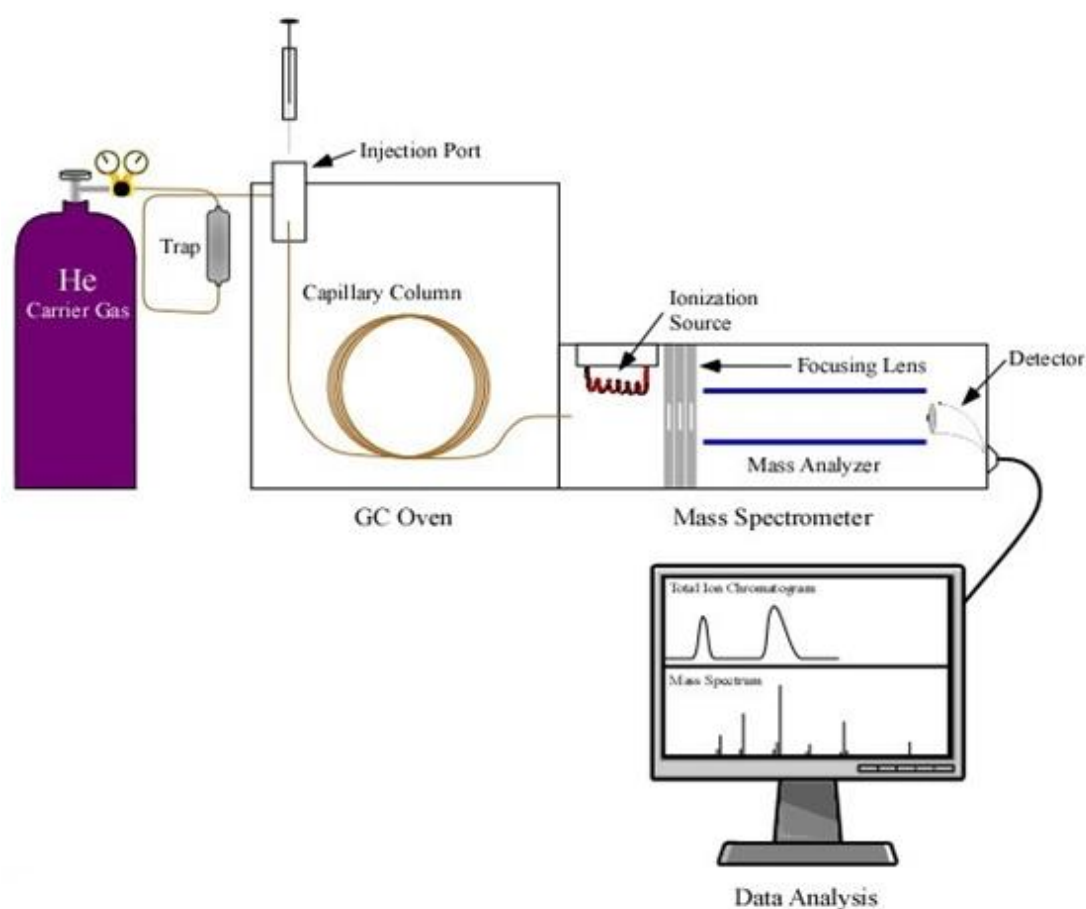
Εικόνα 18[14]

3.7.3 ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ SPE

- Λιγότερο χρονοβόρα διαδικασία
- Απλότητα στο χειρισμό
- Πιο φιλική στο περιβάλλον
- Αποτελεσματική απομάκρυνση παρεμποδιζόντων συστατικών
- Αποφυγή σχηματισμού γαλακτώματος
- Περιορισμός συνεκχύλισης συστατικών μήτρας δείγματος
- Δυναμική τεχνική με πολλά ερευνητικά περιθώρια

3.8 ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΕΡΙΟ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ – ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ ΜΑΖΩΝ

Η αέρια χρωματογραφία είναι μια σχετικά απλή τεχνική και χρησιμοποιείται για την ανάλυση πτητικών ουσιών σε τρόφιμα, φάρμακα, προϊόντα πετρελαίου και άλλα. Η διάταξη ενός αέριου χρωματογράφου δίνεται στο παρακάτω σχήμα[15]:



Εικόνα 19[15]

Το φέρον αέριο (συνήθως N₂, He, H₂, Ar) από τη φιάλη υψηλής πίεσης, μέσα από ρυθμιστές παροχής, οδηγείται στη στήλη. Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήσαμε ως φέρον αέριο το ήλιο.

Η εισαγωγή του δείγματος γίνεται με μικροσύριγγα στη βαλβίδα εισαγωγής του δείγματος στην κορυφή της στήλης. Τα συστατικά του δείγματος συμπαρασύρονται από το φέρον αέριο κατά μήκος της στήλης και διαχωρίζονται. Τα κλάσματα στη συνέχεια ανιχνεύονται στον ανιχνευτή και τα σήματα ανίχνευσης καταγράφονται από καταγραφικό. Η καρδιά του χρωματογράφου είναι η στήλη. Υπάρχουν δύο είδη στηλών οι πληρωμένες στήλες και οι τριχοειδείς. Η στήλη αποτελείται από έναν επιμήκη σωλήνα, συνήθως με τη μορφή σπειράματος ή U, ώστε να καταλαμβάνει κατά το δυνατόν μικρότερο χώρο, από ανοξειδωτο χάλυβα, χαλκό, αργίλιο, ύαλο ή πλαστικό, μήκους 1-2 m για της πληρωμένες στήλες, μέχρις αρκετών εκατοντάδων μέτρων για τις τριχοειδείς, εσωτερικής διαμέτρου της τάξεως των mm στις αναλυτικές στήλες, πολλών δεκάδων cm στις παρασκευαστικές στήλες. Το δείγμα, συνήθως όγκου 1μL εισάγεται στο ρεύμα του φέροντος αερίου στην αρχή της στήλης με μια μικροσύριγγα, διαμέσου μιας ελαστικής πλακέτας ή διαφράγματος (septum). Η ταχύτητα και η ικανότητα του διαχωρισμού εξαρτώνται από τη θερμοκρασία. Για αυτό το λόγο η στήλη βρίσκεται σε φούρνο, του οποίου η θερμοκρασία ελέγχεται αυστηρά.

Ο διαχωρισμός επιτυγχάνεται εξαιτίας των διαφόρων δυνάμεων συγκράτησης και έκλυσης ανάμεσα στα συστατικά του μίγματος, το υλικό πλήρωσης της στήλης και της ροής του φέροντος αερίου. Το δεύτερο μέρος του χρωματογράφου περιλαμβάνει τον ανιχνευτή, ο οποίος τοποθετείται στο τέλος της στήλης. Αρκετοί κατασκευαστές οργάνων προσφέρουν αεριοχρωματογράφους, που μπορούν να συζευχθούν άμεσα με **φασματομέτρα μαζών (MS)** ταχείας σάρωσης. Η αρχή λειτουργίας της φασματομετρίας μαζών στηρίζεται στη δημιουργία ιόντων (κυρίως θετικών) μιας ένωσης, το διαχωρισμό τους με βάση το λόγο της μάζας προς φορτίο (m/z) και την καταγραφή τους. Με αυτόν τον τρόπο είναι δυνατό να προσδιοριστεί το μοριακό βάρος (MB) της ένωσης και ο τρόπος σύνδεσης των διαφόρων ομάδων μεταξύ τους.

3.9 ΣΥΣΤΗΜΑ ΑΝΑΛΥΣΗΣ GC/MS

Το σύστημα ανάλυσης GC/MS χρησιμοποιείται ευρέως πλέον για τη μελέτη της γήρανσης και της τύχης των διαρροών πετρελαίου στο περιβάλλον. Θεωρείται μια αρκετά αξιόπιστη μέθοδος η οποία ουσιαστικά αποτελεί συνδυασμό δυο διαφορετικών αναλυτικών μεθόδων, της Αέριας Χρωματογραφίας και της Φασματομετρίας Μάζας.

Ο φασματογράφος μάζας [16] βαθμονομήθηκε με βάση μια τροποποιημένη εκδοχή της EPA (EPA 8270). Αναλυτικότερα οι συγκεντρώσεις των εσωτερικών προτύπων είναι 10ppm (αντί 40ppm). Δημιουργείται μία καμπύλη βαθμονόμησης πέντε σημείων για κάθε συστατικό πριν την ανάλυση των δειγμάτων στα 0,5-20ppm. Η βαθμονόμηση 5 σημείων πρέπει να διεξαχθεί σε πρότυπο δείγμα συστατικών για να προσδιοριστεί ο σχετικός συντελεστή απόκρισης (RRFs) για κάθε αναλυτή.



