

ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
Εργαστήριο Διαχείρισης Τοξικών και Επικίνδυνων Αποβλήτων

**«Βιοεξυγίανση στερεών αποβλήτων διυλιστηρίου μέσω
βιοδιέγερσης και βιοενίσχυσης»**

ΚΑΤΕΡΙΝΑ ΖΕΝΕΛΗ



ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Ευάγγελος Γιδαράκος, Καθηγητής (επιβλέπων)
Δανάη Βενιέρη, Επ. Καθηγήτρια
Δρ. Φωτεινή Σημαντηράκη

Χανιά, Οκτώβριος 2015

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Πρωτίστως θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες αλλά και την ευγνωμοσύνη μου στον Καθηγητή μου, κ. Ευάγγελο Γιδαράκο για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, την υποστήριξή του αλλά και για όλα τα εφόδια που μου παρείχε τόσο υλικά όσο και πνευματικά για την ολοκλήρωση των σπουδών μου σε προπτυχιακό επίπεδο.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω στην Επ. Καθηγήτρια κα Δανάη Βενιέρη, μέλος της εξεταστικής μου επιτροπής για τις πολύτιμες συμβουλές της και τον χρόνο της στην αξιολόγηση της παρούσας εργασίας.

Ευχαριστώ θερμά τη Διδάκτωρ της Σχολής Μηχανικών Περιβάλλοντος του Πολυτεχνείου Κρήτης, Φωτεινή Σημαντηράκη, για την γενναιόδωρη και πολύτιμη βοήθειά της, απαραίτητη για την ολοκλήρωση της διπλωματικής μου εργασίας, όπως επίσης και για την υπομονή που επέδειξε καθ' όλη τη διάρκεια.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω το προσωπικό του εργαστηρίου Διαχείρισης Τοξικών και Επικίνδυνων Αποβλήτων και ιδιαίτερα την κυρία Ελένη Καστανάκη για την εξαιρετική στάση που κράτησαν απέναντι μου και την ουσιαστική βοήθειά τους όλο αυτό το διάστημα όπως επίσης τον κύριο Νίκο Πασαδάκη και την κυρία Ελένη Χαμηλάκη από τη σχολή Μηχανικών Ορυκτών Πόρων για τη συμβολή τους στην ολοκλήρωση της εργασίας μου.

Ευχαριστώ μέσα από την καρδιά μου την οικογένεια και φυσικά τους γονείς μου Παναγιώτη και Μάνια για τις αξίες που μου μετέδωσαν, τη συμπαράστασή και τη βοήθειά τους όλα αυτά τα χρόνια, την εμπιστοσύνη που μου δείχνουν και την υποστήριξή τους σε κάθε μου βήμα.

Τέλος, ευχαριστώ τους φίλους μου που ήταν δίπλα μου και έδιναν χαρά στις στιγμές μου κατά τη διάρκεια εκπόνησης της εργασίας μου.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το πετρέλαιο παρόλο που αποτελεί μία από τις σπουδαιότερες πηγές ενέργειας σε παγκόσμια κλίμακα, εμφανίζεται σήμερα ως ένας από τους πλέον επικίνδυνους ρύπους, με τεράστιες επιπτώσεις τόσο στο κοινωνικό σύνολο όσο και στο περιβάλλον. Για το λόγο αυτό κρίνεται απαραίτητη η αναζήτηση μεθόδων απομάκρυνσής του από τα υδάτινα και χερσαία οικοσυστήματα.

Στα πλαίσια της παρούσας διπλωματικής εργασίας μελετήθηκε η μέθοδος της βιοεξυγίανσης ως μέσο αποκατάστασης ρυπασμένου εδάφους από πετρελαιοειδή. Ως βιοεξυγίανση ορίζεται η διαδικασία κατά την οποία αξιοποιείται η μεταβολική δραστηριότητα των μικροοργανισμών, παρουσία βέλτιστων περιβαλλοντικών συνθηκών και κατάλληλων θρεπτικών συστατικών, για την διάσπαση επικίνδυνων ρύπων. Συγκεκριμένα, μελετήθηκαν οι μέθοδοι της βιοδιέγερσης και βιοενίσχυσης για την απομάκρυνση δύο σημαντικών πετρελαϊκών ρύπων, των πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων (**Polycyclic Aromatic Hydrocarbons - PAHs**) και των ολικών πετρελαϊκών υδρογονανθράκων (**Total Petroleum Hydrocarbons - TPH**).

Με τον όρο βιοενίσχυση καλείται η προσθήκη εξειδικευμένων μικροοργανισμών με στόχο την αύξηση του ήδη υπάρχοντος μικροβιακού πληθυσμού, ενώ με τον όρο βιοδιέγερση καλείται η προσθήκη θρεπτικών ουσιών με στόχο τη βέλτιστη μεταβολική δραστηριότητα των μικροοργανισμών.

Προτού γίνει εφαρμογή της μεθόδου της βιοεξυγίανσης έλαβε χώρα πλήρης χαρακτηρισμός του υπο μελέτη στερεού αποβλήτου. Προσδιορίστηκε η υγρασία, το περιεχόμενο σε άνθρακα, υδρογόνο, θείο και άζωτο, το περιεχόμενο σε τοξικά μέταλλα τόσο στο εκχύλισμα όσο και στο στερεό δείγμα, η τοξικότητα, η φυτοτοξικότητα καθώς και οι φυσικοχημικοί παράγοντες που επηρεάζουν άμεσα τις βιολογικές διεργασίες όπως το pH, το διαλυμένο οξυγόνο (DO) και το δυναμικό οξειδοαναγωγής. Οι φυσικοχημικοί παράγοντες όπως και η υγρασία καταγράφονταν καθ'όλη τη διάρκεια του πειράματος. Η πειραματική διαδικασία σε εργαστηριακή κλίμακα πραγματοποιήθηκε σε 3 παράλληλες δεξαμενές, τη Δεξαμενή Οδηγό, τη Δεξαμενή Βιοδιέγερσης και τη Δεξαμενή Βιοενίσχυσης και για χρονικό διάστημα 80 ημερών. Κατά τη διεξαγωγή του πειράματος, ιδιαίτερη

έμφαση δόθηκε στην εξασφάλιση των βέλτιστων συνθηκών (θερμοκρασία, υγρασία, αερισμός) για την αποδοτικότερη δράση των μικροοργανισμών-αποδομητών.

Για τη μελέτη της απόδοσης της μεθόδου βιοεξυγίανσης πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις των TPH και PAHs προκειμένου να διαπιστωθεί το ποσοστό απομάκρυνσής τους και να γίνει σύγκριση μεταξύ των τεχνικών. Τέλος, ο αριθμός των μικροοργανισμών και η προσδοκώμενη αύξησή του μελετήθηκε με τη μέθοδο του πιο πιθανού αριθμού (**Most Probable Number - MPN**).

Από τα αποτελέσματα προέκυψε ότι η μέθοδος της βιοεξυγίανσης είναι αποτελεσματική για την απομάκρυνση των πετρελαϊκών ρύπων, ιδιαίτερα αποδοτική αποδείχθηκε η βιοενίσχυση με ποσοστό απομάκρυνσης TPH 52 και PAHs 87% αντίστοιχα. Λιγότερο αποδοτική κρίθηκε η φυσική αποκατάσταση του δείγματος (χωρίς βιοδιέγερση ή βιοενίσχυση) με τα ποσοστά απομάκρυνσης να διαμορφώνονται στο 37 για τα TPH και στο 42% για τα PAHs.

ABSTRACT

Although petroleum is one of the most important energy resources worldwide, it appears today as one of the most dangerous pollutants, with a huge impact on both society and the environment. As a result, it is necessary to search for methods in order to remove it from the aquatic and terrestrial ecosystems.

Part of this thesis was to examine the method of bioremediation in the recovery of polluted soil from petroleum. Bioremediation is defined as an eco-friendly process which utilizes the metabolic activity of microorganisms in the presence of optimal environmental conditions and adequate nutrients for the decomposition of hazardous pollutants. In particular, we examined the methods of biostimulation and bioaugmentation for the removal of two major petroleum pollutants, Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) and Total Petroleum Hydrocarbons (TPH).

The term Bioaugmentation refers to the addition of specific microorganisms in order to increase the existing microbial population, while the term Biostimulation refers to the addition of nutrients in order to achieve an optimal metabolic activity of microorganisms.

Before the beginning of the method of bioremediation a complete characterization of the sample was accomplished. Specifically, we determined the level of humidity, the content of carbon, hydrogen, sulfur and nitrogen, the content of heavy metals in both the extract and the solid sample, the toxicity, the phytotoxicity and other factors which could directly affect the biological processes such as pH, the dissolved oxygen (DO) and the redox potential. These factors and also humidity were recorded throughout the experiment. The experimental procedure was performed on a laboratory scale for three parallel tanks, the Blind tank, the Biostimulation tank and the Bioaugmentation tank and lasted 80 days. Throughout the experiment, special emphasis was given to ensure optimal conditions (temperature, humidity, ventilation) for a more efficient performance of micro-digesters.

To study the performance of the bioremediation method, TPH and PAHs were measured in order to determine the rate of degradation and compare the tanks. Finally, the number of

microorganisms and their expected growth in population was studied through the method of the Most Probable Number (MPN).

The results showed that the method of bioremediation is effective to remove petroleum pollutants and particularly efficient appeared to be Bioaugmentation with a removal rate of 52% for TPH and 87% for PAHs. Less effective was the natural rehabilitation of the soil with a removal rates of 37% for TPH and 42% for PAHs.

Πίνακας περιεχομένων

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ	12
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΡΥΠΩΝ	13
2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	13
2.2 ΠΟΛΥΚΥΚΛΙΚΟΙ ΑΡΩΜΑΤΙΚΟΙ ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΕΣ (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons - PAHs)	15
2.3 ΟΛΙΚΟΙ ΠΕΤΡΕΛΑΪΚΟΙ ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΕΣ (Total Petroleum Hydrocarbons - TPH)	22
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΒΙΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗ	24
3.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	24
3.2 ΒΙΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗ	25
3.2.1 ΒΙΟΔΙΕΓΕΡΣΗ ΚΑΙ ΒΙΟΕΝΙΣΧΥΣΗ	29
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	33
4.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	33
4.2 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΣΤΕΡΕΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΔΙΥΛΙΣΤΗΡΙΟΥ	36
4.2.1 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΥΓΡΑΣΙΑΣ	36
4.2.2 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ	36
4.2.3 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΣΤΟΙΧΕΙΩΝ C, H, N, S	37
4.2.4 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΜΕΤΑΛΛΩΝ	38
4.2.5 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ	41
4.2.6 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΦΥΤΟΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ	44
4.3 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΠΟΔΟΜΗΤΩΝ ΚΑΙ ΡΥΠΩΝ	47
4.3.1 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΠΟΔΟΜΗΤΩΝ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΥ	47
4.3.2 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ PAHs (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons)	50
4.3.3 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ TPH (Total Petroleum Hydrocarbons)	52
4.4 ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗΣ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΒΙΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗΣ	55
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ	58
5.1 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΥΓΡΑΣΙΑΣ	58
5.2 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ	60
5.2.1 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ pH	60
5.2.2 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΔΙΑΛΥΜΕΝΟΥ ΟΞΥΓΟΝΟΥ (DO) ΚΑΙ ΔΥΝΑΜΙΚΟΥ ΟΞΕΙΔΟΑΝΑΓΩΓΗΣ	61
5.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΣΤΟΙΧΕΙΩΝ C, H, N, S	64
5.4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΟΞΙΚΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ ΣΤΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΚΑΙ ΣΤΟ ΣΤΕΡΕΟ ΔΕΙΓΜΑ	67
5.5 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ	69
5.6 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΦΥΤΟΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ	71
5.7 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ	72
5.8 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ PAHs (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons)	75
5.9 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ TPH (Total Petroleum Hydrocarbons)	83
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ	86
6.1 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	86
6.2 ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ	88
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	90

Περιεχόμενο Εικόνων

Εικόνα 1: Προϊόν πετρελαίου.....	14
Εικόνα 2: Εξόρυξη πετρελαίου.....	14
Εικόνα 3: Τύποι και προϊόντα πετρελαίου (ψηφιακό σχολείο)	14
Εικόνα 4: Τεχνική Φυτοεξυγίανσης.....	28
Εικόνα 5: Τεχνική Βιοαερισμού.....	29
Εικόνα 6: Τεχνική Landfarming	29
Εικόνα 7: Βιοδιέγερση με προσθήκη θρεπτικών	30
Εικόνα 8: Βιοενίσχυση με προσθήκη αυτόχθονων μικροοργανισμών	31
Εικόνα 9: Πειραματική διάταξη με τις δεξαμενές οδηγό (Δεξ. 1), βιοδιέγερσης (Δεξ. 2) και βιοενίσχυσης (Δεξ. 3).....	35
Εικόνα 10: Όργανο μέτρησης pH της εταιρίας Crison	37
Εικόνα 11: Φούρνος μικροκυμάτων Mars 6 microwave reactor system και vessels.....	40
Εικόνα 12: Εφίππια Daphnia Magna.....	41
Εικόνα 13: Δισκίο επώασης.....	42
Εικόνα 14: Παρασκευή διαλυμάτων και τοποθέτηση σε τριβλίο	49
Εικόνα 15: Περιτροφικός εξατμιστήρας (rotary evaporator)	52
Εικόνα 16: Συσκευή Soxhlet	55
Εικόνα 17: Κυψελίδες και τριβλίο εκκόλαψης Daphnia Magna	70
Εικόνα 18: Κυψελίδες με Daphnia Magna	70
Εικόνα 19: Πρόγραμμα υπολογισμού MPN από την EPA	72
Εικόνα 20: Most Probable Number στο αρχικό δείγμα για τις δεξαμενές 1 και 2.....	73
Εικόνα 21: Most Probable Number στο δείγμα έπειτα από 20 ημέρες για τις δεξαμενές 1, 2 και 3	74
Εικόνα 22: Most Probable Number στο δείγμα έπειτα από 40 ημέρες για τις δεξαμενές 1, 2 και 3	74
Εικόνα 23: Most Probable Number στο δείγμα έπειτα από 80 ημέρες για τις δεξαμενές 1, 2 και 3	74

Περιεχόμενο Πινάκων

Πίνακας 1: Χημική δομή και ιδιότητες PAHs	21
Πίνακας 2: Ορυκτολογική και κοκκομετρική ανάλυση στερεών αποβλήτων διυλιστηρίου	33
Πίνακας 3: Παρακολούθηση δεξαμενών	57
Πίνακας 4: Ποσοστό υγρασίας για τις 3 δεξαμενές.....	58
Πίνακας 5: Προσδιορισμός pH για τις 3 δεξαμενές.....	60
Πίνακας 6: Προσδιορισμός διαλυμένου οξυγόνου	62
Πίνακας 7: Αποτελέσματα Δυναμικού Οξειδοαναγωγής για κάθε δεξαμενή.....	62
Πίνακας 8 Αποτελέσματα N, C, H, S για τη Δεξαμενή Οδηγό	64
Πίνακας 9: Αποτελέσματα N, C, H, S για τη Δεξαμενή βιοδιέγερσης	64
Πίνακας 10: Αποτελέσματα N, C, H, S για τη Δεξαμενή βιοενίσχυσης.....	65
Πίνακας 11: Συγκέντρωση μετάλλων στο εκχύλισμα	68
Πίνακας 12: Συγκέντρωση μετάλλων στο στερεό δείγμα.....	68
Πίνακας 13: Αποτελέσματα MPN για κάθε δεξαμενή.....	72
Πίνακας 14: Κατηγορίες PAHs ανάλογα με το μοριακό βάρος	75
Πίνακας 15: Συγκέντρωση και ποσοστό απομάκρυνσης PAH για τη δεξαμενή Οδηγό.....	76
Πίνακας 16: Συγκέντρωση και ποσοστό απομάκρυνσης PAH για τη δεξαμενή Βιοδιέγερσης.....	78
Πίνακας 17: Συγκέντρωση και ποσοστό απομάκρυνσης PAH για τη δεξαμενή Βιοενίσχυσης	80
Πίνακας 18: Ποσοστό απομάκρυνσης ανάλογα με το μοριακό βάρος για κάθε δεξαμενή	82
Πίνακας 19: Συγκέντρωση TPH για κάθε δεξαμενή	83
Πίνακας 20: Ποσοστό απομάκρυνσης TPH για κάθε δεξαμενή.....	83

Περιεχόμενο Διαγραμμμάτων

Διάγραμμα 1: Ποσοστό υγρασίας για κάθε δεξαμενή	59
Διάγραμμα 2: Αποτελέσματα pH για κάθε δεξαμενή	61
Διάγραμμα 3: Αποτελέσματα Διαλυμένου Οξυγόνου για κάθε δεξαμενή.....	63
Διάγραμμα 4: Αποτελέσματα Δυναμικού οξειδοαναγωγής για κάθε δεξαμενή	63
Διάγραμμα 5: Αποτελέσματα υπολογισμού αζώτου (N) για κάθε δεξαμενή.....	65
Διάγραμμα 6: Αποτελέσματα υπολογισμού άνθρακα (C) για κάθε δεξαμενή.....	66
Διάγραμμα 7: Αποτελέσματα υπολογισμού υδρογόνου (H) για κάθε δεξαμενή	66
Διάγραμμα 8: Αποτελέσματα υπολογισμού θείου (S) για κάθε δεξαμενή	67
Διάγραμμα 9: Συγκέντρωση PAHs για τη δεξαμενή οδηγό σε διάστημα 80 ημερών	77
Διάγραμμα 10: Συγκέντρωση PAHs για τη δεξαμενή βιοδιέγερσης σε διάστημα 80 ημερών	79
Διάγραμμα 11: Συγκέντρωση PAHs για τη δεξαμενή βιοενίσχυσης σε διάστημα 60 ημερών.....	81
Διάγραμμα 12: Ποσοστά απομάκρυνσης PAH ανάλογα με το μοριακό βάρος για κάθε δεξαμενή	82
Διάγραμμα 13: Συγκέντρωση TPH για κάθε δεξαμενή	84
Διάγραμμα 14: Ποσοστό απομάκρυνσης TPH για κάθε δεξαμενή	85

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ρύπανση των υπογείων εδαφών από πετρελαϊκούς υδρογονάνθρακες είναι ένα συχνό φαινόμενο, το οποίο παρατηρείται σε περιοχές που διαθέτουν διυλιστήρια ή εγκαταστάσεις αποθήκευσης πετρελαίου. Δεξαμενές καθώς επίσης αγωγοί μεταφοράς πετρελαίου αποτελούν μερικές από τις βασικές πηγές ρύπανσης του εδάφους και κατ' επέκταση των υποκείμενων υδροφορέων απειλώντας τόσο τα χερσαία όσο τα υδάτινα οικοσυστήματα. Η παρουσία αυτών των οργανικών ενώσεων στο έδαφος προκαλεί ανησυχία για τις επιπτώσεις στο κοινωνικό σύνολο και στο περιβάλλον.

Η ανάγκη επομένως, για επεξεργασία και αποκατάσταση ρυπασμένων εδαφών θεωρείται επιτακτική, καθιστώντας απαραίτητη την αναζήτηση νέων μεθόδων και τεχνολογιών επεξεργασίας, οι οποίες ταυτόχρονα θα είναι αποδοτικές και οικονομικές.

Στις μέρες μας έχει μελετηθεί ευρέως η αποκατάσταση των εδαφών από ρύπους όπως είναι οι ολικοί πετρελαϊκοί υδρογονάνθρακες (Total Petroleum Hydrocarbon - TPH) και οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons - PAHs).

Ιδιαίτερη σημασία δίνεται σε νέες τεχνολογίες που χαρακτηρίζονται ως φιλικές προς το περιβάλλον, είναι απλές και έχουν χαμηλό κόστος. Σε αυτή την κατηγορία ανήκει η μέθοδος της Βιοεξυγίανσης η οποία εφαρμόζεται με διάφορες τεχνικές όπως η φυτοαποκατάσταση, το landfarming, ο βιοαερισμός, η βιοδιέγερση και η βιοενίσχυση. Κάθε μια παρουσιάζει τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα της ως προς το κόστος και την αποτελεσματικότητα στην απομάκρυνση των ρύπων.

Συγκεκριμένα, οι μέθοδοι της βιοδιέγερσης και βιοενίσχυσης παρουσιάζουν ιδιαίτερα θετικά αποτελέσματα και εμφανίζονται αποδοτικές στην απομάκρυνση των PAHs και TPH από ρυπασμένα εδάφη. Μέσω χρήσης διαφόρων θρεπτικών συστατικών και με στόχο την αύξηση του μικροβιακού πληθυσμού επιτυγχάνεται η κατανάλωση των ρύπων.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΡΥΠΩΝ

2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το **πετρέλαιο** (από τα Ελληνικά πέτρα και έλαιο, «λάδι της πέτρας»), που μερικές φορές στην καθημερινή γλώσσα αποκαλείται και μαύρος χρυσός, είναι ένα παχύρρευστο, καστανόχρωμο υγρό πέτρωμα και αποτελεί σήμερα τη σπουδαιότερη φυσική πηγή ενέργειας σε παγκόσμιο επίπεδο. Τα κοιτάσματα πετρελαίου αξιοποιούνται από το βιομηχανικό κλάδο με κύριο στόχο την παραγωγή καυσίμων για μηχανές εσωτερικής καύσης και αποτελούν πρώτη ύλη για προϊόντα όπως λιπάσματα, φυτοφάρμακα, πλαστικά, απορρυπαντικά και εκρηκτικά υλικά (Εικ. 3). Για τον λόγο αυτό, κατέχει την πρώτη θέση στην παραγωγή ενέργειας και αποτελεί αναπόσπαστο κομμάτι της παγκόσμιας οικονομίας.

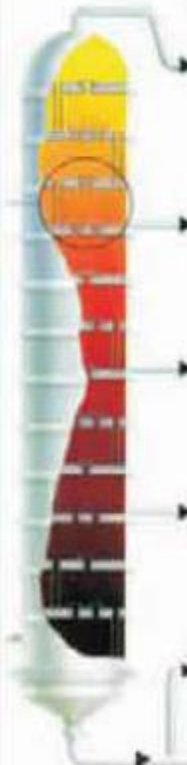








Το φυσικό πετρέλαιο (ακατέργαστο αργό) συνίσταται κυρίως από υδρογονάνθρακες μοριακού βάρους που κυμαίνονται από το ελαφρότερο μεθάνιο, μέχρι των βαριών στερεών μορίων που έχουν 80 άτομα άνθρακα στο μόριό τους. Περιέχει επίσης ενώσεις οξυγόνου, θείου, αζώτου και ελάχιστα ποσά μεταλλικών ενώσεων. Το πετρέλαιο, όπως συναντάται στη φύση, είναι ένα σκουρόχρωμο, ελαιώδες, αδιάλυτο στο νερό και εύλεκτο υλικό. Λόγω των παραπάνω φυσικών χαρακτηριστικών γίνεται εύκολα κατανοητό πως μπορεί να αποτελέσει επίμονο ρύπο τόσο στα χερσαία όσο και στα υδάτινα οικοσυστήματα καθιστώντας εξαιρετικά δύσκολη την απομάκρυνσή του και την εξυγίανση του περιβάλλοντος. Οι σημαντικότεροι ρύποι οι οποίοι βρίσκονται στο πετρέλαιο και στους οποίους οφείλεται κατά κύριο λόγο η ρύπανση του εδάφους και των υδάτων είναι οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons - PAHs) και οι ολικοί πετρελαϊκοί υδρογονάνθρακες (Total Petroleum Hydrocarbons - TPH).



Εικόνα 1: Προϊόν πετρελαίου



Εικόνα 2: Εξόρυξη πετρελαίου

	όνομα κλάσματος αργού πετρελαίου	αριθμός ατόμων C	θερμοκρασία βρασμού σε °C	χρήσεις	
	υγραέριο (προπάνιο, βουτάνιο)	3 - 4	-160 - 0	οικιακό και βιομηχανικό καύσιμο	
	βενζίνη	5 - 12	30 - 180	καύσιμο για βενζινοκινητήρες	
	κηροζίνη	10 - 15	180 - 230	καύσιμο αεροπλάνων	
	πετρέλαιο ντίζελ και θέρμανσης	12 - 20	230 - 310	καύσιμο για φορτηγά, ηλεκτροφόρα, κινητήρες ντίζελ, θέρμανση κατοικιών	
	μαζούτ		310 - 400	καύσιμο	
	ορυκτέλαιο	20 - 50	300 - 600	λιπαντικά	
	παραφίνη	> 20	= 600	κεριά	
	άσφαλτος		μεγαλύτερη από 500	οδοποιία, στεγανοποιήσεις	

Εικόνα 3: Τύποι και προϊόντα πετρελαίου (ψηφιακό σχολείο)

2.2 ΠΟΛΥΚΥΚΛΙΚΟΙ ΑΡΩΜΑΤΙΚΟΙ ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΕΣ (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons - PAHs)

Τα PAHs αποτελούν συντομογραφία για τους πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons). Είναι μια κατηγορία εκατοντάδων οργανικών ενώσεων που αποτελούνται από ενωμένους δακτυλίους βενζολίου και βρίσκονται συχνά μαζί σε ομάδες των δύο ή περισσότερων (**Haritash, 2009**). Οι δακτύλιοι μπορεί να είναι τοποθετημένοι σε ευθεία γραμμή, να σχηματίζουν γωνίες ή να δημιουργούν μια συστάδα. Από την ονομασία τους προκύπτει ότι οι ΠΑΥ αποτελούνται αποκλειστικά από άνθρακα και υδρογόνο.

Τα PAHs συναντώνται φυσικά στο περιβάλλον ή είναι αποτέλεσμα ανθρωπογενών διεργασιών (**Sayara, 2011**) με κυριότερη πηγή δημιουργίας τους την καύση των ορυκτών καυσίμων και συγκεκριμένα όταν προϊόντα όπως ο άνθρακας, το πετρέλαιο, το φυσικό αέριο, και τα απορρίματα καίγονται, χωρίς όμως η διαδικασία της καύσης να είναι πλήρης (ατελής καύση). Άλλες πηγές PAHs αποτελούν η ηφαιστειογενής δραστηριότητα, οι δασικές πυρκαγιές, ο καπνός των τσιγάρων καθώς και ορισμένα τρόφιμα σε μικρότερες ωστόσο ποσότητες. Έχει εκτιμηθεί ότι πάνω από το 90% των PAHs στο περιβάλλον βρίσκονται στα εδάφη, όπου είναι λιγότερο εκτεθειμένα σε φωτοχημικές και βιολογικές διεργασίες αποδόμησης.

Στην απλούστερη μορφή τους, τα PAHs είναι στερεά και έχουν εύρος σε εμφάνιση από άχρωμο έως λευκό ή απαλό πρασινοκίτρινο. Λόγω της μη πολικής και σταθερής χημικής δομής τους είναι εξαιρετικά υδρόφοβα, δεν καίγονται εύκολα και μπορούν να παραμείνουν στο περιβάλλον για μεγάλα χρονικά διαστήματα. Χαρακτηρίζονται από μικρή διαλυτότητα στο νερό και τείνουν να προσροφόνται ταχύτατα από τα σωματίδια του εδάφους κι έτσι παραμένουν εκεί ως στερεά, καθιστώντας την απομάκρυνσή τους μία δύσκολη και απαιτητική διαδικασία.

