



Πολυτεχνείο Κρήτης
Τμήμα Μηχανικών Περιβάλλοντος

Διπλωματική Εργασία

**Βιοαποδόμηση βαρέως κλάσματος πετρελαίου σε
ίζημα, με χρήση βιοεπιφανειοδραστικών ουσιών**

Γκίκα Ιωάννα Σπυριδούλα

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Καθ. Καλογεράκης Νικόλαος (επιβλέπων)

Καθ. Πασαδάκης Νικόλαος

Δρ. Αντωνίου Ελευθερία

Χανιά

Νοέμβριος 2017

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Αν και στις μέρες μας παρατηρείται μια προσπάθεια απομάκρυνσης από συμβατικές πηγές ενέργειας, όπως το πετρέλαιο, και η αντικατάστασή τους με ανανεώσιμες, εν τούτοις οι επιπτώσεις από λάθος χειρισμούς του παρελθόντος παραμένουν. Ατυχήματα σε θάλασσες και διαρροές που έχουν λάβει χώρα, έχουν οδηγήσει σε απελευθέρωση μεγάλων ποσοτήτων πετρελαίου στο περιβάλλον, οι οποίες ακόμα και αρκετά χρόνια μετά δεν έχουν εξαλείφει πλήρως. Παρόλα αυτά, η τεχνική της βιοεξυγίανσης που αναπτύσσεται τα τελευταία χρόνια, αποτελεί μια πολλά υποσχόμενη και φιλική προς το περιβάλλον μεθοδολογία που μπορεί να συμβάλλει στην αποκατάσταση του θαλάσσιου περιβάλλοντος από πετρελαιοειδή. Η τεχνική αυτή, βασίζεται στην ικανότητα ορισμένων μικροοργανισμών να βιοδιασπούν το πετρέλαιο, καθώς έχει αποδειχθεί πως περισσότερα από 200 γένη βακτηρίων και μυκήτων έχουν την ικανότητα να αποικοδομούν υδρογονάνθρακες. Για καλύτερα αποτελέσματα, συχνά προστίθενται και βιοεπιφανειοδραστικές ουσίες, οι οποίες αυξάνουν τη βιοδιαθεσιμότητα του πετρελαίου στους μικροοργανισμούς, κάνοντας ευκολότερο το έργο τους.

Στο πείραμα που διεξάχθηκε, χρησιμοποιήθηκε μείγμα μικροοργανισμών που έχει απομονωθεί από ίζημα λίμνης στην Τυνησία και θαλασσινό νερό από τον Άγιο Ονούφριο (με αυτόχθονες μικροοργανισμούς), καθώς και τασιενεργή ουσία βιολογικής προέλευσης, και μελετήθηκαν διάφορα σενάρια, με σκοπό να εξεταστεί η αποτελεσματικότητα του καθενός στην αποικοδόμηση ιζήματος βαρέως κλάσματος πετρελαίου, για διαφορετικά χρονικά διαστήματα. Τα σενάρια αυτά περιελάμβαναν δείγματα με **i)** πετρέλαιο και θαλασσινό νερό (αυτόχθονες μικροοργανισμοί), **ii)** πετρέλαιο, αποστειρωμένο θαλασσινό νερό και μικροοργανισμούς που απομονώθηκαν από ίζημα λίμνης στην Τυνησία, **iii)** πετρέλαιο, θαλασσινό νερό και βιοτασιενεργή ουσία, **iv)** πετρέλαιο, αποστειρωμένο θαλασσινό νερό, μικροοργανισμούς που απομονώθηκαν από ίζημα λίμνης στην Τυνησία και βιοτασιενεργή ουσία και τέλος, δείγματα με πετρέλαιο και αποστειρωμένο νερό ως control. Σε επόμενο στάδιο, παρασκευάστηκε και δεύτερη σειρά δειγμάτων, όμοια με τα πρώτα αλλά με χρήση διαφορετική ουσίας φυτικής προέλευσης και με προσθήκη άμμου, προκειμένου να προσομοιαστούν καλύτερα οι

συνθήκες του πεδίου. Στο σημείο αυτό, αξίζει ν' αναφερθεί πως το κλάσμα πετρελαίου που χρησιμοποιήθηκε είναι προϊόν διυλιστηρίου και αποτελείται κατά βάρος από κορεσμένους υδρογονάνθρακες, αρωματικούς υδρογονάνθρακες και πολικές ενώσεις σε ποσοστά 57,8%, 31,2% και 10,9% αντίστοιχα.

Το πειραματικό στάδιο, περιλάμβανε εκχύλιση υγρού-υγρού και στη συνέχεια στερεής φάσης για τα δείγματα του πρώτου κύκλου. Όσον αφορά τα δείγματα του δεύτερου κύκλου, περιλάμβανε εκχύλιση soxhlet (για τη φάση της άμμου), εκχύλιση υγρού-υγρού (για την υπερκείμενη υδατική φάση) και εκχύλιση στερεής φάσης. Ειδικότερα στα τελευταία, αναλύθηκε ξεχωριστά η υδατική απ' τη στερεή φάση, για να εξεταστεί η ποσότητα του πετρελαίου που υπήρχε σε κάθε φάση. Το τελικό στάδιο ήταν κοινό για όλα τα δείγματα και περιλάμβανε την ανάλυση σε αέριο χρωματογράφο-φασματογράφο μάζας (GC/MS), με σκοπό να ποσοτικοποιηθούν τα επιμέρους συστατικά του πετρελαίου που παραμένουν και δεν έχουν καταναλωθεί από τους μικροοργανισμούς.

Τα αποτελέσματα, έδειξαν ότι οι αυτόχθονες μικροοργανισμοί με τη βοήθεια της βιοτασιενεργής ουσίας αποδόμησαν έως και 87% το συνολικό ρύπο με μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα στους κορεσμένους υδρογονάνθρακες. Με απόδοση 80% οι μικροοργανισμοί από το ίζημα λίμνης έδωσαν και αυτοί ικανοποιητικά αποτελέσματα παρουσία βιοαποδόμησης ουσίας αλλά και απουσία αυτής 70%. Στην περίπτωση όπου χρησιμοποιήθηκαν μόνο οι αυτόχθονες μικροοργανισμοί του Αγίου Ονούφριου η βιοαποδόμηση ήταν της τάξης του 30%. Ως θεραπευτικά χρησιμοποιήθηκε το άζωτο και ο φώσφορος που περιέχει φυσικά το θαλασσινό νερό. Αξίζει να σημειωθεί ότι το πείραμα στο οποίο ο ρύπος διασπάρθηκε σε άμμο, προσομοίωσε καλύτερα τις συνθήκες, σε αντίθεση με το πείραμα χωρίς προσθήκη άμμου.

ABSTRACT

Nowadays, an attempt to move away from conventional forms of energy, such as oil, and turn to its alternative forms, has been observed. Nevertheless, the effects of oil releases in the environment remain. Large amounts of oil have been released in the marine environment causing a chronic pollution problem. Bioremediation, has emerged as a very promising and environmentally friendly method that can reinforce the rehabilitation of the marine environment from petroleum products. This technique is based on the ability of some microorganisms to degrade hydrocarbons. In order to enhance their efficiency, biosurfactants are often added, since they increase the surface area of the pollutant thus the bioavailability of the oil to the microorganisms.

In this work, we studied the bioremediation of a heavy crude oil refinery product, in the sea sediment. Microbial consortia isolated from a Tunisian lake sediment, as well as sea water from Saint Onufrio (indigenous microorganisms) were used. We investigated various scenarios in order to reveal the biodegradation ability of the microorganisms and how their efficiency is affected by the addition or not of biosurfactants. The experiment lasted 9 months, in order to observe the bioremediation not only of the saturated hydrocarbons that the microorganisms degrade more easily, but also of the aromatic components. The experimental scenarios involved samples with **i)** oil and sea water (indigenous microorganisms) **ii)** oil and sterilized sea water (background N,P) with consortia from Tunisia **iii)** oil, sea water (indigenous microorganisms) and biosurfactant **iv)** oil, sterilized sea water, consortia from Tunisia and biosurfactant and finally samples with sterilized water and oil as control samples. Samples were prepared in triplicates and the pollutant which was a refinery heavy oil product was initially used as is and in the second set of experiment was dispersed in sand, in order to emulate better the marine sediment conditions. The heavy oil product consists of 57,8% w/w saturated hydrocarbons, 31,2% w/w aromatic hydrocarbons and 10,9% w/w polar compounds.

The chemical analysis of the samples included liquid-liquid extraction, followed by solid phase extraction, when no sand was added. While the ones that

sand was used were extracted using soxhlet (for the sand phase) and liquid-liquid extraction (of the overlying aqueous phase). The final analysis step was common for all samples and included gas chromatography-mass spectroscopy (GC-MS) in order to quantify the hydrocarbons.

Results revealed that indigenous microorganisms in the presence of biosurfactants degraded up to 87% of the pollutant, showing greater efficiency on the saturated hydrocarbons degradation. The Tunisian lake consortium yielded an 80% also in the presence of biosurfactants, while in its absence their biodegradation ability decreased to 70%. In the case where only indigenous microorganisms from Saint Onufrio were used, biodegradation was of the order of 30%. Nitrogen and phosphorus that seawater naturally contains were used as nutrients. It is worth noting that the experiment in which the pollutant was dispersed in sand, better emulated real conditions, thus showed promising results, as opposed to the experiment without sand addition.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Μετά το πέρας διεκπεραίωσης της διπλωματικής μου εργασίας θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου, αρχικά στον κ. Νικόλαο Καλογεράκη, επιβλέποντα της παρούσας εργασίας, για την επιλογή του θέματος και την ευκαιρία που μου έδωσε να ασχοληθώ με το συγκεκριμένο αντικείμενο. Εν συνεχεία τον κ. Πασαδάκη, καθηγητή τα σχολής Μηχανικών Ορυκτών Πόρων, για την παροχή του αέριου χρωματογράφου στο εργαστήριο του, καθώς και για την καθοδήγηση στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Την Ελευθερία Αντωνίου για την πολύτιμη βοήθεια και καθοδήγηση που μου προσέφερε σε όλη τη διάρκεια της δουλειάς μου, την προσεκτική ανάγνωση της εργασίας μου και την εξαιρετική συνεργασία. Επίσης, τα μέλη του εργαστηρίου Τεχνολογίας και Διαχείρισης Περιβάλλοντος Τομέας Σχεδιασμού και Ανάπτυξης Περιβαλλοντικών Διεργασιών για την παροχή του χώρου εκπόνησης των πειραμάτων.

Εν κατακλείδι θέλω να ευχαριστήσω την οικογένεια μου, που με έχει στηρίξει υλικά και πνευματικά και μου έδωσε τα εφόδια να ολοκληρώσω τις σπουδές μου και να επιτύχω τους στόχους μου, καθώς και τους φίλους μου για την ηθική υποστήριξή τους όλον αυτόν τον καιρό.