Εικόνα 20[16]

Για κάθε συστατικό γίνεται υπολογισμός των συντελεστών απόκρισης σε σχέση με το αντίστοιχο δευτεριωμένο εσωτερικό πρότυπο σύμφωνα με τη σχέση.

$$RF = \frac{A_x \cdot C_{is}}{A_{is} \cdot C_x}$$

- **RF:** Σχετικός συντελεστής απόκρισης
- **A_x:** Εμβαδό της κορυφής του χαρακτηριστικού ιόντος για το συστατικό που μετράται
- **A_{is}:** Εμβαδό της κορυφής του χαρακτηριστικού ιόντος για το συγκεκριμένο εσωτερικό πρότυπο
- **C_x:** Συγκέντρωση (ng/μl) του συστατικού που μετράται
- **C_{is}:** Συγκέντρωση (η οποία είναι σταθερή για την καμπύλη βαθμονόμησης και ίση με 10ng/μl) του συγκεκριμένου εσωτερικού προτύπου

3.9.1 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΝΑΛΥΤΗ

Για τη διεξαγωγή του πειράματος χρησιμοποιήθηκε:

- Αναλυτής της εταιρίας Agilent, μοντέλο HP 7890/5975c GC/MS.
- Με χρωματογραφική στήλη HP-5,5% phenyl methyl siloxane.
- Διαστάσεων 30m x 250μm x 0,25μm.
- Η αρχική θερμοκρασία του αναλυτή ρυθμίστηκε στους 60°C με σταδιακή αύξηση της θερμοκρασίας της τάξης των 6°C/min μέχρι την επίτευξη 300°C τελικής θερμοκρασίας.
- Τα δείγματα (1μl) εμβάλλονται σε έναν split-split-less εισαγωγέα (pulsed-splitless mode στους 250 °C), μέσω δειγματολήπτη (Agilent 7693A Automatic Liquid Sampler).
- Η θερμοκρασίες της γραμμής σύνδεσης του χρωματογράφου με το φασματογράφο, της πηγής ιόντων και του τετραπόλου ρυθμίστηκαν αντίστοιχα στους 280°C, 230 °C και 150 °C.

Για τις ποσοτικές αναλύσεις το όργανο χρησιμοποιεί επιλεκτική ανίχνευση ιόντων (selective ion detection-SIM), με ρυθμό ανίχνευσης μεγαλύτερο από 1,5 ανιχνεύσεις/δευτερόλεπτο για να μεγιστοποιηθεί το εύρος της γραμμικής ποσοτικοποίησης και η ακρίβεια του οργάνου. Η ταυτοποίηση των συστατικών πραγματοποιήθηκε βάση του χρόνου συγκράτησης και του φάσματος των μαζών. Για τον προσδιορισμό των χρόνων συγκράτησης χρησιμοποιήθηκε μίγμα k-αλκανίων και αρωματικών συστατικών (Oil analysis standard της εταιρίας Absolute Standard Inc, συγκέντρωσης 100ppm).

Η ποσοτικοποίηση των δειγμάτων από τον αναλυτή GC/MS γίνεται με χρήση της τεχνικής εσωτερικού προτύπου (internal standard), τόσο για τα αλειφατικά, όσο και για τα αρωματικά κλάσματα των εκχυλισμάτων του πετρελαίου. Το εσωτερικό πρότυπο αποτελείται από ένα διάλυμα τεσσάρων δευτεριωμένων ενώσεων (naphthalene-d8, phenanthrene-d10, crysene-d12 και perylene-d12) και προστίθεται στα εκχυλίσματα των δειγμάτων, πριν από την έκχυση. Τα δευτεριωμένα εσωτερικά πρότυπα χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό του σχετικού συντελεστή απόκρισης (Relative Response Factor- RRF).

Πίνακας 3

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

3.10 ΑΛΛΕΣ ΧΡΗΣΙΜΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Εν κατακλείδι για να μπορέσουμε να διασφαλίσουμε ότι η μεταβολή των συγκεντρώσεων του κάθε αναλυτή οφείλονται σε «πραγματική» βιοαποικοδόμηση του δείγματος και όχι σε κάποιου άλλου είδους σφάλματος, όπως η απώλεια δείγματος ή η αναποτελεσματική εκχύλιση, κρίνεται απαραίτητο να γίνει κανονικοποίηση των συγκεντρώσεων των αναλυτών στόχων μέσω εσωτερικών δεικτών (conserved internal marker). Αυτό σημαίνει ότι χρησιμοποιήσαμε δείκτες για την ποσοτικοποίηση στην παρούσα εργασία. Πιο συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκε :

- C3017_α(H),
- 21_β(H)-χοπάνιο.

Συνηθέστεροι δείκτες που χρησιμοποιούνται για την κανονικοποίηση των συγκεντρώσεων είναι οι C2- ή C3-φθενανθρένιο, C2-χρυσένιο ή C3017_α(H), 21_β(H)-χοπάνιο, σε μια βάση βάρους πετρελαίου (mg δείκτη/kg πετρελαίου, mg αναλυτή στόχου/kg πετρελαίου).

Το ποσοστό απομάκρυνσης όλων των συστατικών υπολογίστηκε με βάση την εξίσωση:

$$\% \text{ Απομάκρυνση} = \frac{\left[\frac{A_0}{H_0} - \frac{A_s}{H_s} \right]}{\frac{A_0}{H_0}} \times 100\%$$

- **As:** η συγκέντρωση του αναλυτή στόχου στο δείγμα,
- **Ao:** η συγκέντρωση του αναλυτή στόχου στο αρχικό δείγμα,
- **Hs:** η συγκέντρωση του 17a(H), 21b(H) C30 –χοπάνιο
- **Ho:** η συγκέντρωση του 17a(H), 21b(H) C30 –χοπάνιο στο αρχικό δείγμα.

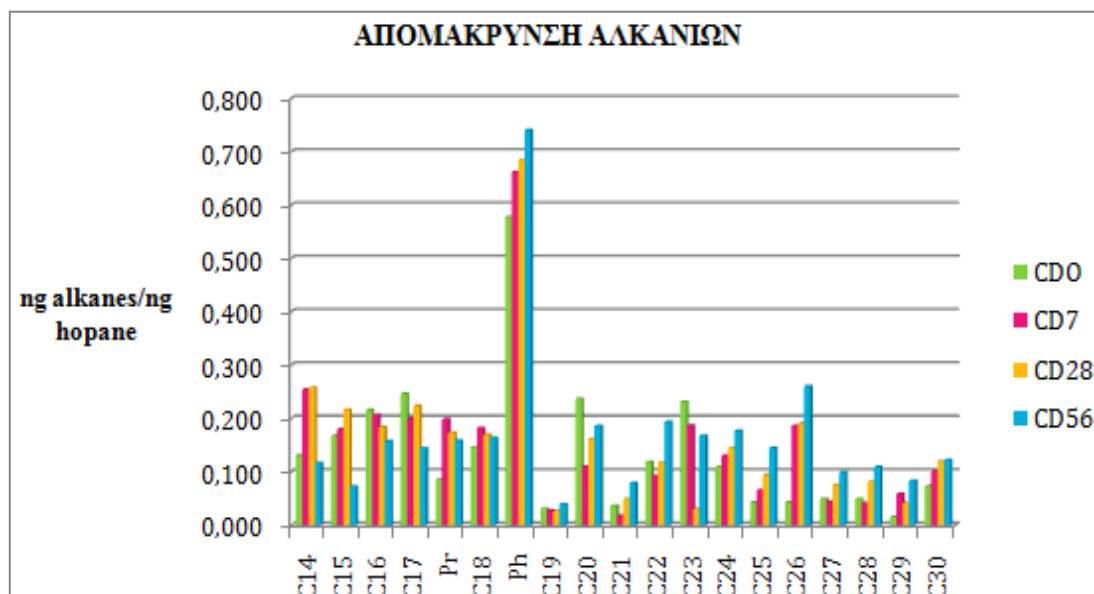
4)ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ-ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στα κεφάλαια που ακολουθούν παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τις αναλύσεις για κάθε δείγμα ξεχωριστά. Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων καθώς και τα τελικά διαγράμματα που παραθέτονται παρακάτω έγιναν σε υπολογιστικό φύλλο Excel. Τα αποτελέσματα προέκυψαν από τις αναλύσεις GC/MS και MPN. Αναλυτικοί πίνακες με τα αποτελέσματα όλων των σταδίων της πειραματικής διαδικασίας παρατίθενται στο παράρτημα Δ.

4.1 ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Οπτικά παρατηρώντας τα δείγματά μας παρατηρήσαμε ότι παρουσίαζαν σημαντικές ομοιότητες. Στρώμα πετρελαίου είχε καλύψει όλη την επιφάνεια και των τριών δειγμάτων, κάτι το οποίο δεν άλλαξε ιδιαίτερα με το πέρασμα των ημερών. Υπήρχε έντονος διαχωρισμός μεταξύ πετρελαίου και νερού από την αρχή της διαδικασίας πράγμα. Ο διαχωρισμός αυτός οπτικά δεν άλλαξε ιδιαίτερα με το πέρασμα των ημερών.

4.2 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΓΙΑ ΤΟ ΔΕΙΓΜΑ CONTROL (C)



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 1

Όλες οι τιμές απομάκρυνσης των αλκανίων του δείγματός μας είναι εξαιρετικά χαμηλές από την αρχική ανάλυση. Παρατηρώντας το διάγραμμα μπορεί να γίνει αντιληπτό ότι σημειώνεται μια μείωση στα περισσότερα μικρού μοριακού βάρους συστατικά (C14-C20), ενώ αντιθέτως για τα μεσαίου μοριακού βάρους (C21-C30) δεν βλέπουμε καμία μείωση της ποσότητάς τους. Αντίθετα στα μεσαίου μοριακού βάρους συστατικά παρατηρείται μια αμελητέα αύξηση από την 7^η μέρα μέχρι και την 56^η. Τα μεγάλου μοριακού βάρους συστατικά (C31-C35) δεν εμφανίζονται καθόλου στο δείγμα μας. Το πριστάνιο την ημέρα 0 παρουσιάζει την ελάχιστη τιμή του, την 7^η ημέρα εμφανίζει μία αύξηση και στην συνέχεια ακολουθεί μια σταδιακή μείωση. Το φυτάνιο σημειώνει μία σταδιακή αύξηση με το πέρασμα του χρόνου.