Τα PAHs ανήκουν στην κατηγορία των επικίνδυνων ρύπων τόσο για το περιβάλλον όσο και για τον άνθρωπο εφόσον υπάρχει η πιθανής συσχέτιση ορισμένων συμπλόκων με καρκινογενέσεις (καρκίνος του πνεύμονα και του δέρματος), τερατογενέσεις και

μεταλλάξεις από την Υπηρεσία Περιβαλλοντικής Προστασίας (EPA, Environmental Protection Agency) (Boonchan, 2000). Οι επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία εξαρτώνται από ορισμένους παράγοντες όπως τον βαθμό της έκθεσης (χρονική διάρκεια), την ποσότητα ή τη συγκέντρωση της έκθεσης, την τοξικότητα του εκάστοτε μίγματος PAH καθώς και τον τρόπο έκθεσης. Οι τρόποι έκθεσης είναι μέσω μολυσμένου αέρα (στο εργασιακό περιβάλλον, πλησίον βιομηχανικών περιοχών ή περιοχών εναπόθεσης επικίνδυνων αποβλήτων, από καυσαέρια οχημάτων, πυρκαγιών και καπνό τσιγάρου), μολυσμένου νερού ή χώματος (προερχόμενου επίσης από βιομηχανική περιοχή ή περιοχή ρήψης επικίνδυνων ουσιών) και τέλος, καταναλώνοντας μολυσμένα ή επεξεργασμένα τρόφιμα (Garcia-Delgado, 2015). Η ικανότητα ωστόσο των PAHs να προκαλέσουν βραχυπρόθεσμες συνέπειες στην ανθρώπινη υγεία δεν είναι σαφής. Έκθεση σε υψηλά επίπεδα μειγμάτων που περιέχουν PAHs έχει οδηγήσει σε συμπτώματα όπως ερεθισμό των ματιών, ναυτία, έμετο, διάρροια, σύγχυση και δερματικές επιδράσεις όπως ερεθισμός και φλεγμονή. Δεν είναι όμως γνωστό συγκεκριμένα ποια από τα συστατικά του μείγματος προκαλούν αυτά τα αποτελέσματα. Από δοκιμές σε ζώα έχει προκύψει ότι μέσω της αναπνοής μολυσμένου αέρα και μέσω της άμεσης επαφής με το δέρμα είναι δυνατή η δημιουργία όγκων και αναπαραγωγικών προβλημάτων.

Τα 16 πιο επικίνδυνα PAHs (Πίνακας 1) λόγω αυξημένης πιθανότητας πρόκλησης προβλημάτων υγείας είναι τα εξής:

Ακεναφθένιο (acenaphthene)

Πρόκειται για λευκή κρυσταλλική ουσία και χρησιμοποιείται στην παραγωγή βαφών, πλαστικών και φαρμακευτικών προϊόντων. Χρησιμοποιείται επίσης ως εντομοκτόνο και μυκητοκτόνο και είναι συστατικό της ανθρακικής πίσσας. Ο χημικός του τύπος είναι $C_{12}H_{10}$ και βρίσκεται στη λίστα επικίνδυνων ουσιών από τις HHAG (Human Health Assessment Group) και EPA (Environmental Protection Agency). Στις αρνητικές του συνέπειες αναφέρεται ότι μπορεί να ερεθίσει τη μύτη, το λαιμό και τους πνεύμονες κατά την εισπνοή, το δέρμα και τα μάτια εαν έρθει σε επαφή καθώς και το ήπαρ και τα νεφρά σε πιο σοβαρές περιπτώσεις.

Ακεναφθυλένιο (acenaphthylene)

Είναι ένας κίτρινος κρυσταλλικός στερεός τρικυκλικός αρωματικός υδρογονάνθρακας με χημικό τύπο $C_{12}H_8$. Το μόριο του αποτελείται από ένα μόριο ναφθαλινίου με μια «γέφυρα» αιθενίου ανάμεσα στα άτομα 1 και 8 και είναι συστατικό της λιθανθρακόπισσας και χρησιμοποιείται στην παραγωγή βαφών, εντομοκτόνων, μυκητοκτόνων και πλαστικών. Όσον αφορά την τοξικότητά του δεν υπάρχουν δεδομένα για καρκινογένεση στον άνθρωπο ενώ τα στοιχεία για τα ζώα θεωρούνται ανεπαρκή.

Ανθρακένιο (anthracene)

Αποτελεί άχρωμο στερό αρωματικό υδρογονάνθρακα που περιέχει τρεις συμπυκνωμένους βενζολικούς δακτυλίους. Αν και άχρωμο, στο ορατό φως εμφανίζει μπλε φθορισμό (400-500nm κορυφή απορρόφησης) κάτω από υπεριώδη ακτινοβολία. Ο χημικός του τύπος είναι $C_{14}H_{10}$ και είναι έως και 100 φορές πιο σκληρό από το ατσάλι. Όσον αφορά την επικινδυνότητα δεν υπάρχουν σαφή δεδομένα για τον άνθρωπο ενώ τα στοιχεία για καρκινογένεση στα ζώα είναι ανεπαρκή και για τον λόγο αυτό δεν έχει ταξινομηθεί ως καρκινογόνος ουσία. Μπορεί ωστόσο, να επηρεάσει τον λαιμό και τα μάτια σε περίπτωση επαφής.

Βενζο[α]ανθρακένιο (benz[a]anthracene)

Είναι κρυσταλλικός κυκλικός υδρογονάνθρακας με χημικό τύπο $C_{18}H_{12}$. Βρίσκεται σε μικρές ποσότητες στην ανθρακική πίσσα. Σύμφωνα με τους διεθνείς οργανισμούς (EPA, Environmental Protection Agency και IARC, International Agency for Research in Cancer) πρόκειται για καρκινογόνο στοιχείο κατηγορίας 2 που σημαίνει ότι θεωρείται ως πιθανό καρκινογόνο για τον άνθρωπο και είναι ιδιαίτερα τοξικό και επικίνδυνο για το περιβάλλον.

Βενζο[α]πυρένιο (benzo[a]pyrene)

Είναι κρυσταλλικός αρωματικός υδρογονάνθρακας με ανοιχτό κίτρινο χρώμα και ελαφριά οσμή. Βρίσκεται στον καπνό των τσιγάρων, στη σχάρα και στα ψητά τρόφιμα και ως υποπροϊόν στις βιομηχανικές διεργασίες. Ο μοριακός του τύπος είναι $C_{20}H_{12}$. Στον άνθρωπο έχει συσχετισθεί με χρωμοσωμική αντιγραφή (αντιγραφή DNA) σφάλματα στο DNA ενώ σε υψηλά επίπεδα έκθεσης σε ενήλικες έχει αναφερθεί ότι σχετίζεται με καταστολή του ανοσοποιητικού συστήματος και βλάβη των ερυθρών κυττάρων του αίματος η οποία μπορεί να οδηγήσει σε αναιμία. Το βενζοπυρένιο έχει ταξινομηθεί από την EPA ως στοιχείο της δεύτερης λίστας καρκινογόνων. Ο Διεθνής Οργανισμός Ερευνών για τον Καρκίνο (IARC) κατέληξε στο συμπέρασμα ότι υπάρχουν επαρκή αποδεικτικά στοιχεία ότι είναι καρκινογόνο σε πειραματόζωα και πιθανώς καρκινογόνο για τον άνθρωπο.

Βενζο[b]φθορανθένιο (benzo[b]fluoranthene)

Αποτελεί έναν άχρωμο αρωματικό υδρογονάνθρακα αποτελούμενο από πέντε συγχωνευμένους δακτυλίους και σχηματίζεται από την ατελή καύση της οργανικής ύλης. Έχει χημικό τύπο $C_{20}H_{12}$. Βρίσκεται κυρίως στα καυσαέρια της βενζίνης, στον καπνό του τσιγάρου και στην πίσσα. Ανήκει στην δεύτερη ομάδα καρκινογόνων ουσιών και συνεπώς είναι πιθανώς καρκινογόνο για τον άνθρωπο ενώ υπάρχουν επαρκή αποδεικτικά στοιχεία για την καρκινογένεση στα ζώα.

Βενζο[g,h,i]περυλένιο (benzo[g,h,i]perylene)

Είναι κρυσταλλικός ελαφρώς κίτρινο-πράσινος υδρογονάνθρακας, δεν διαλύεται στο νερό και ο μοριακός του τύπος είναι $C_{22}H_{14}$. Τείνει να συνδέεται πολύ έντονα στα σωματίδια του εδάφους, έτσι καθιστά πολύ δύσκολη την απομάκρυνσή του και μπορεί να παραμείνει στο περιβάλλον για μεγάλο χρονικό διάστημα. Είναι τοξικό και ύποπτο για καρκινογένεση στον άνθρωπο. Μπορεί να εισέλθει στο σώμα, με την εισπνοή μολυσμένου αέρα, με την κατάποση νερού ή τροφίμων που περιέχουν βενζοπερυλένιο και δια της δερματικής επαφής. Υπάρχουν ελάχιστα στοιχεία σχετικά με τις πλήρεις επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία και έχει ταξινομηθεί στην ομάδα 3 των καρκινογόνων ουσιών.

Διβενζο[a,h]ανθρακένιο (dibenz[a,h]anthracene)

Πρόκειται για κρυσταλλικό αρωματικό υδρογονάνθρακα με χημικό τύπο $C_{22}H_{14}$ ο οποίος αποτελείται από πέντε συγχωνευμένους δακτυλίους βενζολίου. Παράγεται από την ατελή καύση της οργανικής ύλης και βρίσκεται κυρίως στα καυσαέρια της βενζίνης, στον καπνό, στην πίσσα και σε ορισμένα τρόφιμα, κυρίως στα καπνιστά. Δεν υπάρχουν δεδομένα για καρκινογένεση στον άνθρωπο υπάρχουν ωστόσο, επαρκή αποδεικτικά στοιχεία για την καρκινογένεση στα ζώα. Για τον λόγο αυτό κατατάσσεται στην δεύτερη κατηγορία επικίνδυνων ουσιών και αναφέρεται ως πιθανώς καρκινογόνο για τον άνθρωπο.

Ινδενο[1,2,3-cd]πυρένιο (indeno[1,2,3-cd]pyrene)

Είναι κιτρινωπός αρωματικός υδρογονάνθρακας, αποτελείται από έξι συγχωνευμένους δακτυλίους, παράγεται από την ατελή καύση της οργανικής ύλης και ο μοριακός του τύπος είναι $C_{22}H_{12}$. Βρίσκεται κυρίως σε ορισμένα τρόφιμα, στην βενζίνη και το ντίζελ των καυσαερίων, στον καπνό του τσιγάρου και στη λιθανθρακόπισσα. Δεν υπάρχουν δεδομένα για καρκινογένεση στον άνθρωπο υπάρχουν ωστόσο, επαρκή αποδεικτικά στοιχεία για την καρκινογένεση στα ζώα και συνεπώς κατατάσσεται επίσης στην δεύτερη κατηγορία επικίνδυνων ουσιών και αναφέρεται ως πιθανώς καρκινογόνο για τον άνθρωπο.

Ναφθαλίνη (naphthalene)

Πρόκειται για λευκό, πτητικό, στερεό πολυκυκλικό υδρογονάνθρακα με έντονη οσμή και μοριακό τύπο $C_{10}H_8$. Λαμβάνεται είτε από λιθανθρακόπισσα ή απόσταξη πετρελαίου. Οξεία (βραχυπρόθεσμη) έκθεση των ανθρώπων σε ναφθαλίνη μέσω εισπνοής, κατάποσης και δερματικής επαφής σχετίζεται με αιμολυτική αναιμία, βλάβη του ήπατος και του νευρολογικού συστήματος, καταρράκτη και αιμορραγία του αμφιβληστροειδούς. Τα διαθέσιμα στοιχεία είναι ανεπαρκή για να αποδειχθεί η αιτιώδης σχέση μεταξύ της έκθεσης σε ναφθαλίνη και τον καρκίνο στον άνθρωπο. Η ΕΡΑ έχει ταξινομήσει την

ναφθαλίνη στην ομάδα 3 ως πιθανή καρκινογόνο ουσία για τον άνθρωπο χωρίς όμως να έχουν υπάρξει σοβαρές ενδείξεις.

Πυρένιο (pyrene)

Είναι πολυκυκλικός αρωματικός υδρογονάνθρακας που αποτελείται από τέσσερεις συγχωνευμένους δακτυλίους βενζολίου, με αποτέλεσμα ένα επίπεδο αρωματικό σύστημα. Ο χημικός του τύπος είναι $C_{16}H_{10}$. Αυτό το άχρωμο στερεό είναι το μικρότερο PAH. Αν και δεν είναι τόσο τοξικό όσο το βενζοπυρένιο, μελέτες σε ζώα έχουν δείξει ότι το πυρένιο είναι τοξικό για τα νεφρά και το ήπαρ.

Φθορένιο (fluorene)

Πολυκυκλικός υδρογονάνθρακας που σχηματίζει λευκούς κρυστάλλους με χαρακτηριστική οσμή παρόμοια με εκείνη της ναφθαλίνης. Είναι εύφλεκτο και ο μοριακός του τύπος είναι $C_{13}H_{10}$. Όσον αφορά την τοξικότητα του δεν υπάρχουν διαθέσιμα δεδομένα για καρκινογένεση στον άνθρωπο και τα στοιχεία για τα ζώα είναι ανεπαρκή. Ο Διεθνής Οργανισμός Ερευνών για τον Καρκίνο (IARC) τον κατατάσσει στην ομάδα 3 των επικίνδυνων ουσιών και δεν έχει επαληθευθεί ως καρκινογόνο για τους ανθρώπους.

Φλουροανθένιο (fluoranthene)

Ανήκει επίσης στην ομάδα των αρωματικών υδρογονανθράκων και ο μοριακός του τύπος είναι $C_{16}H_{10}$. Συναντάται σε πολλά προϊόντα καύσης μαζί με άλλα PAHs. Ανήκει στην τρίτη ομάδα καρκινογενών του IARC που σημαίνει ότι δεν έχει διαπιστωθεί ως καρκινογενές ακόμα για τον ανθρώπινο οργανισμό.

Φαινανθρένιο (phenanthrene)

Είναι ένας άχρωμος κρυσταλλικός υδρογονάνθρακας με ελαφριά αρωματική οσμή. Παρουσιάζει ένα μπλε φθορισμό και ο χημικός του τύπος είναι $C_{14}H_{10}$. Δεν υπάρχουν








στοιχεία για καρκινογένεση τόσο στον άνθρωπο όσο και στα ζώα, επομένως δεν μπορεί να προκύψει κάποιο συμπέρασμα για την τοξικότητά του.

Χρυσένιο (chrysene)

Αποτελεί αρωματικό υδρογονάνθρακα και είναι συστατικό της πίσσας άνθρακα σε συνδυασμό με ναφθαλίνη και ανθρακένιο. Πρόκειται για μια λευκή κρυσταλλική ουσία, με μοριακό τύπο $C_{18}H_{12}$ και σε γενικές γραμμές κίτρινου χρώματος. Ανήκει στην κατηγορία 2 επικίνδυνων ουσιών από την EPA καθώς δεν υπάρχουν επαρκή στοιχεία για καρκινογένεση στον άνθρωπο, υπάρχουν ωστόσο δεδομένα για την εμφάνιση καρκινώματος σε ποντίκια υπό εργαστηριακές συνθήκες.

Στον Πίνακα 1 που ακολουθεί παρατίθενται ορισμένα PAHs, η χημική τους δομή και οι φυσικοχημικές τους ιδιότητες:

Πίνακας 1: Χημική δομή και ιδιότητες PAHs

PAH	Μοριακός τύπος	Χημική δομή	Αριθμός δακτυλίων	MB (g/mol)	Σημείο τήξης (°C)	Σημείο βρασμού (°C)	Τάση ατμών (P _a στους 25°C)	Διαλυτότητα στο H ₂ O (mg/L)	logK _{ow}
naphthalene ναφθαλένιο	C ₁₀ H ₈		2	128	80.2	218	11	3.0	3.36
anthracene ανθρακένιο	C ₁₄ H ₁₀		3	178	216.4	342	1.0E-3	0.015	4.46
phenanthrene φαινανθρένιο	C ₁₄ H ₁₀		3	178	100.5	340	2.0E-2	1 – 2	4.46
fluoranthene φλουορανθένιο	C ₁₀ H ₈		4	202	108.8	375	1.2E-3	0.25	5.33
pyrene πυρένιο	C ₁₆ H ₁₀		4	202	150.4	393	6.0E-4	0.12 – 0.18	5.32
benzo[a]pyrene βενζο[α]πυρένιο	C ₂₀ H ₁₂		5	252	178.7	493	4.0E-7	-	6.32
benzo[b]fluoranthene βενζο[β]φλουορανθένιο	C ₂₀ H ₁₂		5	252	168.3	481	6.7E-5	-	6.04

2.3 ΟΛΙΚΟΙ ΠΕΤΡΕΛΑΪΚΟΙ ΥΔΡΟΓΟΝΑΝΘΡΑΚΕΣ (Total Petroleum Hydrocarbons - TPH)

Ο όρος ολικοί πετρελαϊκοί υδρογονάνθρακες χρησιμοποιείται για να περιγράψει μια μεγάλη ομάδα από πολλές εκατοντάδες χημικές ενώσεις που περιέχονται στο αργό πετρέλαιο και σε προϊόντα αυτού. Καθώς οι χημικές ουσίες που υπάρχουν στο αργό πετρέλαιο και στα υπόλοιπα προϊόντα πετρελαίου είναι πολλές και διαφορετικές, δεν θεωρείται πρακτικό να μετρηθεί κάθε μία ξεχωριστά. Για τον λόγο αυτό θεωρείται χρήσιμη η μέτρηση της συνολικής ποσότητας TPH.

Οι ολικοί πετρελαϊκοί υδρογονάνθρακες είναι ένα μίγμα χημικών ουσιών και αποτελούνται κυρίως από υδρογόνο και άνθρακα (υδρογονάνθρακες). Ορισμένες χημικές ουσίες που μπορούν να βρεθούν στα TPH είναι το εξάνιο, το βενζόλιο, το τολουόλιο, τα ξυλένια, η ναφθαλίνη, το φθορένιο, καθώς και άλλα προϊόντα πετρελαίου και συστατικά της βενζίνης. Ωστόσο, είναι πιθανό τα δείγματα των TPH να περιέχουν μόνο μερικά, ή ένα

μίγμα από τις παραπάνω χημικές ουσίες. Όσον αφορά την όψη τους, ορισμένα εμφανίζονται ως υγρά με ανοιχτόχρωμο ή διαφανές χρώμα και εξατμίζονται εύκολα, ενώ άλλα ως σκούρα υγρά ή ημιστερεά που δεν εξατμίζονται.

Καθώς η σύγχρονη κοινωνία χρησιμοποιεί μεγάλο αριθμό προϊόντων με βάση το πετρέλαιο (παραδείγματος χάριν βενζίνη, κηροζίνη, έλαια καυσίμων, ορυκτέλαια και άσφαλτος), η μόλυνση του περιβάλλοντος θεωρείται δεδομένη. Τα ΤΡΗ μπορούν να εισέλθουν στο περιβάλλον κυρίως από ατυχήματα και διαρροές πετρελαϊκών προϊόντων, από απορρίψεις βιομηχανικών αποβλήτων και ως υποπροϊόντα εμπορικής ή ιδιωτικής χρήσης (π.χ φυτοφάρμακα). Η έκθεση σε ΤΡΗ αφορά όλο το κοινωνικό σύνολο και μπορεί να γίνει με τους εξής τρόπους:

- Μέσω αναπνοής μολυσμένου αέρα (π.χ πρατήρια βενζίνης)
- Μέσω χρήσης χημικών στον προσωπικό χώρο(π.χ εντομοκτόνα, φυτοφάρμακα)
- Σε εργασιακούς χώρους επεξεργασίας πετρελαίου και παραγωγής προϊόντων πετρελαίου
- Μέσω επαφής με μολυσμένο χώμα
- Μέσω κατάποσης μολυσμένου νερού από διαρροές πετρελαϊκών προϊόντων

Η παροδική ή συστηματική έκθεση σε ΤΡΗ μπορεί να επηρεάσει την υγεία σε βραχυπρόθεσμο ή μακροπρόθεσμο επίπεδο. Συγκεκριμένα, αναφέρεται ότι ορισμένες από τις ενώσεις τους επηρεάζουν το κεντρικό νευρικό σύστημα και να προκαλέσουν πονοκεφάλους και ζάλη. Συνδέονται επίσης με διαταραχές στο αίμα, στο ανοσοποιητικό, στο δέρμα και στα μάτια. Μελέτες σε πειραματόζωα έχουν δείξει ότι μπορούν να επιδράσουν στους πνεύμονες, στο νευρικό σύστημα, στο ήπαρ και στους νεφρούς ενώ ορισμένες ενώσεις ΤΡΗ επηρεάζουν την αναπαραγωγή και την ανάπτυξη του εμβρύου στα ζώα.

Όσον αφορά την καρκινογένεση, ο Διεθνής Οργανισμός Έρευνας για τον καρκίνο (IARC) έχει καταλήξει στο συμπέρασμα ότι μία ένωση ΤΡΗ (βένζολιο) κατατάσσεται στις καρκινογόνες ουσίες για τον άνθρωπο, ενώ άλλες (όπως το βενζο[α]πυρένιο) θεωρείται ως πιθανώς καρκινογόνο για τον άνθρωπο. **(Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1999)**

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΒΙΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗ

3.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η διάθεση των αποβλήτων αποτελεί σημαντικό πρόβλημα για τα διυλιστήρια και ειδικότερα στην Ελλάδα καθώς δεν έχουν καθοριστεί χώροι για τη διάθεση στερεών βιομηχανικών αποβλήτων. Τα διυλιστήρια θα πρέπει να ακολουθούν συγκεκριμένες τεχνικές για την επεξεργασία και τη μείωση του όγκου των αποβλήτων τους, ώστε να υπάρχει δυνατότητα ασφαλούς διάθεσής τους εντός των εγκαταστάσεων, ή σε κατάλληλους χώρους που υποδεικνύονται από τις αρμόδιες αρχές. Τα στερεά απόβλητα παράγονται κυρίως από τις παραγωγικές διαδικασίες του διυλιστηρίου αλλά και από τις διαδικασίες συντήρησης του εξοπλισμού. Στόχος της διαχείρισης στερεών αποβλήτων πρέπει να αποτελεί η περιβαλλοντικά φιλική παραγωγή και η ταυτόχρονη μείωση του κόστους για τη διαχείριση των αποβλήτων.

Η βιοεξυγίανση αποτελεί την προτεινόμενη λύση για την, περιβαλλοντικά φιλική διαχείριση των αποβλήτων διυλιστηρίου. Η αρχή της τεχνικής αυτής βασίζεται στη φυσική βιοαποικοδόμηση των οργανικών ρύπων, η οποία λαμβάνει χώρα από τους υπάρχοντες μικροοργανισμούς του εδάφους. Η βιοαποδόμηση των υδρογονανθράκων μπορεί να εφαρμοστεί με επιτυχία σε ένα μεγάλο εύρος οργανικών αποβλήτων ή ρυπασμένων εδαφών. Ουσιαστικά αποτελεί μια βιολογική διεργασία, κατά την οποία μικροοργανισμοί-καταναλωτές υδρογονανθράκων διασπούν τις διάφορες ενώσεις του πετρελαίου, μετατρέποντας τις σε πιο απλές και ακίνδυνες για το περιβάλλον και τον άνθρωπο.

3.2 ΒΙΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗ

Η βιοεξυγίανση αποτελεί μία σχετικά νέα (1987) αλλά αποτελεσματική τεχνολογία κατά την οποία χρησιμοποιούνται βιοτικές διαδικασίες για την αποδόμηση ή το μετασχηματισμό των ρύπων σε λιγότερο ή καθόλου τοξική μορφή, περιορίζοντας ή εξαλείφοντας τελείως την υπάρχουσα ρύπανση σε εδάφη και υπόγεια ύδατα (**Παπαδοπούλου, 2007**).

Η βιοεξυγίανση είναι μια οικολογική διαδικασία η οποία αξιοποιεί τον μεταβολισμό των μικροοργανισμών παρουσία βέλτιστων περιβαλλοντικών συνθηκών και κατάλληλων θρεπτικών συστατικών για την διάσπαση επικίνδυνων ρύπων του εδάφους, κυρίως πετρελαϊκούς. Ειδικότερα, διάφοροι μικροοργανισμοί όπως βακτήρια και μύκητες έχουν την ικανότητα να μετασχηματίζουν πολύπλοκες οργανικές ενώσεις σε απλούστερες ανόργανες ενώσεις. Η διαδικασία αυτή καλείται μεταλλοποίηση ή ορυκτοποίηση (mineralization). Οι μικροοργανισμοί μπορούν να χρησιμοποιήσουν τον ρύπο ως πηγή άνθρακα και ενέργειας για την ανάπτυξή τους μετατρέποντάς τους με αυτόν τον τρόπο σε μόρια τα οποία μπρούν να εισέλθουν στις κεντρικές μεταβολικές πορείες του οργανισμού (**Ντάντος, 2007**).

Αποτελεί μία ελκυστική τεχνολογία λόγω των υψηλών δυνατοτήτων και των θετικών στοιχείων της. Συγκεκριμένα αναφέρονται τα εξής (**Bento, 2004**):

- Επιτυγχάνεται οριστική εξάλειψη ρύπων μέσω βιοχημικών μετασχηματισμών.

- Αποτελεί οικολογική μέθοδο αποκατάστασης του εδάφους, είναι δηλαδή φιλική προς το περιβάλλον.
- Αποφεύγεται η αντιμετώπιση της ρύπανσης με χημικές διεργασίες, οι οποίες έχουν πολλές φορές αρνητικές συνέπειες στο οικοσύστημα, μεγάλη ενεργειακή κατανάλωση, υψηλό κόστος και μη ολοκληρωμένη απομάκρυνση του ρύπου.
- Εφαρμόζεται επί τόπου (in situ) στο σημείο της ρύπανσης χωρίς να απαιτείται εκσκαφή και μεταφορά του ρυπασμένου εδάφους, μειώνοντας έτσι σημαντικά τόσο το κόστος όσο και τους κινδύνους που μπορεί να προκύψουν.
- Έχει χαμηλό κόστος όσον αφορά το κόστος σχεδιασμού και εφαρμογής.
- Απαιτεί ελάχιστη ανθρώπινη παρέμβαση, κυρίως παρακολούθηση για τη διασφάλιση ύπαρξης ευνοϊκών συνθηκών.

Οι κυριότερες μέθοδοι βιοεξυγίανσης για ρυπασμένα εδάφη αποτελούν η φυσική αποκατάσταση, η φυτοεξυγίανση, το landfarming, η κομποστοποίηση, η χρήση βιοαντιδραστήρων, ο βιοαερισμός (Bioventing) και η βιοενίσχυση/ βιοδιέγερση.