Περιεχόμενα

Παράρτημα.....	3
Πίνακας Εικόνων	3
Πίνακας Διαγραμμάτων	5
Κεφάλαιο 1: Θεωρητικό Υπόβαθρο	6
1.1 Πετρέλαιο	6
1.1.1 Ετυμολογία.....	6
1.1.2 Τρόπος σχηματισμού του πετρελαίου	6
1.1.3 Ιστορική Αναδρομή	7
1.1.4 Σύγχρονη χρησιμότητα του πετρελαίου	8
1.1.5 Σύσταση και ιδιότητες του πετρελαίου και των προϊόντων του	10
1.1.5.1 Ομάδες συστατικών στο πετρέλαιο	14
1.1.5.2 “Λίγα λόγια” για τους Υδρογονάνθρακες (H/C)	15
1.1.6 Τύχη του πετρελαίου στο περιβάλλον	19
1.1.6.1 Διεργασίες γήρανσης πετρελαίου	19
1.1.7 Ρύπανση από πετρελαιοειδή	24
1.1.8 Επιπτώσεις ρύπανσης από πετρελαιοειδή	25
1.1.9 Καταγραφέντα Ατυχήματα.....	31
1.1.10 Τεχνικές Απορρύπανσης	32
1.1.10.1 Φυσικές Μέθοδοι.....	32
1.1.10.2 Μη χημικές- Μηχανικές μέθοδοι.....	33
1.1.10.3 Χημικές Μέθοδοι.....	43
1.1.10.4 Εναλλακτικές Μέθοδοι.....	45
1.2 Τασιενεργές ουσίες	49
1.2.1 Μηχανισμός δράσης τασιενεργών ουσιών.....	51
1.2.2 Συνθετικά παραγόμενες τασιενεργές	52
1.2.3 Βιολογικά παραγόμενες τασιενεργές ουσίες.....	53
1.3 Μικροοργανισμοί ^{[5],[13],[14]}	56
Κεφάλαιο 2: Υλικά και μέθοδοι.....	61
2.1 Υλικά-Παρασκευή Δειγμάτων	61
2.2 Μέθοδοι	62
2.2.1 Εκχύλιση υγρού σε υγρό (liquid to liquid extraction)	62

2.2.2 Εκχύλιση Soxhlet	65
2.2.3 Εκχύλιση στερεής φάσης (solid phase extraction).....	66
2.2.4 Περιγραφή της Μεθόδου GC/MS (Αέρια Χρωματογραφία /Φασματομετρία Μάζας).....	68
2.2.4.1 Αέρια Χρωματογραφία	68
2.2.4.2 Φασματομετρία Μάζας.....	72
2.2.4.3 Σύζευξη αέριου χρωματογράφου με φασματόμετρο μάζας (GC/MS)	74
2.2.4.4 Προετοιμασία δειγμάτων για ανάλυση GC/MS.....	75
Κεφάλαιο 3: Αποτελέσματα	77
3.1 Βιοαποδόμηση βαρέως κλάσματος πετρελαίου σε ίζημα (χωρίς άμμο)	77
3.1.1 Κορεσμένοι Υδρογονάνθρακες	77
3.1.2 Αρωματικοί Υδρογονάνθρακες	79
3.2 Βιοαποδόμηση βαρέως κλάσματος πετρελαίου σε ίζημα (με άμμο).....	81
3.2.1 Κορεσμένοι υδρογονάνθρακες	81
3.2.2. Αρωματικοί Υδρογονάνθρακες	87
3.3 Υπολογισμός ποσοστού αποικοδόμησης.....	90
Κεφάλαιο 4: Συμπεράσματα και Συζήτηση.....	90
4.1 Τελικά Συμπεράσματα	91
4.2 Προτάσεις μελλοντικής έρευνας.....	91
Βιβλιογραφία	93

Παράρτημα

Πίνακας Εικόνων

Εικόνα 1: Χρήσεις του πετρελαίου και των προϊόντων του.....	9
Εικόνα 2: Αλληλοσυσχέτιση των διαφόρων τύπων υδρογονανθράκων στο πετρέλαιο.....	13
Εικόνα 3: Δομή των υδρογονανθράκων με βάση την 1 ^η κατηγοριοποίηση.....	16
Εικόνα 4: Δομή των υδρογονανθράκων με βάση τη 2 ^η κατηγοριοποίηση.....	16
Εικόνα 5: Το βενζόλιο και τα παράγωγά του.....	17
Εικόνα 6: Μερικοί από τους πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες που υπάρχουν στο πετρέλαιο.....	18
Εικόνα 7: Μερικοί από τους πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες που υπάρχουν στο πετρέλαιο.....	18
Εικόνα 8: Σχηματική απεικόνιση των διεργασιών γήρανσης του πετρελαίου.....	20
Εικόνα 9: Καφέ Πελεκάνοι (<i>Pelecanus occidentalis</i>) στο Grand Isle της Λουιζιάνα περιμένουν να καθαριστούν από πετρέλαιο (πετρελαιοκηλίδα του Deepwater Horizon, Ιούνιος 2010).	28
Εικόνα 10: Νεκρό ψάρι εξαιτίας πετρελαϊκού ατυχήματος σε ακτή της Ταϊλάνδης.....	28
Εικόνα 11: Συνδυασμός της τεχνικής πλωτών φραγμάτων (booms) με επί τόπου αάφλεξη (In-situ burning).....	34
Εικόνα 12: Φράγμα τύπου φράκτου.....	34
Εικόνα 13: Φράγμα τύπου κουρτίνας.....	35
Εικόνα 14: Μηχανικά μέρη ενός πετρελαιοσυλλέκτη (skimmer).....	38
Εικόνα 15: Χειρωνακτικός καθαρισμός βράχου σε παραλία του 'Green Island' στην Αλάσκα.....	41
Εικόνα 16: Επείγουσα επέμβαση για αποκατάσταση ακτής(“σκούπισμα” με απορροφητικά υλικά) στο Ρίο ντε Τζανέιρο, από ραγισμένο δεξαμενόπλοιο (2005).....	42
Εικόνα 17: Συσσώρευση επιφανειοδραστικών ουσιών στη διεπιφάνεια νερού-αέρα.....	50
Εικόνα 18: Σταδιακή δημιουργία μικκυλίου από τασιενεργές.....	50
Εικόνα 19: Μικκύλιο τασιενεργών ουσιών στο νερό.....	51
Εικόνα 20: Σχέση μεταξύ συγκέντρωσης βιοεπιφανειοδραστικού παράγοντα, επιφανειακής τάσης και σχηματισμού μικκυλίων.....	54
Εικόνα 21: Χαρακτηριστική δομή του δι-ραμνολιπιδίου που ανήκει στην κατηγορία των γλυκολιπιδίων.....	55
Εικόνα 22: Χαρακτηριστική δομή των σοφορολιπιδίων λακτονικής (αριστερά) και όξινης μορφής (δεξιά) που ανήκουν στην κατηγορία των γλυκολιπιδίων.....	55
Εικόνα 23: Ο κύκλος του άνθρακα.....	56
Εικόνα 24: Γενική μεταβολική πορεία αποδόμησης πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων από βακτήρια και μύκητες.....	59
Εικόνα 25: Σχηματισμός γαλακτώματος κατά την εκχύλιση υγρού σε υγρό.....	64
Εικόνα 26: Διάταξη εκχύλισης soxhlet.....	65
Εικόνα 27: Διάταξη εκχύλισης στερεής φάσης (spe).....	68
Εικόνα 28: Καμπύλες van Deemter αεριοχρωματογραφίας του $n\text{-C}_{17}\text{H}_{36}$ @175 °C, χρησιμοποιώντας N_2 , He και H_2 , σε στήλη διαμέτρου 0,25 m, μήκους 25 m, με επικαλυμμένα τοιχώματα με στατική φάση OV-101.....	71
Εικόνα 29: Σχηματική απεικόνιση λειτουργίας του αέριου χρωματογράφου.....	72

Εικόνα 30: Σχηματική διάταξη αέριου χρωματογράφου σε σύζευξη με φασματόμετρο μάζας	75
---	----

Πίνακας Διαγραμμάτων

Διάγραμμα 1: Αποικοδόμηση κορεσμένων υδρογονανθράκων του δείγματος Control (1 ^η σειρά πειραμάτων).....	77
Διάγραμμα 2: Αποικοδόμηση κορεσμένων υδρογονανθράκων του δείγματος Sea Water & Consortia (1 ^η σειρά πειραμάτων).....	78
Διάγραμμα 3: Σύγκριση όλων το σεναρίων για την αποδόμηση των κορεσμένων υδρογονανθράκων, σε διάστημα 270 ημερών (1 ^η σειρά πειραμάτων).....	78
Διάγραμμα 4: Αποικοδόμηση αρωματικών υδρογονανθράκων του δείγματος Control (1 ^η σειρά πειραμάτων).....	79
Διάγραμμα 5: Αποικοδόμηση αρωματικών υδρογονανθράκων του δείγματος Sea water & Consortia (1 ^η σειρά πειραμάτων).....	80
Διάγραμμα 6: Σύγκριση όλων των σεναρίων για την αποδόμηση των αρωματικών υδρογονανθράκων, σε διάστημα 270 ημερών (1 ^η σειρά πειραμάτων).....	80
Διάγραμμα 7: Αποικοδόμηση κορεσμένων υδρογονανθράκων της υγρής φάσης του δείγματος Control (2 ^η σειρά πειραμάτων)	81
Διάγραμμα 8: Αποικοδόμηση κορεσμένων υδρογονανθράκων της φάσης άμμου του δείγματος Control (2 ^η σειρά πειραμάτων)	82
Διάγραμμα 9: Αποικοδόμηση κορεσμένων υδρογονανθράκων της φάσης άμμου του δείγματος Sea water (2 ^η σειρά πειραμάτων).....	83
Διάγραμμα 10: Αποικοδόμηση κορεσμένων υδρογονανθράκων της φάσης άμμου του δείγματος Sea water & Consortia (2 ^η σειρά πειραμάτων).....	84
Διάγραμμα 11: Αποικοδόμηση κορεσμένων υδρογονανθράκων της υγρής φάσης του δείγματος Sea water & Biosurfactants (2 ^η σειρά πειραμάτων).....	85
Διάγραμμα 12: Αποικοδόμηση κορεσμένων υδρογονανθράκων της φάσης άμμου του δείγματος Sea water & Biosurfactants (2 ^η σειρά πειραμάτων).....	85
Διάγραμμα 13: Αποικοδόμηση κορεσμένων υδρογονανθράκων της υγρής φάσης του δείγματος Sea water & Consortia & Biosurfactants (2 ^η σειρά πειραμάτων).....	86
Διάγραμμα 14: Αποικοδόμηση κορεσμένων υδρογονανθράκων της φάσης άμμου του δείγματος Sea water & Consortia & Biosurfactants (2 ^η σειρά πειραμάτων).....	87
Διάγραμμα 15: Αποικοδόμηση αρωματικών υδρογονανθράκων του δείγματος Control (2 ^η σειρά πειραμάτων).....	88
Διάγραμμα 16: Αποικοδόμηση αρωματικών υδρογονανθράκων του δείγματος Sea water (2 ^η σειρά πειραμάτων).....	88
Διάγραμμα 17: Αποικοδόμηση αρωματικών υδρογονανθράκων του δείγματος Sea water & Consortia (2 ^η σειρά πειραμάτων).....	89
Διάγραμμα 18: Αποικοδόμηση αρωματικών υδρογονανθράκων του δείγματος Sea water & Biosurfactants (2 ^η σειρά πειραμάτων).....	89
Διάγραμμα 19: Αποικοδόμηση αρωματικών υδρογονανθράκων του δείγματος Sea water & Consortia & Biosurfactants (2 ^η σειρά πειραμάτων).....	89

Κεφάλαιο 1: Θεωρητικό Υπόβαθρο

1.1 Πετρέλαιο

1.1.1 Ετυμολογία

Αν και είναι ευρέως πιστευτό πως η λέξη 'πετρέλαιο' προέρχεται από την ελληνική λέξη 'πέτρα' και τη λατινική λέξη "oleum" που σημαίνει λάδι, υπάρχουν ωστόσο ενδείξεις ότι στην πραγματικότητα η λέξη "πετρέλαιο" επινοήθηκε από το Γερμανό γεωλόγο Γκεόργκ Μπάουερ, το 1.556^[36]. Πηγαίνοντας ακόμα παλαιότερα, σύμφωνα με ιστορικά στοιχεία, οι Κινέζοι που έκαναν την πρώτη γεώτρηση για πετρέλαιο το 347 μ.Χ. χρησιμοποίησαν για το υγρό που έβγαине από το 240 μέτρων πηγάδι, την ονομασία "σι γιου" (έλαιο της πέτρας)^[36].