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 2

Από το διάγραμμα της απομάκρυνσης των αρωματικών δεν προκύπτει κάποιο σημαντικό συμπέρασμα. Παρατηρούνται κάποιες αμελητέες αυξομειώσεις στα περισσότερα συστατικά. Το πυρένιο (pyrene) παρουσιάζει μια αύξηση την 7^η ημέρα και μετά παρατηρείται μια σταδιακή μείωση. Παρότι παρουσιάζει την πιο σημαντική απομάκρυνση αναλογικά, παραμένει το πιο ισχυρό συστατικό στην ανάλυση μας, αν παρατηρήσει κανείς ότι η πιο χαμηλή αντιστοιχία του στο διάγραμμα είναι η μεγαλύτερη τιμή στο διάγραμμα συγκρινόμενη με τις τιμές των υπόλοιπων συστατικών. Το αρωματικό κλάσμα συμπερασματικά παραμένει σταθερό και αμετάβλητο σε όλη τη διάρκεια των πειραματικών δοκιμών. Οι αυξομειώσεις είναι αμελητέες και αυτό είναι ξεκάθαρο αν παρατηρήσουμε ότι όλες οι τιμές είναι εξαιρετικά χαμηλές.

Παρακάτω παραθέτουμε τα αποτελέσματα που έδωσε το πρόγραμμα της EPA για τον υπολογισμό MPN σύμφωνα με τα δεδομένα που εισάχθηκαν. Έπειτα κατασκευάστηκε διάγραμμα που παρουσιάζει τη μικροβιακή ανάπτυξη του δείγματος (average) σύμφωνα με τις ημέρες του πειράματος.

Πίνακας 4

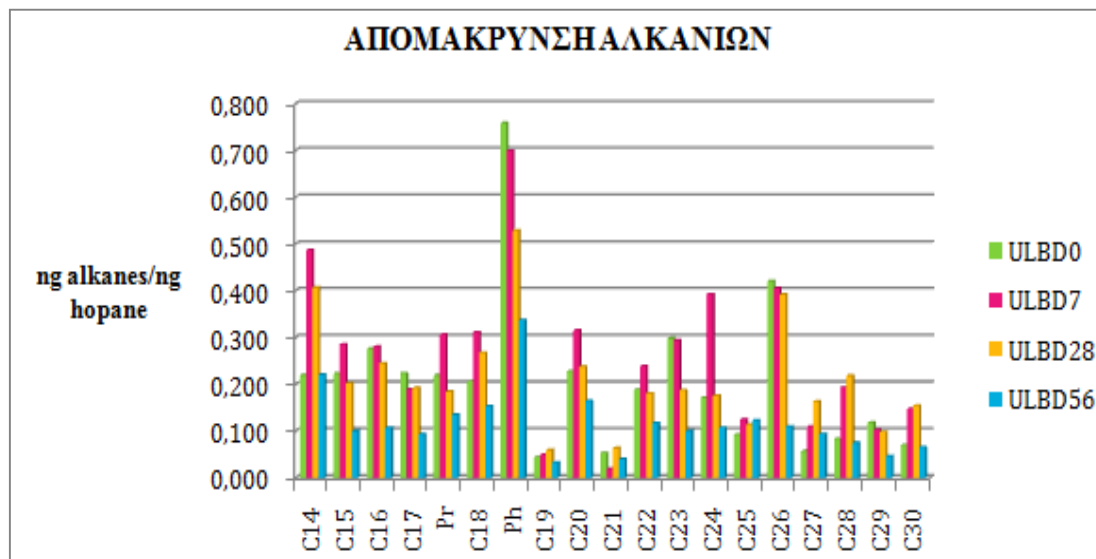
C	1	2	3	AVERAGE
0	110,15			110,15
7	223,97	329,39	329,39	294,25
28	65,88	223,97	223,97	171,2733
56	223,97	329,39	115,15	222,8367

Όπως μπορούμε να παρατηρήσουμε δεν υπάρχει ιδιαίτερη μικροβιακή ανάπτυξη. Οι τιμές μας είναι χαμηλές και αν εξαιρέσουμε μια μικρή αύξηση του πληθυσμιακού φορτίου την 7^η ημέρα, η μικροβιακή ανάπτυξη δεν παρουσιάζει κάποια σημαντική αλλαγή που μπορεί να σχολιαστεί περαιτέρω.



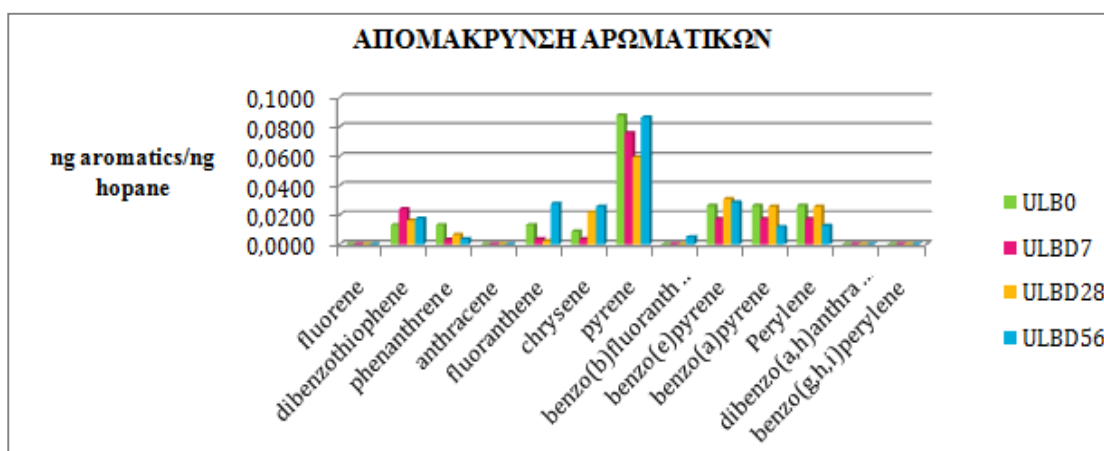
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 3

4.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΓΙΑ ΤΟ ΔΕΙΓΜΑ ULB



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 4

Στο δείγμα ULB, όλες οι τιμές απομάκρυνσης των αλκανίων του δείγματός μας είναι πολύ χαμηλές από την 0 ημέρα. Παρατηρώντας το διάγραμμα όμως μπορεί να γίνει αντιληπτό ότι σημειώνεται μια μείωση στα περισσότερα συστατικά από την 7^η μέχρι την 56^η ημέρα. Ενώ οι τιμές ξεκινούν από πιο χαμηλά (ημέρα 0), την 7^η και 28^η ημέρα παρατηρούμε μια αύξηση. Αυτό μπορεί να οφείλεται σε πειραματικό σφάλμα κατά την διάρκεια κάποιου σταδίου ανάλυσης. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το φυτάνιο το οποίο είναι το μόνο συστατικό το οποίο δείχνει να απομακρύνεται και παρουσιάζει τις μεγαλύτερες τιμές στο διάγραμμα. Αυτό όμως δεν μπορεί να αποτελεί στοιχείο ενός συμπεράσματος επιτυχίας της απομάκρυνσης, αρχικά γιατί είναι μεμονωμένο στοιχείο και επίσης γιατί οι τιμές μας είναι σε γενικό επίπεδο χαμηλές.



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 5

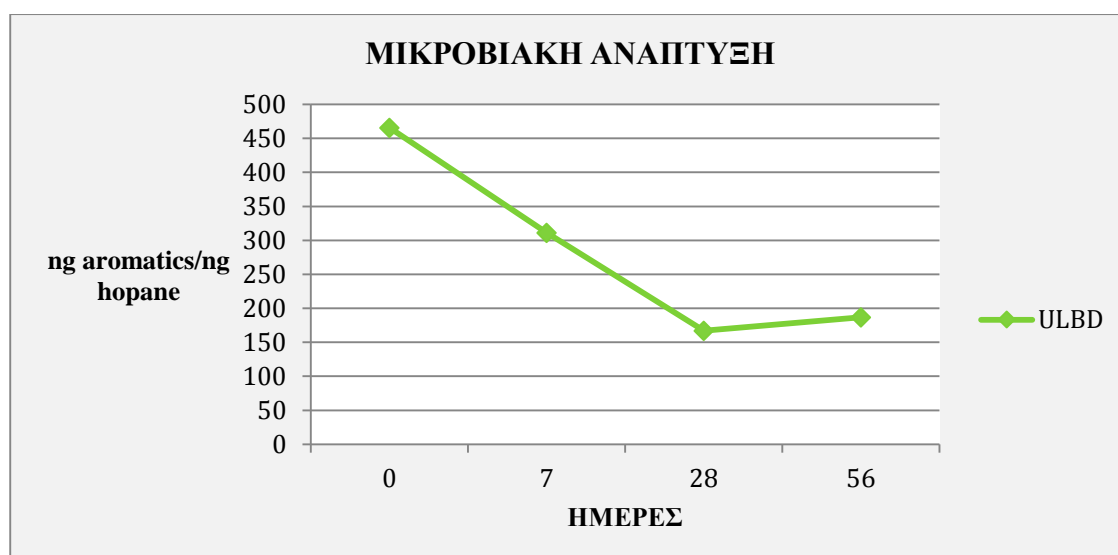
Από το διάγραμμα της απομάκρυνσης των αρωματικών δεν προκύπτει κάποιο σημαντικό συμπέρασμα. Παρατηρούνται κάποιες αμελητέες αυξομειώσεις στα κάποια συστατικά. Το πυρένιο (pyrene) ενώ παρουσιάζει μια μείωση και την 7^η ημέρα και την 28^η ημέρα σταδιακά, ενώ την 56^η ημέρα δείχνει να αυξάνεται. Το αρωματικό κλάσμα συμπερασματικά παραμένει σταθερό και αμετάβλητο καθ' όλη τη διάρκεια των πειραματικών δοκιμών. Οι αυξομειώσεις είναι αμελητέες, είναι ξεκάθαρο αν παρατηρήσουμε ότι όλες οι τιμές είναι εξαιρετικά χαμηλές ότι δεν υπάρχει κάποιο αποτελέσματα που μπορούμε να εξάγουμε.