Φυσική αποκατάσταση

Η Υπηρεσία Περιβάλλοντος των ΗΠΑ (Environmental Protection Agency, EPA) ορίζει την φυσική μείωση των ρύπων ως «διάφορες φυσικές, χημικές ή βιολογικές διεργασίες οι οποίες, κάτω από ευμενείς συνθήκες, δρουν χωρίς ανθρώπινη παρέμβαση μειώνοντας την μάζα, τοξικότητα, κινητικότητα, όγκο ή συγκέντρωση των ρύπων σε εδάφη ή υπόγεια νερά. Οι (in situ) διεργασίες αυτές περιλαμβάνουν: βιοαποδόμηση, διασπορά, αραίωση, προσρόφηση, εξάτμιση, χημική ή βιολογική σταθεροποίηση, και μετατροπή ή καταστροφή των ρύπων. Η αποδοχή αυτού του τρόπου αποκατάστασης ρυπασμένων περιοχών γίνεται από τις Υπηρεσίες Περιβάλλοντος μόνο όταν συνοδεύεται με συνεχή παρακολούθηση για να πιστοποιηθεί η αποτελεσματικότητα των διεργασιών στην συγκεκριμένη περίπτωση (Καλογεράκης, 2013).

Βιοαντιδραστήρας

Οι βιοαντιδραστήρες είναι δεξαμενές οι οποίες υποστηρίζουν βιολογικές διεργασίες σε ελεγχόμενες συνθήκες, ώστε να επιτυγχάνεται η βέλτιστη λειτουργία των μικροοργανισμών. Στους βιοαντιδραστήρες, το έδαφος αναμειγνύεται με νερό και το μίγμα τροφοδοτεί αντιδραστήρα όπου προεπιλεγμένοι μικροοργανισμοί προσροφούν ή αποδομούν τους ρύπους. Τα οργανικά αποδομούνται μερικώς ή ολικώς ενώ τα ανόργανα απομακρύνονται με ιζηματοποίηση. Το τελικό προϊόν, μετά από ξήρανση αποτελεί πλήρως λειτουργικό έδαφος.

Φυτοεξύγιανση

Η συγκεκριμένη μέθοδος αποκατάστασης εδαφών παρουσιάζει ιδιαίτερα επιτυχείς εφαρμογές στον καθαρισμό από πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες, τοξικά μέταλλα, πετρελαιοειδή και τοξικά μέταλλα. Αναλυτικά, εκμεταλλεύεται τις φυσικές διεργασίες των φυτικών οργανισμών που λαμβάνουν χώρα από τις ρίζες μέχρι και το φύλλωμα τους για την απομάκρυνση των παραπάνω ρύπων. Οι κύριοι μηχανισμοί δράσης είναι οι εξής (**Καλογεράκης, 2013**) (Εικ. 4):

- Ενίσχυση των μικροβιακών πληθυσμών στην περιοχή της ρίζας του φυτού (Ενισχυμένη βιοαποδόμηση στην ριζόσφαιρα)
- Συσσώρευση των ρύπων στις ρίζες ή τα κλαδιά του φυτού (Φυτο-συσσώρευση)
- Διάσπαση των ρύπων από τα ένζυμα του φυτού (Φυτο-αποδόμηση)
- Αντληση των ρύπων μέσω του φυτού (Φυτο-εξάτμιση)

Landfarming

Το ρυπασμένο χώμα απλώνεται σε ένα στρώμα πάχους περίπου 50cm το οποίο αναδεύεται μηχανικά σε τακτά χρονικά διαστήματα (ανά μία με δύο εβδομάδες) προκειμένου να εξασφαλίζεται η αναγκαία ποσότητα οξυγόνου για τις αερόβιες διεργασίες (Εικ. 6). Συνήθως γίνεται προσθήκη καθαρού χώματος, υγρασίας και θρεπτικών συστατικών για την καλύτερη και ταχύτερη αποκατάστασης του εδάφους (**Κόλλιας, 2011**).

Κομποστοποίηση

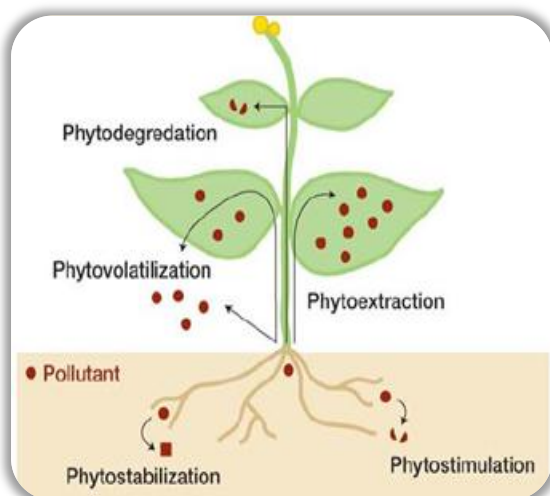
Είναι μία αερόβια διεργασία κατά την οποία το ρυπασμένο χώμα τοποθετείται υπό μορφή στοιβών σε κλίνες και αναμειγνύεται με άλλα μη επικίνδυνα οργανικά υλικά όπως πριονίδι

ή άχυρο. Τα οργανικά υπολείμματα οξειδώνονται σταδιακά σε βιολογικά σταθερές ουσίες. Για τη σωστή λειτουργία της μεθόδου απαραίτητη θεωρείται η βελτιστοποίηση των συνθηκών θερμοκρασίας, υγρασίας, αερισμού και pH. Οι υπάρχουσες τεχνολογίες κομποστοποίησης είναι τρεις:

- Κομποστοποίηση σε μακρόστενους σωρούς – σειράδια (Windrows)
- Κομποστοποίηση σε στατικούς σωρούς (Static piles) ή σε αεριζόμενους σωρούς (biopiles)
- Κομποστοποίηση σε ελεγχόμενα δοχεία (In vessel composting–bioreactors) (Καλογεράκης, 2013)

Βιοαερισμός (Bioventing)

Ο βιοαερισμός περιλαμβάνει τη διοχέτευση αέρα στην ακόρεστη ζώνη του εδάφους με στόχο την ενεργοποίηση της μικροβιακής δράσης και τη βιοαποδόμηση των υφιστάμενων ρύπων (Εικ. 5). Κύριος στόχος της διεργασίας του βιοαερισμού ρυπασμένων εδαφών είναι η αύξηση της συγκέντρωσης του οξυγόνου στο υπέδαφος με απευθείας εισαγωγή αέρα σε αυτό, μέσω κατάλληλων γεωτρήσεων. Με την αύξηση της συγκέντρωσης του οξυγόνου στο έδαφος, ενισχύονται οι υπάρχοντες μικροοργανισμοί, που έχουν την ικανότητα να αποικοδομούν αερόβια τους υφιστάμενους οργανικούς ρύπους.





Εικόνα 6: Τεχνική Landfarming

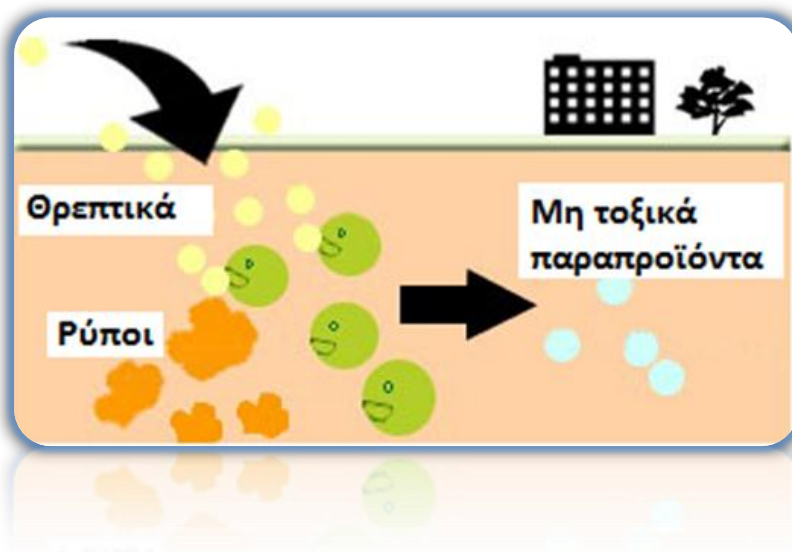
Βιοδιέγερση/βιοενίσχυση

Στη συγκεκριμένη μέθοδο γίνεται εκτεταμένη χρήση μικροοργανισμών και θρεπτικών συστατικών για τη διάσπαση του ρύπου σε λιγότερο ή καθόλου επικίνδυνες ουσίες. Κατά τη βιοενίσχυση γίνεται προσθήκη εξειδικευμένων μικροοργανισμών με στόχο την αύξηση του ήδη υπάρχοντος μικροβιακού πληθυσμού, ενώ κατά τη βιοδιέγερση γίνεται προσθήκη θρεπτικών ουσιών (άζωτο και φώσφορος) προκειμένου να εξασφαλιστεί η επιβίωση και η ανάπτυξη των μικροοργανισμών αποσκοπώντας στη βέλτιστη μεταβολική τους δραστηριότητα.

3.2.1 ΒΙΟΔΙΕΓΕΡΣΗ ΚΑΙ ΒΙΟΕΝΙΣΧΥΣΗ

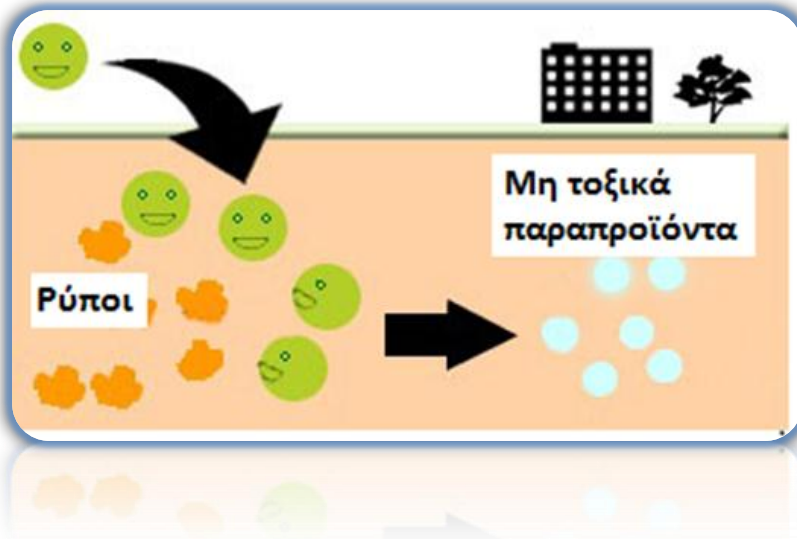
- **ΒΙΟΔΙΕΓΕΡΣΗ** (Biostimulation): Πρόκειται για την προσθήκη ειδικών θρεπτικών ουσιών (κυρίως, N και P) με στόχο τη σταδιακή αύξηση των μικροοργανισμών (**Nikolopoulou, 2013**) (Εικ. 7). Η προσθήκη των ουσιών αυτών γίνεται κυρίως μέσω οργανικών ή ανόργανων

λιπασμάτων, έτσι ώστε να εξασφαλιστεί η αναλογία άνθρακα, αζώτου και φωσφόρου (C:N:P= 120:10:1 mol), που απαιτείται για την επιβίωση, την ανάπτυξη και την εκτέλεση των βασικών μεταβολικών λειτουργιών των μικροοργανισμών-καταναλωτών (**Atagana, 2004, Μητροπούλου**). Το κύριο πλεονέκτημα της μεθόδου είναι ότι η βιοαποκατάσταση θα πραγματοποιηθεί από μικροοργανισμούς που είναι ήδη παρόντες στο μολυσμένο σημείο και συνεπώς είναι καλά προσαρμοσμένοι στο περιβάλλον και καλά κατανομημένα στο χώρο μέσα στο υπέδαφος. Η κύρια πρόκληση είναι ότι προσθήκη των θρεπτικών θα πρέπει να γίνει κατά τέτοιο τρόπο ώστε να είναι άμεσα διαθέσιμα στους μικροοργανισμούς κάτω από την επιφάνεια του εδάφους και στο βάθος που απαιτείται (**Adams, 2015**).



Εικόνα 7: Βιοδιέγερση με προσθήκη θρεπτικών

- **ΒΙΟΕΝΙΣΧΥΣΗ** (Bioaugmentation): Πρόκειται για την προσθήκη εξειδικευμένων γηγενών ή μη μικροοργανισμών, με σκοπό την ενίσχυση της ήδη υπάρχουσας μικροβιακής κοινότητας, οι οποίοι έχουν την ικανότητα να διασπούν τα περισσότερα συστατικά των πετρελαιοειδών (Εικ. 8) (**Adams, 2015**). Αυτή η αύξηση του μικροβιακού πληθυσμού επιτυγχάνει έναν υψηλό ρυθμό βιοδιάσπασης (**Μητροπούλου**). Διαφορετικές μικροβιακά είδη έχουν διαφορετικές ενζυμικές ικανότητες και προτιμήσεις όσον αφορά την αποικοδόμηση των ενώσεων του πετρελαίου. Χαρακτηριστικά αναφέρεται ότι ορισμένοι μικροοργανισμοί αποικοδομούν καλύτερα τα αλκάνια, ενώ άλλοι τους αρωματικούς υδρογονάνθρακες. Η μελέτη των μικροβίων σε συστήματα βιοαποκατάστασης, καθιστά δυνατή την επιλογή των μικροοργανισμών που εμφανίζονται αποδοτικότερα για τις εκάστοτε ενώσεις (**Adams, 2015**).



Εικόνα 8: Βιοενίσχυση με προσθήκη αυτόχθονων μικροοργανισμών

Η αποτελεσματικότητα των δύο μεθόδων καθορίζεται από τη σωστή ρύθμιση κρίσιμων παραγόντων για τη δράση των μικροοργανισμών, όπως η επάρκεια σε θρεπτικά συστατικά (P, N), το σωστό ποσοστό υγρασίας, το pH και η θερμοκρασία. Οι διεργασίες ευνοούνται σε θερμά κλίματα όπως αυτό της Ελλάδας, όπου ενισχύεται η έντονη δράση των μικροοργανισμών.

Συγκεκριμένα, αναφέρονται τα χαρακτηριστικά των στερεών αποβλήτων προκειμένου οι μέθοδοι να εφαρμόζονται με το βέλτιστο τρόπο (**Haritash, 2009, Lebkowska, 2011**):

- Ο τύπος των στερεών δειγμάτων επηρεάζει την διαπερατότητα, την περιεκτικότητα σε υγρασία καθώς και την πυκνότητα του. Ο τύπος του δείγματος είναι καθοριστικός και θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη ώστε να μπορεί να καθοριστεί η προσθήκη οξυγόνου και θρεπτικού υλικού.
- Το pH των στερεών αποβλήτων θα πρέπει να κυμαίνεται μεταξύ 6 και 8, με το ουδέτερο pH (7) να είναι το βέλτιστο (**Atlas, 1981, Dibble, 1979**).
- Τα επίπεδα υγρασίας στο δείγμα θα πρέπει να είναι τέτοια ώστε να επιδρούν θετικά στην συνολική διαδικασία. Πιο συγκεκριμένα, η υπερβολική υγρασία περιορίζει την κίνηση του αέρα μέσα από το υπέδαφος μειώνοντας έτσι τη διαθεσιμότητα του οξυγόνου, καθοριστικού για την βιοαποικοδόμηση. Η ιδανική ποσότητα υγρασίας είναι 12 – 30 %. Το ποσοστό της υγρασίας θα πρέπει να ελέγχεται ανά τακτά χρονικά διαστήματα, καθώς είναι έντονο το φαινόμενο της

εξάτμισης, το οποίο είναι αυξημένο λόγω της μηχανικής ανάδευσης που γίνεται **(Χανιώτης, 2011)**.

- Η θερμοκρασία επηρεάζει άμεσα την ανάπτυξη των μικροοργανισμών-βακτηρίων. Η μικροβιακή δραστηριότητα μειώνεται σημαντικά όταν η θερμοκρασία γίνεται μικρότερη των 10°C και σχεδόν σταματάει χαμηλότερα από 5°C, ενώ επίσης μειώνεται σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες των 45°C **(Χανιώτης, 2011)**.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

4.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στην παρούσα εργασία και σε εργαστηριακή κλίμακα διερευνήθηκε η απόδοση της μεθόδου βιοεξυγίανσης με βιοδιέγερση και βιοενίσχυση σε απόβλητα των Βιομηχανικών Εγκαταστάσεων Ασπροπύργου (ΒΕΑ) και συγκεκριμένα σε απόβλητα που εμπίπτουν στην κατηγορία «Χώματα και πέτρες που περιέχουν επικίνδυνες ουσίες» [ΕΚΑ 17 05 03] σύμφωνα με την: ΕΚΑ (Απ. 2000/532 Ε.Κ) και την ΕΚΕΑ (ΚΥΑ 69728/824). Τα απόβλητα αυτά προκύπτουν από έργα αποκατάστασης σε όλη την ζώνη του διυλιστηρίου συμπεριλαμβανομένου και του καθαρισμού των δεξαμενών εφόσον αναμιγνύονται με έδαφος και η ποσότητά τους εκτιμάται σε περίπου 1000t/έτος.

Το συγκεκριμένο είδος αποβλήτου δεν είναι αναφλέξιμο, διαβρωτικό, ή αντιδραστικό. Έχει σκούρο καστανό-μαύρο χρώμα και έντονη οσμή. Αποτελείται κυρίως από νερό, βαριά κλάσματα υδρογονανθράκων, σκουριές και βαρέα μέταλλα. Σύμφωνα με εργαστηριακές αναλύσεις η ορυκτολογική και κοκκομετρική ανάλυση στο υπό μελέτη δείγμα περιλαμβάνονται στον παρακάτω Πίνακα 2. (Χαχλαδάκης, 2014)

Πίνακας 2: Ορυκτολογική και κοκκομετρική ανάλυση στερεών αποβλήτων διυλιστηρίου

Ορυκτολογική ανάλυση	Ποσοστό (%)
Χαλαζίας	30
Ασβεστίτης	52
Δολομίτης	6
Μαρμαρυγίας	3
Χλωρίτης	2
Πλαγιόκλαστα	5
Αιματίτης	1
Καολινίτης	1
Κοκκομετρική ανάλυση	Ποσοστό (%)
Άμμος	92
Ιλύς	8

Άργιλος	0
USCS κατάταξη	Άμμος (S)

Προτού γίνει εφαρμογή της μεθόδου της βιοεξυγίανσης έλαβε χώρα πλήρης χαρακτηρισμός των υπο μελέτη στερεών αποβλήτων. Προσδιορίστηκε η υγρασία, το περιεχόμενο σε άνθρακα, υδρογόνο, θείο και άζωτο, το περιεχόμενο σε βαρέα μέταλλα, η τοξικότητα, η φυτοτοξικότητα καθώς και όλοι οι φυσικοχημικοί παράγοντες που επηρεάζουν άμεσα τις βιολογικές διεργασίες.

Εργαστηριακά η μέθοδος που χρησιμοποιείται για την εξέταση των παραγόντων βιοεξυγίανσης στηρίζεται στο τροποποιημένο πρωτόκολλο δοκιμής αποτελεσματικότητας των παραγόντων βιοεξυγίανσης που ανέπτυξε η EPA (Environmental Protection Agency) [40 CFR Ch. I, Pt 300, App. C]. Το πρωτόκολλο αυτό σχεδιάστηκε για να καθορίσει την ικανότητα ενός προϊόντος να βιοαποικοδομήσει το πετρέλαιο ποσοτικοποιώντας τις αλλαγές στη σύνθεση του πετρελαίου ως αποτέλεσμα της βιοδιάσπασης. Για την επίτευξη των στόχων αυτών το πρωτόκολλο εξετάζει τη μικροβιακή δραστηριότητα μέσω της ανάλυσης του πιο πιθανού αριθμού (Most Probable Number) και ποσοτικοποιεί την απομάκρυνση των κορεσμένων και πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων (PAHs) και των ολικών πετρελαϊκών υδρογονανθράκων (TPH) με τη χρήση GC/MS (Gas Chromatography/Mass Spectrometry-GC/MS).

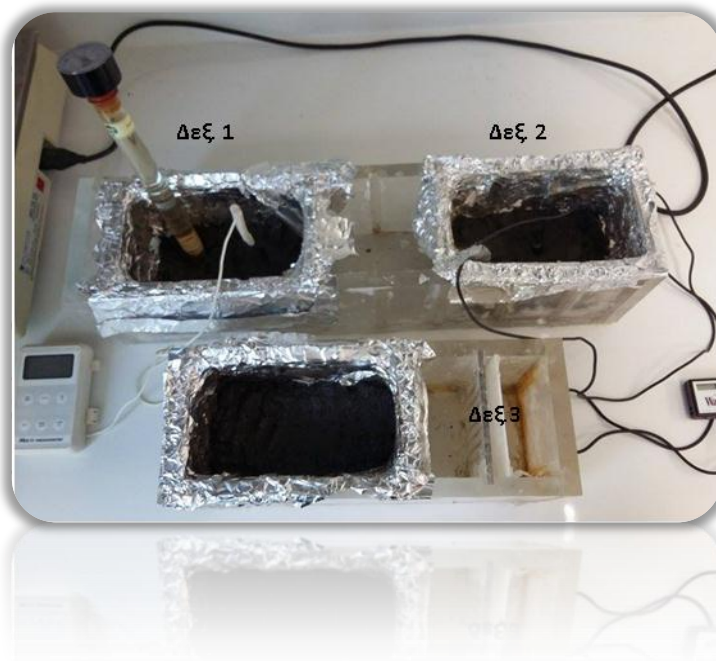
Η πειραματική διαδικασία σε εργαστηριακή κλίμακα πραγματοποιήθηκε σε 3 παράλληλες δεξαμενές (Εικ. 9) διαστάσεων 18cm (μήκος), 10cm (πλάτος), 10cm (ύψος) σε διάστημα 80 ημερών. Συγκεκριμένα:

- Η **1η δεξαμενή** αποτελούταν από το αρχικό χώμα όπως αυτό στάλθηκε από τις Βιομηχανικές Εγκαταστάσεις Ασπροπύργου και χωρίς καμία επεξεργασία (**δεξαμενή οδηγός**).
- Η **2η δεξαμενή** αποτελούταν από το αρχικό χώμα εμπλουτισμένο με κατάλληλο θρεπτικό υλικό με στόχο την σταδιακή αύξηση των μικροοργανισμών (**δεξαμενή βιοδιέγερσης**). Το θρεπτικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε ήταν το Bushnell-Hass medium.
- Η **3η δεξαμενή** αποτελούταν από το αρχικό χώμα εμπλουτισμένο με κατάλληλο θρεπτικό υλικό (Bushnell-Hass medium) και μικροοργανισμούς-αποικοδομητές πετρελαίου (αφού πρώτα έγινε καλλιέργειά τους) με στόχο την ταχύτερη

αποδόμηση των πετρελαϊκών ρύπων (**δεξαμενή βιοενίσχυσης**). Για την καλλιέργεια των μικροοργανισμών αναμίχθηκαν 90ml Bushnell-Hass medium, 10g αρχικού δείγματος και 1ml πετρελαίου και αφέθηκαν σε σταθερή ανάδευση 150rpm (στροφές/λεπτό), στους 20°C για 2 εβδομάδες, προτού προστεθούν στη δεξαμενή.

Καθ'όλη την διάρκεια των πειραμάτων ελέγχονται οι συνθήκες που επηρεάζουν την δράση των μικροοργανισμών (pH, DO, οξειδοαναγωγή, θερμοκρασία, υγρασία).

Αναλυτικότερα, κατά την διεξαγωγή των πειραμάτων πραγματοποιούνται παράλληλα μικροβιολογικές και χημικές αναλύσεις. Οι πρώτες περιλαμβάνουν τις μικροβιακές καλλιέργειες για τον έλεγχο της βιωσιμότητάς, μέσω απαριθμήσεων, των βιοαποδομητών. Οι απαριθμήσεις των βιοαποδομητών έγιναν σύμφωνα με τη μέθοδο του πιο πιθανού αριθμού (MPN- Most Probable Number). Όσον αφορά τις χημικές αναλύσεις, αυτές περιλαμβάνουν την προετοιμασία του δείγματος, με εκχύλιση της φάσης του πετρελαίου σε διχλωρομεθάνιο (DCM) - εκχύλιση υγρής-υγρής φάσης (LLE - Liquid-Liquid Extraction) για την εκτίμηση των PAHs και με εκχύλιση Soxhlet για την εκτίμηση των TPH. Σε τελικό στάδιο, η χημική ανάλυση των δειγμάτων γίνεται με χρήση Αέριου Χρωματογράφου-Φασματομέτρου μάζας υψηλής ανάλυσης (Gas Chromatography/Mass Spectrometry- GC/MS) για τα PAHs και βαρυτομετρικά για τα TPH.



Εικόνα 9: Πειραματική διάταξη με τις δεξαμενές οδηγό (Δεξ. 1), βιοδιέγερσης (Δεξ. 2) και βιοενίσχυσης (Δεξ. 3)

4.2 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΜΟΣ ΣΤΕΡΕΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΔΙΥΛΙΣΤΗΡΙΟΥ

4.2.1 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΥΓΡΑΣΙΑΣ

Για τον προσδιορισμό της υγρασίας ακολουθήκαν τα βήματα σύμφωνα με την πρότυπη μέθοδο ASTM D 2974 ως εξής:

Προζυγίζεται κατάλληλο σκεύος και τοποθετείται σε αυτό 1g δείγματος. Ακολουθεί ξήρανση στο φούρνο της εταιρίας Jouan στους 105°C για 24h. Το δείγμα ζυγίζεται ξανά και αφαιρείται το βάρος του σκεύους. Το ποσοστό της υγρασίας υπολογίζεται ως εξής:

$$\% \text{ υγρασίας} = \frac{Win - Wout}{Win} \times 100$$

Όπου:

- Win: το αρχικό βάρος του δείγματος σε g.
- Wout: το τελικό βάρος του δείγματος μετά την ξήρανση σε g.

4.2.2 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ

Ο προσδιορισμός των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών (pH, οξειδοαναγωγή, διαλυμένο οξυγόνο) των δειγμάτων έγινε σύμφωνα με την πρότυπη μέθοδο εκχύλισης με απιονισμένο νερό DIN 38414 (S4) για κάθε δείγμα. Η μέθοδος εκχύλισης περιλαμβάνει:

- Παρασκευή διαλύματος ξηρού δείγματος και απιονισμένου νερού σε αναλογία 1:10 μέσα σε πλαστικά δοχεία.
- Ανάδευση των δοχείων για 24h στις 250rpm (στροφές/λεπτό).
- Φυγοκέντρωση των δειγμάτων για 15min στις 3500rpm (στροφές/λεπτό).
- Διήθηση των δειγμάτων υπό πίεση κενού με φίλτρο 0,45μm.
- Αποθήκευση των εκχυλισμάτων στους 4°C ή άμεση ανάλυση.