1.1.2 Τρόπος σχηματισμού του πετρελαίου

Το αργό πετρέλαιο βρίσκεται μέσα στη γη εμποτισμένο σε πορώδη ιζηματογενή πετρώματα, στα ανώτερα στρώματα περιοχών του φλοιού της γης και συνήθως έρχεται στην επιφάνεια της Γης μέσα από ρωγμές στους βράχους, όπου συγκεντρώνεται σε λιμνούλες. Είναι προϊόν της αναερόβιας βακτηριακής αποσύνθεσης, φυτικής και ζωικής θαλάσσιας ζωής (φυτοπλαγκτόν και ζωοπλαγκτόν). Πριν πολλά εκατομμύρια χρόνια, το πλαγκτόν βυθίστηκε στα βάθη των πρωτογενών ωκεανών και θάφτηκε από παχύ στρώμα λάσπης. Εκεί άρχισε η αναερόβια δράση διαφόρων μικροοργανισμών, κυρίως στα λιπαρά συστατικά του πλαγκτόν, με αποτέλεσμα την αύξηση της θερμοκρασίας και της πίεσης και τη μετατροπή, έτσι, του πλαγκτόν σε μείγμα υδρογονανθράκων που αποτελούν το πετρέλαιο. Ένα 10% του πετρελαίου δημιουργήθηκε την Παλαιοζωική εποχή (πάνω από 240 εκατ. χρόνια), το μεγαλύτερο ποσοστό (70%) τη Μεσοζωική εποχή (δηλαδή πάνω από 65 και κάτω από 240 εκατ. χρόνια) και το 20% την Καινοζωική εποχή (δηλαδή σε χρόνο μικρότερο από 65 εκατ. χρόνια). Κατά τη Μεσοζωική εποχή το κλίμα που επικρατούσε ήταν τροπικό, το πλαγκτόν ήταν άφθονο στους ωκεανούς, οι πυθμένες των ωκεανών ήταν στάσιμοι και χωρίς οξυγόνο και εκεί είχε συσσωρευτεί μία μαύρη, πλούσια σε οργανικά λάσπη^[6].

Η παραπάνω θεωρία σχηματισμού έχει επιβεβαιωθεί τα τελευταία χρόνια με τεχνικές αέριας χρωματογραφίας σε φασματογράφο μαζών (GC/MS), όπου

ταυτοποιήθηκαν διάφοροι υδρογονάνθρακες που διατηρούν βασικά χαρακτηριστικά των αρχαίων ζωντανών οργανισμών από τους οποίους προήλθαν (φύκια, θαλάσσια φυτά, κ.α). Οι υδρογονάνθρακες αυτοί καλούνται και βιολογικοί μάρτυρες και ανέρχονται σε ορισμένα κοιτάσματα πετρελαίου μέχρι και 35-40%, γεγονός που αποδεικνύει τη βιογένεση του αργού πετρελαίου.

Για το σχηματισμό κοιτασμάτων είναι απαραίτητη η παρουσία μιας γεωλογικής δομής με κατάλληλο σχήμα, ώστε το πετρέλαιο υπό μορφή σταγονιδίων να συγκεντρωθεί στους πόρους ενός πετρώματος που καλύπτεται από ένα άλλο, αδιαπέραστο πέτρωμα. Ταμιευτήρες πετρελαίου μπορούν να σχηματιστούν με διαφορετικούς τρόπους. Το απλούστερο παράδειγμα είναι, όταν διαστρωματωμένα ιζηματογενή πετρώματα, που περικλείουν και ένα πέτρωμα-κάλυμμα, αναδιπλώνονται σε ένα αντίκλινο¹. Σύμφωνα με γεωλόγους, τα αντίκλινα αποτελούν τις καλύτερες περιοχές για αναζήτηση πετρελαίου, ενώ εναλλακτικά, μπορούν να σχηματιστούν κυρτά ιζηματογενή στρώματα με πτύχωση² των ιζημάτων ως προς ένα υψηλό σημείο και με σχηματισμό τοξωτής κλίνης από την κίνηση προς τα πάνω ενός θόλου άλατος. Με τα χρόνια στον ταμιευτήρα, τα διάφορα ρευστά κατανέμονται σε σχεδόν οριζόντιες ζώνες ανάλογα με την πυκνότητά τους.

1.1.3 Ιστορική Αναδρομή

Όσον αφορά τη χρήση του πετρελαίου, η παλαιότερη αναγράφεται στη Βίβλο, όπου αναφέρεται πως ο Νώε χρησιμοποίησε κάποιο υλικό ασφατικής σύστασης ως επίστρωση της Κιβωτού του. Πριν από 5.000 τουλάχιστον χρόνια, οι Σουμέριοι, οι Ασσύριοι και οι Βαβυλώνιοι χρησιμοποίησαν τις μεγάλες επιφανειακές διαρροές πετρελαίου στην πόλη Χιτ του Ευφράτη ποταμού, ενώ χρήση παρόμοιων διαρροών είναι γνωστή σε πολλά μέρη της Μεσοποταμίας και των γειτονικών περιοχών που περιβάλλουν την ανατολική Μεσόγειο. Αναφορά στο πετρέλαιο, έχει γίνει και από τον Ηρόδοτο (5^{ος} αιώνας π.Χ.), σύμφωνα με τον οποίο, στη Ζάκυνθο υπήρχε ένα πηγάδι με ασφαλτό^[35].

¹ **Αντίκλινο** είναι η κυρτή πτυχή με αψιδωτή μορφή. Τα στρώματα στρεβλώνονται λόγω της πτύχωσης είτε προς τα πάνω είτε προς τα κάτω. Αντίκλινο είναι η προς τα πάνω θολωτή πτύχωση^[31].

² **Πτυχή** είναι η κάμψη των πετρωμάτων του γήινου φλοιού. Τα πετρώματα πτύχωνται συνήθως στις περιοχές στις οποίες τα στρώματα συνθλίβονται, καθώς συμπιέζονται οριζόντια και κατακόρυφα, πιθανόν λόγω της σύγκλισης δύο λιθοσφαιρικών πλακών^[31].

Εν συνεχεία, πολλά αρχαιολογικά ευρήματα υποδηλώνουν τη χρήση του πετρελαίου στα αρχαία χρόνια. Οι αρχαίοι έλληνες (4^{ος} αιώνας π.Χ - 1^{ος} αιώνας μ.Χ.) είχαν ανακαλύψει τη χρησιμότητά του σε κατασκευαστικές εργασίες και συγκεκριμένα, το χρησιμοποιούσαν σαν υλικό οδοποιίας, συγκολλητικό, για το καλαφάτισμα των πλοίων, καθώς και στην ιατρική ως απολυμαντικό, υγρό εντριβών και καθαρτικό. Υπάρχουν επίσης σχετικές αναφορές, που μαρτυρούν τη χρησιμότητα του πετρελαίου στην περιοχή του Μπακού και του Αζερμπαϊτζάν. Συνεχίζοντας την ιστορική πορεία του πετρελαίου, φτάνουμε στους πρώτους χριστιανικούς χρόνους (1^{ος} αιώνας μ.Χ. και μετά), όπου οι Άραβες και οι Πέρσες ασχολήθηκαν με το αργό πετρέλαιο και πιο συγκεκριμένα με τη διύλισή του σε φωτιστικό πετρέλαιο. Οι γνώσεις που κατακτήθηκαν, έφτασαν στη δυτική Ευρώπη κατά τον 12^ο αιώνα, καθώς και στο Βυζάντιο, διότι υπάρχει υπόνοια πως το υγρό πυρ που χρησιμοποιούταν ως όπλο στα μετέπειτα Βυζαντινά χρόνια (4^{ος} – 15^{ος} αιώνας μ.Χ.), αν και δεν είναι γνωστή επακριβώς η σύνθεσή του, ενδεχομένως να είχε ως βάση κάποιας μορφής πετρελαϊκό προϊόν.

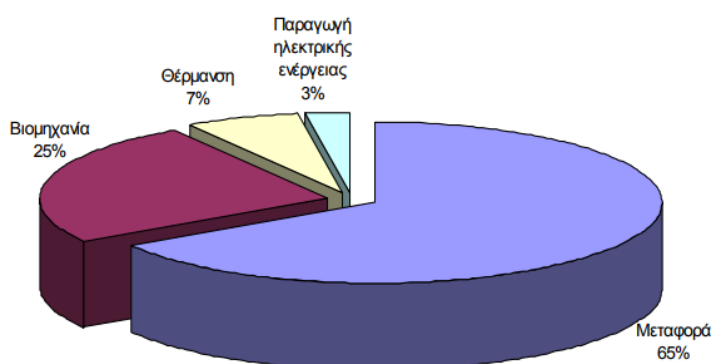
Πιο πρόσφατη αναφορά αποτελούν οι ανασκαφές που έγιναν στις αρχαίες πόλεις, Σούσα του Ιράν καθώς και Ουρ του Ιράκ κατά τον 19^ο αιώνα, όπου αποκάλυψαν πως οι κάτοικοι χρησιμοποιούσαν για την κατασκευή αρδευτικών τάφων ένα μείγμα που αποτελούταν από στερεά παράγωγα πετρελαίου, άμμου και ινώδη υλικά.

Από τον 19^ο αιώνα και μετά, αρχίζουν να λαμβάνουν χώρα συνεχείς αλλαγές στο χώρο της βιομηχανίας και τον 20^ο αιώνα έχουμε τη Βιομηχανική Επανάσταση, όπου με την εμφάνιση του αυτοκινήτου, το πετρέλαιο παίρνει τη θέση της σημαντικότερης για τότε πηγής ενέργειας στον κόσμο. Στο σημείο αυτό αξίζει να σημειωθεί, πως ενώ το 1870 η παγκόσμια παραγωγή πετρελαίου ετησίως ήταν μικρότερη από 1.000.000 τόνους, τα επόμενα έτη, έφτασε να ξεπερνά τους 3.000.000.000 τόνους ετησίως.

1.1.4 Σύγχρονη χρησιμότητα του πετρελαίου

Ακόμα και σήμερα το πετρέλαιο αποτελεί υψίστης σημασίας πρώτη ύλη στη βιομηχανία και μεγαλύτερη εφαρμογή βρίσκει ως καύσιμο (για κίνηση ή θέρμανση).