Παρακάτω παραθέτουμε τα αποτελέσματα που έδωσε το πρόγραμμα της EPA για τον υπολογισμό MPN σύμφωνα με τα δεδομένα που εισάχθηκαν. Έπειτα κατασκευάστηκε διάγραμμα που παρουσιάζει τη μικροβιακή ανάπτυξη του δείγματος (average) σύμφωνα με τις ημέρες του πειράματος.

Πίνακας 5

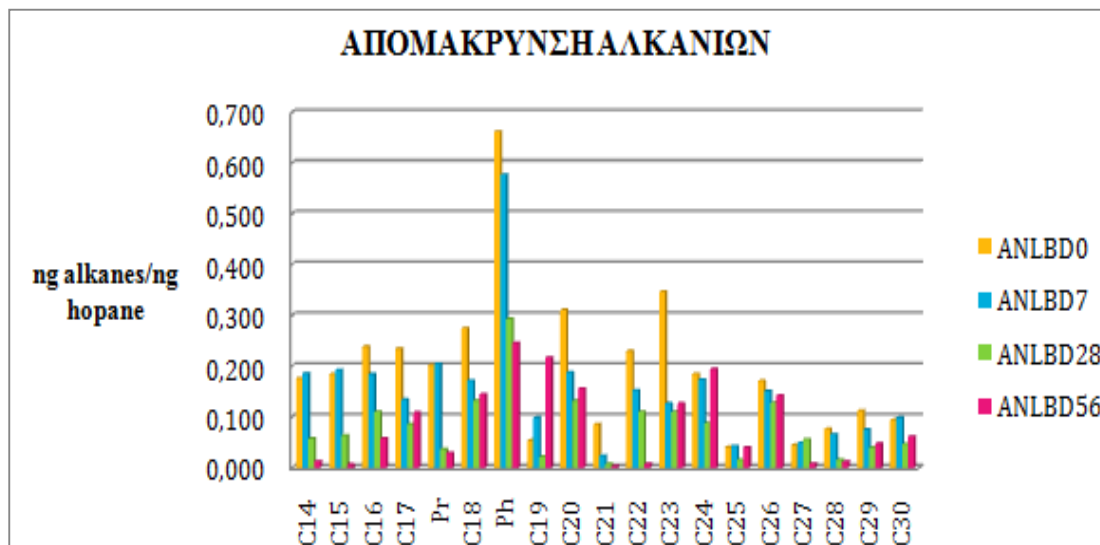
ULBD	1	2	3	AVERAGE
0	465,52			465,52
7	65,88	157,33	465,52	229,5767
28	65,88	223,97	110,15	133,3333
56	329,39	44,79	223,97	199,3833

Όπως μπορούμε να παρατηρήσουμε δεν υπάρχει ιδιαίτερη μικροβιακή ανάπτυξη. Οι τιμές μας είναι χαμηλές και έχουν μια καθοδική πορεία όσο παίρνουν οι μέρες των πειραμάτων.



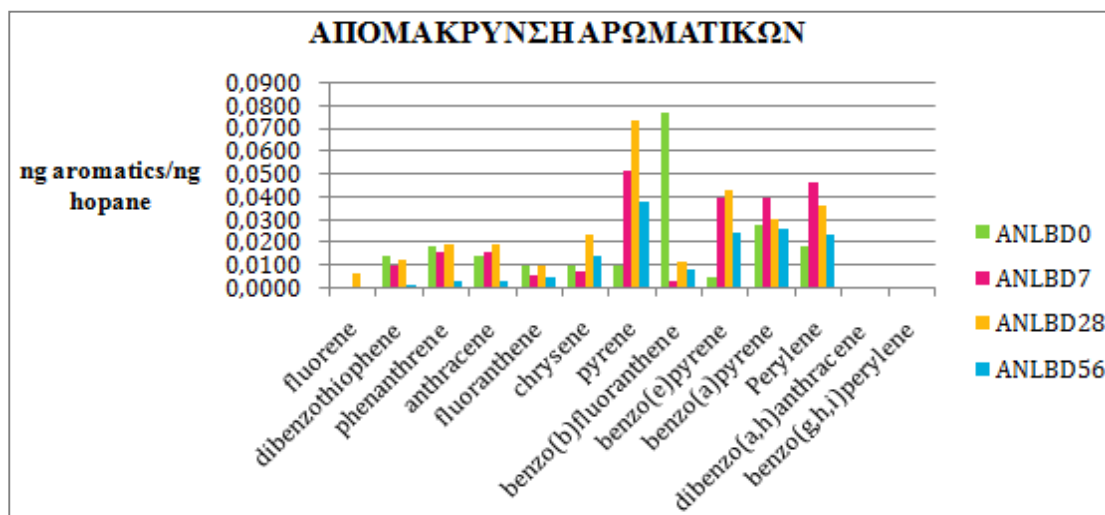
ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 6

4.4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΓΙΑ ΤΟ ΔΕΙΓΜΑ ANLB



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 7

Στο δείγμα ANLB, όλες οι τιμές απομάκρυνσης των αλκανίων του δείγματός μας είναι πολύ χαμηλές από την αρχική ανάλυση. Μία διαφοροποίηση υπάρχει στο φυτό που παρουσιάζει τις πιο υψηλές τιμές από όλα τα υπόλοιπα συστατικά. Παρατηρώντας το διάγραμμα όμως μπορεί να γίνει αντιληπτό ότι σημειώνεται μια μείωση στα περισσότερα συστατικά από την 0 ημέρα μέχρι την 56^η ημέρα. Αυτό όμως δεν μπορεί να αποτελεί στοιχείο ενός συμπεράσματος επιτυχίας της απομάκρυνσης, γιατί οι τιμές είναι ήδη εξαιρετικά χαμηλές.



ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ 8

Από το διάγραμμα της απομάκρυνσης των αρωματικών δεν προκύπτει κάποιο σημαντικό συμπέρασμα. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το πυρένιο (pyrene) που ενώ παρουσιάζει πολύ μικρή τιμή αρχικά, έπειτα δείχνει να αυξάνεται με κορυφή την 28^η ημέρα, αυτό ακολουθείται από μία μείωση την 56^η ημέρα. Επίσης, το benzo(b)fluoranthene είναι το μόνο συστατικό το οποίο ενώ ξεκινά με τη μεγαλύτερη συγκριτικά τιμή δείχνει να ελαχιστοποιείται μέχρι την 56^η ημέρα του πειράματος. Το αρωματικό κλάσμα συμπερασματικά παραμένει σταθερό και αμετάβλητο καθ' όλη τη διάρκεια των πειραματικών δοκιμών αν εξαιρέσουμε τις δυο αναφερόμενες περιπτώσεις. Οι αυξομειώσεις στα υπόλοιπα συστατικά είναι αμελητέες και δεν μπορούν να αποτελέσουν δείγμα για κάποια περεταίρω συμπεράσματα.

Παρακάτω παραθέτουμε τα αποτελέσματα που έδωσε το πρόγραμμα της EPA για τον υπολογισμό MPN σύμφωνα με τα δεδομένα που εισάχθηκαν. Έπειτα κατασκευάστηκε διάγραμμα που παρουσιάζει τη μικροβιακή ανάπτυξη του δείγματος (average) σύμφωνα με τις ημέρες του πειράματος.

Πίνακας 6

ANLBD	1	2	3	AVERAGE
0	740,73			740,73
7	932,81	4273,04	2397,91	2534,587
28	932,81	2397,91	2397,91	1909,543
56	4273,04	2397,91	932,81	2534,587

Όπως μπορούμε να παρατηρήσουμε δεν υπάρχει ιδιαίτερη μικροβιακή ανάπτυξη. Οι τιμές μας είναι χαμηλές, παρουσιάζεται μια σχετική ανάπτυξη την 7^η ημέρα , που μετά ακολουθείται από σταδιακή μείωση κατά την διάρκεια του πειράματος.