Στην συνέχεια, στα εκχυλίσματα προσδιορίστηκαν οι φυσικοχημικές παράμετροι με χρήση κατάλληλων εργαστηριακών οργάνων.

Η μέτρηση του pH έλαβε χώρα στο Εργαστήριο Τοξικών και Επικινδύνων Αποβλήτων βάσει της πρότυπης μεθόδου D 4972-01. Η μέτρηση του pH έγινε με τη χρήση ποτενσιόμετρου της εταιρίας Crison (Εικ. 10) με ένα σύστημα ευαίσθητου ηλεκτροδίου.



Εικόνα 10: Όργανο μέτρησης pH της εταιρίας Crison

4.2.3 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΣΤΟΙΧΕΙΩΝ C, H, N, S

Μέρος της μεθόδου της στοιχειακής ανάλυσης των δειγμάτων περιλαμβάνει τον προσδιορισμό του άνθρακα (C) του αζώτου (N), του υδρογόνου (H) και του θείου (S). Ο ποσοτικός προσδιορισμός του άνθρακα, του υδρογόνου, του θείου και του αζώτου έγινε με τον αυτόματο στοιχειακό αναλυτή Euro Elemental Analysis CHNS-O.

4.2.4 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΜΕΤΑΛΛΩΝ

ΜΕΘΟΔΟΣ TCLP ΓΙΑ ΥΓΡΟ ΔΕΙΓΜΑ

Η μέθοδος που ακολουθεί αφορά την εξακρίβωση ύπαρξης μετάλλων στο υγρό δείγμα. Συγκεκριμένα, γίνεται προσδιορισμός των εξής μετάλλων: ασβέστιο (Ca), χρώμιο (Cr), νικέλιο (Ni), χαλκός (Cu), ψευδάργυρος (Zn), αρσενικό (As), κάδμιο (Cd), υδράργυρος (Hg) και μόλυβδος (Pb). Η διαδικασία που ακολουθείται είναι η μέθοδος TCLP (Toxicity Characteristics Leaching Procedure) η οποία οριστικοποιήθηκε ως πρότυπη δοκιμή το Μάρτιο του 1990 και επιτρέπει τον προσδιορισμό της τοξικότητας περισσότερων ρύπων σε σχέση με άλλες μεθόδους εκχύλισης όπως η δοκιμή EP (Extraction Procedure). Περιλαμβάνει αρχικά τη δημιουργία δύο διαλυμάτων εκχύλισης. Τα διαλύματα αυτά παρασκευάζονται ως εξής:

1^ο Διάλυμα Εκχύλισης:

- Προσθήκη 5,7 ml CH_3COOH σε 500ml απιονισμένου νερού
- Προσθήκη 64,3 ml 1N NaOH
- Αραίωση με απιονισμένο νερό μέχρι ο τελικός όγκος να φτάσει το 1L
- Το pH του διαλύματος θα πρέπει να είναι $4,93 \pm 0,05$

2^ο Διάλυμα Εκχύλισης:

- Προσθήκη 5,7 ml CH_3COOH σε 500ml απιονισμένου νερού
- Αραίωση με απιονισμένο νερό μέχρι ο τελικός όγκος να φτάσει το 1L
- Το pH του διαλύματος θα πρέπει να είναι $2,88 \pm 0,05$

Έπειτα, ακολουθεί η εξής διαδικασία επιλογής του διαλύματος εκχύλισης:

1. Ζυγίζονται 5g ξηρού δείγματος ιλύος.
2. Μεταφορά υλικού σε κωνική φιάλη 500 ml.

3. Προσθήκη 96,5ml απιονισμένου νερού και τοποθέτηση της κωνικής φιάλης για 5 λεπτά σε υδατόλουτρο WB με μηχανική ανάδευση της εταιρίας Memmert.
4. Καταγραφή ένδειξης pH του διαλύματος και εάν αυτή είναι μικρότερη από 5 χρησιμοποιείται για την πειραματική διαδικασία το 1^ο διάλυμα εκχύλισης.
5. Εάν το pH είναι μεγαλύτερο του 5 προστίθενται στην κωνική 3,5ml 1N HCl και ακολουθεί πολφοποίηση και θέρμανση του διαλύματος σε 50^οC για 10 λεπτά.
6. Μετά την ψύξη του διαλύματος σε θερμοκρασία δωματίου ακολουθεί μέτρηση του pH. Εάν το pH<5, τότε χρησιμοποιείται το 1^ο διάλυμα εκχύλισης ενώ αν το pH>5 χρησιμοποιείται το 2^ο διάλυμα εκχύλισης.

Το pH του συγκεκριμένου δείγματος ήταν μεγαλύτερο του 5 κι έτσι έγινε προσθήκη 3,5ml 1N HCl. Το pH μετράται ξανά και εξακολουθεί να είναι μεγαλύτερο του 5, έτσι γίνεται προσθήκη του 2^{ου} διαλύματος.

Αφού επιλεγεί το κατάλληλο διάλυμα εκτελούνται τα ακόλουθα στάδια της δοκιμής:

1. Παρασκευή 2 διαλυμάτων φρέσκου και ξηρού δείγματος και του επιλεγμένου διαλύματος εκχύλισης σε αναλογία 1:20 (2,5g σε 50ml) σε πλαστικά δοχεία.
2. Τοποθέτηση των δοχείων σε βάση ανακίνησης για 18±2 ώρες στις 30 στροφές/λεπτό.
3. Διήθηση των διαλυμάτων με nylon φίλτρο 0,45μm.
4. Ανάλυση δειγμάτων.

ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΧΩΝΕΥΣΗ ΣΤΟ ΣΤΕΡΕΟ ΔΕΙΓΜΑ

Με τη διαδικασία της χώνευσης πραγματοποιείται μετατροπή του στερεού (κονιορτοποιημένου δείγματος) σε υγρή μορφή με την προσθήκη των κατάλληλων οξέων, με στόχο τη μέτρηση των μετάλλων στο στερεό δείγμα. Η χώνευση γίνεται με τη βοήθεια του φούρνου μικροκυμάτων Mars 6 microwave reactor system CEM (Εικ. 11). Για τη χώνευση των συγκεκριμένων δειγμάτων έγινε επιλογή του προγράμματος Modified glass 3052 από τη λίστα προγραμμάτων του Mars 6 microwave reactor.

Για τον προσδιορισμό τους πραγματοποιήθηκε πλήρης όξινη χώνευση με HNO₃ σύμφωνα με την US EPA 3051A πρότυπη μέθοδο, με χρήση του φούρνου μικροκυμάτων Multiwave

3000 (Anton Paar) στους 180° C, υπό 20 bar πίεση για 15 min και με αναλογία στερεού υγρού 1:100.

Χαρακτηριστικά του προγράμματος Modified glass 3052:

- Θερμοκρασία: 180°C
- Πίεση: 20 bar
- Χρόνος προγράμματος: 15 min
- Ποσότητα δείγματος: 100g
- Αναλογία οξέος: 10ml (HNO₃ και HCl σε αναλογία 1:5)

Μετά την ολοκλήρωση της χώνευσης ακολούθησε προσεκτικό άνοιγμα του κάθε vessel, ακολούθησε διήθηση των δειγμάτων με φίλτρα Whatman 0,45 μm ώστε να απομακρυνθούν τα εναπομείναντα στερεά υπολείμματα και τέλος αραίωση των δειγμάτων με απιονισμένο νερό σε φιαλίδια συνολικού όγκου 40 ml.



Εικόνα 11: Φούρνος μικροκυμάτων Mars 6 microwave reactor system και vessels

4.2.5 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ

Για την εκτίμηση της τοξικότητας του δείγματος στους οργανισμούς και τις πιθανές επιπτώσεις που θα είχε στην υγεία τους η ενδεχόμενη επαφή με το ρυπασμένο χώμα στο πεδίο, προσδιορίστηκε ο δείκτης LC50 (Lethal Concentration, θανατηφόρα συγκέντρωση) ο οποίος εκφράζει τη συγκέντρωση της υπό εξέταση τοξικής ουσίας που προκαλεί θάνατο στο 50% των οργανισμών που χρησιμοποιούνται ως πειραματόζωα.

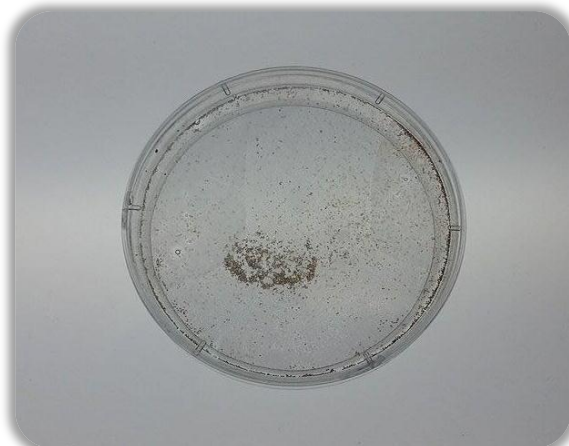
Για την διεξαγωγή του τεστ τοξικότητας χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος DIN 38414 (S4). Οι δοκιμές χρησιμοποιούν τα νεογνά *Daphnia magna* που εκκολάπτονται σε περίπου 3 ημέρες από τα αυγά–εφίππια.

Υλικά και αντιδραστήρια:

- Εφίππια *Daphnia Magna* (συμπυκνωμένο διάλυμα ISO) (Εικ. 12)
- Δισκίο επώασης (Εικ.13)
- Φύλλα parafilm
- Μικροσιφώνια
- Σιφώνια
- Θάλαμος επώασης
- Εμφιαλωμένο μη χλωριωμένο νερό
- Πιάτο με κυψελίδες (Εικ. 17, 18)
- Τραπέζι φωτισμού



Εικόνα 12: Εφίππια *Daphnia Magna*



Εικόνα 13: Δισκίο επώασης

Εκκόλαψη των Εφίππων *Daphnia Magna*

Η διαδικασία που ακολουθείται είναι η εξής: Εκκένωση του φιαλιδίου με τα εφίππια και ξέπλυμα ώστε να απομακρυνθούν όλα τα υπολείμματα. Τα εφίππια μεταφέρονται στο δισκίο επώασης σε 50ml εμφιαλωμένου μη χλωριωμένου νερού, στο οποίο έχει διοχετευτεί αέρας έτσι ώστε να επιτευχθεί η αύξηση του διαλυμένου οξυγόνου. Κάλυψη του δισκίου και επώαση για 3 ημέρες. Η επώαση γίνεται σε θερμοκρασία 20–22° C και με συνεχή φωτισμό (6000lux).

Δημιουργία Διαλυμάτων Αραίωσης Τοξικού Αποβλήτου

Για το συγκεκριμένο πείραμα δημιουργήθηκαν 4 διαλύματα των 50ml από τα εκχυλίσματα της μεθόδου εκχύλισης με απιονισμένο νερό για κάθε ένα από τα δείγματα ιλύος με τις εξής συγκεντρώσεις: 100%, 50%, 25%, 1%.

Πλήρωση κυψελίδων

Η 1^η στήλη του δισκίου επώασης αποτελεί χώρο αποθήκευσης των νεογνών με σκοπό να αποτραπεί η αραίωση της τοξικής ουσίας κατά την διάρκεια της μεταφοράς των νεογνών από το δισκίο εκκόλαψης στις κυψελίδες δοκιμής εξαιτίας του νερού που θα μεταφερθεί αναγκαστικά μαζί με τα νεογνά. Στις επόμενες γραμμές τοποθετούνται τα διαλύματα που παρασκευάστηκαν παραπάνω (10ml /κυψελίδα).

Μεταφορά των νεογνών στις κυψελίδες δοκιμής

Αφού τοποθετηθεί το δισκίο επώασης στην φωτιζόμενη πλάκα μεταφέρονται με μικροσιφώνια 40 (κολυμπώντας ενεργά) νεογνά στις κυψελίδες αποθήκευσης. Στην συνέχεια τοποθετούνται οι κυψελίδες στη φωτιζόμενη πλάκα και μεταφέρονται 10 νεογνά σε κάθε μία κυψελίδα της ίδιας γραμμής με την κυψελίδα αποθήκευσης.

Επώαση των νεογνών εντός των κυψελίδων και σημείωση των αποτελεσμάτων

Αφού τοποθετηθεί ένα φύλλο Parafilm για την κάλυψη των κυψελίδων, τα νεογνά αφήνονται να επωαστούν στους 20° C στο σκοτάδι. Μετά από ένα εικοσιτετράωρο τοποθετούνται οι κυψελίδες στη φωτεινή πλάκα και μετράται ο αριθμός των νεκρών και ακινητοποιημένων οργανισμών στις κυψελίδες.

Υπολογισμός μέσου όρου νεκρών μικροοργανισμών *Daphnia magna* στις κυψελίδες και υπολογισμός ποσοστού θανάτωσης

Ο μέσος όρος των νεκρών μικροοργανισμών για όλες τις κυψελίδες υπολογίζεται ως εξής: Σε κάθε κυψελίδα τοποθετούνται 10 μικροοργανισμοί. Οι κυψελίδες είναι 4 άρα το πλήθος των μικροοργανισμών είναι 40. Υπολογίζεται το άθροισμα των νεκρών μικροοργανισμών από κάθε αραίωση και διαιρείται με το 40. Το ποσοστό των νεκρών μικροοργανισμών είναι ο μέσος όρος επί 100%. Ο μέσος όρος των νεκρών μικροοργανισμών *Daphnia magna* στις

κυψελίδες αναφοράς αφαιρείται από τον αντίστοιχο μέσο όρο για τις υπόλοιπες κυψελίδες, έτσι ώστε τα αποτελέσματα να είναι πιο αξιόπιστα.

4.2.6 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΦΥΤΟΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ

Προκειμένου να εξεταστεί η τοξικότητα του δείγματος στους φυτικούς οργανισμούς και κατά πόσο είναι εφικτή η ανάπτυξή τους στη συγκεκριμένη ποιότητα εδάφους, προσδιορίζεται ο δείκτης βλάστησης (GI, **G**ermination **I**ndex) με τον οποίο εκτιμάται η φυτοτοξικότητα του χώματος. Σύμφωνα με τη συγκεκριμένη μέθοδο, τα αποτελέσματα προκύπτουν από τη βλαστικότητα, δηλαδή την ανάπτυξη της ρίζας αλλά και του βλαστού, 3 ειδών σπόρων στο υπό μελέτη δείγμα και συγκρίνονται με τη βλαστικότητα των ίδιων σπόρων σε πρότυπο δείγμα χώματος.

Υλικά και αντιδραστήρια:

- Πρότυπο έδαφος OECD
- Απιονισμένο νερό
- Θάλαμος επώασης
- Διηθητικό χαρτί
- Τριβλία
- 3 είδη σπόρων

Πειραματική διαδικασία:

Αρχικά ξεκινάμε με την προετοιμασία του πρότυπου δείγματος:

1. Τοποθέτηση στο τριβλίο πρότυπου εδάφους με απιονισμένο νερό σε αναλογία 1:10.
2. Τοποθέτηση σε κατάλληλο μέγεθος, φύλλο διηθητικού χαρτιού.
3. Με τη βοήθεια πιπέτας διοχετεύονται 10ml απιονισμένου νερού πάνω στο διηθητικό χαρτί.

4. Τοποθέτηση σε αραιή διάταξη (ανά 1cm περίπου) 10 σπόρων.

Η διαδικασία πραγματοποιείται για 3 είδη σπόρων και επί 2 φορές για κάθε σπόρο για επαλήθευση των αποτελεσμάτων και για πιο ακριβή δεδομένα. Συνεπώς, ο συνολικός αριθμός των τριβλίων είναι 6 (2 για κάθε σπόρο). Οι σπόροι που χρησιμοποιήθηκαν είναι οι εξής:

- **LES:** *Lepidium sativum*
- **SOS:** *Sorghum saccharatum*
- **SIA:** *Sinapis alba*

Ακολουθεί η προετοιμασία του υπό εξέταση δείγματος με τον ίδιο τρόπο, για τα είδη σπόρων (LES, SOS, SIA) και επί 2 φορές για τον κάθε σπόρο:

1. Τοποθέτηση στο τριβλίο πρότυπου εδάφους με απιονισμένο νερό σε αναλογία 1:10.
2. Τοποθέτηση σε κατάλληλο μέγεθος, φύλλο διηθητικού χαρτιού.
3. Με τη βοήθεια πιπέτας διοχετεύονται 10ml απιονισμένου νερού πάνω στο διηθητικό χαρτί.
4. Τοποθέτηση σε αραιή διάταξη (ανά 1cm περίπου) 10 σπόρων.

Τέλος, όλα τα τριβλία τοποθετούνται σε επωαστικό θάλαμο και παραμένουν εκεί για 3 ημέρες (72 ώρες) στους 25-26° C σε συνθήκες έλλειψης φωτός. Μετά το πέρας των 3 ημερών καταγράφεται ο αριθμός των σπόρων που έχουν βλαστήσει καθώς και το μέγεθος σε mm των ριζών που έχουν αναπτυχθεί σε κάθε τριβλίο, προκειμένου να γίνει ο υπολογισμός του δείκτη βλάστησης και του δείκτη αναστολής βλάστησης των δειγμάτων.

Ο δείκτης βλάστησης υπολογίζεται σύμφωνα με τον παρακάτω τύπο:

$$G.I (\%) = \frac{\Psi}{\chi_0} \times \frac{D}{C} \times 100$$

Όπου:

- Ψ: ο μέσος όρος του αριθμού των σπόρων που βλάστησαν στο υπό εξέταση δείγμα
- Χ₀: ο μέσος όρος των σπόρων που βλάστησαν στα δείγματα αναφοράς
- C: ο μέσος όρος του μήκους των ριζών των σπόρων που βλάστησαν στο δείγμα αναφοράς
- D: ο μέσος όρος του μήκους των ριζών των σπόρων που βλάστησαν στο υπό εξέταση δείγμα

Η τιμή του δείκτη βλάστησης καθορίζει την φυτοτοξικότητα του ρυπασμένου εδάφους ως εξής:

- Δείκτης Βλάστησης = 0-65% το έδαφος χαρακτηρίζεται ως φυτοτοξικό
- Δείκτης Βλάστησης = 66-100% το έδαφος χαρακτηρίζεται ως μη φυτοτοξικό
- Δείκτης Βλάστησης = >100% το έδαφος χαρακτηρίζεται ως φυτοδιεγερτικό

Ο συντελεστής αναστολής βλάστησης προκύπτει από την παρακάτω σχέση:

$$\frac{A-B}{A} \times 100\%$$

Όπου:

- A: ο μέσος όρος του αριθμού των σπόρων που βλάστησαν ή ο μέσος όρος του μήκους των ριζών των σπόρων που βλάστησαν στο δείγμα αναφοράς
- B: ο μέσος όρος του αριθμού των σπόρων που βλάστησαν ή ο μέσος όρος του μήκους των ριζών των σπόρων που βλάστησαν στο υπό εξέταση δείγμα

4.3 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΠΟΔΟΜΗΤΩΝ ΚΑΙ ΡΥΠΩΝ

4.3.1 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΠΟΔΟΜΗΤΩΝ ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΥ

ΜΕΘΟΔΟΣ MPN (Most Probable Number)

Αποτελεί μία μέθοδο για την εκτίμηση της συγκέντρωσης των βιώσιμων μικροοργανισμών στο δείγμα. Προκειμένου να διαπιστωθεί η ύπαρξη βιοαποδομητών πετρελαίου αλλά και να ερευνηθεί η προσδοκώμενη αύξησή τους, η μέθοδος MPN εφαρμοζόταν σε εβδομαδιαία βάση. Στόχος ήταν να διασφαλιστεί η ύπαρξη των μικροοργανισμών ακόμη και σε μικρές συγκεντρώσεις του δείγματος καθώς και να διαπιστωθεί εάν με το πέρασ των ημερών και με την προσθήκη θρεπτικού υλικού υπήρχε σταδιακή αύξησή τους. Σύμφωνα με τη μέθοδο το 1^ο βήμα ήταν οι διαδοχικές αραιώσεις του δείγματος (στη συγκεκριμένη περίπτωση μέχρι την 10⁻⁷) με θρεπτικό υλικό, έτσι ώστε να εξεταστεί μέχρι ποιά αραιώση υπήρχε ανάπτυξη μικροοργανισμών. Σε επόμενο στάδιο πραγματοποιούνταν η τοποθέτηση των αραιώσεων σε ειδικά MPN microplates σύμφωνα με τη διαδικασία που ακολουθεί παρακάτω και επώασή τους για 14 ημέρες στους 20°C. Τέλος, την 15^η ημέρα γινόταν προσθήκη κατάλληλης χρωστικής προκειμένου να γίνει καταμέτρηση των κελιών που παρουσίαζαν κόκκινο ή ροζ χρώμα και να προκύψουν τα αποτελέσματα με χρήση ειδικά σχεδιασμένου προγράμματος από την EPA (Εικ. 19) στον υπολογιστή.

Υλικά και αντιδραστήρια:

- 96 MPN microplates
- Ογκομετρικές φιάλες
- Σωλήνες αραιώσης
- Ηλεκτρονικές πιπέτες
- Σιφώνιο
- Ζυγαριά ακριβείας
- Μηχανικός αναδευτήρας
- Φούρνος ξήρανσης

- Πετρέλαιο εμπορίου
- Βαφή INT (p-iodonitrotetrazolium violet)
- Θρεπτικό υλικό Bushnell-Hass medium

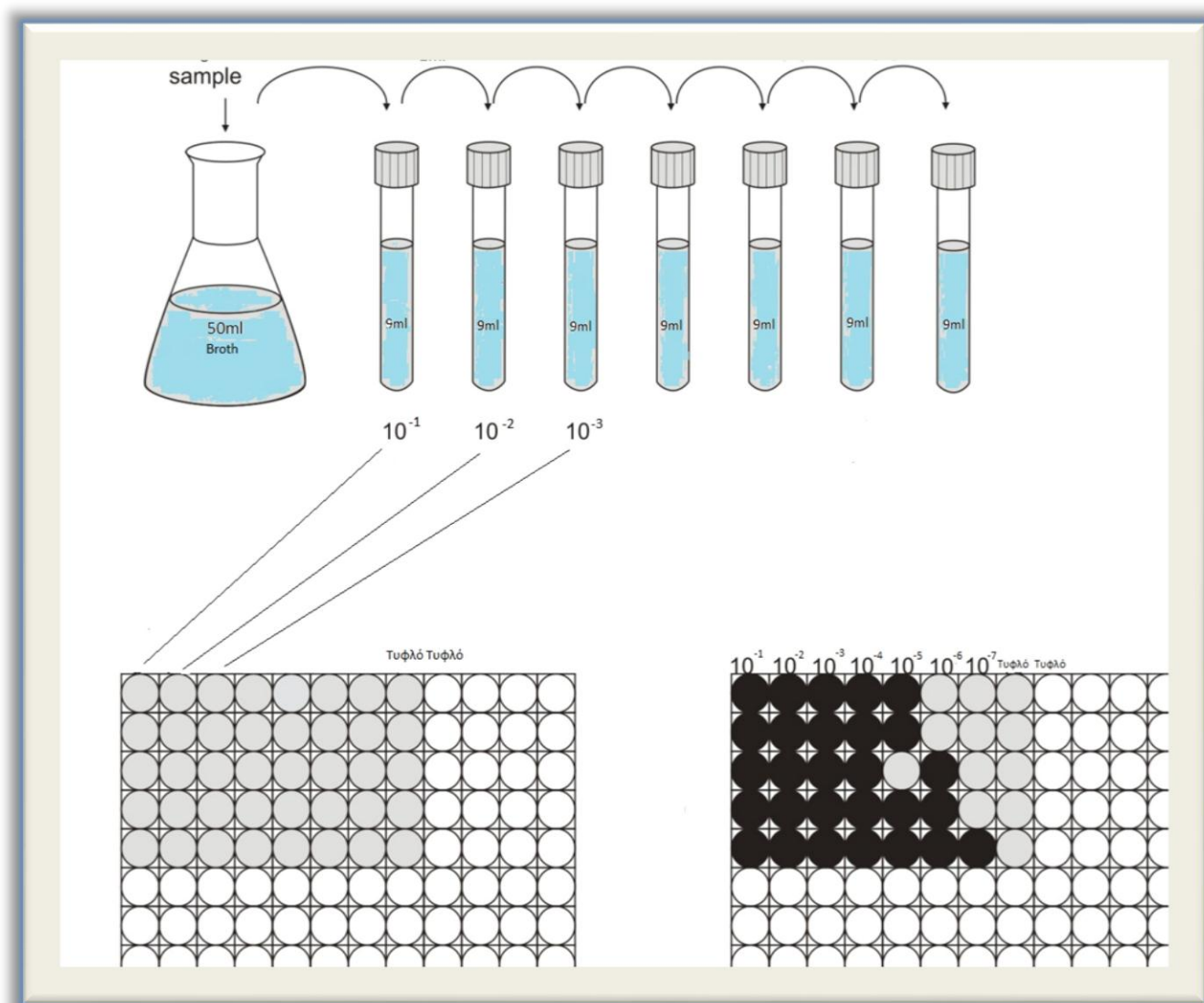
Πειραματική διαδικασία

Πριν την τοποθέτηση στα microplates εκτελούνται οι απαραίτητες αραιώσεις (Εικ. 14) και για τα 3 δείγματα (δεξαμενή 1, 2 και 3). Η διαδικασία περιλαμβάνει τα εξής βήματα:

Αρχικά λαμβάνονται 5g ρυπασμένου χώματος και από τις 3 δεξαμενές, αναμιγνύονται έκαστη με 50ml Bushnell-Hass Broth και αναδεύονται για 30 λεπτά σε μηχανικό αναδευτήρα στις 170 στροφές/λεπτό. Έπειτα, γίνεται μεταφορά 1ml ύδατος από τις φιάλες που αναδεύσαμε σε αποστειρωμένους σωλήνες αραιώσης που περιέχουν 9ml Bushnell-Hass. Τέλος, εκτελούνται τμηματικές αραιώσεις λαμβάνοντας κάθε φορά 1ml από την προηγούμενη αραιώση και τοποθέτηση σε αποστειρωμένο σωλήνα αραιώσης που περιέχει 9ml Bushnell-Hass μέχρι την 10^{-7} αραιώση. Στην συνέχεια, ακολουθεί η παρακάτω διαδικασία (Εικ. 13) σε συνθήκες αποστείρωσης (με κάθε σκεύος που χρησιμοποιείται να είναι αποστειρωμένο):

1. Προσθήκη 4x20μl δείγματος από την κάθε αραιώση στα microplates (κάθε στήλη αποτελεί και από μία αραιώση και επαναλαμβάνεται επί 4 φορές για ακριβέστερα αποτελέσματα).
2. Προσθήκη 5μl πετρελαίου σε κάθε πηγαδάκι.
3. Προσθήκη 180μl B-H broth (θρεπτικό υλικό) σε κάθε πηγαδάκι.
4. Στις 2 πρώτες στήλες, στα 4 τελευταία πηγαδάκια γίνεται αυθαίρετα (χωρίς να περιλαμβάνεται στη μέθοδο) προσθήκη δείγματος της αντίστοιχης αραιώσης και προσθήκη θρεπτικού προκειμένου να μελετηθεί η συμπεριφορά των μικροοργανισμών χωρίς την προσθήκη επιπλέον πετρελαίου (5μl).
5. Στις 2 τελευταίες στήλες (8 πηγαδάκια) δεν γίνεται προσθήκη μολυσμένου δείγματος και λειτουργούν ως τυφλά.
6. Τα microplates τοποθετούνται στον επωαστήρα στους 20°C για 14 ημέρες.