Στην Εικόνα 1, παρουσιάζονται τα ποσοστά που αντιστοιχούν στις χρήσεις του πετρελαίου. Τα προϊόντα του πετρελαίου χρησιμοποιούνται κυρίως στον τομέα των μεταφορών και της θέρμανσης, αλλά επίσης, στην παραγωγή μιας πληθώρας οργανικών χημικών ουσιών γνωστών ως πετροχημικά. Παραδείγματα τέτοιων προϊόντων είναι ενώσεις, όπως οι ολεφίνες (αιθυλένιο, προπυλένιο, κ.α) τα οποία αποτελούν μονομερή για την παραγωγή εμπορικών πολυμερών, όπως το πολυαιθυλένιο (LDPE, HDPE) και το πολυπροπυλένιο (PP). Ωστόσο, οι έντονοι ρυθμοί εξόρυξης, έχουν οδηγήσει σε εξάντληση των κοιτασμάτων. Συγκεκριμένα στις Η.Π.Α. αναφέρεται πως έχει ήδη χρησιμοποιηθεί το 75% των αποθεμάτων, γεγονός που κάνει επιτακτική την ανάγκη στροφής σε εναλλακτικές πηγές ενέργειας και ανανεώσιμους πόρους. Εκτός όμως από αυτές τις δύο βασικές χρήσεις του, το πετρέλαιο και τα παράγωγά του συμμετέχουν ενεργά στην καθημερινότητά μας, καθώς αποτελούν συστατικά πολλών υφασμάτων, καλλυντικών, φαρμάκων, πλαστικών, σκευών, παιχνιδιών και πολλών άλλων πραγμάτων που χρησιμοποιούμε σε ημερήσια βάση.



Εικόνα 1: Χρήσεις του πετρελαίου και των προϊόντων του (πηγή: Άγγελος Ντάνος/Χημικός/PhD/«Πετρελαιοειδή στο περιβάλλον και τεχνικές απορρύπανσης»/Cp Foodlab Ltd)

Στον πίνακα 1 που παρατίθεται, παρουσιάζονται τα παγκόσμια αποθέματα πετρελαίου, όπως αυτά καταγράφηκαν το 2009 (τα περισσότερα βρίσκονται στις χώρες της Μέσης Ανατολής). Στον ίδιο πίνακα αναφέρονται, επίσης, τα χρόνια για τα οποία τα αποθέματα πετρελαίου επαρκούν με βάση το ρυθμό κατανάλωσης που

σημειώθηκε το ίδιο έτος. Ως δείκτης χρησιμοποιείται το πηλίκο απόθεμα/κατανάλωση (R/P).

Περιοχή	10 ⁹ βαρέλια	Ποσοστό επί του συνόλου (%)	Λόγος R/P
Β. Αμερική	73,3	5,5	15
Λατινική Αμερική	198,9	14,9	80,6
Ευρώπη και χώρες της πρώην ΕΣΣΔ	136,9	10,3	21,2
Μέση Ανατολή	754,2	56,6	84,8
Αφρική	127,7	9,6	36
Λοιπή Ασία και Ωκεανία	42,2	3,2	14,4
Παγκόσμια	1333,1	100	45,7

Πίνακας 1: Παγκόσμια αποθέματα πετρελαίου το 2009 (πηγή: Ελληνικά Ακαδημαϊκά Ηλεκτρονικά Συγγράμματα και Βοηθήματα/Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο/Βιομηχανική Οργανική Χημεία/ Δημήτρης Σ. Αχιλιάς-Ιωάννης Ελευθεριάδης-Νικόλαος Νικολαΐδης/Αθήνα 2015)

1.1.5 Σύσταση και ιδιότητες του πετρελαίου και των προϊόντων του

Το πετρέλαιο αποτελείται κυρίως από υδρογονάνθρακες, περιέχει όμως και άλλα στοιχεία σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις όπως, άζωτο (N), θείο (S), οξυγόνο (O), τα οποία αναφέρονται ως ετεροάτομα ή ετεροσυστατικά. Στα ετεροσυστατικά συγκαταλέγονται επίσης και σχηματισμοί που περιλαμβάνουν, εκτός από άνθρακα και υδρογόνο, στοιχεία όπως το νικέλιο (Ni), βανάδιο (V), μαγνήσιο (Mg) και χαλκό (Cu). Τα παραπάνω στοιχεία, προέρχονται είτε από την πρόδρομη οργανική ύλη του πετρελαίου, είτε ενσωματώνονται στα μόρια των υδρογονανθράκων κατά τις διεργασίες δημιουργίας του.

Η σύστασή του μπορεί να διαφέρει, όχι μόνο από την τοποθεσία και την ηλικία του, αλλά και από το βάθος της εξόρυξης και άλλους παράγοντες, ωστόσο στην πλειονότητα των πετρελαίων, οι υδρογονάνθρακες καταλαμβάνουν περισσότερο του 70% κ.β. της συνολικής συγκέντρωσης. Εντούτοις, σε βαριά,

βιοαποικοδομημένα πετρέλαια, ή στα βιτουμένια³ από ασφαλτούχες άμμους, τα ετεροσυστατικά μπορεί να καταλαμβάνουν ποσοστό μεγαλύτερο του 50%^[23]. Ενδεικτικές τιμές για το πετρέλαιο και την ασφαλτο παρουσιάζονται στον πίνακα 2.

Στοιχείο	Περιεκτικότητα % κ.β.	
	Πετρέλαιο	Άσφαλτος
Άνθρακας (C)	82,2-87,1	80-85
Υδρογόνο (H)	1,7-14,7	8,5-11
Οξυγόνο (O)	0,1-4,5	
Άζωτο	0,1-1,5	0-2
Θείο	0,1-5,5	2-8
Μέταλλα (Ni, V κλπ)	<1.000 ppm	

Πίνακας 2: Στοιχειακή σύσταση πετρελαίου και ασφάλτου (πηγές: Γεωχημεία Πετρελαίου/Νίκος Πασσαδάκης/Εκδόσεις Τζιόλα/Θεσσαλονίκη 2015 και Ελληνικά Ακαδημαϊκά Ηλεκτρονικά Συγγράμματα και Βοηθήματα/Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο/Βιομηχανική Οργανική Χημεία/ Δημήτρης Σ. Αχιλιάς-Ιωάννης Ελευθεριάδης-Νικόλαος Νικολαΐδης/Αθήνα 2015)

Στην προσπάθεια κατηγοριοποίησης των διαφόρων πετρελαίων με βάση τα συστατικά τους, προέκυψε αρχικά μια απλή ταξινόμηση σε δύο κατηγορίες, τα **παραφινικά** και τα **ναφθενικά**^[6]. Η κατηγοριοποίηση γινόταν με βάση την περιεκτικότητα των πετρελαίων στις ακόλουθες κατηγορίες συστατικών:

- ❖ **Κορεσμένοι Υδρογονάνθρακες:** περιλαμβάνουν τα κανονικά και διακλαδισμένα αλκάνια και τα ισο-αλκάνια (παραφίνες, ισο-παραφίνες και ναφθένια), αλλά και αλκένια (ολεφίνες), που υπάρχουν μόνο σε μικρό βαθμό.
- ❖ **Αρωματικοί Υδρογονάνθρακες:** μονοαρωματικές ενώσεις (βενζόλιο) έως πολυαρωματικές (ναφθαλένιο, φαινανθρένιο, κλπ).

³ **Βιτουμένιο:** Στερεός ή ημιστερεός υδρογονάνθρακας με κολλοειδή δομή, χρώματος φαιού προς μαύρο, ο οποίος λαμβάνεται ως κατάλοιπο από την απόσταξη αργού πετρελαίου, με απόσταξη σε κενό αέρος υπολειμμάτων ατμοσφαιρικής απόσταξης του πετρελαίου

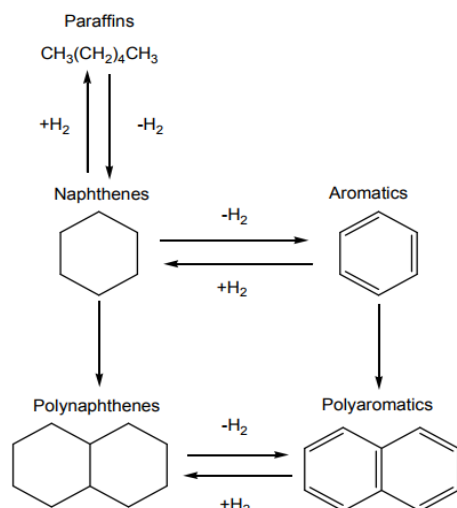
- ❖ **Ενώσεις του άνθρακα με ετεροάτομα:** Θειόλες (μερκαπτάνες), (π.χ. θειοφένια), ενώσεις του αζώτου και του οξυγόνου (όπως, πυριδίνες, πυρρόλες, φαινόλες, καρβοξυλικά οξέα, αμίδια, αιθέρες).

Στη συνέχεια όμως, λόγω της μεγάλης σπουδαιότητας του πετρελαίου, καθώς και των προϊόντων του, συνεχίστηκε η έρευνα και διαπιστώθηκε πως σε αυτό περιέχονται τρεις κατηγορίες υδρογονανθράκων, οι οποίες ανάλογα με την περιεκτικότητά τους καθορίζουν τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του πετρελαίου και των προϊόντων του. Αυτές είναι οι παραφίνες, τα ναφθένια⁴ και οι αρωματικοί υδρογονάνθρακες. Με κριτήριο λοιπόν, την περιεκτικότητα των πετρελαίων στις τρεις αυτές ομάδες υδρογονανθράκων, προέκυψε η ακόλουθη, πιο λεπτομερής ταξινόμηση:

- ❖ **Παραφινικά:** Αποτελούνται από παραφινικούς υδρογονάνθρακες σε ποσοστό τουλάχιστον 50% της μάζας των ελαφρών κλασμάτων.
- ❖ **Παραφίνο-ναφθενικά:** Περιέχουν κατά κύριο λόγο παραφινικούς και ναφθενικούς υδρογονάνθρακες και σε μικρότερο ποσοστό αρωματικούς.
- ❖ **Ναφθενικά:** Οι ναφθενικοί υδρογονάνθρακες υπερτερούν σε όλα τα κλάσματα και ξεπερνούν σε ποσοστό το 60% της μάζας του πετρελαίου.
- ❖ **Παραφίνο-ναφθενο-αρωματικά:** Περιέχουν σχεδόν ίσες ποσότητες από τις τρεις τάξεις ενώσεων και είναι τα πιο διαδομένα σήμερα στη φύση.
- ❖ **Ναφθενο-αρωματικά:** Περιέχουν κατά κύριο λόγο ναφθενικούς και αρωματικούς υδρογονάνθρακες και σε μικρότερο ποσοστό παραφινικούς.
- ❖ **Αρωματικά:** Πλούσια σε αρωματικούς υδρογονάνθρακες (κύρια παράγωγα του βενζολίου).

⁴ **Ναφθένια:** Κυκλικές οργανικές ενώσεις της τάξης των υδρογονανθράκων, οι οποίες αντιστοιχούν στον γενικό τύπο C_nH_{2n} και είναι ισομερείς με τα αλκένια. Οι ενώσεις αυτές ονομάστηκαν ν. κατά τα τέλη του 19ου αι. από τον Ρώσο χημικό Βλαντιμίρ Μαρκόβνικοφ, αλλά σήμερα έχουν εκλάβει την πιο σύγχρονη ονομασία κυκλοαλκάνια ή κυκλοπαραφίνες^[32].