4.5 ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΑ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Τα συμπεράσμα μας, συγκρίνοντας τα τρία δείγματα, είναι ότι όλα τα συστατικά παρουσίασαν πολύ μικρές τιμές από το αρχικό στάδιο του πειράματος. Μάλιστα σημαντική παρατήρηση είναι ότι τα υψηλού μοριακού βάρους συστατικά των κορεσμένων υδρογονανθράκων δεν εμφανίστηκαν σε κανένα δείγμα μας (C30-C35). Τα παραπάνω στοιχεία και το γεγονός ότι το δείγμα πετρελαίου που μελετήσαμε στην συγκεκριμένη διπλωματική χαρακτηριζόταν από παλαιότητα, μας οδηγούν στο συμπέρασμα ότι ως ένα βαθμό το πετρέλαιο είχε ήδη υποστεί μια σταδιακή γήρανση με το πέρασμα του χρόνου. Αυτό το γεγονός δεν μπόρεσε να μας βοηθήσει να εξάγουμε κάποια εμπεριστατωμένα στοιχεία για την αποτελεσματικότητα της βιοδιέργειας (biostimulation) ως επιλεγμένη μέθοδος αποδόμησης των υδρογονανθράκων. Παρόλα αυτά αν εξετάσουμε καθαρά συγκριτικά τα δείγματα μας, μπορούμε να εξάγουμε το συμπέρασμα ότι το δείγμα ULB παρουσίασε μια πιο σωστή πειραματικά πορεία συγκριτικά με τα άλλα δύο δείγματα όσο αναφορά την απομάκρυνση των κορεσμένων υδρογονανθράκων. Στο αρωματικό κλάσμα δεν υπήρχε ιδιαίτερη απομάκρυνση, εκτός κάποιων μεμονωμένων συστατικών που δεν μπορούν να αποτελέσουν αξιόπιστο στοιχείο.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α' ΜΕΡΟΣ

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΘΕΩΤΗΤΙΚΟ ΥΠΟΒΑΘΡΟ-ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ-ΥΛΙΚΑ

- 1) **Νικολοπούλου Μ., (2005)** Ενισχυμένη Βιοδιέγερση Εγγενών Θαλάσσιων Μικροοργανισμών με τη Χρήση Λιπόφιλων Λιπασμάτων σε Συνδυασμό με Επιφανειοδραστικές Βιολογικές Ουσίες για Αποικοδόμηση Πετρελαιοειδών.
- 2) **Καλογεράκης Ν., 2013.**Βιολογικές Μέθοδοι Εξυγίανσης Περιβάλλοντος (Τεχνική Βιο-Εξυγίανσης περιβάλλοντος) Bioremediation, Σημειώσεις Μέρους Ι. Χανιά, Π.Κ ΜΗ.ΠΕΡ.
- 3) **Nikolopoulou M. and Kalogerakis N., 2011.** Petroleum Spill Control with Biological Means, Elsevier B. V. p 263-272
- 4) **Τσισκάκη Ε.,2011.** Βιοαποδόμηση Πετρελαϊκών Υδρογονανθράκων σε Θαλάσσιο Περιβάλλον. Π.Κ., ΜΗ.ΧΟΠ
- 5) **Atlas, M.R. and Hazzen, T.C., 2011.** Oil Bioremediation And Biodegradation: A Tale of the Two Worst Spills in U.S. History. Environ Sci. Technol., 45, p 6709-6715.
- 6) **IPIECA,** A guide to contingency planning for oil spills on water. Report Series, vol. 2, 2nd edition.
- 7) **Leahy J. and Colwell R.,1990.** Microbial Degradation of Hydrocarbons in the Environment. Microbiological Reviews, p. 305-315
- 8) **Nikolopoulou M., Eichenbusch P., Pasadakis N., Venieri D. and Kalogerakis N.,2013.** Microcosm evaluation of autochthonous bioaugmentation to combat marine oil spills
- 9) **Scientific Testimony an online journal:** An online Journal. GC/MS Analysis.: [<www.scientific.org/tutorials/articles/gcms.html>](http://www.scientific.org/tutorials/articles/gcms.html)
- 10) **EPA,2013.** Swirling Flask Dispersant Effectiveness Test, Revised, Standard Dispersant Toxicity Test, And Bioremediation Agent Effectiveness Test. Pt 300, App. C, 40 CFR Ch. I.
- 11) **Nikolopoulou M., Pasadakis N. and Kalogerakis N., 2013.** Evaluation of autochthonous bioaugmentation and biostimulation during microcosm-simulated oil spills. Elsevier Marine pollution bulleting, 72, 165-173. [<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025326X13001896>](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025326X13001896)
- 12) **ITOPF, 2014.** Technical Information Paper (TIPS) No.02. Fate of Marine Oil Spills. [<www.itop.com/knowledge-resources/documents-guides/document/tip-2-fate-of-marine-oil-spills/>](http://www.itop.com/knowledge-resources/documents-guides/document/tip-2-fate-of-marine-oil-spills/)
- 13) **Massachusetts Institute of Technology (MIT),** [< http://newsoffice.mit.edu/2012/how-to-clean-up-oil-spills-0912>](http://newsoffice.mit.edu/2012/how-to-clean-up-oil-spills-0912)

ΕΙΚΟΝΕΣ-ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΕΣ-ΠΙΝΑΚΕΣ

- 14) <www.eoearth.org>
- 15) <[crudeoilComposition.png](#)>
- 16) <ggchemistry2.blogspot.com>
- 17) <www.medess4ms.com>
- 18) <www.wikipedia.com>
- 19) <<http://slideplayer.gr/slide/2645491/#>>
- 20) <<http://chimikoergastirio.blogspot.gr/2009/11/s.html>>
- 21) <atheatignosi.blogspot.gr/2012/05/bp-2.html>
- 22) <www.petrelaio.gr>

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Β' ΜΕΡΟΣ

ΠΡΩΤΕΥΟΝΤΑ ΙΟΝΤΑ ΚΑΙ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

Πίνακας 7

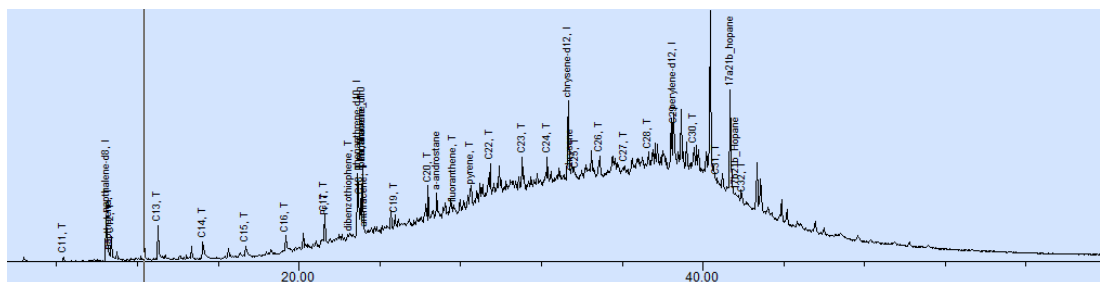
Συστατικό	Ιόν
n-alkanes (C ₁₀ -C ₃₅)	85
Pristane	85
Phytane	85
Naphthalene	128
C1-naphthalenes	142
C2-naphthalenes	156
C3-naphthalenes	170
C4-naphthalenes	184
Fluorene	166
C1-fluorenes	180
C2-fluorenes	194
C3-fluorenes	208
Dibenzothiophenes	184
C1-dibenzothiophenes	198
C2-dibenzothiophenes	212
C3-dibenzothiophenes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

Πίνακας 8

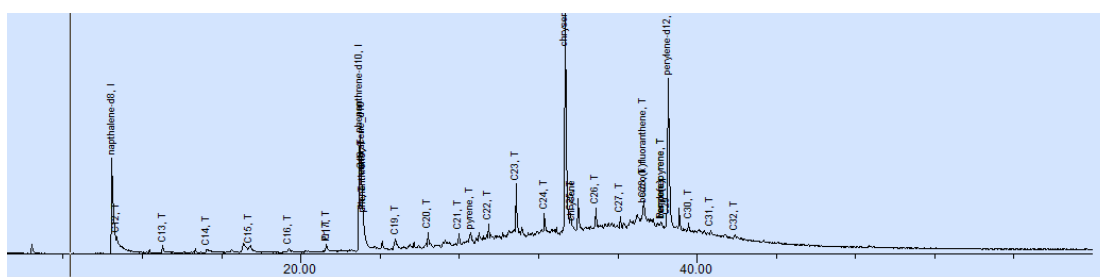
Αναλύτης	Συστατικό αναφοράς	Αναλύτης	Συστατικό αναφοράς
n-C10	n-C10	C2-naphthalene	Naphthalene.
n-C11	n-C11	C3-naphthalene	Naphthalene.
n-C12	n-C12	C4-naphthalene	Naphthalene.
n-C13	n-C13	Fluorene	Fluorene.
n-C14	n-C14	C1-fluorene	Fluorene.
n-C15	n-C15	C2-fluorene	Fluorene.
n-C16	n-C16	C3-fluorene	Fluorene.
n-C17	n-C17	Dibenzothiophene	Dibenzothiophene.
Pristane	Pristane	C1-dibenzothiophene	Dibenzothiophene.
n-C18	n-C18	C2-dibenzothiophene	Dibenzothiophene.
Phytane	Phytane	C3-dibenzothiophene	Dibenzothiophene.
n-C19	n-C19	Phenanthrene	Phenanthrene.
n-C20	n-C20	Anthracene	Anthracene.
n-C21	n-C21	C1-phenanthrene	Phenanthrene.
n-C22	n-C22	C2-phenanthrene	Phenanthrene.
n-C23	n-C23	C3-phenanthrene	Phenanthrene.
n-C24	n-C24	Fluoranthene	Fluoranthene.
n-C25	n-C25	Pyrene	Pyrene.
n-C26	n-C26	C1-pyrene	Pyrene.
n-C27	n-C27	C2-pyrene	Pyrene.
n-C28	n-C28	Chrysene	Chrysene.
n-C29	n-C29	C1-chrysene	Chrysene.
n-C30	n-C30	C2-chrysene	Chrysene.
n-C31	n-C31	Benzo(b)fluoranthene	Benzo(b)fluoranthene.
n-C32	n-C32	Benzo(k)fluoranthene	Benzo(k)fluoranthene.
n-C33	n-C33	Benzo(e)pyrene	Benzo(e)pyrene.
n-C34	n-C34	Benzo(a)pyrene	Benzo(a)pyrene.
n-C35 C ₃₀ 17 _a (H),21 β (H)- hopane	n-C35 C ₃₀ 17 _a (H),21 β (H)- hopane	Perylene ideno(g,h,i)pyrene	Perylene ideno(g,h,i)pyrene