7. Προσθήκη 50μl χρωματικής ουσίας INT σε κάθε πηγαδάκι την 15^η ημέρα (η παρασκευή της χρωστικής γίνεται με διάλυση 3mg ml⁻¹ INT σε απιονισμένο νερό, ανάδευση για 1 ώρα και φιλτράρισμα από αποστειρωμένο φίλτρο μεγέθους 0,22μm).
8. Τοποθέτηση των microplates ξανά στον επωαστήρα για 24 ώρες.
9. Προσδιορισμός αλλαγής χρώματος στα πηγαδάκια (η εμφάνιση κόκκινου ή ροζ χρώματος πιστοποιεί θετική ένδειξη).



Εικόνα 14: Παρασκευή διαλυμάτων και τοποθέτηση σε τριβλίο

Ο υπολογισμός του πιο πιθανού αριθμού βιοαποδομητών πετρελαίου (MPN) έγινε με χρήση του Most Probable Number (MPN) Calculator Version 2.0 της United States Environmental Protection Agency (EPA). Το λογισμικό υπολογίζει τον πιθανό αριθμό βιοαποδομητών ανά g ξηρού δείγματος με δεδομένα, την ποσότητα του δείγματος, τον αριθμό των αραιώσεων, τον αριθμό των επαναλήψεων και τον αριθμό των θετικών κυψελίδων.

4.3.2 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ PAHs (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons)

ΜΕΘΟΔΟΣ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ ΜΕ ΥΠΕΡΗΧΟΥΣ

Η συγκεκριμένη μέθοδος πραγματοποιείται με στόχο τον προσδιορισμό των Πολυκυκλικών Αρωματικών Υδρογονανθράκων (PAHs) στο στερεό δείγμα. Η διαδικασία είναι απαραίτητη καθώς ο προσδιορισμός είναι αδύνατο να γίνει σε στερεό δείγμα και συνεπώς απαιτείται η μετατροπή του σε υγρό δείγμα. Η μέθοδος απαιτεί την προσθήκη κατάλληλου διαλύτη (διχλωρομεθάνιο) και περιλαμβάνει 4 επιμέρους διαδικασίες οι οποίες είναι η παρασκευή των διαλυμάτων, οι υπέρηχοι με απιονισμένο νερό, η φυγοκέντρηση και η τελική εκχύλιση των δειγμάτων. Στόχος της μεθόδου είναι η όσο το δυνατόν μεγαλύτερη απομάκρυνση του διαλύτη και η παραμονή του ρύπου (PAHs). Τέλος, αφού γίνει συλλογή του ρύπου με μικρή ποσότητα (1ml) εξανίου γίνεται μεταφορά του στον Αέριο Χρωματογράφο-Φασματοόμετρο μάζας υψηλής ανάλυσης (Gas Chromatography/Mass Spectrometry-GC/MS) για τη διεξαγωγή των αποτελεσμάτων.

Υλικά και αντιδραστήρια:

- Διχλωρομεθάνιο
- Εξάνιο
- Θειικό Νάτριο(Na_2SO_4)
- Κωνικές φιάλες για εξατμιστήρα

- Ποτήρια ζέσεως
- Σύριγγες των 5ml
- Γυάλινα και πλαστικά μπουκαλάκια
- Φίλτρα διήθησης 0,45μm

Παρασκευή διαλυμάτων:

Δείγμα μολυσμένου χώματος

1. 1g χώματος (από κάθε μία από τις 3 δεξαμενές)
2. 10ml DCM (διχλωρομεθάνιο)
3. 1g Na₂SO₄ (θειϊκόνάτριο)

Υπέρηχοι με απιονισμένο νερό:

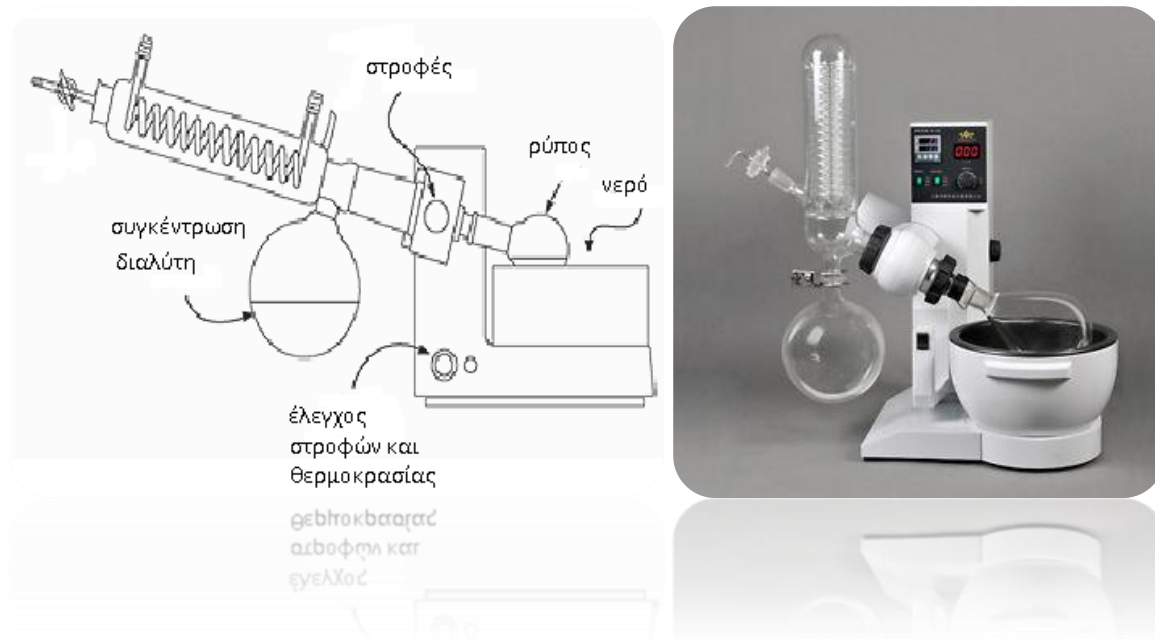
Τα παραπάνω δείγματα τοποθετούνται στη συσκευή υπερήχων για 1 λεπτό. Έπειτα, αναδεύονται χειρωνακτικά για 30 δευτερόλεπτα. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται 3 φορές. Στη συνέχεια γίνεται προσθήκη 10ml DCM και στα τρία διαλύματα και επαναλαμβάνεται η διαδικασία των υπερήχων. Τέλος, γίνεται προσθήκη άλλων 10ml DCM και πραγματοποιείται ακόμη μία φορά ο υπέρηχος με τις 3 επαναλήψεις.

Φυγοκέντρωση:

Τα διαλύματα φυγοκεντρούνται για 15 λεπτά στις 3500rpm (στροφές/λεπτό).

Εκχύλιση:

Τα μολυσμένα δείγματα μεταφέρονται σε περιστροφικό εξατμηστήρα (rotary evaporator) (Εικ. 15) όπου αναδεύονται στις 70 στροφές, σε θερμοκρασία 50°C για 5 λεπτά έως ότου εξατμιστεί όλη η ποσότητα του διχλωρομεθανίου. Στην συνέχεια, γίνεται προσθήκη 1ml εξάνιου και κυκλική ανάδευση της κάθε φιάλης 3 φορές προκειμένου να ξεπλυθεί ο ρύπος από τα τοιχώματα του σκεύους. Με μία σύριγγα γίνεται συλλογή του μολυσμένου εξανίου και διήθηση υπό πίεση κενού με φίλτρο 0,45μm. Τέλος, γίνεται αποθήκευση των εκχυλισμάτων στους 4°C ή άμεση ανάλυση.



Εικόνα 15: Περιστροφικός εξατμηστήρας (rotary evaporator)

4.3.3 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΡΗ (Total Petroleum Hydrocarbons)

ΕΚΧΥΛΙΣΗ SOXHLET

Η μέθοδος που χρησιμοποιείται είναι η 3540C της EPA (Environmental Protection Agency) και αποτελεί μία διαδικασία εκχύλισης οργανικών συστατικών από στερεό δείγμα. Η εκχύλιση πραγματοποιείται με τη χρήση της συσκευής Soxhlet με την οποία διασφαλίζεται η αποτελεσματική επαφή του δείγματος με το διαλύτη της εκχύλισης. Το εκχύλισμα που προκύπτει συμπυκνώνεται ώστε να προσδιοριστεί βαρυτομετρικά η ποσότητα των ΤΡΗ (Total Petroleum Hydrocarbons) του υπό εξέταση δείγματος.

Υλικά και αντιδραστήρια:

Η συσκευή Soxhlet (Εικ. 16) αποτελείται από τα παρακάτω μέρη:

- Μια γυάλινη σφαιρική φιάλη των 500ml στην οποία τοποθετείται η απαιτούμενη ποσότητα διαλύτη για την εκχύλιση

- Θερμαντική συσκευή
- Εκχυλιστήρας Soxhlet
- Υποδοχέας δείγματος
- Ψυκτήρας

Επιπλέον χρειάζονται:

- Γιάλυνες σφαιρικές φιάλες των 500ml
- Γιάλυνα σφαιρίδια βρασμού
- Συσκευή εξάτμισης
- Χάρτινοι ηθμοί ή υαλοβάμβακας
- Φιαλίδια των 4ml
- Ογκομετρικές φιάλες των 10ml
- Άνυδρο θειικό νάτριο (Na_2SO_4)
- Εξάνιο
- Ακετόνη

Πειραματική διαδικασία:

Ζυγίζονται 10g δείγματος και 10g άνυδρου θειικού νατρίου, αναμιγνύονται καλά ώστε το μίγμα να «ρέει» και τοποθετούνται σε χάρτινο ηθμό και στον υποδοχέα του δείγματος ο οποίος και τοποθετείται μέσα στον εκχυλιστήρα Soxhlet. Στη συνέχεια, τοποθετούνται 300ml μίγματος εξανίου-ακετόνης σε αναλογία 1:1 στη σφαιρική φιάλη των 500ml. Στη φιάλη τοποθετούνται και 5 σφαιρίδια βρασμού ώστε να εξασφαλίζεται ομαλός βρασμός. Η φιάλη τοποθετείται στη θερμαντική συσκευή και προσαρμόζονται σε αυτή ο εκχυλιστήρας Soxhlet και ο ψυκτήρας. Η θέρμανση ξεκινά 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 γυάλινη στήλη πληρωμένη με υαλοβάμβακα και θειικό νάτριο σε ύψος 10cm προκειμένου να απομακρυνθεί το περιεχόμενο νερό. Το εκχύλισμα συλλέγεται σε νέα σφαιρική φιάλη όπου συλλέγονται και 100ml μίγματος εξανίου-ακετόνης με το οποίο ξεπλένεται η αρχική φιάλη των 500ml και το θειικό νάτριο της στήλης. Η νέα φιάλη οδηγείται σε περιστροφικό

εξατμιστήρα (rotary evaporator) όπου εξατμίζεται ο διαλύτης μέχρι τελικού όγκου περίπου 2ml. Προζυγίζεται φιαλίδιο των 4ml και μεταφέρονται σε αυτό τα 2ml εκχυλίσματος. Το φιαλίδιο τοποθετείται σε θερμαντική συσκευή προκειμένου να εξατμιστεί ο διαλύτης σε ρεύμα αζώτου. Το φιαλίδιο ξαναζυγίζεται και προσδιορίζεται το βάρος του ρύπου από τη διαφορά των δύο ζυγίσεων.

Προσδιορισμός ποσοστού υγρασίας του δείγματος

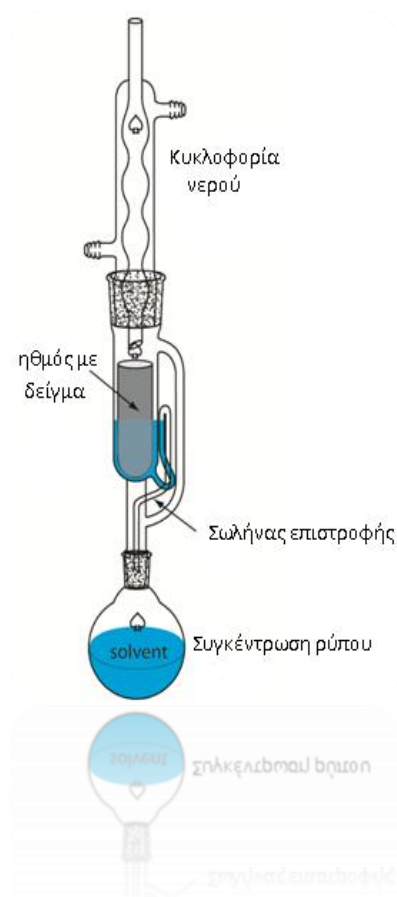
Προζυγίζεται κατάλληλο σκεύος και τοποθετείται σε αυτό 1g δείγματος. Ακολουθεί ξήρανση στο φούρνο στους 105°C για 24h. Το δείγμα ζυγίζεται ξανά και αφαιρείται το βάρος του σκεύους. Το ποσοστό της υγρασίας υπολογίζεται ως εξής:

$$\% \text{ υγρασίας} = \frac{W_{in} - W_{out}}{W_{in}} \times 100$$

Όπου:

- W_{in} : το αρχικό βάρος του δείγματος σε g.
- W_{out} : το τελικό βάρος του δείγματος μετά την ξήρανση σε g.

Τα δεδομένα επεξεργάζονται από κατάλληλο πρόγραμμα πιστοποιημένο από την EPA για να προκύψουν τα τελικά αποτελέσματα.



Εικόνα 16: Συσκευή Soxhlet

4.4 ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗΣ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΒΙΟΕΞΥΓΙΑΝΣΗΣ

Καθ'όλη τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας εξασφαλιζονταν όσο το δυνατόν βέλτιστες συνθήκες (θερμοκρασία, αερισμός, υγρασία) με στόχο την επιβίωση, ανάπτυξη και αποδοτικότερη δράση των μικροοργανισμών-αποδομητών. Αναλυτικά:

- Η θερμοκρασία κυμαινόταν γύρω στους 23°C χρησιμοποιώντας σύστημα κλιματισμού στο χώρο όπου βρίσκονταν οι δεξαμενές και η παρακολούθησή της γινόταν σε καθημερινή σχεδόν βάση με ηλεκτρονικούς αισθητήρες που είχαν

τοποθετηθεί στο εσωτερικό των 3 δεξαμενών. Αναφέρεται ότι η μικροβιακή δραστηριότητα μειώνεται σημαντικά όταν η θερμοκρασία γίνεται μικρότερη των 10°C και σχεδόν σταματάει χαμηλότερα από 5°C, ενώ επίσης μειώνεται σε θερμοκρασίες μεγαλύτερες των 45°C.

- Ο απαραίτητος αερισμός πραγματοποιούταν με χειρωνακτική ανάδευση των τριών δεξαμενών ανά 3 ήμερες.
- Όσον αφορά την υγρασία, στη δεξαμενή 1 (οδηγός) γινόταν προσθήκη απιονισμένου νερού (50-100ml) ανά 3-4 ήμερες ενώ στις δεξαμενές 2 και 3 γινόταν αντίστοιχα προσθήκη θρεπτικού υλικού Bushnell-Hass medium (50-100ml) ανά 3-4 ήμερες, προκειμένου το ποσοστό υγρασίας να κυμαίνεται στο 30% και στις 3 δεξαμενές. Έλεγχος του ποσοστού υγρασίας πραγματοποιούταν ανά 7 ήμερες, λαμβάνοντας ποσότητα δείγματος από κάθε δεξαμενή (1g) και ακολουθώντας τη διαδικασία ξήρανσης (παρ. 4.2.1). Σε γενικές γραμμές η υπερβολική υγρασία περιορίζει την κίνηση του αέρα μέσα από το υπέδαφος μειώνοντας έτσι τη διαθεσιμότητα του οξυγόνου, διαμορφώνοντας την ιδανική ποσότητα υγρασίας στο 12 – 30%.

Για την αποτελεσματική παρακολούθηση των 3 δεξαμενών (Πίνακας 3) και προκειμένου να διαπιστωθεί η απόδοση της μεθόδου της βιοαποδόμησης πραγματοποιούνταν σε εβδομαδιαία βάση οι εξής διαδικασίες:

- Εκχύλιση ποσότητας δείγματος από κάθε δεξαμενή για την παρακολούθηση του pH, του διαλυμένου οξυγόνου (DO) και του δυναμικού οξειδοαναγωγής (παρ. 4.2.6), προκειμένου να διασφαλιστεί η σταθερότητα της ποιότητας των δειγμάτων. Αναφέρεται ότι το pH των στερεών αποβλήτων θα πρέπει να κυμαίνεται μεταξύ 6 και 8.
- Η μέθοδος του πιο πιθανού αριθμού (Most Probable Number, παρ. 4.3.1) προκειμένου να διασφαλιστεί η ύπαρξη μικροοργανισμών-βιοαποδομητών πετρελαίου αλλά και να ερευνηθεί η προσδοκώμενη αύξησή τους, κυρίως στις δεξαμενές 2 και 3. Η μέθοδος λάμβανε χώρα και για τις 3 δεξαμενές.

Τέλος, όσον αφορά την παρακολούθηση των ρύπων:

- Για τον έλεγχο των PAHs, η μέθοδος εκχύλισης με υπερήχους πραγματοποιούνταν και για τις τρεις δεξαμενές ανά 10-20 (παρ 4.3.2). Μέτρηση έγινε και στο αρχικό δείγμα όπως αυτό στάλθηκε απο τις Βιομηχανικές Εγκαταστάσεις Ασπροπύργου για την εκτίμηση της αρχικής συγκέντρωσης του ρύπου.
- Για την παρακολούθηση των TPH, πραγματοποιήθηκε μέτρηση 3 φορές κατά τη διάρκεια του πειράματος και για τις 3 δεξαμενές με τη μέθοδο της εκχύλισης Soxhlet (παρ. 3.3.3). Η μέθοδος εφαρμόστηκε στο αρχικό δείγμα για την εκτίμηση της αρχικής συγκέντρωσης του ρύπου κι ακολούθως άλλες δύο φορές, έπειτα από 40 και 80 ημέρες.

Πίνακας 3: Παρακολούθηση δεξαμενών

Χρόνος	Διεργασία
Καθημερινά	Μέτρηση θερμοκρασίας
Ανά 3 ημέρες	Αερισμός
Ανά 3-4 ημέρες	Προσθήκη υγρασίας
Εβδομαδιαία	Παρακολούθηση υγρασίας
	Παρακολούθηση φυσικοχημικών χαρακτηριστικών
	Μέθοδος MPN
Ανά 10-20 ημέρες	Παρακολούθηση PAHs
Ανά 40 ημέρες	Παρακολούθηση TPH

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ

Στο παρόν κεφάλαιο παρουσιάζονται αναλυτικά τα αποτελέσματα των πειραματικών αναλύσεων που πραγματοποιήθηκαν τόσο για τον χαρακτηρισμό του υπό εξέταση δείγματος, όσο και για την παρακολούθηση της πορείας των υπό μελέτη ρύπων καθώς παρατίθεται και ο σχολιασμός αυτών.

5.1 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΥΓΡΑΣΙΑΣ

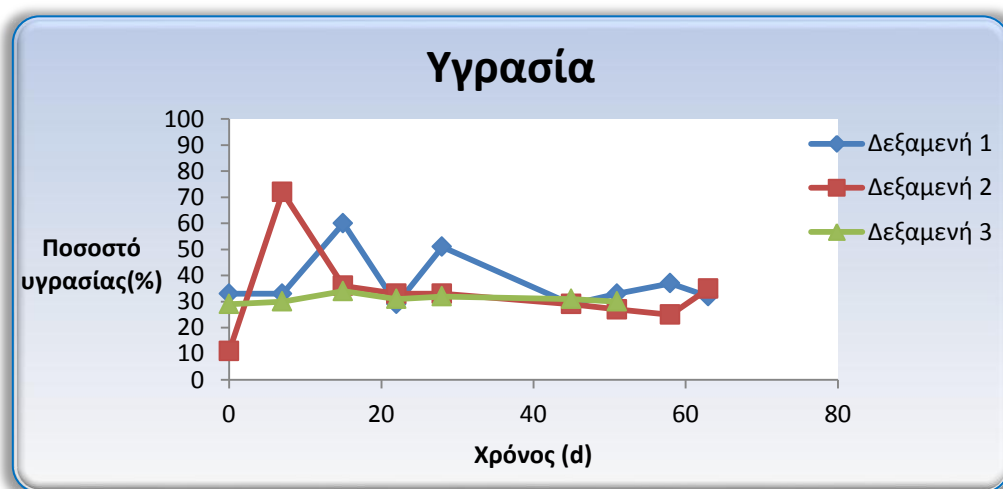
Τα αποτελέσματα των πειραμάτων προσδιορισμού της %-περιεκτικότητας σε υγρασία για τις 3 δεξαμενές σε διάστημα 63 ημερών παρουσιάζονται στον Πίνακα 4 που ακολουθεί:

Πίνακας 4: Ποσοστό υγρασίας για τις 3 δεξαμενές

ΠΟΣΟΣΤΟ ΥΓΡΑΣΙΑΣ (%)			
Χρόνος (d)	Δεξ. οδηγός(1)	Δεξ. βιοδιέγερσης(2)	Δεξ. βιοενίσχυσης(3)
0	33	11	29
7	33	72	30
15	60	36	34
22	29	33	31
28	51	33	32
45	29	29	31
51	33	27	30
58	37	25	
63	32	35	

Παρατηρώντας τις τιμές του ποσοστού υγρασίας για τις 3 δεξαμενές διαπιστώνεται ότι η υγρασία κυμαίνεται στο 30% με μικρές διακυμάνσεις. Σημειώνεται ότι το επιθυμητό

ποσοστό για την αποτελεσματικότερη δράση των αυτόχθονων μικροοργανισμών είναι 15-30% (Χανιώτης, 2011) και για το λόγο αυτό έγινε προσπάθεια διατήρησής του σε αυτό το εύρος τιμών με προσθήκη απιονισμένου νερού στη Δεξαμενή Οδηγό και θρεπτικού υλικού στις Δεξαμενές βιοδιέγερσης και βιοενίσχυσης. Καθώς η παρακολούθηση της υγρασίας δεν γινόταν με κάποιον εργαστηριακό αισθητήρα παρά με οπτική εκτίμηση και εβδομαδιαία ξήρανση στο φούρνο για επαλήθευση, ορισμένες τιμές είναι εκτός των επιθυμητών ορίων. Συγκεκριμένα, αναφέρεται το 11% και 72% στη Δεξαμενή βιοδιέγερσης και το 60% στη Δεξαμενή οδηγό, τιμές που ενδέχεται να επηρέασαν τη δράση των μικροοργανισμών στις συγκεκριμένες ημέρες (η υπερβολική υγρασία περιορίζει την κίνηση του αέρα μέσα από το υπέδαφος μειώνοντας έτσι τη διαθεσιμότητα του οξυγόνου, ενώ η έλλειψη υγρασίας αναστέλλει τη δράση των μικροοργανισμών), όχι όμως σε μεγάλο βαθμό εφόσον τα επίπεδα υγρασίας επανήλθαν τις επόμενες ημέρες στα επιθυμητά. Στη συνέχεια, παρατίθεται και το γράφημα (Διάγραμμα 1) του ποσοστού υγρασίας για τις 3 δεξαμενές.



Διάγραμμα 1: Ποσοστό υγρασίας για κάθε δεξαμενή

5.2 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΙΚΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ

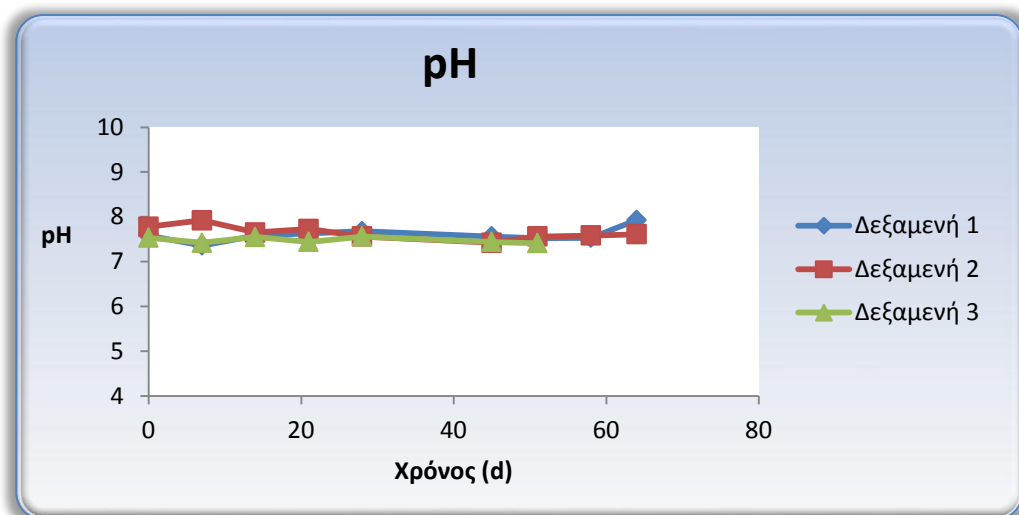
5.2.1 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ pH

Τα αποτελέσματα μέτρησης του pH για τις 3 δεξαμενές σε διάστημα 64 ημερών παρουσιάζονται στον Πίνακα 5 που ακολουθεί:

Πίνακας 5: Προσδιορισμός pH για τις 3 δεξαμενές

pH			
Χρόνος (d)	Δεξ. οδηγός(1)	Δεξ. βιοδιέγερσης(2)	Δεξ. βιοενίσχυσης(3)
0	7,58	7,78	7,53
7	7,36	7,92	7,42
14	7,58	7,65	7,55
21	7,63	7,73	7,44
28	7,68	7,56	7,56
45	7,56	7,42	7,44
51	7,52	7,56	7,41
58	7,53	7,58	
64	7,93	7,61	

Όσον αφορά το pH του υπό εξέταση δείγματος παρατηρείται ότι και για τις 3 δεξαμενές διατηρείται σταθερό περίπου στο 7,5 με μικρές διακυμάνσεις, με τη μεγαλύτερη τιμή να σημειώνεται στη Δεξαμενή οδηγό την 64^η ημέρα (7,93) και τη μικρότερη επίσης στη Δεξαμενή οδηγό την 7^η ημέρα (7,36). Το pH διατηρείται σχεδόν ουδέτερο και στις 3 δεξαμενές, γεγονός επιθυμητό αφού όπως αναφέρεται το ουδέτερο pH (7) ευνοεί τη αποικοδομητική δράση των μικροοργανισμών του εδάφους (Atlas, 1981, Sharma, 2014, Atagana, 2004). Ακολουθεί το γράφημα των μετρήσεων pH για τις 3 δεξαμενές.