Συνήθως, το ποσοστό των παραφινικών υδρογονανθράκων, μειώνεται με την αύξηση του μοριακού βάρους. Γενικά, η συσχέτιση μεταξύ των διαφόρων υδρογονανθράκων σε ένα πετρέλαιο έχει να κάνει με την απώλεια ή πρόσληψη υδρογόνου, όπως παρουσιάζεται στην Εικόνα 2. Επομένως, προκύπτει πως παραφινικού τύπου υδρογονάνθρακες μετασχηματίζονται σε ναφθενικούς και αυτοί με τη σειρά τους, σε αρωματικούς.



Εικόνα 2: Αλληλοσυσχέτιση των διαφόρων τύπων υδρογονανθράκων στο πετρέλαιο (πηγή: Ελληνικά Ακαδημαϊκά Ηλεκτρονικά Συγγράμματα και Βοηθήματα/Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο/Βιομηχανική Οργανική Χημεία/ Δημήτρης Σ. Αχιλιάς-Ιωάννης Ελευθεριάδης-Νικόλαος Νικολαΐδης/Αθήνα 2015)

Εναλλακτικά, υπάρχει και ένας πιο απλοϊκός τρόπος κατάταξης, που αφορά το αργό πετρέλαιο και βασίζεται στην πυκνότητά του, συνδυαστικά με τον τρόπο προέλευσης, όπως παρουσιάζεται στον Πίνακα 3.

Ομάδα	Πυκνότητα	Τύπος πετρελαιοειδών
1	< 0,8	Gasoline, Kerosene
2	0,8-0,85	Gas Oil, Abu Dhabi Crude
3	0,85-0,95	Arabian Light Crude, North Sea Crude Oils (e.g. Forties)
4	>0,95	Heavy Fuel Oil, Venezuelan Crude Oils

Πίνακας 3: Κατηγορίες αργού πετρελαίου, με βάση την πυκνότητά τους (πηγή: Πολυτεχνείο Κρήτης/ Νικόλαος Καλογεράκης /Διδακτικές Σημειώσεις μαθήματος 'Βιολογικές Μέθοδοι Εξυγίανσης Περιβάλλοντος'/Χανιά 2013)

1.1.5.1 Ομάδες συστατικών στο πετρέλαιο

Ο μεγάλος αριθμός ενώσεων που περιλαμβάνεται στο πετρέλαιο, έχει οδηγήσει στο να εκφράζεται η χημική του σύσταση, ειδικά στις γεωχημικές εφαρμογές, με όρους ομάδων συστατικών, με βασικό κριτήριο τη συμπεριφορά τους στις αναλυτικές διαδικασίες διαχωρισμού τους. Με άλλα λόγια, το πετρέλαιο διαχωρίζεται σε ομάδες ενώσεων, με βάση τη διαλυτότητά τους σε επιλεγμένους διαλύτες ή την ικανότητα προσφρόφησής τους σε υλικά που χρησιμοποιούνται στη χρωματογραφία ανοικτής στήλης. Αυτές οι ομάδες είναι, τα **κορεσμένα** συστατικά (saturates), τα **αρωματικά** (aromatics), οι **ρητίνες** (resins) και τα **ασφαλτένια** (asphaltenes). Η κατηγοριοποίηση αυτή αναφέρεται βιβλιογραφικά ως SARA (από τα αρχικά των τεσσάρων ομάδων) ^[23].

Αρχικά, στο κλάσμα των κορεσμένων συστατικών, συγκεντρώνονται τα αλκάνια και τα ναφθένια, ενώ σε αυτό των αρωματικών, τα αρωματικά καθώς και τα ναφθenoμένα αρωματικά συστατικά. Αξίζει να επισημανθεί πως, ανάμεσα στις δύο αυτές ομάδες (κορεσμένα και αρωματικά) υπάρχει αλληλοεπικάλυψη, δεδομένου ότι στο πετρέλαιο υπάρχουν ενώσεις που στο μόριό τους συναντάμε δομές με διαφορετικές ιδιότητες. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί ένα μονοαρωματικό μόριο, με πλευρικό υποκαταστάτη μια μακριά κορεσμένη υδρογονανθρακική αλυσίδα, το οποίο μπορεί να παρουσιάζει ενδιάμεση συμπεριφορά κορεσμένου και αρωματικού μορίου.

Όσον αφορά τις άλλες δύο ομάδες και οι δύο αποτελούνται από πολικές ενώσεις, κυρίως βαριά αρωματικά και ετεροσυστατικά. Αν και οι ενώσεις των δύο αυτών ομάδων ανήκουν σε διαφορετικές ομόλογες σειρές, ομαδοποιούνται ανάλογα με τη συμπεριφορά τους ως προς ορισμένους διαλύτες (ευκολία/δυσκολία διάλυσης σε αυτούς).

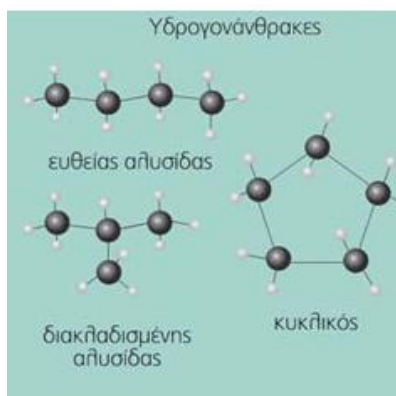
Πιο συγκεκριμένα, ως ασφαλτένια ορίζονται τα συστατικά του πετρελαίου που μπορούν να διαχωριστούν από το υπόλοιπο μείγμα με καθίζηση σε άπολους διαλύτες, (ελαφριά νάφθα, πετρελαϊκός αιθέρας, πεντάνιο, εξάνιο κ.α.). Μια άλλη ιδιότητα των ασφαλτενίων είναι η πλήρης αναμειξιμότητά τους με διαλύτες υψηλής επιφανειακής τάσης (πυριδίνη, διθειάνθρακας, τετραχλωράνθρακας κ.α.). Το

υπολειπόμενο κλάσμα πετρελαίου μετά την απομάκρυνση των ασφατενίων, αποτελεί το κλάσμα των μαλτενίων. Οι ρητίνες, αποτελούν επιμέρους κλάσμα των μαλτενίων. Ένας τρόπος απομάκρυνσης των ασφατενίων και των ρητινών σε κοινό κλάσμα, είναι η χρήση του προπανίου σαν διαλύτη καθίζησης (σε υγρή φάση).

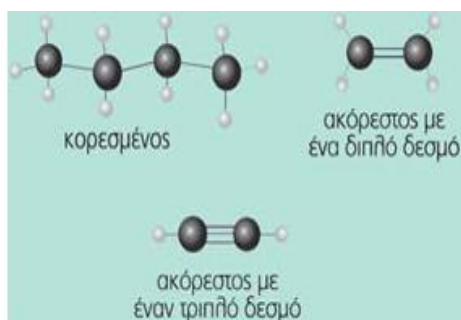
1.1.5.2 “Λίγα λόγια” για τους Υδρογονάνθρακες (H/C)^([16],[23],[28],[29])

Οι υδρογονάνθρακες όπως προκύπτει και από την ετυμολογία, αποτελούν μια μεγάλη ομάδα ενώσεων που περιέχουν άτομα άνθρακα και υδρογόνου. Το πλήθος τους ξεπερνά τα επτά εκατομμύρια, κάνοντας απαραίτητη τη μελέτη των ιδιοτήτων καθώς και των μεθόδων παραγωγής τους. Γενικά, είναι υδρόφοβες ενώσεις, όπως τα λιπίδια. Οι εφαρμογές τους ποικίλλουν, από διαλυτικά, εντομοαπωθητικά, παραγωγή πολυμερών και άλλων πετροχημικών, ξεχωρίζει όμως η χρησιμότητά τους ως καύσιμα για παραγωγή ενέργειας.

Η πιο απλή ταξινόμησή τους γίνεται είτε με βάση τη μορφή της ανθρακικής αλυσίδας, είτε βάσει του τρόπου με τον οποίο συνδέονται τα άτομα άνθρακα μεταξύ τους. Σύμφωνα με την πρώτη κατηγοριοποίηση διακρίνονται σε **κυκλικούς** και **άκυκλους**, όπου τα άτομα άνθρακα σχηματίζουν κλειστές (δακτύλιους) ή ανοικτές αλυσίδες (ευθείες ή διακλαδιζόμενες) αντίστοιχα. Τέτοια παραδείγματα φαίνονται στην Εικόνα 3. Με βάση τον τρόπο σύνδεσης των ατόμων άνθρακα, έχουμε τους **κορεσμένους** και τους **ακόρεστους** υδρογονάνθρακες. Στους κορεσμένους, έχουμε σύνδεση ατόμων άνθρακα με απλούς δεσμούς, ενώ στους ακόρεστους δύο τουλάχιστον άτομα σχηματίζουν διπλό (αλκένια) ή και τριπλό δεσμό (αλκίνια). Στην Εικόνα 4, βλέπουμε παραδείγματα υδρογονανθράκων με βάση το δεύτερο τρόπο κατηγοριοποίησης.



Εικόνα 3: Δομή των υδρογονανθράκων με βάση την 1^η κατηγοριοποίηση (πηγή: Σχολικό βιβλίο Χημείας Γ' γυμνασίου/Παναγιώτης Θεοδωρόπουλος-Παύλος Παπαθεοφάνους-Φιλλένια Σιδέρη/Οργανισμός Εκδόσεων Διδακτικών Βιβλίων/Αθήνα)



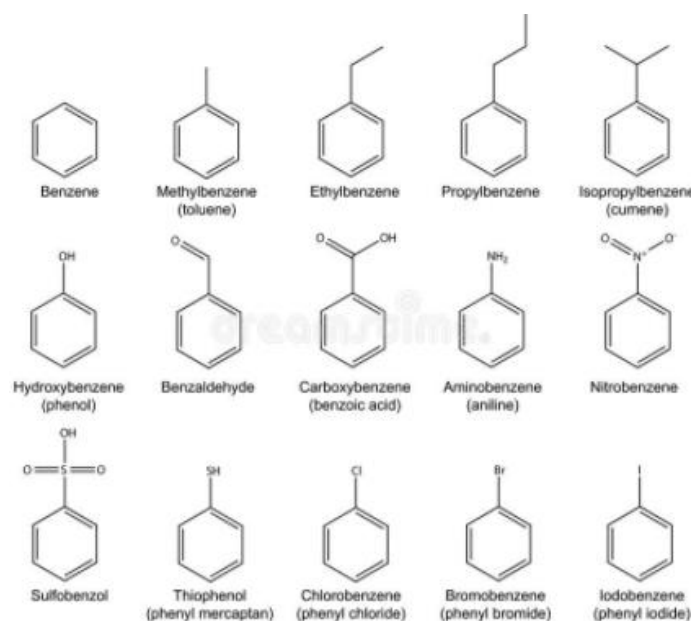
Εικόνα 4: Δομή των υδρογονανθράκων με βάση τη 2^η κατηγοριοποίηση (πηγή: Σχολικό βιβλίο Χημείας Γ' γυμνασίου/Παναγιώτης Θεοδωρόπουλος-Παύλος Παπαθεοφάνους-Φιλλένια Σιδέρη/Οργανισμός Εκδόσεων Διδακτικών Βιβλίων/Αθήνα)

Ειδικότερα για τους αρωματικούς Υδρογονάνθρακες

Όπως αναφέραμε και προηγουμένως, ως αρωματικοί υδρογονάνθρακες, χαρακτηρίζονται οι ενώσεις άνθρακα και υδρογόνου που περιλαμβάνουν στο μόριό τους τουλάχιστον ένα βενζολικό δακτύλιο (αρωματικό σύστημα). Η πιο απλή αρωματική ένωση είναι το βενζόλιο, όμως στο πετρέλαιο υπάρχουν και τα αλκυλιωμένα παράγωγά του, μερικά από τα οποία παρουσιάζονται στην Εικόνα 5.