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Γ' ΜΕΡΟΣ

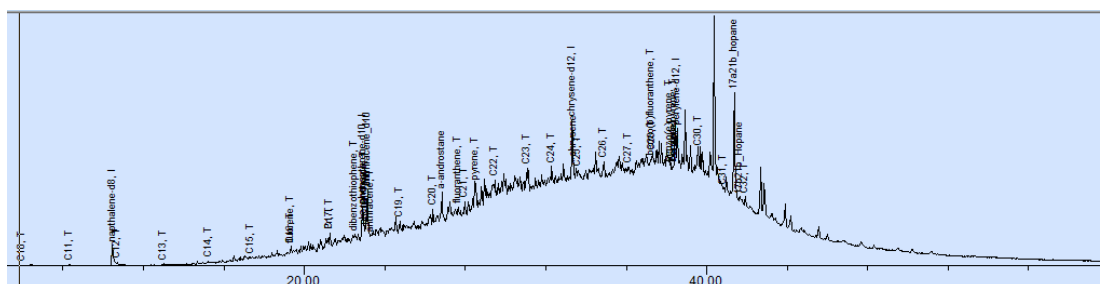
ΕΝΔΕΙΚΤΙΚΑ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΗΜΑΤΑ



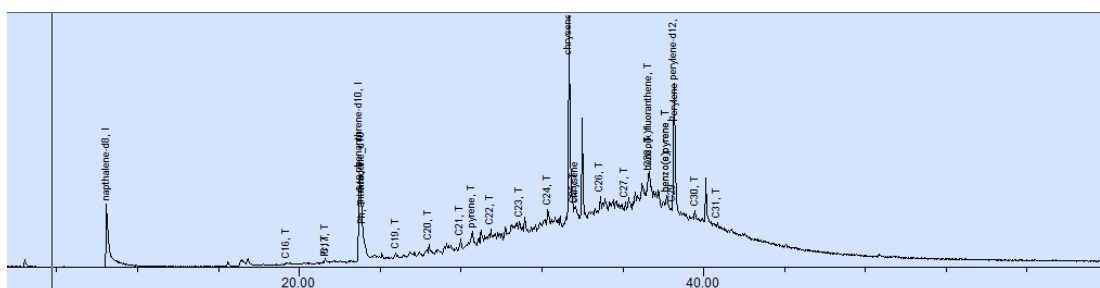
Χρωματοφράγμα 1



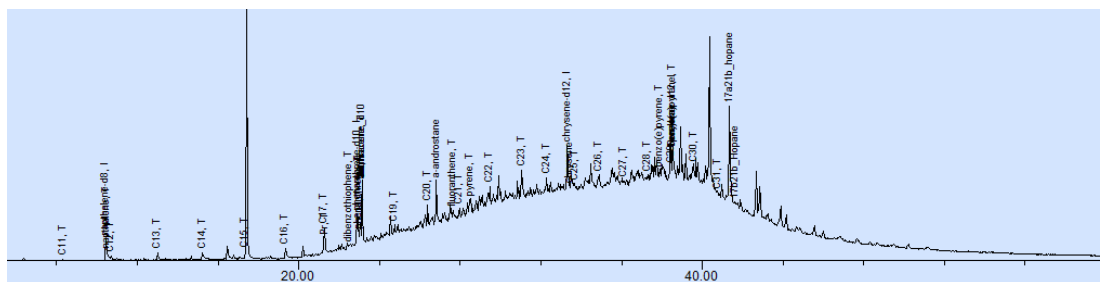
Χρωματογράφημα 2



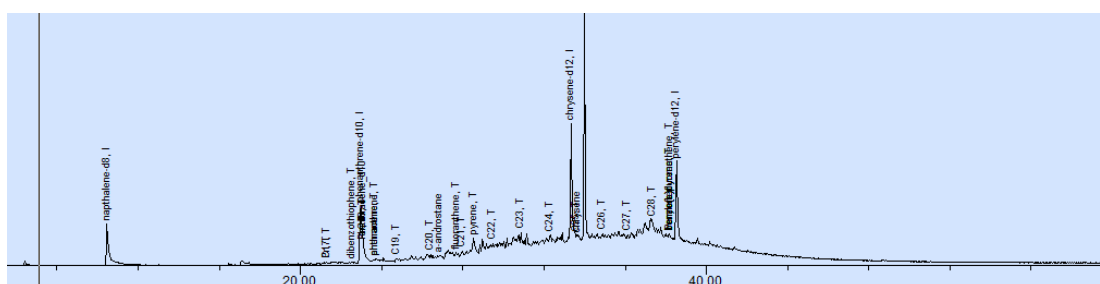
Χρωματογράφημα 3



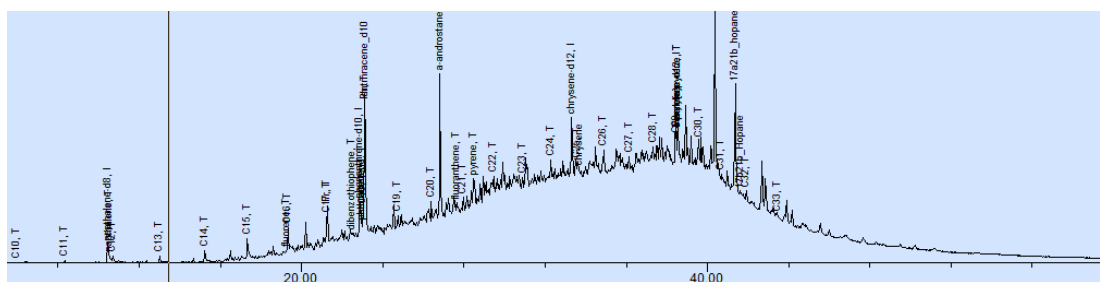
Χρωματοφράγμα 4



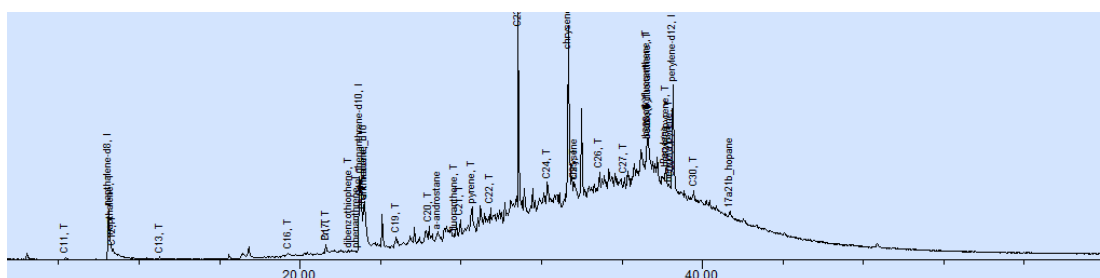
Χρωματοφράγμα 5



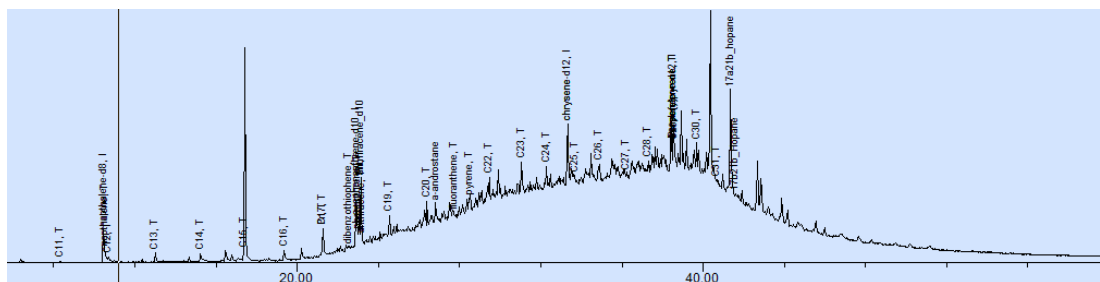
Χρωματοφράγμα 6



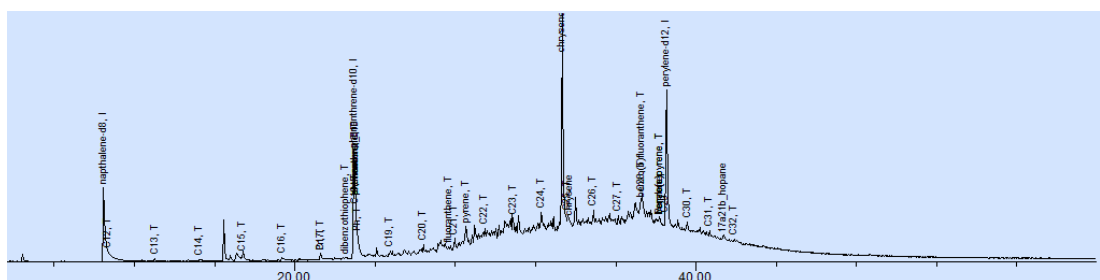
Χρωματοφράγμα 7



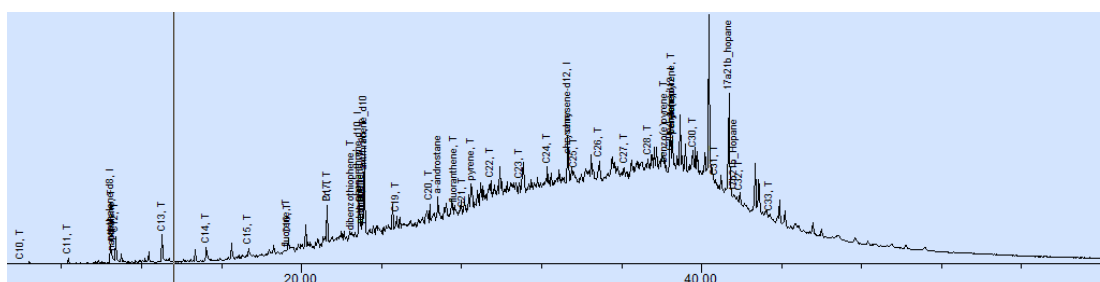
Χρωματογράφημα 8



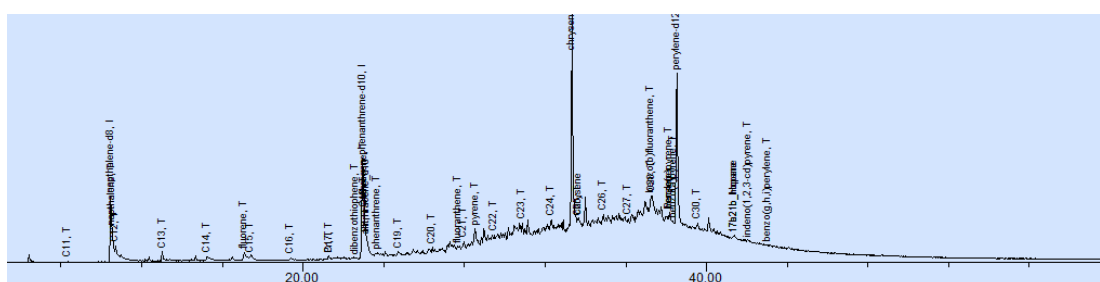
Χρωματογράφημα 9



Χρωματογράφημα 10



Χρωματογράφημα 11



Χρωματογράφημα 12

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Δ' ΜΕΡΟΣ

ΑΡΙΘΜΗΤΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΚΑΙ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Πίνακας 9

Sample	W oil	W vial F1	W vial F1+S	W vial F2	W vial F2+S	W alkanes	W aromatics	W alkanes	W aromatics
	mg	gr	gr	gr	gr	gr	gr	%	%
CONTROL									
C0#1	5,5	2,3626	2,365	2,3709	2,3727	0,0024	0,0018	43,64%	32,73%
C7#1	5,6	2,3801	2,3824	2,3815	2,3831	0,0023	0,0016	41,07%	28,57%
C7#2	6,3	2,3564	2,3595	2,3583	2,3601	0,0031	0,0018	49,21%	28,57%
C7#3	8,8	2,3605	2,3646	2,3689	2,3705	0,0041	0,0016	46,59%	18,18%
C28#1	11	2,3814	2,3862	2,364	2,3669	0,0048	0,0029	43,64%	26,36%
C28#2	11,6	2,3909	2,3956	2,3656	2,3687	0,0047	0,0031	40,52%	26,72%
C28#3	6	2,3889	2,392	2,3801	2,382	0,0031	0,0019	51,67%	31,67%
C56#1	7,6	2,3763	2,3804	2,3652	2,3671	0,0041	0,0019	53,95%	25,00%
C56#2	9,4	1,9843	1,9893	2,0164	2,0189	0,005	0,0025	53,19%	26,60%
C56#3	5,1	2,024	2,0268	2,0131	2,0145	0,0028	0,0014	54,90%	27,45%

UL+Oil Begone

Πίνακας 10

ULBD0#1	10	2,3772	2,3791	2,3795	2,382	0,0019	0,0025	19,00%	25,00%
ULBD7#1	5	2,3781	2,3798	2,383	2,3841	0,0017	0,0011	34,00%	22,00%
ULBD7#2	5,2	2,3917	2,3926	2,387	2,3878	0,0009	0,0008	17,31%	15,38%
ULBD7#3	5,6	2,3708	2,3723	2,3762	2,3771	0,0015	0,0009	26,79%	16,07%
ULBD28#1	6	2,3621	2,3647	2,3675	2,369	0,0026	0,0015	43,33%	25,00%
ULBD28#2	6,2	2,3568	2,3591	2,4061	2,4082	0,0023	0,0021	37,10%	33,87%
ULBD28#3									
ULBD56#1	9,2	2,0266	2,0309	2,0224	2,0245	0,0043	0,0021	46,74%	22,83%
ULBD56#2	7,6	2,3857	2,3894	2,3556	2,3574	0,0037	0,0018	48,68%	23,68%