Διάγραμμα 2: Αποτελέσματα pH για κάθε δεξαμενή

5.2.2 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΔΙΑΛΥΜΕΝΟΥ ΟΞΥΓΟΝΟΥ (DO) ΚΑΙ ΔΥΝΑΝΑΜΙΚΟΥ ΟΞΕΙΔΟΑΝΑΓΩΓΗΣ

Τα αποτελέσματα μέτρησης του διαλυμένου οξυγόνου και του δυναμικού οξειδοαναγωγής για τις 3 δεξαμενές σε διάστημα 64 ημερών παρουσιάζονται στους Πίνακες 6 και 7 που ακολουθούν:

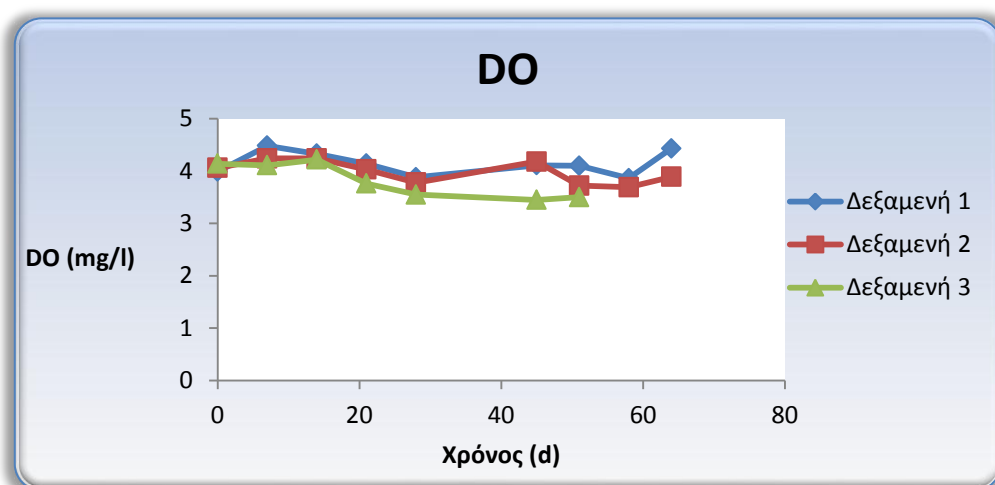
Πίνακας 6: Προσδιορισμός διαλυμένου οξυγόνου

Χρόνος (d)	DO (mg/l)		
	Δεξ. οδηγός(1)	Δεξ. βιοδιέγερσης(2)	Δεξ. βιοενίσχυσης(3)
0	3,99	4,06	4,14
7	4,48	4,24	4,11
14	4,33	4,24	4,22
21	4,14	4,03	3,76
28	3,88	3,78	3,55
45	4,11	4,18	3,45
51	4,10	3,72	3,50
58	3,86	3,69	
64	4,43	3,89	

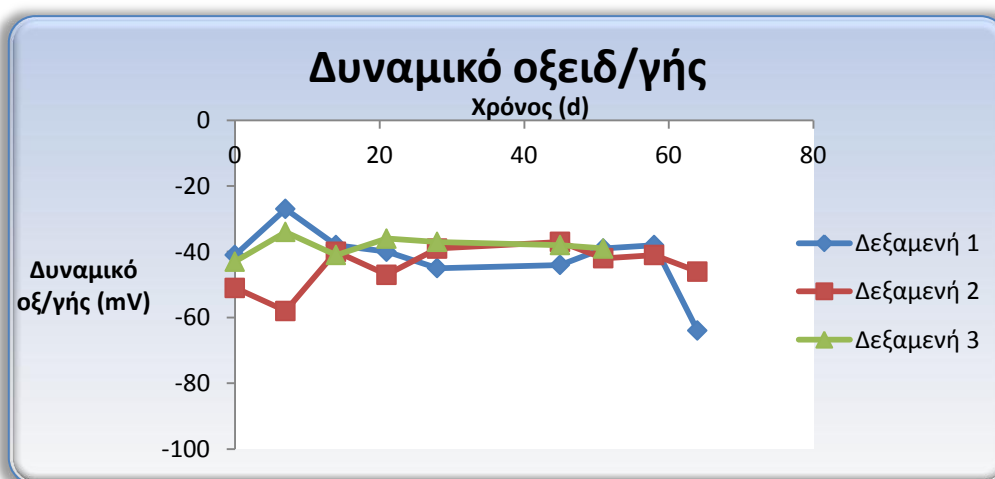
Πίνακας 7: Αποτελέσματα Δυναμικού Οξειδοαναγωγής για κάθε δεξαμενή

Χρόνος (d)	ΔΥΝΑΜΙΚΟ ΟΞΕΙΔΟΑΝΑΓΩΓΗΣ (mV)		
	Δεξ. οδηγός(1)	Δεξ. βιοδιέγερσης(2)	Δεξ. βιοενίσχυσης(3)
0	-41	-51	-43
7	-27	-58	-34
14	-38	-40	-41
21	-40	-47	-36
28	-45	-39	-37
45	-44	-37	-38
51	-39	-42	-39
58	-38	-41	
64	-64	-46	

Το διαλυμένο οξυγόνο διατηρείται περίπου σταθερό στα 4mg/l με μικρές αυξομειώσεις για κάθε δεξαμενή που ενδεχομένως οφείλονται στα επίπεδα υγρασίας και οξυγόνου (έπειτα από επαρκή ή μη αερισμό) τις εκάστοτε ημερομηνίες. Όσον αφορά το δυναμικό οξειδοαναγωγής, παρατηρείται ότι οι τιμές κυμαίνονται μεταξύ -35 και -45mV σε όλες τις δεξαμενές, με την Δεξαμενή οδηγό να παρουσιάζει τη χαμηλότερη τιμή στα -64mV. Ακολουθούν τα αντίστοιχα γραφήματα για κάθε δεξαμενή.



Διάγραμμα 3: Αποτελέσματα Διαλυμένου Οξυγόνου για κάθε δεξαμενή



Διάγραμμα 4: Αποτελέσματα Δυναμικού οξειδοαναγωγής για κάθε δεξαμενή

5.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΣΤΟΙΧΕΙΩΝ C, H, N, S

Στους Πίνακες 8, 9 και 10 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του αζώτου, άνθρακα, υδρογόνου και θείου για κάθε μία από τις 3 δεξαμενές σε διάστημα 80, 80 και 40 ημερών αντίστοιχα:

Πίνακας 8 Αποτελέσματα N, C, H, S για τη Δεξαμενή Οδηγό

ΔΕΞ. ΟΔΗΓΟΣ(1)				
Χρόνος (d)	% N	% C	% H	% S
0	0,176	13,009	0,904	1,728
20	0,174	12,491	0,734	1,391
40	0,169	11,519	0,682	1,687
60	0,153	11,746	0,833	1,393
80	0,124	11,061	0,624	

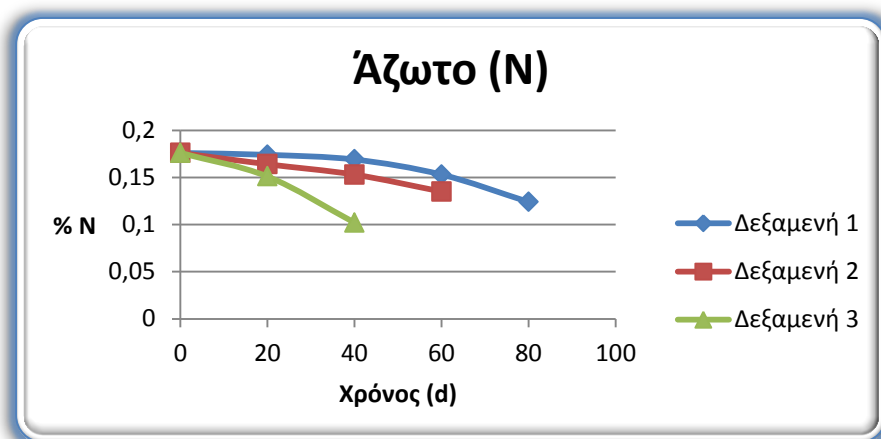
Πίνακας 9: Αποτελέσματα N, C, H, S για τη Δεξαμενή βιοδιέγερσης

ΔΕΞ. ΒΙΟΔΙΕΓΕΡΣΗΣ(2)				
Χρόνος (d)	% N	% C	% H	% S
0	0,176	13,009	0,904	1,728
20	0,164	12,216	1,205	1,671
40	0,153	12,146	0,933	1,393
80	0,135	10,927	0,658	

Πίνακας 10: Αποτελέσματα N, C, H, S για τη Δεξαμενή βιοενίσχυσης

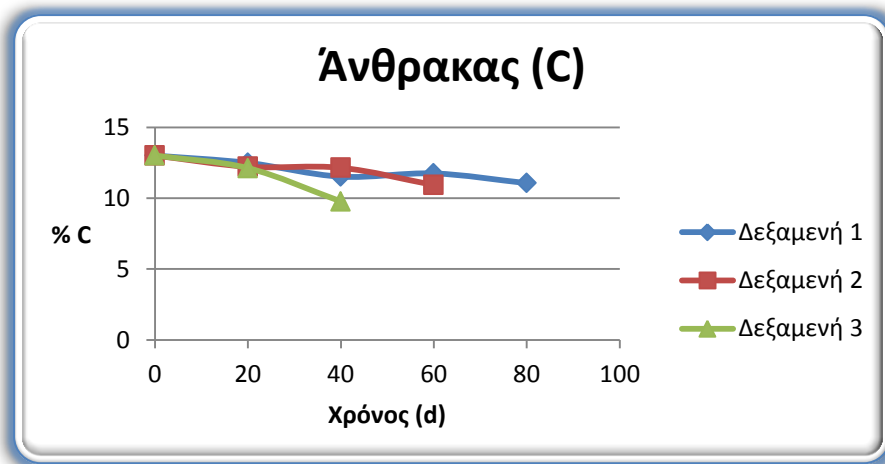
ΔΕΞ. ΒΙΟΕΝΙΣΧΥΣΗΣ(3)				
Χρόνος (d)	% N	% C	% H	% S
0	0,176	13,009	0,904	1,728
20	0,151	12,122	1,082	1,371
40	0,102	9,77	0,637	

Για καλύτερη και σαφέστερη εικόνα των αποτελεσμάτων ακολουθούν τα αντίστοιχα γραφήματα για το κάθε στοιχείο προκειμένου οι τιμές να είναι συγκρίσιμες μεταξύ των δεξαμενών:



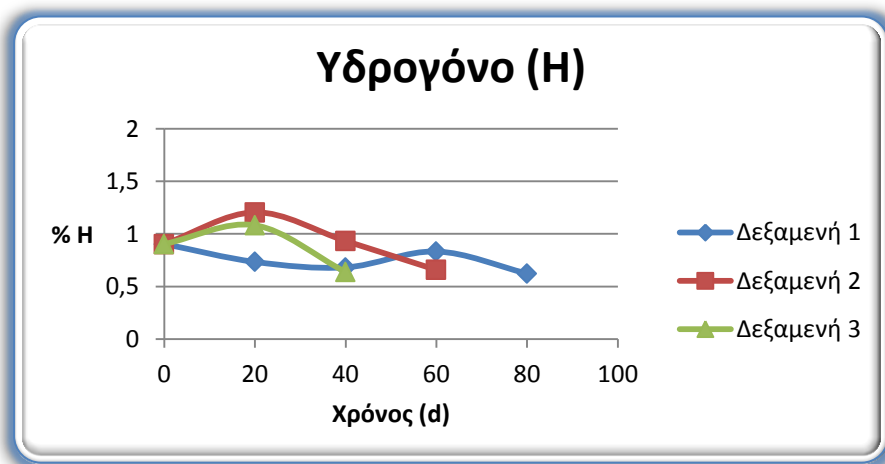
Διάγραμμα 5: Αποτελέσματα υπολογισμού αζώτου (N) για κάθε δεξαμενή

Και στις 3 δεξαμενές παρατηρείται σταδιακή μείωση του ποσοστού του αζώτου, γεγονός που οφείλεται στην κατανάλωσή του από τους αυτόχθονες μικροοργανισμούς. Η πτώση του εμφανίζεται μεγαλύτερη στις Δεξαμενές 2 και 3 που σημαίνει ότι υπάρχει αυξημένη κατανάλωση λόγω του αυξημένου αριθμού αποδομητών, εφόσον οι συγκεκριμένες δεξαμενές είναι της βιοδιέγερσης και βιοενίσχυσης.



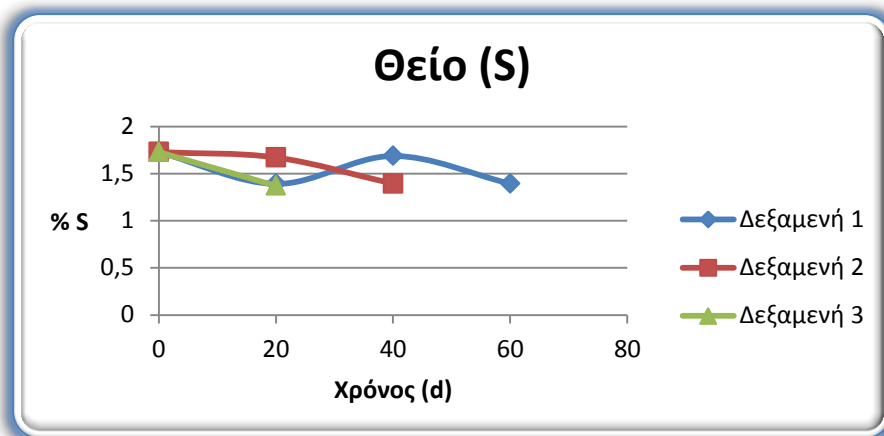
Διάγραμμα 6: Αποτελέσματα υπολογισμού άνθρακα (C) για κάθε δεξαμενή

Αντίστοιχη πτώση παρατηρείται και στα ποσοστά άνθρακα με τους αποδομητές στις Δεξαμενές βιοδιέγερσης και βιοενίσχυσης να καταναλώνουν ταχύτερα και σε μεγαλύτερες ποσότητες τον διαθέσιμο άνθρακα. Χαρακτηριστικά, αναφέρεται το ποσοστό στη Δεξαμενή βιοενίσχυσης που ανέρχεται στο 9,77% την 40^η ημέρα σε αντίθεση με το 11,52 της Δεξαμενής οδηγού και 12,15 της Δεξαμενής βιοδιέγερσης.



Διάγραμμα 7: Αποτελέσματα υπολογισμού υδρογόνου (H) για κάθε δεξαμενή

Τα ποσοστά υδρογόνου κυμαίνονται σε ένα εύρος τιμών 0,6-1,2% και για τις 3 δεξαμενές. Τα επίπεδα υδρογόνου συνδέονται άμεσα με τα επίπεδα υγρασίας και θα ήταν επιθυμητό να παραμένουν σε σχετικά σταθερές τιμές με μικρές αυξομειώσεις για καλύτερη και πιο σταθερή δράση των αποδομητών.



Διάγραμμα 8: Αποτελέσματα υπολογισμού θείου (S) για κάθε δεξαμενή

Τα επίπεδα θείου δεν παρουσιάζουν μία σαφή εικόνα ωστόσο, στις Δεξαμενές βιοδιέγερσης και βιοενίσχυσης παρατηρείται μία μικρή μείωση χωρίς όμως να έχει μελετηθεί σε βάθος χρόνου.

5.4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΟΞΙΚΩΝ ΜΕΤΑΛΛΩΝ ΣΤΟ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ ΚΑΙ ΣΤΟ ΣΤΕΡΕΟ ΔΕΙΓΜΑ

Στον Πίνακα 11 που ακολουθεί παρουσιάζονται οι τιμές των συγκεντρώσεων των μετάλλων στις Δεξαμενές οδηγό και βιοδιέγερσης όπως αυτές μετρήθηκαν στο εκχύλισμα του υπό εξέταση δείγματος με τη μέθοδο TCLP (παρ. 4.2.4). Στον Πίνακα 12 παρουσιάζονται οι τιμές των συγκεντρώσεων των μετάλλων στις Δεξαμενές οδηγό, βιοδιέγερσης και βιοενίσχυσης όπως αυτές μετρήθηκαν στο στερεό δείγμα έπειτα από αναερόβια χώνευση (παρ. 4.3.4).

Πίνακας 11: Συγκέντρωση μετάλλων στο εκχύλισμα

ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΜΕΤΑΛΛΩΝ		
Στοιχείο	Δεξ. οδηγός	Δεξ. βιοδιέγερσης
Ca	130,47ppm	182,66ppm
Cr	<DL	<DL
Ni	<DL	<DL
Cu	<DL	<DL
Zn	<DL	14,91ppm
As	<DL	<DL
Cd	<DL	<DL
Hg	<DL	<DL
Pb	204,47ppb	<DL

Πίνακας 12: Συγκέντρωση μετάλλων στο στερεό δείγμα

ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΜΕΤΑΛΛΩΝ (ppm)					
Στοιχείο	Αρχικό δείγμα	Δεξ. οδηγός	Δεξ. βιοδιέγερσης	Δεξ. βιοενίσχυσης	Μέγιστα επιτρεπτά όρια (86/278ECC)
Cr	2,14	1,91	2,70	1,69	-
Ni	1,18	1,05	0,99	0,97	30-75
Zn	5,12	5,04	4,13	5,55	150-300
As	0,33	0,30	0,30	0,28	-
Cd	<DL	<DL	<DL	<DL	1-3
Hg	0,01	0,01	0,01	0,01	1-1,5
Pb	3,70	4,29	2,49	3,02	50-300

Διαπιστώνεται ότι για τα περισσότερα στοιχεία οι συγκεντρώσεις στο εκχύλισμα (Πίνακας 11) κυμαίνονται κάτω από το όριο ανίχνευσης του οργάνου. Τα μόνα στοιχεία που εμφανίζουν τιμή ανιχνεύσιμη από το όργανο είναι το ασβέστιο (Ca) με συγκέντρωση 130,47ppm στη Δεξαμενή οδηγό και 182,66ppm στη Δεξαμενή βιοδιέγερσης. Ο ψευδάργυρος (Zn) ανέρχεται σε 14,91ppm στη Δεξαμενή βιοδιέγερσης και ο μόλυβδος (Pb) σε 204,47ppb στη Δεξαμενή οδηγό.

Όσον αφορά το στερεό δείγμα (Πίνακας 12), η υψηλότερη συγκέντρωση συναντάται στον ψευδάργυρο (Zn) και για τις 3 δεξαμενές. Όλα τα μέταλλα κυμαίνονται σε συγκεντρώσεις εντός των επιτρεπτών ορίων. Σε γενικές γραμμές δεν αναμένεται μείωση ή ιδιαίτερες μεταβολές στις συγκεντρώσεις καθώς τα τοξικά μέταλλα δεν βιοαποικοδομούνται από τους μικροοργανισμούς (**Σημαντηράκη, 2014**). Συνεπώς, στις Δεξαμενές βιοδιέγερσης και βιοενίσχυσης οι συγκεντρώσεις των μετάλλων δεν είναι απαραίτητα μικρότερες από τη Δεξαμενή οδηγό.

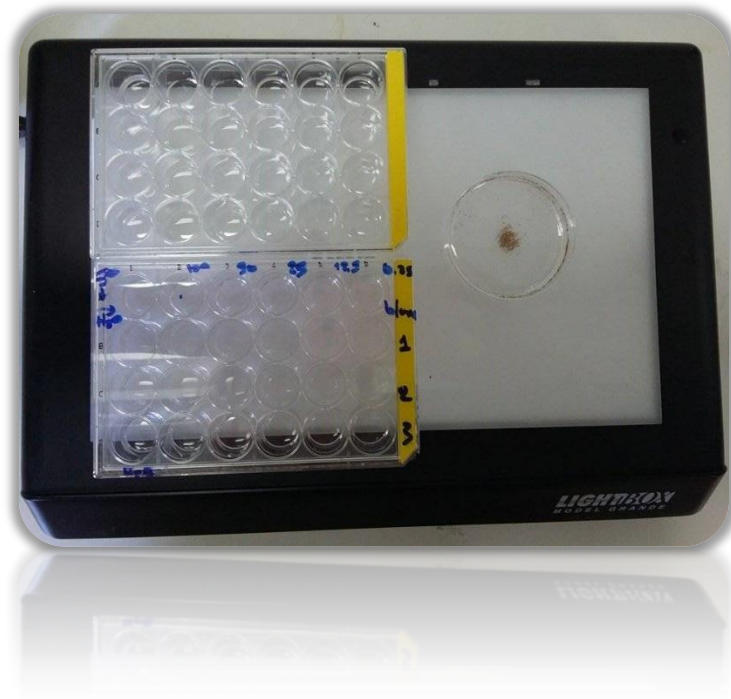
Το γεγονός ότι στο εκχύλισμα οι περισσότερες τιμές είναι μη ανιχνεύσιμες σε αντίθεση με το στερεό δείγμα οφείλεται στο ότι τα μέταλλα δε μεταφέρθηκαν από το στερεό στο υγρό κατά τη μέθοδο εκχύλισης TCLP.

5.5 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ

Για την εκτίμηση της τοξικότητας του δείγματος, στόχος ήταν ο προσδιορισμός του δείκτη LC50 (Lethal Concentration, θανατηφόρα συγκέντρωση) ο οποίος εκφράζει τη συγκέντρωση της υπό εξέταση τοξικής ουσίας που προκαλεί θάνατο στο 50% των οργανισμών που χρησιμοποιούνται ως πειραματόζωα, στη συγκεκριμένη περίπτωση στα *Daphnia magna*. Ωστόσο, έπειτα από τη διεξαγωγή της πειραματικής διαδικασίας (παρ. 4.2.5) κατά τον υπολογισμό του μέσου όρου νεκρών μικροοργανισμών παρατηρήθηκε πως σε όλες τις κυψελίδες είχε επιβιώσει όλος ο πληθυσμός των *Daphnia magna*, δηλαδή το ποσοστό θανάτωσης ήταν μηδενικό.

Η επιβίωση των μικροοργανισμών ενδεχομένως οφείλεται στην έλλειψη τοξικών μετάλλων. Όπως αναφέρθηκε στην παράγραφο 5.4, κατά τη μέτρηση των τοξικών μετάλλων στο εκχύλισμα με τη μέθοδο TCLP διαπιστώθηκε ότι η συγκέντρωση των περισσότερων στοιχείων ήταν κάτω από το όριο ανίχνευσης του οργάνου, σε αντίθεση με τη μέτρησή τους στο στερεό δείγμα όπου η συγκέντρωση όλων των στοιχείων πλην του καδμίου ήταν αυξημένη. Το γεγονός ότι τα διαλύματα στα οποία τοποθετήθηκαν τα *Daphnia magna* (στις κυψελίδες) για τη διεξαγωγή του πειράματος αποτελούνταν από το δείγμα εκχυλισμένο με απιονισμένο νερό επιβεβαιώνει το συμπέρασμα ότι τα μέταλλα, παρόλο που υπάρχουν στο

στερεό δείγμα, δεν μεταφέρονται στο εκχύλισμα. Συνεπώς, το δείγμα αν και περιέχει μέταλλα, εμφανίζεται ως μη τοξικό στους οργανισμούς.



Εικόνα 17: Κυψελίδες και τριβλίο εκκόλαψης *Daphnia Magna*



Εικόνα 18: Κυψελίδες με *Daphnia Magna*

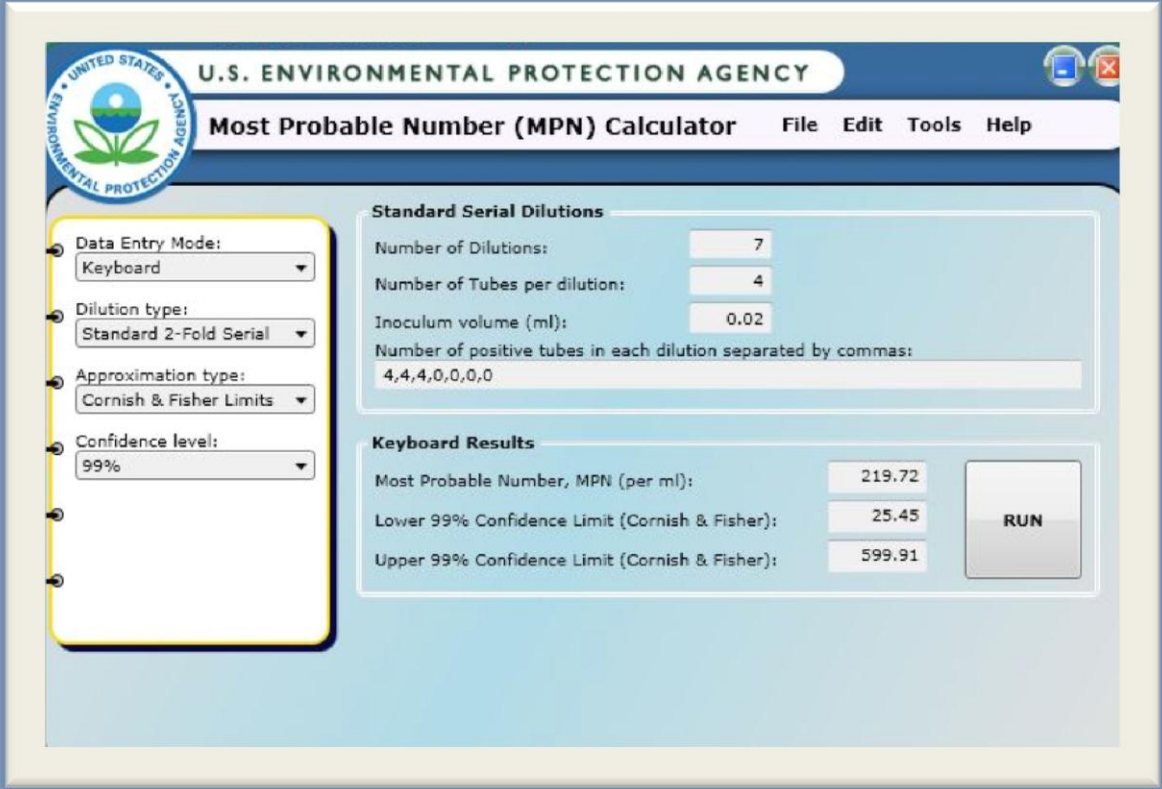
5.6 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΦΥΤΟΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ

Η τοξικότητα του υπό μελέτη δείγματος υπολογίστηκε με τη χρήση 3 ειδών σπόρων (SIA, LES, SOS) και με δύο επαναλήψεις για τον κάθε σπόρο. Προκειμένου το χώμα να χαρακτηριστεί ως φυτοτοξικό, μη φυτοτοξικό ή φυτοδιεγερτικό η μέθοδος (παρ. 4.2.6) απαιτεί τον προσδιορισμό του δείκτη βλάστησης. Ωστόσο, στο συγκεκριμένο δείγμα χώματος, έπειτα από την εφαρμογή της απαιτούμενης διαδικασίας, διαπιστώθηκε ότι κανένα είδος σπόρου δε βλάστησε. Επομένως, χωρίς τον υπολογισμό του δείκτη βλάστησης συμπεραίνουμε ότι το δείγμα μπορεί να χαρακτηριστεί ως φυτοτοξικό.