Οι αρωματικοί υδρογονάνθρακες, χωρίζονται σε μονοαρωματικούς και πολυαρωματικούς. Οι πρώτοι, περιέχουν μόνο ένα βενζολικό δακτύλιο και οποιασδήποτε μορφής πλευρικούς υποκαταστάτες, ενώ οι δεύτεροι αποτελούνται

από συζυγείς βενζολικούς δακτυλίους. Συνηθέστερα απαντώμενοι στο πετρέλαιο πολυαρωματικοί είναι, το φαινανθρένιο, το ναφθαλένιο, καθώς και τα αλκυλιωμένα παράγωγά τους, ενώ σε μικρότερες συγκεντρώσεις συναντάμε και βαρύτερες αρωματικές ενώσεις, με περισσότερους βενζολικούς δακτυλίους (ανθρακένιο, πυρένιο, φλουορανθένιο κ.ά.).

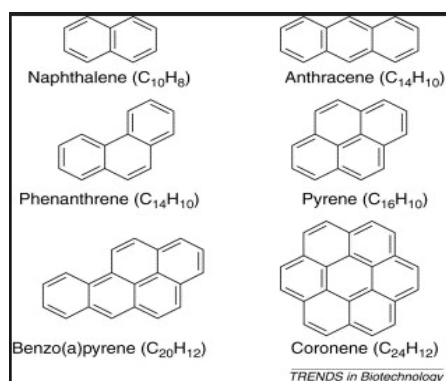


Εικόνα 5: Το βενζόλιο και τα παράγωγά του (πηγή: Ιστοσελίδα 'Dreamstime'/ Ηλεκτρονικός Κατάλογος Φωτογραφιών)

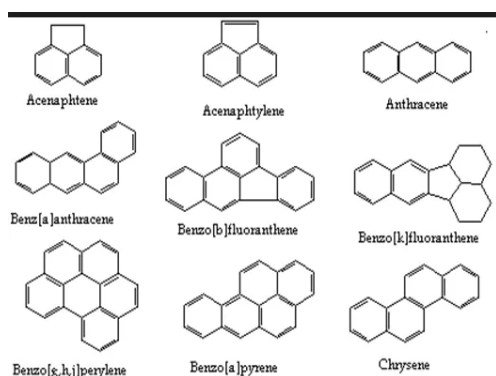
Συνεχίζοντας, στην ανάλυση του πετρελαίου, τα πολυαρωματικά αναφέρονται ανάλογα με τον αριθμό των βενζολικών δακτυλίων τους (δι-αρωματικά, τρι-αρωματικά κλπ). Στα περισσότερα δείγματα πετρελαίου, το ποσοστό των αρωματικών δεν ξεπερνά το 15%, υπάρχουν όμως και πετρέλαια που μπορεί να φτάσει το 50%. Στις εικόνες 6 και 7 φαίνονται μερικοί από τους πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες που περιέχονται στο πετρέλαιο.

Αξίζει να σημειωθεί, πως οι πολυαρωματικοί υδρογονάνθρακες, αν και υπάρχουν σε μικρές συγκεντρώσεις στο πετρέλαιο, έχουν μεγαλύτερη πυκνότητα από τα αλκάνια και τα ναφθένια και επίσης παρουσιάζουν υψηλή τοξικότητα. Ως

επί το πλείστον, οι σημαντικότεροι ανιχνεύονται σε ιζήματα ή εισέρχονται στο περιβάλλον λόγω διαρροών.



Εικόνα 6: Μερικοί από τους πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες που υπάρχουν στο πετρέλαιο (πηγές: Ιστοσελίδα 'Trends in Biotechnology'/Polycyclic aromatic hydrocarbons: environmental pollution and bioremediation και GSO/The University of Rhode Island/Graduate School of Oceanography/ Άρθρο με τίτλο 'Double Trouble: Marine Plastic Debris Absorbs Toxic Pollutants'/Carrie McDonough/December 2013)



Εικόνα 7: Μερικοί από τους πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες που υπάρχουν στο πετρέλαιο (πηγές: Ιστοσελίδα 'Trends in Biotechnology'/Polycyclic aromatic hydrocarbons: environmental pollution and bioremediation και GSO/The University of Rhode Island/Graduate School of Oceanography/ Άρθρο με τίτλο 'Double Trouble: Marine Plastic Debris Absorbs Toxic Pollutants'/Carrie McDonough/December 2013)

Τοξικότητα των Πολυκυκλικών Αρωματικών Υδρογονανθράκων (ΠΑΥ)

Το 1964, ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (World Health Organization - WHO-) έδωσε έναν κατάλογο με τις επιτρεπόμενες συγκεντρώσεις των πιο βασικών καρκινογόνων ενώσεων που περιέχονται στο πόσιμο νερό. Ιδιαίτερη βαρύτητα δόθηκε στους ΠΑΥ, έξι από τους οποίους χαρακτηρίστηκαν ιδιαίτερα επικίνδυνοι και είναι οι εξής: φλουορανθρένιο, βενζο[b]φλουορανθρένιο, βενζο[a]πυρένιο,

βενζο[k] φλουορανθρένιο, βενζο[g,h,i]περυλένιο, και ιδενο[1,2,3-cd]πυρένιο. Σε επόμενο στάδιο, η EPA (Environmental Protection Agency) χαρακτήρισε κάποιες ενώσεις με βάση την τοξικότητα και τη συχνότητα εμφάνισής τους ως ρύπους άμεσης προτεραιότητας. Ανάμεσα σε αυτές τις ενώσεις βρίσκονται δεκαέξι ΠΑΥ, και περιλαμβάνονται και οι έξι που αναφέρονται παραπάνω.

Οι ΠΑΥ είναι υπεύθυνοι για ένα ευρύ φάσμα τοξικολογικών επιδράσεων που αφορούν αναπτυξιακή και αναπαραγωγική τοξικότητα, κυτταροτοξικότητα, γονιδιακή τοξικότητα και καρκινογένεση σε μικροοργανισμούς, φυτά, αμφίβια, ερπετά, πουλιά και θηλαστικά, με τα δύο τελευταία πεδία να κεντρίζουν περισσότερο το ενδιαφέρον των ερευνητών. Σύμφωνα με μελέτες, διάφοροι ΠΑΥ είναι ικανοί να επιδράσουν στο DNA προκαλώντας μεταλλάξεις, οι οποίες μπορούν κατά περιπτώσεις να οδηγήσουν σε ανάπτυξη καρκίνου. Ωστόσο, οι μη υποκατεστημένοι ΠΑΥ δεν είναι η αρχική ένωση που επιδρά στο DNA, διότι προϋποτίθεται μεταβολική ενεργοποίηση και μετατροπή τους, για να εμφανίσουν γενοτοξικές και καρκινογόνες ιδιότητες. Η διαδικασία αυτή, λαμβάνει χώρα καθώς οι ΠΑΥ μεταβολίζονται στους ανώτερους οργανισμούς.

Στο σημείο αυτό αξίζει να σημειωθεί πως οι ΠΑΥ δεν συσσωρεύονται με τον ίδιο τρόπο όπως άλλες λιπόφιλες ενώσεις (π.χ. πολυχλωριωμένα διφαινύλια PCBs), αντιθέτως, μετατρέπονται σε περισσότερο υδατοδιαλυτές ενώσεις, γεγονός που διευκολύνει την απόκρισή τους από τον εκάστοτε οργανισμό. Από την άλλη, η διαδικασία αυτή μπορεί να οδηγήσει στο σχηματισμό δραστικών ενδιάμεσων συμπλόκων, ικανών να αντιδράσουν με το DNA, εμποδίζοντας τη φυσιολογική λειτουργία του εμπλεκόμενου γονιδίου. Υπάρχει πιθανότητα διόρθωσης της γενετικής αυτής βλάβης, σε περίπτωση όμως αποτυχίας, η μετάλλαξη θα γίνει μόνιμη.

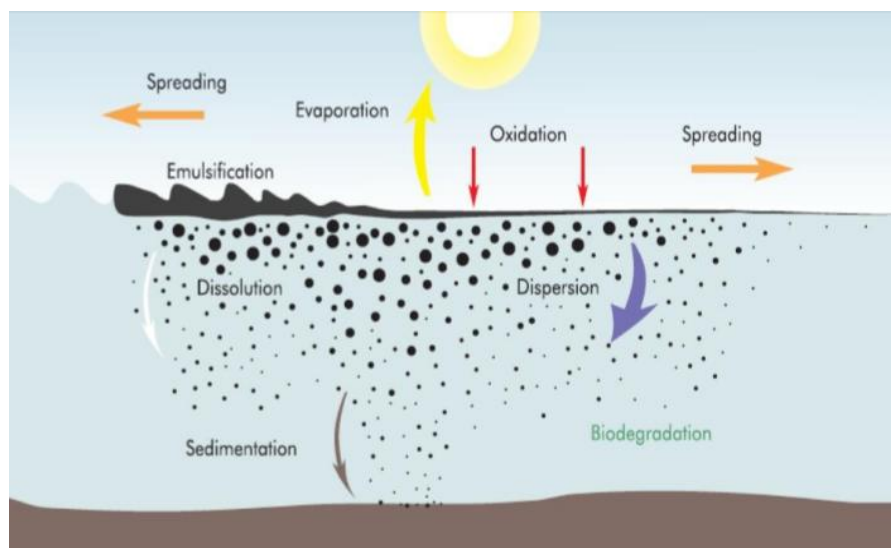
1.1.6 Τύχη του πετρελαίου στο περιβάλλον

1.1.6.1 Διεργασίες γήρανσης πετρελαίου

Ο χρόνος ζωής καθώς και η συμπεριφορά μιας πετρελαιοκηλίδας, επηρεάζονται από μια σειρά φυσικών, χημικών και βιολογικών διεργασιών, οι οποίες συντελούν στη λεγόμενη γήρανσή του (weathering process) και είναι

υπεύθυνες για αλλαγές στη σύνθεση του πετρελαίου. Η δράση τους επηρεάζεται κυρίως από τις ωκεανολογικές συνθήκες και τη σύνθεση του πετρελαίου και ξεκινά αμέσως μόλις αυτό εισέλθει στο θαλάσσιο περιβάλλον. Κατέχουν καθοριστικό ρόλο στην επιλογή της αντιρρυπαντικής τεχνολογίας που θα χρησιμοποιηθεί, αλλά και στην αποκατάσταση του περιβάλλοντος αυτής καθ'αυτής, καθώς μπορούν να την επηρεάσουν θετικά ή και αρνητικά.

Στη συνέχεια περιγράφονται οι οκτώ διεργασίες γήρανσης^{[(1),[3)]}, η δράση των οποίων φαίνεται και στην Εικόνα 8.