ULBD56#3	7,6	2,3818	2,3844	2,369	2,3711	0,0026	0,0021	34,21%	27,63%

Avant Natur+Lecithin+Oil Begone

Πίνακας 11

ANLBD0#1	7,5	2,354	2,356	2,4121	2,4141	0,002	0,002	26,67%	26,67%
ANLBD7#1	6,1	2,3665	2,3683	2,3728	2,3741	0,0018	0,0013	29,51%	21,31%
ANLBD7#2	8,8	2,3793	2,3813	2,3869	2,3886	0,002	0,0017	22,73%	19,32%
ANLBD7#3	7	2,3999	2,4018	2,3777	2,3795	0,0019	0,0018	27,14%	25,71%
ANLBD28#1	6,5	2,3864	2,3888	2,3907	2,3923	0,0024	0,0016	36,92%	24,62%
ANLBD28#2	6,7	2,3757	2,3785	2,3921	2,3937	0,0028	0,0016	41,79%	23,88%
ANLBD28#3	8,8	2,388	2,3916	2,4017	2,4041	0,0036	0,0024	40,91%	27,27%
ANLBD56#1	6,4	2,0104	2,0134	2,0078	2,0094	0,003	0,0016	46,87%	25,00%
ANLBD56#2	6,5	2,3991	2,4025	2,3877	2,3895	0,0034	0,0018	52,31%	27,69%
ANLBD56#3	6,6	2,0053	2,0086	2,0006	2,0026	0,0033	0,002	50,00%	30,30%

Πίνακας 12

Liquid-Liquid extraction						
Sample	Date	Sur.std	DCM	Wvial	Wvial +S	Ws
		μl	ml	gr	gr	
CONTROL						
C0#1	20 Μαΐ 2014	50	50	4,6309	4,6524	0,0215
C7#1	23 Μαΐ 2014	50	50	4,6219	4,6468	0,0249
C7#2	23 Μαΐ 2014	50	50	4,5701	4,6460	0,0759
C7#3	26 Μαΐ 2014	50	50	4,6686	4,7315	0,0629
C28#1	20 Ιουν 2014	50	25	4,6764	4,6874	0,011
C28#2	19 Ιουν 2014	50	25	4,7169	4,7285	0,0116
C28#3	20 Ιουν 2014	50	25	4,6826	4,7591	0,0765
C56#1	02 Ιουλ 2014	50	25	4,6736	4,7090	0,0354

C56#2	08 Ιουλ 2014	50	50	4,6638	4,7356	0,0718
C56#3	10 Ιουλ 2014	50	50	4,6330	4,6890	0,056
UL+Oil Begone						
ULBD0#1	20 Μαϊ 2014	50	50	4,6167	4,7304	0,1137
ULBD7#1	21 Μαϊ 2014	50	50	4,65	4,788	0,138
ULBD7#2	26 Μαϊ 2014	50	55	4,683	4,7813	0,0983
ULBD7#3	26 Μαϊ 2014	50	50	4,6681	4,7931	0,125
ULBD28#1	20 Ιουν 2014	50	90	4,6721	4,7814	0,1093
ULBD28#2	20 Ιουν 2014	50	55	4,6634	4,7519	0,0885
ULBD28#3		50				
ULBD56#1	10 Ιουλ. 2014	50	50	4,6649	4,7603	0,0954
ULBD56#2	4 Ιουλίου 2014	50	75	4,6488	4,7545	0,1057
ULBD56#3	4-Ιουλίου 2014	50	75	4,6866	4,7851	0,0985
Avant Natur+Lecithin+Oil Begone						
ANLBD0#1	21 Μαΐου 2014	50	50	4,6875	4,821	0,1335
ANLBD7#1	21 Μαΐου 2014	50	55	4,6736	4,82	0,1464
ANLBD7#2	21 Μαΐου 2014	50	50	4,5898	4,734	0,1442
ANLBD7#3	23 Μαΐου 2014	50	50	4,6606	4,7971	0,1365
ANLBD28#1	17 Ιουνίου 2014	50	50	4,704	4,7929	0,0889
ANLBD28#2	19 Ιουνίου 2014	50	50	4,6684	4,7513	0,0829
ANLBD28#3	19 Ιουνίου 2014	50	50	4,6763	4,78	0,1037
ANLBD56#1	8 Ιουλίου 2014	50	75	4,6429	4,7248	0,0819
ANLBD56#2	2 Ιουλίου 2014	50	90	4,6538	4,7282	0,0744
ANLBD56#3	10 Ιουλίου 2014	50	50	4,6323	4,7319	0,0996