Όπως έχει ήδη αναφερθεί στην παράγραφο 5.4 η αναερόβια χώνευση έδειξε συγκέντρωση τοξικών μετάλλων στο στερεό δείγμα. Τα τοξικά μέταλλα θεωρούνται υπεύθυνα για την αναστολή ανάπτυξης τόσο των ριζών όσο και των βλαστών των φυτικών οργανισμών προκαλώντας φυτοτοξικότητα. Συνεπώς, μπορεί να προκύψει το συμπέρασμα ότι το υπό εξέταση δείγμα προέκυψε φυτοτοξικό λόγω υψηλών συγκεντρώσεων μετάλλων (Shaikh, 2013 Naidu, 2003).

5.7 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ

Στον Πίνακα 13 που ακολουθεί, παρατίθενται τα αποτελέσματα της συγκέντρωσης των μικροοργανισμών που προέκυψαν από το λογισμικό υπολογισμού MPN της EPA (MPN Calculator Ver 2.0) (Εικ. 19) για τις 3 δεξαμενές;

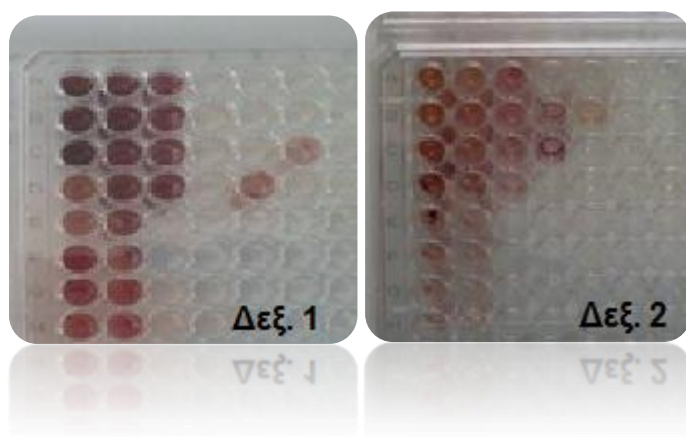


Εικόνα 19: Πρόγραμμα υπολογισμού MPN από την EPA

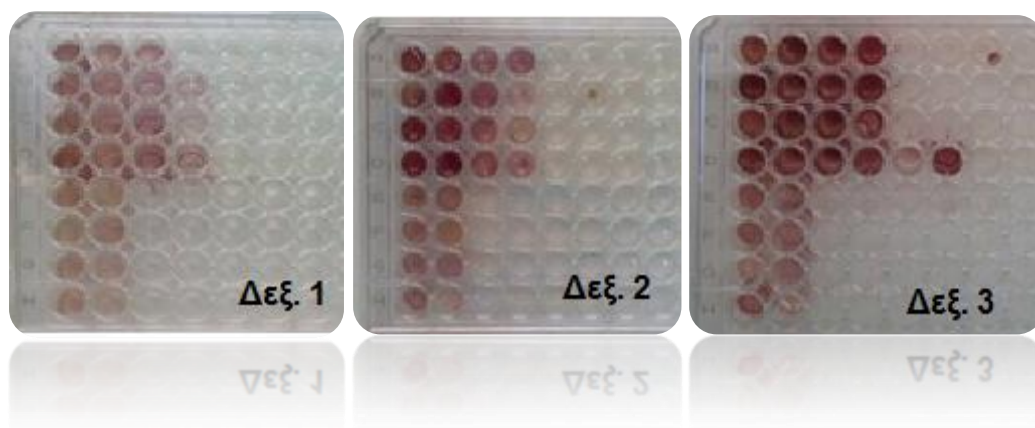
Πίνακας 13: Αποτελέσματα MPN για κάθε δεξαμενή

MPN/ml			
Χρόνος (d)	Δεξ. οδηγός	Δεξ. βιοδιέγερσης	Δεξ. βιοενίσχυσης
Αρχικά	171,58	219,72	225,42
20	439,45	513,34	646,72
40	459,63	745,61	794,96
80	469,43	789,78	935,49

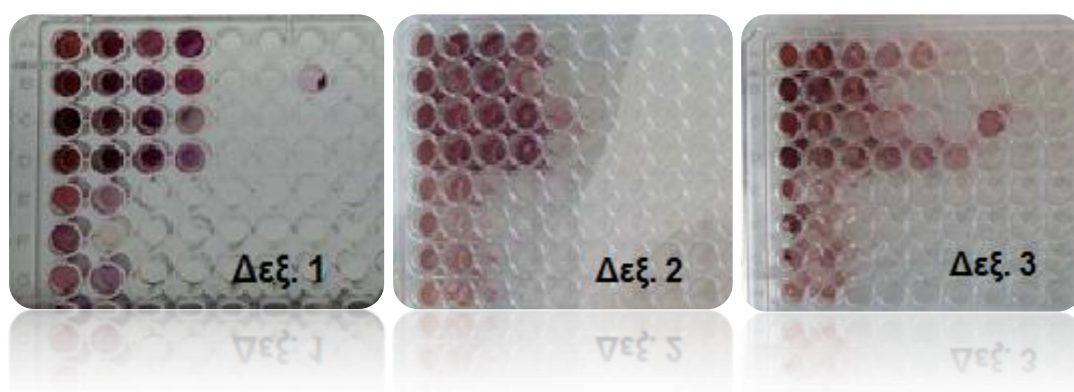
Παρατηρώντας τα στοιχεία του πίνακα, διαπιστώνεται ότι και για τις 3 δεξαμενές υπάρχει αύξηση της συγκέντρωσης των μικροοργανισμών με την πάροδο του χρόνου. Τη μεγαλύτερη αύξηση παρουσιάζει η Δεξαμενή βιοενίσχυσης και τη μικρότερη η Δεξαμενή οδηγός. Η Δεξαμενή βιοενίσχυσης είναι ήδη εμπλουτισμένη με αποδομητές πετρελαίου που καλλιεργήθηκαν στο εργαστήριο συνεπώς, είναι αναμενόμενο να παρουσιάζει τόσο τη μεγαλύτερη αρχική τιμή στη συγκέντρωση των μικροοργανισμών (225,42 MPN/ml) όσο και τη μεγαλύτερη και ταχύτερη αύξηση με το πέρασμα των ημερών και την προσθήκη θρεπτικού. Ακολουθεί η Δεξαμενή βιοδιέγερσης η οποία παρόλο που δεν είναι ενισχυμένη, αναμένεται να παρουσιάσει αύξηση των αποδομητών από την προσθήκη του θρεπτικού υλικού (**Chorom, 2010**). Τέλος, στη Δεξαμενή οδηγό γινόταν προσθήκη μόνο απιονισμένου νερού, παρουσίασε ωστόσο και αυτή μία επιθυμητή αύξηση στη συγκέντρωση των αποδομητών, απότομη κατά τις 20 πρώτες ημέρες και πιο αργή με την πάροδο του χρόνου. Τα στοιχεία μπορούν να γίνουν καλύτερα κατανοητά στις εικόνες που ακολουθούν (Εικ. 20-23). Με κόκκινο-μωβ χρώμα εμφανίζονται τα κελιά (και συνεπώς οι αραιώσεις) που είναι θετικά στην ύπαρξη αποδομητών πετρελαίου. Διαπιστώνεται ότι με την πάροδο του χρόνου ολοένα και μεγαλύτερες αραιώσεις χρωματίζονται με αποτέλεσμα έπειτα από 80 ημέρες τα περισσότερα κελιά, ιδίως στις Δεξαμενές βιοδιέγερσης και βιοενίσχυσης (**Bento, 2004**), να έχουν αποκτήσει κόκκινο-μωβ χρώμα. Αυτό σημαίνει ότι έχουν αποκτήσει και μεγαλύτερο αριθμό μικροοργανισμών οι οποίοι διαπιστώνονται πλέον και στις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις (**Sun, 2006**).



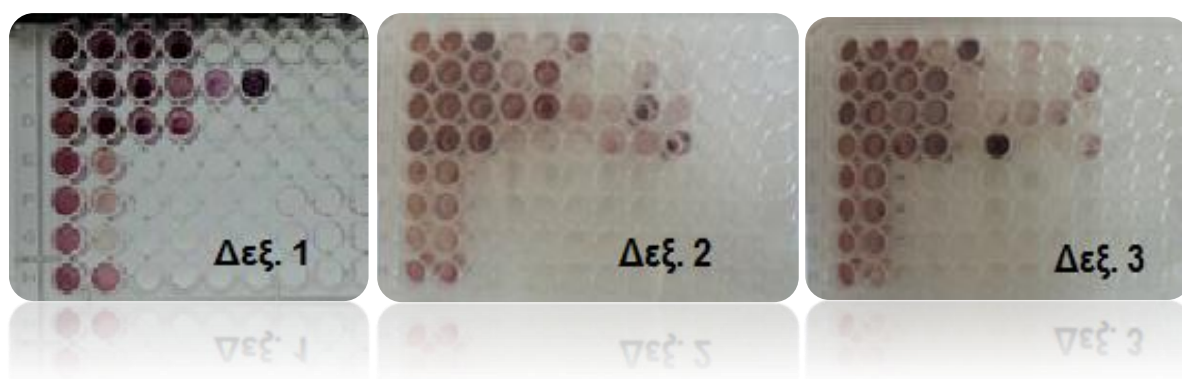
Εικόνα 20: Most Probable Number στο αρχικό δείγμα για τις δεξαμενές 1 και 2



Εικόνα 21: Most Probable Number στο δείγμα έπειτα από 20 ημέρες για τις δεξαμενές 1, 2 και 3



Εικόνα 22: Most Probable Number στο δείγμα έπειτα από 40 ημέρες για τις δεξαμενές 1, 2 και 3



Εικόνα 23: Most Probable Number στο δείγμα έπειτα από 80 ημέρες για τις δεξαμενές 1, 2 και 3

5.8 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ PAHs (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons)

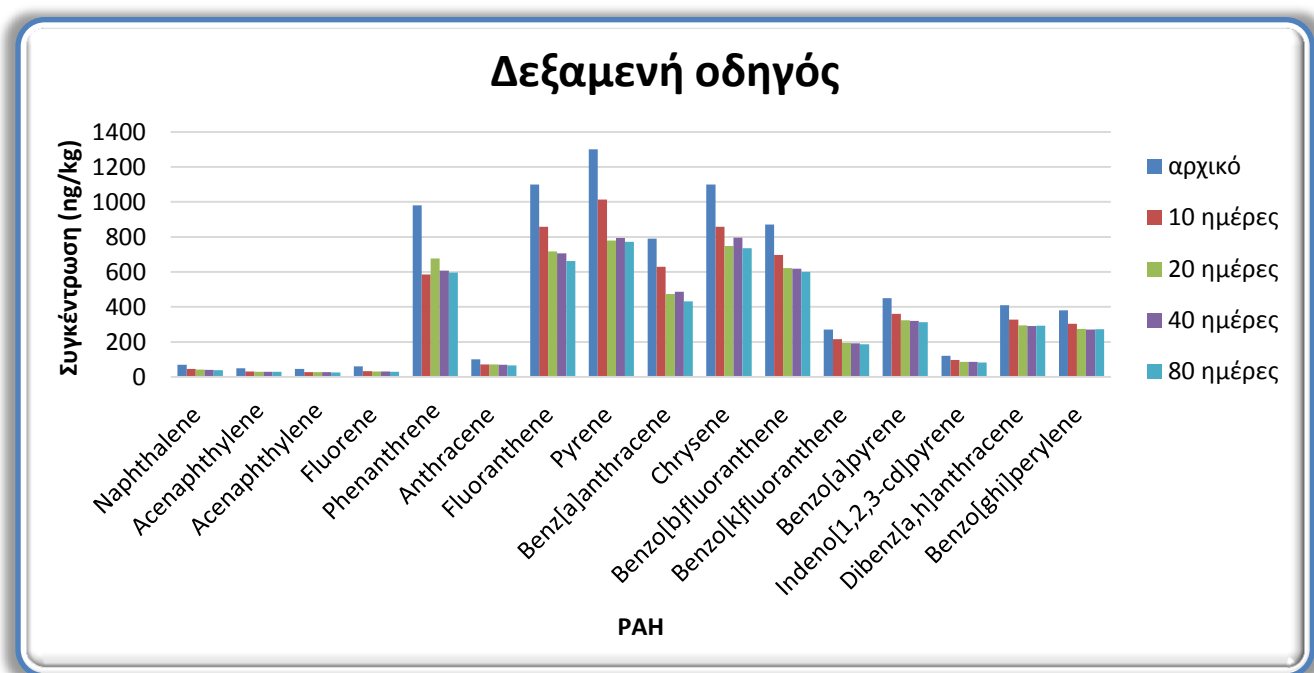
Τα αποτελέσματα της συγκέντρωσης των Πολυκυκλικών Αρωματικών Υδρογονανθράκων (PAH) για κάθε δεξαμενή και για διάστημα 80 ημερών παρουσιάζονται στους Πίνακες 15-17 και στα Διαγράμματα που ακολουθούν. Προκειμένου να επιτευχθεί μία πιο συγκεντρωτική και ολοκληρωμένη εικόνα τα PAHs είναι χωρισμένα ανάλογα με το μοριακό τους βάρος σε ελαφριά, μεσαία και πιο βαριά όπως φαίνεται στον Πίνακα 14 παρακάτω:

Πίνακας 14: Κατηγορίες PAHs ανάλογα με το μοριακό βάρος

Ελαφριά	Χαμηλού Μοριακού Βάρους PAHs	128-178
Μεσαία	Μεσαίου Μοριακού Βάρους PAHs	202-228
Βαριά	Μεγάλου Μοριακού Βάρους PAHs	252-278

Πίνακας 15: Συγκέντρωση και ποσοστό απομάκρυνσης PAH για τη δεξαμενή Οδηγό

Συγκέντρωση (ng/kg)						
ΔΕΞ. ΟΔΗΓΟΣ						
	αρχικό	10 ημέρες	20 ημέρες	40 ημέρες	80 ημέρες	Ποσοστό απομάκρυνσης (%)
Naphthalene	70	45,71	42,20	39,92	39,15	44,07
Acenaphthylene	50	30,51	29,23	29,15	29,05	41,90
Acenaphthylene	45	26,95	27,52	27,15	26,05	42,11
Fluorene	60	32,61	31,20	30,22	29,50	50,83
Phenanthrene	980	585,82	676,56	606,61	597,20	39,06
Anthracene	100	71,15	70,56	69,02	65,21	34,79
Fluoranthene	1100	858,20	717,76	706,25	661,32	39,87
Pyrene	1300	1014,01	780,08	793,75	772,47	40,578
Benz[a]anthracene	790	629,20	473,66	486,12	431,04	45,43
Chrysene	1100	858,45	747,76	796,25	735,37	33,15
Benzo[b]fluoranthene	870	696,42	621,42	617,71	600,31	30,99
Benzo[k]fluoranthene	270	216,01	194,41	191,72	187,35	30,61
Benzo[a]pyrene	450	360,56	324,45	319,51	312,54	30,54
Indeno[1,2,3- cd]pyrene	120	96,63	86,41	85,21	81,81	31,82
Dibenz[a,h]anthracene	410	328,10	295,02	291,22	292,95	28,54
Benzo[ghi]perylene	380	304,23	273,61	269,87	272,44	28,30

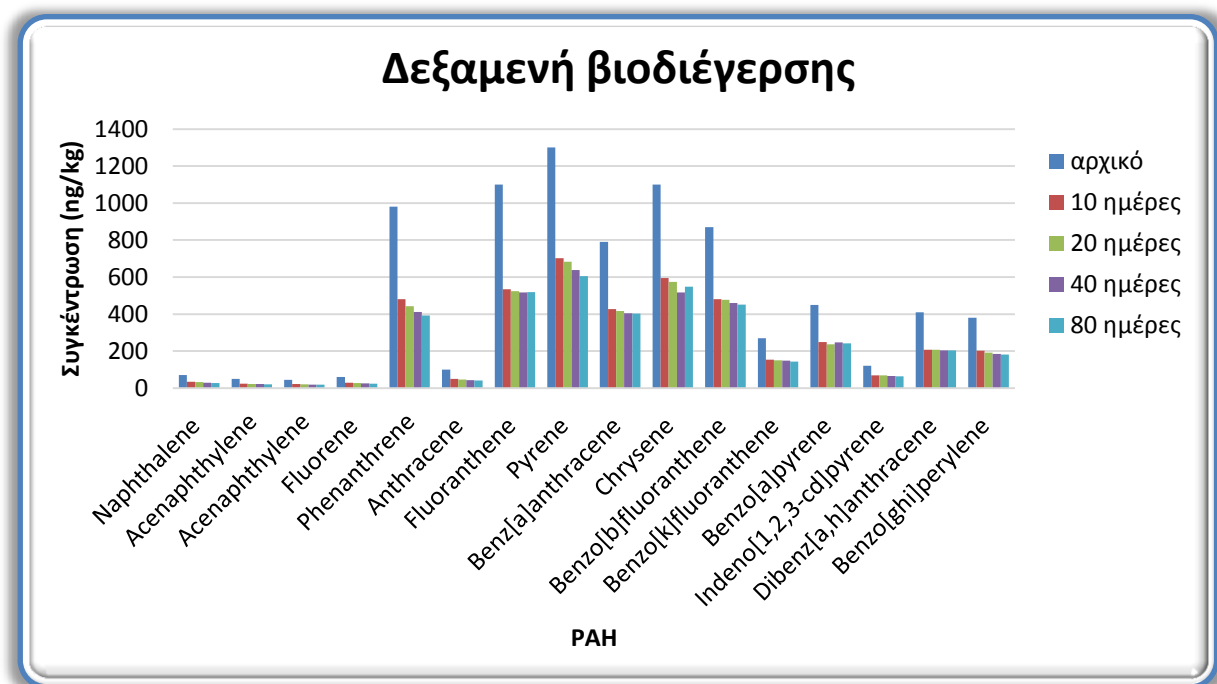


Διάγραμμα 9: Συγκέντρωση PAHs για τη δεξαμενή οδηγό σε διάστημα 80 ημερών

Από το Διάγραμμα 9 παρατηρείται ότι τα PAHs χαμηλού μοριακού βάρους (Naphthalene - Anthracene) εκτός από το φενανθρένιο παρουσιάζουν χαμηλές συγκεντρώσεις σε αντίθεση με τα μεσαίου μοριακού βάρους PAHs (Fluoranthene – Chrysene) που εμφανίζουν τις υψηλότερες συγκεντρώσεις. Συνολικά όλα τα PAHs, ανεξάρτητα από το μοριακό τους βάρος, παρουσιάζουν μείωση στη συγκέντρωσή τους με τη μεγαλύτερη να σημειώνουν το Φθορένιο (fluorene) με ποσοστό απομάκρυνσης 50,8% και το Βενζο[α]ανθρακένιο (benz[a]anthracene) με ποσοστό απομάκρυνσης 45,4% (Serrano Silva, 2009).

Πίνακας 16: Συγκέντρωση και ποσοστό απομάκρυνσης PAH για τη δεξαμενή Βιοδιέγερσης

Συγκέντρωση (ng/kg)						
ΔΕΞ. ΒΙΟΔΙΕΓΕΡΣΗΣ						
	αρχικό	10 ημέρες	20 ημέρες	40 ημέρες	80 ημέρες	Ποσοστό απομάκρυνσης(%)
Naphthalene	70	34,32	31,75	29,64	28,01	59,98
Acenaphthylene	50	24,51	22,52	21,30	20,10	59,80
Acenaphthylene	45	22,15	20,15	18,91	18,20	59,55
Fluorene	60	29,42	27,60	25,60	24,50	59,16
Phenanthrene	980	480,22	441,85	411,74	392,48	59,95
Anthracene	100	49,60	45,80	42,80	40,60	59,40
Fluoranthene	1100	534,00	523,24	517,49	518,17	52,89
Pyrene	1300	702,00	682,92	638,85	604,93	53,46
Benz[a]anthracene	790	426,60	416,23	404,38	403,59	48,91
Chrysene	1100	594,00	573,24	517,49	548,17	50,16
Benzo[b]fluoranthene	870	481,10	477,62	460,20	451,55	48,10
Benzo[k]fluoranthene	270	153,10	150,60	149,21	142,50	47,22
Benzo[a]pyrene	450	248,50	236,00	247,00	242,50	46,11
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	120	69,60	68,61	65,25	64,01	46,66
Dibenz[a,h]anthracene	410	207,31	206,80	204,63	204,52	50,12
Benzo[ghi]perylene	380	201,42	192,40	184,80	181,03	52,36

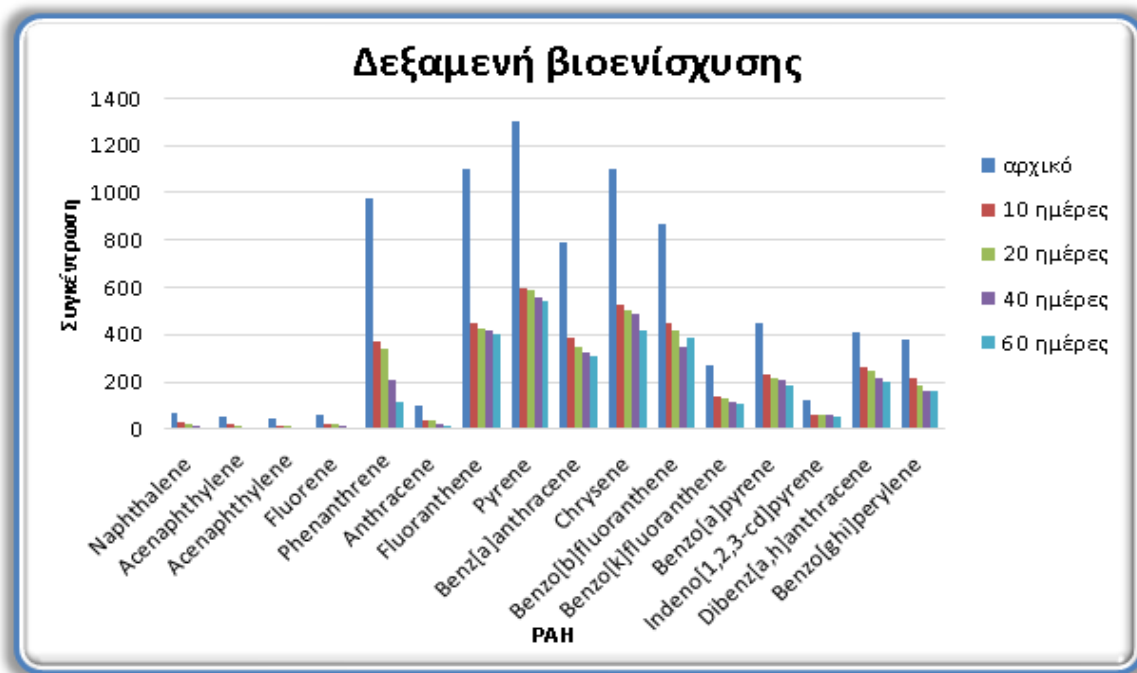


Διάγραμμα 10: Συγκέντρωση PAHs για τη δεξαμενή βιοδιέγερσης σε διάστημα 80 ημερών

Αντίστοιχη εικόνα παρουσιάζουν και τα PAHs στη δεξαμενή βιοδιέγερσης (Διάγραμμα 10). Συγκεκριμένα, τα PAHs χαμηλού μοριακού βάρους (Naphthalene - Anthracene) εκτός από το φενανθρένιο παρουσιάζουν χαμηλές συγκεντρώσεις σε αντίθεση με τα μεσαίου μοριακού βάρους PAHs (Fluoranthene – Chrysene) που εμφανίζουν τις υψηλότερες συγκεντρώσεις. Μείωση παρατηρείται σε όλα τα PAHs , με τη μεγαλύτερη να σημειώνει η κατηγορία χαμηλού μοριακού βάρους (Naphthalene - Anthracene) με ποσοστό απομάκρυνσης 59%.

Πίνακας 17: Συγκέντρωση και ποσοστό απομάκρυνσης PAH για τη δεξαμενή Βιοενίσχυσης

Συγκέντρωση (ng/kg)						
ΔΕΞ. ΒΙΟΕΝΙΣΧΥΣΗΣ						
	αρχικό	10 ημέρες	20 ημέρες	40 ημέρες	60 ημέρες	Ποσοστό απομάκρυνσης(%)
Naphthalene	70	26,62	24,55	14,71	8,14	88,37
Acenaphthylene	50	19,56	17,52	10,55	6,60	86,80
Acenaphthylene	45	17,12	15,74	9,45	5,44	87,91
Fluorene	60	22,18	21,45	12,60	7,20	88,00
Phenanthrene	980	372,40	343,00	205,18	117,36	88,02
Anthracene	100	38,45	35,56	21,48	12,56	87,44
Fluoranthene	1100	449,02	428,73	419,20	401,31	63,51
Pyrene	1300	599,00	587,73	561,29	541,09	58,37
Benz[a]anthracene	790	388,11	350,15	326,24	310,56	60,68
Chrysene	1100	529,00	501,31	489,86	421,92	61,64
Benzo[b]fluoranthene	870	452,45	417,16	348,56	388,54	55,34
Benzo[k]fluoranthene	270	140,45	129,64	118,62	111,45	58,72
Benzo[a]pyrene	450	234,51	216,51	211,51	188,60	58,08
Indeno[1,2,3-cd]pyrene	120	62,44	60,46	58,60	56,54	52,88
Dibenz[a,h]anthracene	410	263,12	246,18	214,60	198,12	51,67
Benzo[ghi]perylene	380	219,65	182,54	163,45	161,46	57,51



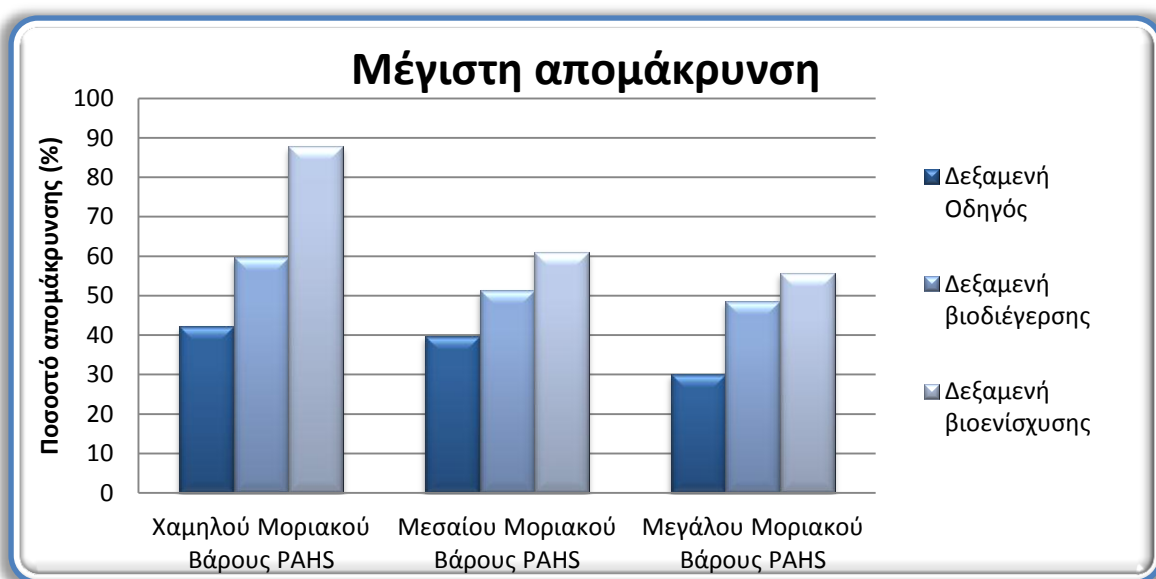
Διάγραμμα 11: Συγκέντρωση PAHs για τη δεξαμενή βιοενίσχυσης σε διάστημα 60 ημερών

Στη Δεξαμενή βιοενίσχυσης δε διαπιστώνονται διαφορές με τις άλλες 2 δεξαμενές. Τα PAHs χαμηλού μοριακού βάρους (Naphthalene - Anthracene) εκτός από το φενανθρένιο παρουσιάζουν χαμηλές συγκεντρώσεις σε αντίθεση με τα μεσαίου μοριακού βάρους PAHs (Fluoranthene – Chrysene) που εμφανίζουν τις υψηλότερες συγκεντρώσεις. Συνολικά, όλα τα PAHs ανεξάρτητα από το μοριακό τους βάρος παρουσιάζουν μείωση στη συγκέντρωσή τους με τη μεγαλύτερη να σημειώνει η ναφθαλίνη (Naphthalene) με ποσοστό 88,4%. Γενικά, το μεγαλύτερο ποσοστό απομάκρυνσης παρουσιάζουν τα χαμηλού μοριακού βάρους PAHs.