Εικόνα 8: Σχηματική απεικόνιση των διεργασιών γήρανσης του πετρελαίου (πηγή: *Mediterranean Decision Support System for Marine Safety*)

- ❖ **Εξάπλωση (Spreading):** Το πετρέλαιο έχει την τάση να διασκορπίζεται προς όλες τις κατευθύνσεις και η κίνησή του στην επιφάνεια του νερού ακολουθεί τρεις φάσεις. Αρχικά, λόγω αδράνειας (βαρύτητας) η οποία στη συνέχεια ενισχύεται και επηρεάζεται και από το ιξώδες και τέλος, όταν το πάχος της κηλίδας έχει μειωθεί, η εξάπλωση οφείλεται κυρίως στις επιφανειακές τάσεις. Η επιφάνεια που καταλαμβάνει η πετρελαιοκηλίδα είναι ανάλογη της διεπιφάνειας που αναπτύσσεται μεταξύ υδατικής και οργανικής φάσης, κάνοντας έτσι πιο αποτελεσματική τη διαλυτοποίησή της, με χρήση ουσιών

διασποράς. Τα περισσότερα είδη αργού πετρελαίου εξαπλώνονται σε στρώμα πάχους 0,3 mm εντός 12 ωρών, αν όμως δεν υπάρχουν άλλες επιδράσεις η εξάπλωση συνεχίζεται και το πάχος μπορεί να μειωθεί μέχρι τα 5 μm.

- ❖ **Διάλυση (Dissolution):** Η διεργασία αυτή είναι ασθενής σε θάλασσες με υψηλή αλατότητα (αλμυρές). Αν και τα περισσότερα συστατικά του πετρελαίου έχουν μικρή έως και μηδενική διαλυτότητα στο νερό και συνήθως η διάλυση έπεται της εξάτμισης, η πρώτη μπορεί να θεωρηθεί σημαντική διεργασία αν λάβουμε υπόψιν ότι τα διαλυτά συστατικά του πετρελαίου και κυρίως οι ελαφρύτερες αρωματικές ενώσεις (εφόσον δεν έχουν προλάβει να εξατμιστούν) είναι πιο τοξικές για τα υδρόβια είδη σε σχέση με τους αλειφατικούς υδρογονάνθρακες.
- ❖ **Εξάτμιση (Evaporation):** Ξεκινά εντός ολίγων ωρών από τη στιγμή της διαρροής και αφορά κυρίως τα ελαφριά πτητικά συστατικά του πετρελαίου. Το φαινόμενο της εξάτμισης ενισχύεται υπό συνθήκες έντονου ανέμου, κυματισμού, υψηλής θερμοκρασίας, έντονης εξάπλωσης και εξαρτάται επίσης από την τάση ατμών των επιμέρους συστατικών της πετρελαιοκηλίδας. Γενικά, όλα τα συστατικά που έχουν θερμοκρασία βρασμού μέχρι 200 °C συνήθως εξατμίζονται εντός των πρώτων 24 ωρών. Το πετρέλαιο που παραμένει στη θάλασσα, έχει κατά κανόνα μεγαλύτερη πυκνότητα και ιξώδες από το αρχικό. Ανάλογα με τη σύσταση του αρχικού μείγματος, μέσα σε μερικές μέρες τα ελαφριά κλάσματα μπορούν να χάσουν μέχρι και 75% του αρχικού όγκου τους, τα μεσαία έως 40%, ενώ τα βαρύτερα το πολύ μέχρι 10%. Τα ελαφριά προϊόντα διύλισης (βενζίνη, κηροζίνη, ντίζελ κ.ά.) εξατμίζονται σε ποσοστό σχεδόν 100% επιφέροντας κίνδυνο πυρκαγιάς σε κλειστούς κόλπους (π.χ. λιμάνια). Συμπερασματικά, η εξάτμιση αν και απομακρύνει μεγάλο ποσοστό του πετρελαίου από τη θάλασσα, ταυτόχρονα οδηγεί σε ένα λιγότερο βιοδιασπάσιμο κλάσμα πετρελαίου, το οποίο δύσκολα απομακρύνεται και μετά από μεγάλο χρονικό διάστημα ενδέχεται να καταλήξει στο βυθό.
- ❖ **Διασπορά (Dispersion):** Ο έντονος κυματισμός σε συνδυασμό με τον άνεμο, αναδεύουν την πετρελαιοκηλίδα, με αποτέλεσμα το σχηματισμό

σταγονιδίων διαφόρων μεγεθών. Αυτά που έχουν μικρό μέγεθος παραμένουν κάτω από την επιφάνεια της θάλασσας, ενώ τα μεγαλύτερα επανέρχονται στην επιφάνεια δημιουργώντας ένα λεπτό στρώμα (φιλμ). Τα σταγονίδια που παραμένουν μέσα στο νερό αλλά κοντά στην επιφάνεια, έχουν μεγάλη ενεργή επιφάνεια, επομένως επιταχύνουν άλλες διεργασίες που ωφελούν την αποκατάσταση του περιβάλλοντος (π.χ. βιοαποικοδόμηση). Βασικοί παράγοντες που επηρεάζουν το ρυθμό διασποράς είναι οι επικρατούσες καιρικές συνθήκες, η σύσταση της πετρελαιοκηλίδας, καθώς και το ιξώδες της (μικρό ιξώδες συνεπάγεται ταχύτερη διασπορά). Επιπλέον, η διασπορά μπορεί να ενισχυθεί με την προσθήκη επιφανειοδραστικών ουσιών.

❖ **Γαλακτωματοποίηση (Emulsification):** Η διεργασία αυτή αναφέρεται στη διαδικασία όπου σταγόνες θαλασσινού νερού παραμένουν αιωρούμενες στην οργανική φάση ή το αντίστροφο. Οι δύο αυτοί τρόποι γαλακτωματοποίησης περιγράφονται στη συνέχεια και είναι:

- **Νερό σε πετρέλαιο:** Είναι η πιο συνηθισμένη περίπτωση γαλακτωματοποίησης και ονομάζεται 'chocolate mousse' λόγω του σκούρου καφέ χρώματος που αποκτά σε συνδυασμό με την πηχτή, σχεδόν στερεή μορφή του. Η απορρόφηση νερού από το πετρέλαιο έχει ως αποτέλεσμα ο τελικός του όγκος να αυξηθεί κατά 3-5 φορές σε σχέση με τον αρχικό, ενώ το ποσοστό του νερού κυμαίνεται μεταξύ 60-85% στα σταθερά γαλακτώματα.
- **Πετρέλαιο σε νερό:** Η ύπαρξη τυρβώδους ροής στην επιφάνεια της θάλασσας ενισχύει τη διάσπαση του πετρελαίου σε σταγονίδια αιωρούμενα στο νερό. Με τον τρόπο αυτό, η κηλίδα που πλέον δεν επηρεάζεται από τον άνεμο μπορεί να ξανασχηματιστεί σε κάποια απόσταση από το σημείο διαρροής.

Γενικά, ο σχηματισμός γαλακτώματος επιβραδύνει τις υπόλοιπες διεργασίες γήρανσης (εξάτμιση, βιοαποδόμηση), καθώς περιορίζεται η ενεργή επιφάνεια πετρελαίου. Εκτός αυτού, επιβαρύνει τη γενικότερη διαδικασία αποκατάστασης του περιβάλλοντος, καθώς ο όγκος που πρέπει να

καταπολεμηθεί αυξάνεται, έχει πλέον μεγαλύτερο ιξώδες και ειδικό βάρος και η μορφή του πλησιάζει περισσότερο τη στερεή παρά την υγρή. Ακόμα και η προσθήκη χημικών διασποράς δεν έχει αποδεδειγμένα θετικά αποτελέσματα στη βιοδιάσπαση του πετρελαίου.

❖ **Βιοαποικοδόμηση (biodegradation):** Η διεργασία, κατά την οποία ορισμένοι από τους μικροοργανισμούς που υπάρχουν στη θάλασσα διασπούν συγκεκριμένα συστατικά του πετρελαίου, αρχικά σε διαλυτές ενώσεις και τελικά σε διοξείδιο του άνθρακα και νερό ($\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$). Γρηγορότερα αποδομούνται οι ελαφρύτεροι υδρογονάνθρακες, δηλαδή ενώσεις με λιγότερα μόρια άνθρακα, όπως αλκάνια και κυκλικοί υδρογονάνθρακες, ενώ βραδύτερα οι πιο πολύπλοκοι όπως οι πολυκυκλικοί αρωματικοί και οι αλειφατικοί, διότι συνήθως απαιτούν συνεργασία διαφόρων βακτηριακών στελεχών. Λαμβάνοντας υπόψη πως η βιοαποικοδόμηση λαμβάνει χώρα στη διεπιφάνεια μεταξύ πετρελαίου και νερού, η διεργασία ενισχύεται όταν υπάρχει λεπτό στρώμα πετρελαίου ή το πετρέλαιο είναι διασκορπισμένο σε σταγόνες, προκειμένου να αυξάνεται η βιοδιαθεσιμότητά του. Ο ρυθμός βιοαποικοδόμησης επηρεάζεται κυρίως από τη σύσταση του πετρελαίου, τη θερμοκρασία (ιδανικά πάνω από 25°C), τις διαθέσιμες θρεπτικές ουσίες και το διαλυμένο οξυγόνο. Αξίζει να σημειωθεί πως η διαλυτότητα του οξυγόνου στο νερό είναι χαμηλή (συγκεκριμένα κυμαίνεται μεταξύ $6-8 \frac{\text{mg}}{\text{L}}$), συγκριτικά με την απαιτούμενη ποσότητα για πλήρη οξείδωση υδρογονανθράκων που έχει υπολογιστεί στα $3-4 \frac{\text{mg } \text{O}_2}{\text{mg } \text{H/C}}$ για μετατροπή σε $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$.

❖ **Οξείδωση (oxidation):** Η αντίδραση των συστατικών του πετρελαίου με το ατμοσφαιρικό οξυγόνο στην επιφάνεια της θάλασσας, που οδηγεί στο σχηματισμό διαλυτών προϊόντων, τα οποία στη συνέχεια θα βιοαποικοδομηθούν ή αδιάλυτων ενώσεων (tars) που ενώνονται σε συσσωματώματα (tar balls) και μπορούν να φτάσουν στην ακτή. Οι τελευταίες προκύπτουν από την οξείδωση συστατικών με μεγάλο ιξώδες. Ο ρυθμός οξείδωσης είναι γενικά αργός, ωστόσο ενισχύεται όταν το πετρέλαιο έχει εξαπλωθεί σχηματίζοντας λεπτή μεμβράνη και από την υπεριώδη ακτινοβολία του ήλιου, η οποία έχει την ικανότητα να διεισδύει σε κηλίδες

με μικρό πάχος. Παρουσία οξυγόνου, το φυσικό ηλιακό φως έχει την απαιτούμενη ενέργεια ώστε να μετασχηματίσει πολλές σύνθετες πετρελαϊκές ενώσεις (αρωματικές μεγάλου μοριακού βάρους, πολικές) σε απλούστερες και ελαφρύτερες, μέσω μιας σειράς αλυσιδωτών αντιδράσεων ελεύθερων ριζών. Αποτέλεσμα αυτού, είναι ο σχηματισμός πολικών ενώσεων (αλδεΐδες, υπεροξειδία, κετόνες, φαινόλες, καρβοξυλικά οξέα κ.ά.) και η αυξημένη διαλυτότητα του πετρελαίου στο νερό, η οποία έχει μεικτές συνέπειες, καθώς αυξάνει μεν τη βιοδιαθεσιμότητα του ρύπου στο νερό, ταυτόχρονα όμως μπορεί να σχηματιστούν τοξικές ενώσεις από τη φωτοοξείδωση που θα βλάψουν το θαλάσσιο οικοσύστημα.