Πίνακας 13

ng/mg crude oil normalized	CD0F1	CD.7.1	CD.7.2	CD.7.3	CD.28.1	CD28.2	CD.28.3	CD56,1	CD.56.2	CD56.3
C12	0,043	0,049	0,051	0,426	0,352	0,148	0,363	0,474	0,000	0,000
C13	0,112	0,142	0,124	0,490	0,431	0,096	0,446	0,471	0,000	0,000
C14	0,131	0,195	0,248	0,320	0,257	0,250	0,265	0,320	0,014	0,015
C15	0,167	0,212	0,191	0,137	0,162	0,320	0,168	0,152	0,053	0,013
C16	0,216	0,209	0,298	0,111	0,129	0,297	0,127	0,163	0,251	0,057
C17	0,246	0,171	0,205	0,222	0,290	0,096	0,285	0,228	0,081	0,123
Pr	0,085	0,262	0,143	0,191	0,080	0,359	0,079	0,219	0,081	0,175
C18	0,146	0,224	0,222	0,101	0,164	0,183	0,161	0,181	0,182	0,126
Ph	0,578	0,696	0,597	0,693	0,701	0,665	0,688	0,869	0,576	0,778
C19	0,030	0,030	0,043	0,008	0,023	0,033	0,023	0,077	0,020	0,020
C20	0,237	0,139	0,076	0,113	0,175	0,138	0,172	0,282	0,150	0,126
C21	0,036	0,011	0,017	0,023	0,055	0,039	0,054	0,157	0,028	0,052
C22	0,119	0,202	0,000	0,075	0,126	0,099	0,124	0,222	0,130	0,229
C23	0,231	0,262	0,282	0,015	0,029	0,033	0,028	0,181	0,255	0,064
C24	0,109	0,166	0,119	0,105	0,154	0,147	0,131	0,236	0,257	0,038
C25	0,043	0,069	0,069	0,059	0,075	0,144	0,064	0,231	0,146	0,056
C26	0,043	0,274	0,148	0,134	0,185	0,229	0,158	0,309	0,142	0,330
C27	0,049	0,065	0,057	0,010	0,050	0,134	0,043	0,186	0,049	0,062
C28	0,049	0,025	0,044	0,054	0,075	0,105	0,064	0,152	0,084	0,091
C29	0,015	0,130	0,019	0,027	0,028	0,072	0,024	0,093	0,106	0,051
C30	0,073	0,135	0,086	0,081	0,112	0,133	0,112	0,163	0,116	0,089
ng/mg crude oil normalized	ANLBD0	ANLBD7.1	ANLBD7.2	ANLBD7.3	ANLBD28.1	ANLBD28.2	ANLBD28.3	ANLBD56.1	ANLBD56.2	ANLBD56.3
C12	0,059	0,040	0,048	0,041	0,076	0,089	0,387	0,038	0,417	0,000
C13	0,176	0,119	0,119	0,108	0,090	0,070	0,419	0,034	0,473	0,006
C14	0,176	0,137	0,173	0,197	0,076	0,057	0,238	0,031	0,280	0,013
C15	0,185	0,194	0,214	0,171	0,062	0,064	0,161	0,010	0,149	0,006
C16	0,239	0,185	0,160	0,208	0,127	0,110	0,134	0,072	0,225	0,058
C17	0,234	0,419	0,150	0,119	0,167	0,086	0,250	0,187	0,179	0,109
Pr	0,203	0,233	0,190	0,219	0,191	0,037	0,245	0,250	0,354	0,029
C18	0,275	0,348	0,187	0,156	0,207	0,132	0,145	0,147	0,198	0,145
Ph	0,662	0,692	0,544	0,610	0,628	0,293	0,666	0,838	0,735	0,246
C19	0,054	0,181	0,037	0,160	0,016	0,022	0,032	0,215	0,202	0,217
C20	0,311	0,414	0,194	0,182	0,199	0,132	0,166	0,163	0,159	0,156
C21	0,086	0,269	0,048	0,000	0,024	0,007	0,105	0,052	0,106	0,004
C22	0,230	0,370	0,153	0,152	0,167	0,110	0,108	0,147	0,179	0,007
C23	0,347	0,194	0,034	0,219	0,278	0,110	0,034	0,079	0,248	0,127
C24	0,185	0,317	0,136	0,212	0,173	0,088	0,121	0,191	0,169	0,194
C25	0,041	0,207	0,044	0,041	0,234	0,016	0,105	0,217	0,046	0,040
C26	0,171	0,282	0,153	0,149	0,021	0,128	0,171	0,152	0,198	0,142
C27	0,045	0,163	0,071	0,026	0,078	0,056	0,087	0,100	0,106	0,008
C28	0,077	0,163	0,075	0,056	0,121	0,016	0,076	0,022	0,089	0,012
C29	0,113	0,110	0,024	0,126	0,347	0,040	0,050	0,039	0,053	0,047
C30	0,095	0,207	0,078	0,119	0,076	0,047	0,088	0,122	0,171	0,061

ng/mg crude oil normalized	ULBD0	ULBD7.1	ULBD7.2	ULBD7.3	ULBD.28.1	ULBD.28.2	ULBD.56.1	ULBD.56.2	ULBD56.3
C12	0,053	0,329	0,323	0,303	0,490	0,346	0,028	0,419	0,376
C13	0,149	0,553	0,492	0,585	0,663	0,457	0,014	0,465	0,452
C14	0,219	0,513	0,400	0,549	0,451	0,363	0,036	0,320	0,306
C15	0,224	0,257	0,254	0,345	0,203	0,201	0,008	0,145	0,146
C16	0,276	0,257	0,338	0,246	0,262	0,227	0,070	0,131	0,118
C17	0,224	0,178	0,215	0,176	0,262	0,122	0,063	0,115	0,101
Pr	0,219	0,158	0,431	0,331	0,115	0,254	0,079	0,189	0,136
C18	0,206	0,336	0,331	0,268	0,253	0,281	0,146	0,189	0,124
Ph	0,759	0,625	0,777	0,697	0,423	0,635	0,266	0,455	0,291
C19	0,044	0,046	0,062	0,042	0,046	0,073	0,022	0,045	0,031
C20	0,228	0,322	0,385	0,239	0,230	0,245	0,174	0,196	0,124
C21	0,053	0,000	0,000	0,056	0,046	0,082	0,044	0,048	0,027
C22	0,189	0,237	0,277	0,204	0,175	0,186	0,136	0,122	0,093
C23	0,298	0,243	0,223	0,415	0,138	0,236	0,174	0,122	0,004
C24	0,171	0,336	0,377	0,465	0,166	0,186	0,104	0,109	0,108
C25	0,092	0,059	0,138	0,176	0,087	0,141	0,107	0,029	0,232
C26	0,421	0,421	0,408	0,387	0,276	0,508	0,138	0,144	0,046
C27	0,057	0,099	0,138	0,092	0,087	0,240	0,090	0,106	0,085
C28	0,083	0,191	0,177	0,211	0,097	0,340	0,069	0,128	0,027
C29	0,118	0,112	0,077	0,120	0,074	0,122	0,045	0,032	0,062
C30	0,070	0,224	0,177	0,042	0,124	0,185	0,070	0,093	0,033

Πίνακας 14

ng/mg crude oil normalized	C7	C28	C56	ANLBD7	ANLBD28	ANLBD56	ULBD7	ULBD28	ULBD56
fluorene	0,00	0,01	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,0000
dibenzothiophene	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,00	0,02	0,02	0,0175
phenanthrene	0,01	0,01	0,01	0,02	0,02	0,00	0,00	0,01	0,0036
anthracene	0,00	0,02	0,01	0,02	0,02	0,00	0,00	0,00	0,0000
fluoranthene	0,00	0,00	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	0,0277
chrysene	0,01	0,02	0,02	0,01	0,02	0,01	0,00	0,02	0,0257
pyrene	0,09	0,06	0,11	0,05	0,07	0,04	0,08	0,06	0,0864
benzo(b)fluoranthene	0,01	0,01	0,02	0,00	0,01	0,01	0,00	0,00	0,0050
benzo(e)pyrene	0,03	0,03	0,03	0,04	0,04	0,02	0,02	0,03	0,0287
benzo(a)pyrene	0,01	0,02	0,02	0,04	0,03	0,03	0,02	0,03	0,0119
Perylene	0,03	0,03	0,03	0,05	0,04	0,02	0,02	0,03	0,0126

Πίνακας 15

ng/mg crude oil normalized without rec	ULBD.0.F2	ANLBD.0.F2	CD0.F2
fluorene	0,0000	0,0000	0,0000
dibenzothiophene	0,0132	0,0135	0,0122
phenanthrene	0,0132	0,0180	0,0304
anthracene	0,0000	0,0135	0,0152
fluoranthene	0,0132	0,0090	0,0304
chrysene	0,0088	0,0090	0,0122
pyrene	0,0877	0,0090	0,0821
benzo(b)fluoranthene	0,0000	0,0766	0,0213
benzo(e)pyrene	0,0263	0,0045	0,0243
benzo(a)pyrene	0,0263	0,0270	0,0274
Perylene	0,0263	0,0180	0,0243
dibenzo(a,h)anthracene	0,0000	0,0000	0,0000
benzo(g,h,i)perylene	0,0000	0,0000	0,0000