Στον Πίνακα 18 που ακολουθεί παρουσιάζεται ένα μέσο ποσοστό απομάκρυνσης για τις 3 κατηγορίες PAHs (χαμηλού MB, μεσαίου MB και υψηλού MB) για την κάθε δεξαμενή και ακολουθεί το Διάγραμμα όπου γίνεται σύγκριση των 3 δεξαμενών.

Πίνακας 18: Ποσοστό απομάκρυνσης ανάλογα με το μοριακό βάρος για κάθε δεξαμενή

	Ποσοστό απομάκρυνσης (%)		
	Δεξ. οδηγός	Δεξ. βιοδιέγερσης	Δεξ. βιοενίσχυσης
Χαμηλού MB	42,13	59,64	87,75
Μεσαίου MB	39,76	51,35	61,05
Μεγάλου MB	30,14	48,43	55,70



Διάγραμμα 12: Ποσοστά απομάκρυνσης PAH ανάλογα με το μοριακό βάρος για κάθε δεξαμενή

Από τα δεδομένα του παραπάνω γραφήματος παρατηρείται ότι όλες οι κατηγορίες PAHs παρουσιάζουν ικανοποιητικά ποσοστά απομάκρυνσης (30-87%) που σημαίνει ότι λαμβάνει χώρα κατανάλωση από τους αυτόχθονες μικροοργανισμούς και άρα επαληθεύεται η δράση τους στην αποδόμηση του ρύπου (**Serrano Silva, 2009**). Πιο αναλυτικά, τα χαμηλού μοριακού βάρους PAHs παρουσιάζουν τα υψηλότερα ποσοστά απομάκρυνσης και στις 3 δεξαμενές που σημαίνει ότι βιοαποικοδομούνται πιο εύκολα (**Boonchan, 2000**) σε αντίθεση με τα μεγάλου μοριακού βάρους που εμφανίζουν τα χαμηλότερα ποσοστά απομάκρυνσης. Όσον αφορά τις διαφορές μεταξύ των δεξαμενών, η βιοενισχυμένη με αυτόχθονες μικροοργανισμούς παρουσιάζει τα υψηλότερα ποσοστά απομάκρυνσης που ερμηνεύεται ως ταχύτερη και σε μεγαλύτερη ποσότητα κατανάλωση του ρύπου. Συγκεκριμένα,

επιτυγχάνεται απομάκρυνση 87,7% για τα χαμηλού MB PAHs και 55,7% για τα μεγάλου MB. Η βιοδιέγερση εμφανίζει επίσης ποσοστό απομάκρυνσης 59,6% για τα χαμηλού MB σε σχέση με το 42,1% της Δεξαμενής οδηγού, που σημαίνει ότι ενισχύει τη δράση των μικροοργανισμών (Sayara, 2011).

5.9 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΤΡΗ (Total Petroleum Hydrocarbons)

Τα αποτελέσματα της συγκέντρωσης των ολικών υδρογονανθράκων (ΤΡΗ) για κάθε δεξαμενή και για διάστημα 2 μηνών παρουσιάζονται στον Πίνακα 19 που ακολουθεί:

Πίνακας 19: Συγκέντρωση ΤΡΗ για κάθε δεξαμενή

Συγκέντρωση ΤΡΗ (g/kg)			
Χρόνος (d)	Δεξ. οδηγός	Δεξ. βιοδιέγερσης	Δεξ. βιοενίσχυσης
0	141,79	141,79	141,79
40	93,67	75,29	75,76
80	88,32	74,86	67,43

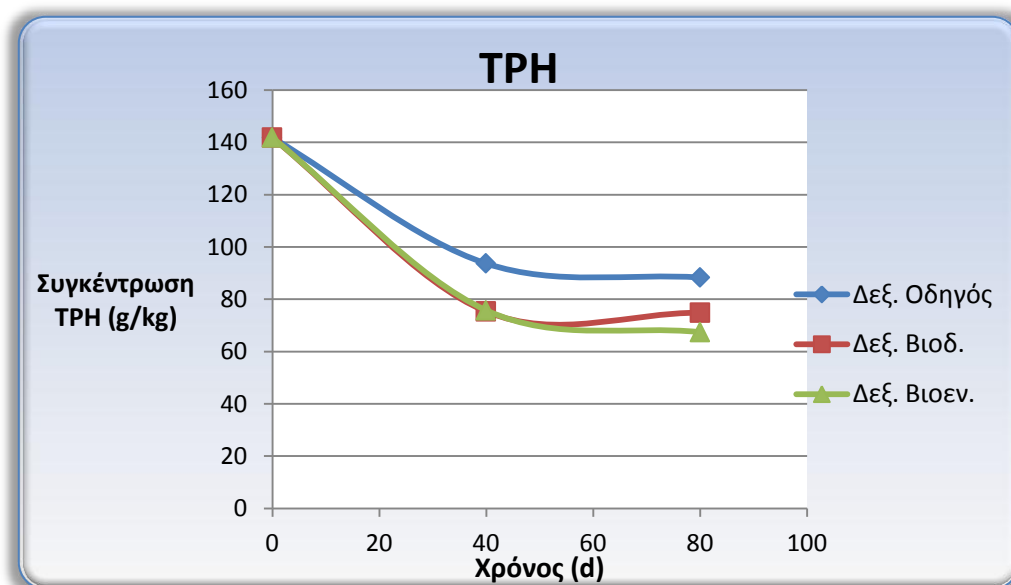
Έτσι, τα ποσοστά απομάκρυνσης του ρύπου διαμορφώνονται ως εξής:

Πίνακας 20: Ποσοστό απομάκρυνσης ΤΡΗ για κάθε δεξαμενή

Ποσοστό απομάκρυνσης (%)			
Χρόνος (d)	Δεξ. οδηγός	Δεξ. βιοδιέγερσης	Δεξ. βιοενίσχυσης
40	33,9	46,9	46,6
80	37,7	47,2	52,4

Από τα στοιχεία των Πινάκων 19 και 20 προκύπτει ότι και στις 3 δεξαμενές επιτεύχθηκε μείωση του ρύπου. Η αρχική συγκέντρωση ΤΡΗ των 141,79g/kg διαμορφώθηκε στα 88,32g/kg στη Δεξαμενή οδηγό με φυσική Βιοαποκατάσταση από τους υπάρχοντες μικροοργανισμούς και χωρίς καμία παρέμβαση παρά μόνο την προσθήκη υγρασίας και τον αερισμό, επιτυγχάνοντας 37,7% απομάκρυνση ύστερα από 80 ημέρες. Η προσθήκη θρεπτικών διαμόρφωσε το ποσοστό αυτό στο 47,2% στη Δεξαμενή βιοδιέγερσης αφού η αρχική συγκέντρωση των ΤΡΗ μειώθηκε στα 74,86g/kg. Το υψηλότερο ποσοστό απομάκρυνσης παρουσίασε η Δεξαμενή βιοενίσχυσης, το οποίο έφθασε στο 52,4% διαμορφώνοντας την τελική συγκέντρωση του ρύπου στα 67,43g/kg (Diplock, 2009).

Όπως αναφέρουν και οι Chorom (2010) και Bento (2004) το ποσοστό απομάκρυνσης των υδρογονανθράκων αναμένεται να είναι υψηλότερο όταν το χώμα είναι ενισχυμένο με αυτόχθονες μικροοργανισμούς εφόσον η κατανάλωση του ρύπου είναι μεγαλύτερη και γίνεται με ταχύτερους ρυθμούς. Όσο μεγαλύτερη είναι η αύξηση των μικροοργανισμών, τόσο μεγαλύτερο είναι το ποσοστό αποικοδόμησης του ρύπου. Ακολουθούν τα αντίστοιχα διαγράμματα που παρουσιάζουν την μεταβολή των ΤΡΗ με την πάροδο του χρόνου (Διάγραμμα 13) καθώς και την μέγιστη απομάκρυνση από το δείγμα για κάθε δεξαμενή (Διάγραμμα 14):



Διάγραμμα 13: Συγκέντρωση ΤΡΗ για κάθε δεξαμενή



Διάγραμμα 14: Ποσοστό απομάκρυνσης TPH για κάθε δεξαμενή

Συνεπώς, η βιοενίσχυση παρουσιάζει τα καλύτερα αποτελέσματα (**Lebkowska, 2011**). Ωστόσο, όπως αποδείχθηκε στην παράγραφο 5.7 η μέθοδος MPN παρουσίασε αύξηση των αποδομητών και στη Δεξαμενή βιοδιέγερσης και για το λόγο αυτό παρουσιάζει και αυτή υψηλό ποσοστό απομάκρυνσης. Τέλος, και η φυσική βιοαποδόμηση χωρίς την προσθήκη θρεπτικών, παρουσιάζει θετικά αποτελέσματα με ικανοποιητικό ποσοστό απομάκρυνσης για τη χρονική διάρκεια του πειράματος (**Mair, 2013**).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ

6.1 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα διπλωματική εργασία μελετήθηκε η απόδοση της μεθόδου βιοεξυγίανσης για την απομάκρυνση PAHs (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons) και TPH (Total Petroleum Hydrocarbon) μέσω βιοδιέγερσης και βιοενίσχυσης σε απόβλητα διυλιστηρίου προερχόμενα από τις Βιομηχανικές Εγκαταστάσεις Ασπροπύργου. Το πείραμα έλαβε χώρα σε 3 δεξαμενές: Δεξαμενή οδηγός (χώμα όπως αυτό στάλθηκε χωρίς καμία παρέμβαση), Δεξαμενή βιοδιέγερσης (χώμα με προσθήκη θρεπτικών) και Δεξαμενή βιοενίσχυσης (χώμα με προσθήκη θρεπτικών και αυτόχθονων μικροοργανισμών). Προτού γίνει προσδιορισμός των παραπάνω ρύπων, προηγήθηκε εκτενής χαρακτηρισμός του υπό εξέταση δείγματος.

Τα κυριότερα συμπεράσματα που προκύπτουν από την παρούσα εργασία είναι τα εξής:

- ❖ Το ποσοστό της υγρασίας διατηρήθηκε και στις 3 δεξαμενές στο 25-30% με κάποιες διακυμάνσεις που όμως δεν απομακρύνονταν από το επιθυμητό ποσοστό για την αποτελεσματικότερη δράση των αυτόχθονων μικροοργανισμών (15-30%).
- ❖ Όσον αφορά τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά, το pH παρέμεινε σταθερό και στις 3 δεξαμενές γύρω στο 7,50, το διαλυμένο οξυγόνο (DO) διατηρήθηκε περίπου στα 4mg/l με μικρές αυξομειώσεις για κάθε δεξαμενή που ενδεχομένως οφείλονται στα επίπεδα υγρασίας και οξυγόνου και τέλος, το δυναμικό οξειδοαναγωγής κυμάνθηκε μεταξύ -35mV και -45mV σε όλες τις δεξαμενές, με την Δεξαμενή οδηγό να παρουσιάζει τη χαμηλότερη τιμή στα -64mV.
- ❖ Κατά τον προσδιορισμό των στοιχείων C, H, N, S διαπιστώθηκε σταδιακή μείωση του αζώτου (N) και του άνθρακα (C) κυρίως στις Δεξαμενές βιοδιέγερσης και βιοενίσχυσης, γεγονός που αποδόθηκε στην ταχύτερη κατανάλωσή τους λόγω αυξημένου αριθμού μικροοργανισμών ενώ τα ποσοστά υδρογόνου κυμάνθηκαν σε ένα εύρος τιμών 0,6-1,2% και για τις 3 δεξαμενές.

- ❖ Από τα αποτελέσματα τοξικών μετάλλων προέκυψε ότι στο εκχύλισμα (μέθοδος TCLP) οι συγκεντρώσεις της πλειοψηφίας των στοιχείων ήταν κάτω από το όριο ανίχνευσης του οργάνου σε αντίθεση με το στερεό δείγμα όπου όλα τα στοιχεία πλην του καδμίου (Cd) παρουσίασαν τιμές εντός όμως των επιτρεπτών ορίων για το έδαφος. Η διαφορά αυτή αποδίδεται στο γεγονός ότι τα μέταλλα δε μεταφέρθηκαν από το στερεό στο υγρό κατά τη μέθοδο εκχύλισης TCLP.
- ❖ Τα αποτελέσματα του τεστ τοξικότητας έδειξαν μηδενικό ποσοστό θανάτωσης του πληθυσμού *Daphnia Magna* που μελετήθηκε. Η επιβίωση του συνόλου των μικροοργανισμών αποδόθηκε στην έλλειψη τοξικών μετάλλων στο εκχύλισμα το οποίο και χρησιμοποιήθηκε για την παραγωγή των διαλυμάτων στα οποία τοποθετήθηκαν τα *Daphnia magna* (στις κυψελίδες).
- ❖ Τα αποτελέσματα του τεστ φυτοτοξικότητας έδειξαν ότι το υπό εξέταση δείγμα θεωρείται 100% τοξικό για τους φυτικούς οργανισμούς αφού σε κανένα από τα 3 είδη σπόρων (LES, SOS, SIA) δεν υπήρξε ανάπτυξη ρίζας ή βλαστού. Η φυτοτοξικότητα αποδίδεται στις συγκεντρώσεις των τοξικών μετάλλων που παρουσίασε το στερεό δείγμα έπειτα από την αναερόβια χώνευση εφόσον τα μέταλλα θεωρούνται υπεύθυνα για την αναστολή ανάπτυξης των φυτών.
- ❖ Από τα στοιχεία που προέκυψαν από τα τεστ του MPN (Most Probable Number), διαπιστώσαμε ότι και για τις 3 δεξαμενές υπάρχει αύξηση του μικροβιακού πληθυσμού με την πάροδο του χρόνου, με τη Δεξαμενή βιοενίσχυσης να παρουσιάζει τη μεγαλύτερη αύξηση και τη Δεξαμενή οδηγό τη μικρότερη. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η Δεξαμενή βιοενίσχυσης είναι ήδη εμπλουτισμένη με αποδομητές πετρελαίου ενώ ταυτόχρονα ο συνεχής εμπλουτισμός με θρεπτικά ευνοούσε την ανάπτυξή τους σε μεγαλύτερο επίπεδο.
- ❖ Τα αποτελέσματα από τη μέτρηση των PAHs έδειξαν ικανοποιητική απομάκρυνση του ρύπου, ιδιαίτερα στα χαμηλού μοριακού βάρους (128-178). Συγκεκριμένα, το μεγαλύτερο ποσοστό απομάκρυνσης παρουσίασε η Δεξαμενή βιοενίσχυσης με 87,7% και το μικρότερο η Δεξαμενή οδηγός με 42,1% στα χαμηλού μοριακού

βάρους PAHs. Για τα πιο βαριά PAHs (με μοριακό βάρος 252-278) τα ποσοστά απομάκρυνσης διαμορφώνονται στο 55,7 και 30,1% , αντίστοιχα, επαληθεύοντας την αποδοτικότερη λειτουργία της δεξαμενής βιοενίσχυσης στην απομάκρυνση του ρύπου.

- ❖ Όσον αφορά την απομάκρυνση των TPH (ολικών πετρελαϊκών υδρογονανθράκων) προέκυψε ότι και στις 3 δεξαμενές επιτεύχθηκε μείωση του ρύπου με την υψηλότερη απομάκρυνση να παρουσιάζει η Δεξαμενή βιοενίσχυσης, σε ποσοστό 52,4% έπειτα από 80 μέρες εφαρμογής της μεθόδου. Λόγω του αυξημένου αριθμού αποδομητών η κατανάλωση του ρύπου πραγματοποιήθηκε ταχύτερα και σε μεγαλύτερο ποσοστό.
- ❖ Συνολικά, το συμπέρασμα που προκύπτει είναι ότι η βιοεξυγίανση αποτελεί απλή, οικονομική και φιλική προς το περιβάλλον μέθοδο αποκατάστασης ρυπασμένου από πετρελαιοειδή εδάφους με ιδιαίτερα θετικά αποτελέσματα όσον αφορά την απομάκρυνση των ολικών (TPH) και πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων (PAHs). Παράλληλα, ο εμπλουτισμός του χώματος με θρεπτικά (βιοδιέγερση) όπως το άζωτο (N) και ο φώσφορος (P) και η προσθήκη αυτόχθονων μικροοργανισμών (βιοενίσχυση) επιφέρουν ακόμη καλύτερα αποτελέσματα, αυξάνοντας τα ποσοστά απομάκρυνσης των πετρελαϊκών ρύπων.

6.2 ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ

Μελλοντικά θα ήταν χρήσιμο να εξετασθούν τα εξής:

- ❖ Επιμήκυνση του χρόνου διεξαγωγής των πειραμάτων προκειμένου να ερευνηθεί ο μηχανισμός της βιοαποδόμησης σε βάθος χρόνου, να επιτευχθεί μακροχρόνιος έλεγχος της απόδοσης της μεθόδου και να εντοπιστούν πιθανά προβλήματα.

- ❖ Διεξαγωγή του πειράματος σε διαφορετικές συνθήκες περιβάλλοντος (θερμοκρασία, υγρασία, αερισμός) με σκοπό να προσδιοριστεί ο βαθμός επίδρασής τους στη βιοαποδόμηση οργανικών ρύπων και να καθοριστούν οι βέλτιστες συνθήκες.
- ❖ Παρακολούθηση της απόδοσης της βιοεξυγίανσης σε μια ακόμα κατηγορία πετρελαϊκών ρύπων τους μονοαρωματικούς υδρογονάνθρακες BTEX (Benzene, Toluene, Ethylbenzene, Xylene) προκειμένου να εξετασθεί η απόδοση της μεθόδου και σε πετρελαϊκούς ρύπους με διαφορετικές ιδιότητες.
- ❖ Διερεύνηση της απόδοσης της τεχνικής της βιοδιέγερσης με προσθήκη διαφορετικού είδους ή ποσότητας θρεπτικών στοιχείων.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ξένη Βιβλιογραφία

1. Adams, Godleads Omokhagbor, et al. "Bioremediation, Biostimulation and Bioaugmentation: A Review." *International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation* 3.1 (2015): 28-39.
2. Atagana, Harrison Ifeanyichukwu. "Biodegradation of phenol, o-cresol, m-cresol and p-cresol by indigenous soil fungi in soil contaminated with creosote." *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 20.8 (2004): 851-858.
3. Atlas, Ronald M. "Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective." *Microbiological reviews* 45.1 (1981): 180.
4. Bento, Fatima M., et al. "Comparative bioremediation of soils contaminated with diesel oil by natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation." *Bioresource technology* 96.9 (2005): 1049-1055.
5. Boonchan, Sudarat, Margaret L. Britz, and Grant A. Stanley. "Degradation and mineralization of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by defined fungal-bacterial cocultures." *Applied and environmental microbiology* 66.3 (2000): 1007-1019.
6. Chorom, M., H. S. Sharifi, and H. Motamedi. "Bioremediation of a crude oil-polluted soil by application of fertilizers." *Iranian Journal of Environmental Health Science & Engineering* 7.4 (2010): 319-326.
7. Dibble, J. T., and R. Bartha. "Effect of environmental parameters on the biodegradation of oil sludge." *Applied and environmental microbiology* 37.4 (1979): 729-739.
8. Diplock, E. E., et al. "Predicting bioremediation of hydrocarbons: laboratory to field scale." *Environmental Pollution* 157.6 (2009): 1831-1840.
9. García-Delgado, Carlos, Felipe Yunta, and Enrique Eymar. "Bioremediation of multi-polluted soil by spent mushroom (*Agaricus bisporus*) substrate: Polycyclic aromatic hydrocarbons degradation and Pb availability." *Journal of hazardous materials* 300 (2015): 281-288.

10. Haritash, A. K., and C. P. Kaushik. "Biodegradation aspects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): a review." *Journal of hazardous materials* 169.1 (2009): 1-15.
11. Łebkowska, Maria, et al. "Bioremediation of soil polluted with fuels by sequential multiple injection of native microorganisms: field-scale processes in Poland." *Ecological Engineering* 37.11 (2011): 1895-1900.
12. Mair, J., F. Schinner, and R. Margesin. "A feasibility study on the bioremediation of hydrocarbon-contaminated soil from an Alpine former military site: effects of temperature and biostimulation." *Cold Regions Science and Technology* 96 (2013): 122-128
13. Naidu, Ravi, Danielle Oliver, and Stuart McConnell. "Heavy metal phytotoxicity in soils." *proceedings of the fifth National workshop on the Assessment of site contamination National Environment Protection Council service corporation Adelaide SA.* 2003
14. Nikolopoulou, M., N. Pasadakis, and N. Kalogerakis. "Evaluation of autochthonous bioaugmentation and biostimulation during microcosm-simulated oil spills." *Marine pollution bulletin* 72.1 (2013): 165-173
15. Sayara, Tahseen, et al. "Bioremediation of PAHs-contaminated soil through composting: influence of bioaugmentation and biostimulation on contaminant biodegradation." *International Biodeterioration & Biodegradation* 65.6 (2011): 859-865.
16. Sharma, Anjana, and Meenal Budholia Rehman. "Laboratory scale bioremediation of diesel hydrocarbon in soil by indigenous bacterial consortium." *Indian journal of experimental biology* 47.9 (2009): 766.
17. Shaikh, Isak Rajjak, et al. "Phytotoxic Effects of Heavy Metals (Cr, Cd, Mn and Zn) on Wheat (*Triticum aestivum* L.) Seed Germination and Seedlings Growth in Black Cotton Soil of Nanded, India." *Research Journal of Chemical Sciences* 2231 (2013): 606X.
18. Silva, Ísis Serrano, et al. "Bioremediation of a polyaromatic hydrocarbon contaminated soil by native soil microbiota and bioaugmentation with isolated microbial consortia." *Bioresource Technology* 100.20 (2009): 4669-4675.
19. Sun, Xet al., "The Expanded Application of Most Probable Number to the Quantitative Evaluation of Extremely Low Microbial Count," *PDA J Pharm Sci Tech* 60(2):124-134, 2006.

Ελληνική βιβλιογραφία

1. Καλογεράκης Νίκος «Βιολογικές μέθοδοι εξυγίανσης περιβάλλοντος», Πολυτεχνείο Κρήτης (2013)
2. Κόλλιας Χρήστος-Γεώργιος «Χαρακτηρισμός και χρήση ιλύος για εξυγίανση υπόγειου υδροφορέα από αρωματικούς πετρελαϊκούς υδρογονάνθρακες», Πολυτεχνείο Κρήτης (2011)
3. Μητροπούλου Όλγα Κ. «Εξέταση αποτελεσματικότητας της βιοαποδόμησης πετρελαιοειδών από τρία μικροβιακά κονσόρσια από τον κόλπο της Ελευσίνας», Πολυτεχνείο Κρήτης
4. Ντάντος Άγγελος «Βιοεξυγίανση εδαφών ρυπασμένων με πετρελαιοειδή και πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες από ελεύθερους και μικροενθλακωμένους μικροοργανισμούς», Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων (2007)
5. Παπαδοπούλου Κωνσταντίνα «Βιοεξυγίανση ρυπασμένων εδαφών με μύκητες», Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο (2007)
6. Σημαντηράκη Φωτεινή «Εξυγίανση ρυπασμένου υπόγειου υδροφορέα από οργανικούς και ανόργανους ρύπους με εφαρμογή της τεχνολογίας των διαπερατών αντιδρώντων φραγμάτων», Πολυτεχνείο Κρήτης (2014)
7. Χανιώτης Πέτρος «Βιοεξυγίανση ρυπασμένης άμμου από πετρελαιοειδή με χρήση αυτόχθονων μικροοργανισμών», Πολυτεχνείο Κρήτης (2011)
8. Χαχλαδάκης Ιωάννης «Ταυτόχρονη απομάκρυνση τοξικών μετάλλων και πολυαρωματικών υδρογονανθράκων από ρυπασμένα ιζήματα με χρήση της ηλεκτροκινητικής τεχνικής», Πολυτεχνείο Κρήτης (2014)

Ηλεκτρονική βιβλιογραφία

<http://www.bioline.org.br/request?ja02009>

<https://www.ehp.qld.gov.au/management/non-mining/btex-chemicals.html>

<http://www.epa.gov/osw/hazard/wastemin/minimize/factshts/pahs.pdf>

https://ec.europa.eu/jrc/sites/default/files/Factsheet%20PAH_0.pdf

<http://superfund.oregonstate.edu/superfund/all-about-pahs>

<http://www.cdc.gov/>
<http://www.chem.uoa.gr>
<http://nj.gov/health/eoh/rtkweb/documents/fs/2958.pdf>
<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/anthracene#section=Toxicity>
http://www.epa.gov/teach/chem_summ/BaP_summary.pdf
<http://pubs.sciepub.com/ijebb/3/1/5/>
http://79.129.78.202/lifesos/images/stories/pdf/deliverables/22_03.pdf
<http://www.atsdr.cdc.gov/toxfaqs/tf.asp?id=423&tid=75>
http://79.129.78.202/lifesos/images/stories/pdf/deliverables/22_03.pdf
<http://www.bioremediationgroup.org/BioReferences/Tier1Papers/selective.htm>