- ❖ **Βύθιση-Καθίζηση (sinking-sedimentation):** Αφορά τα βαριά κλάσματα πετρελαίου, τα οποία είτε προϋπήρχαν (σε περιπτώσεις όπου το πετρέλαιο που διέρρευσε είχε διαχωριστεί σε διυλιστήριο), είτε προέκυψαν ως αποτέλεσμα συγκόλλησης στερεών ανόργανων ή οργανικών σωματιδίων, τα οποία οδήγησαν στη δημιουργία συσσωματωμάτων αρκετά μεγάλων ώστε να βυθιστούν. Η συσσωμάτωση αυτή είναι απαραίτητη διότι, ενώ στο καθαρό ή ελαφρά υφάλμυρο νερό με πυκνότητα $1 \frac{g}{cm^3}$ η κταβύθιση είναι ευκολότερη, το θαλασσινό έχει $1,025 \frac{g}{cm^3}$ επομένως, το ποσοστό των συστατικών που είναι βαρύτερα και μπορούν να βυθιστούν είναι μικρό. Μια άλλη εναλλακτική είναι εξαιτίας της εξάτμισης σε συνδυασμό με τη γαλακτωματοποίηση, διεργασίες που κάνουν την κηλίδα βαρύτερη και πιο πηχτή από ο,τι ήταν αρχικά.

1.1.7 Ρύπανση από πετρελαιοειδή

Η πρώτη φορά που γίνεται αντιληπτό το πρόβλημα της ρύπανσης του θαλάσσιου περιβάλλοντος από πετρέλαιο, και όχι μόνον, τοποθετείται στο χρονικό διάστημα αμέσως μετά τη λήξη του Δεύτερου Παγκόσμιου Πολέμου που πολλά συμμαχικά εμπορικά πλοία, τα οποία μετέφεραν καύσιμα ήταν σχεδόν αποκλειστικός στόχος των γερμανικών υποβρυχίων. Αυτό οδήγησε στην πρώτη ιστορικά μαζική θαλάσσια ρύπανση και εκτιμάται ότι κατά τη διάρκεια του πολέμου χύθηκαν πάνω από 4.000.000 τόνοι πετρελαίου στο θαλάσσιο περιβάλλον. Εάν προσθέσουμε και τα πλοία που υπήρξαν θύματα ναρκοπεδίων και υποθαλάσσιων

εκρήξεων μετά το τέλος του πολέμου, τότε ο αριθμός αυτός είναι ακόμη μεγαλύτερος.

Η ρύπανση που προέρχεται από τα πετρελαιοειδή είναι εξίσου σημαντική και εκτεταμένη εξαιτίας της παγκόσμιας χρήσης τους και της εξάρτησης από αυτά της παγκόσμιας οικονομίας. Αν και ρύπανση θα μπορούσε να προκληθεί και προκαλείται από τοπικές, φυσικές αναβλύσεις πετρελαίου, όπως στην περιοχή Santa Barbara της Καλιφόρνιας, εν τούτοις οι προσθήκες, ως αποτέλεσμα των ανθρωπογενών δραστηριοτήτων είναι σημαντικά μεγαλύτερες, μπορεί να συμβούν οπουδήποτε στον πλανήτη και τα αποτελέσματά τους είναι εξαιρετικά δυσμενή για τα είδη και τους πληθυσμούς τους σε βάθος χρόνου. Είναι αλήθεια ότι τα πετρελαιοειδή δεν είναι ιδιαίτερα τοξικοί ρύποι, ωστόσο το πρόβλημα δημιουργείται εξαιτίας του μεγάλου αριθμού επιβλαβών δευτερογενών επιδράσεων που επιφέρουν στο περιβάλλον που εισέρχονται.

Οι κυριότερες δραστηριότητες που επιβαρύνουν τα θαλάσσια συστήματα με πετρελαιοειδή, είναι οι θαλάσσιες μεταφορές, τα ατυχήματα, η άντληση με πλωτές εξέδρες πετρελαίου από τη θάλασσα, η ατμοσφαιρική μεταφορά, η απόπλυση εδαφών, τα βιομηχανικά απόβλητα και τα αυτοκίνητα, διαρροές από υπόγειες δεξαμενές. Σήμερα όλες οι θάλασσες, ακόμα και ο καθαρός ανοικτός Ατλαντικός Ωκεανός έχουν μετρήσιμο επιφανειακό υμένιο (film) και μικροσκοπικά σφαιρίδια πίσσας της τάξεως του $1\frac{mg}{m^2}$. Η Μεσόγειος έχει πολλαπλάσια ποσότητα ($\sim 20\frac{mg}{m^2}$), ενώ οι ακτές και τα λιμάνια έχουν πολύ μεγαλύτερες περιεκτικότητες (Σκούλλος, 1988).

1.1.8 Επιπτώσεις ρύπανσης από πετρελαιοειδή

Θαλάσσια οικοσυστήματα

Η επίδραση που μπορεί να έχουν τα πετρελαιοειδή στους διάφορους οργανισμούς εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως είναι το είδος του πετρελαίου, το είδος του οργανισμού, η ηλικία του, η θερμοκρασία και κυκλοφορία των υδάτων, η οξύτητα, η θολερότητα, η παρουσία θρεπτικών συστατικών ή άλλων ρύπων και η αλατότητα. Οργανισμοί που βρίσκονται σε νερά που ανανεώνονται δύσκολα (π.χ. κόλποι) υποφέρουν περισσότερο, γιατί σε αυτούς επιδρούν εκτός της

συγκέντρωσης του ρύπου και οι παράγοντες της συχνότητας προσβολής και του χρόνου επαφής.

Τα λεπτά και λεπτότατα διασκορπισμένα κλάσματα προσδίνουν έντονη οσμή στα ύδατα και εξουδετερώνουν την οσμή φυσικών ουσιών (π.χ. φερομόνες) που εκκρίνουν τα ζώα για την προσέλκυση του άλλου φύλλου, παρεμποδίζοντας έτσι την αναπαραγωγή. Η αναπαραγωγή βλάπτεται επίσης και από την αλλοίωση των γαμετών των οργανισμών. Τα γαλακτώματα που σχηματίζονται με τον τρόπο που αναφέρθηκε αλλά και από τη χρήση διασκορπιστηκών, καλύπτουν τις κεραίες και άλλα αισθητήρια όργανα των βενθικών κυρίως οργανισμών ελαττώνοντας τη δυνατότητα επιλογής τροφής, άμυνας, κίνησης και ορατότητας. Επιπλέον, η δημιουργία γαλακτωμάτων έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό ασταθών πυθμένων, έστω και παροδικά, εμποδίζοντας την απόθεση αυγών και όλες τις φυσικές λειτουργίες των θαλάσσιων οργανισμών. Το επιφανειακό υμένιο ελαττώνει την οξυγόνωση του νερού, αυξάνει την ανάκλαση του φωτός, ελαττώνει την ικανότητα διάλυσης του CO₂ και συνεπώς τη φωτοσύνθεση. Εκτός από το πεπτικό σύστημα, τα πετρελαιοειδή εισέρχονται στον οργανισμό των ψαριών και με διαπύση μέσα στις διάφορες μεμβράνες. Ασφυξία και τοξική δράση επιφέρουν οι υδρογονάνθρακες και στα αυγά των ψαριών, ενώ οστρακόδερμα και μαλάκια, ιδιαίτερα αυτά που τρέφονται με μηχανισμούς διήθησης ή από τα ιζήματα συγκεντρώνουν σημαντικά ποσά στον οργανισμό τους και συχνά πεθαίνουν ή από την τοξική δράση και ασφυξία ή από άλλες αιτίες που προκαλούνται από την παρεμπόδιση στην κίνηση και στα ανακλαστικά τους. Ζώα με μεγάλη ευαισθησία στα πετρελαιοειδή είναι ο αστερίας, τα εχινόδερμα και οι αστακοί. Ευαίσθητα είναι επίσης τα κοράλλια, τα οποία είναι εξαιρετικά σημαντικοί οργανισμοί αφού προσφέρουν φυσική προστασία σε πλήθος άλλων οργανισμών. Ο θάνατός τους προκαλεί διάβρωση των ακτών, απώλεια της οικολογικής ισορροπίας λόγω καταστροφής των φωλιών πολλών θαλάσσιων οργανισμών και ανάπτυξη στη θέση τους φυκιών και ασταθών πυθμένων.

Ιδιαίτερη αναφορά αξίζει να γίνει στα βαριά κλάσματα πετρελαίων, τα οποία ακόμα και αν δεν υπήρχαν εξ' αρχής, μπορούν να προκύψουν, καθώς εξατμίζονται ή διασπώνται τα ελαφρύτερα συστατικά του αρχικού μείγματος πετρελαίου. Τα

κλάσματα αυτά συνήθως καταλήγουν στο βυθό της θάλασσας, όπου αναμειγνύονται με την άμμο. Με τον τρόπο αυτό γίνεται ακόμα δυσκολότερη η αποικοδόμησή τους, λόγω έλλειψης διαλυμένου οξυγόνου και θρεπτικών. Εκτός από τα βαριά κλάσματα, επιβλαβείς ενώσεις, όπως οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες (ΠΑΥ), οι οποίοι περιέχονται στα πετρελαιοειδή που ενσωματώνονται στα ιζήματα των πυθμένων, αφομοιώνονται και βιοσυσσωρεύονται στους οργανισμούς.

Για να μιλήσουμε με αριθμούς, ακόμη και $1 \frac{\mu g}{L}$ (1 ppb) πετρελαίου στη θάλασσα μπορεί να βλάψει τους πιο ευαίσθητους οργανισμούς (UNEP, 1988). Ίχνη πετρελαίου στο νερό επηρεάζουν τη σεξουαλική συμπεριφορά των θαλασσίων οργανισμών, τη δυνατότητα προσανατολισμού τους και τους ρυθμούς αφομοίωσης της τροφής. Κάποιες από τις συνέπειες αυτές ενισχύονται από τη χαμηλή αλατότητα και τις υψηλές θερμοκρασίες, ενώ υπάρχει συνεργιστική δράση ανάμεσα στους αρωματικούς υδρογονάνθρακες και κάποια μέταλλα (UNEP, 1988). Μόλις $0,2 \frac{\mu g}{L}$ πετρελαίου στο θαλασσινό νερό μπορούν να επηρεάσουν την αναπαραγωγή ορισμένων αλγών (Steele, 1977). Σε συγκεντρώσεις $2-10 \frac{\mu g}{L}$ το πετρέλαιο επηρεάζει την επιβίωση των νυμφών των ψαριών (Vandermeulen & Caruzzo, 1983) και ελαττώνει την παραγωγή αυγών και την πιθανότητα επιτυχούς ωοτοκίας (Kuehnhold et al, 1978). Οι αστακοί πεθαίνουν σε συγκεντρώσεις 2-30 ppm με σημαντικά συμπτώματα να εμφανίζονται από συγκεντρώσεις των 0,9 ppm. Σε συγκεντρώσεις $20-40 \frac{\mu g}{L}$ το πετρέλαιο μπορεί να επιφέρει αλλαγές στη σύσταση του φυτοπλαγκτού, ευνοώντας πχ. τα μικρότερα είδη, ανατρέποντας κατά αυτόν τον τρόπο τις ισορροπίες ολόκληρης της τροφικής αλυσίδας (Lee, 1977). Συγκεντρώσεις της τάξης των $0,1 \frac{g}{Kg}$ στα ιζήματα μπορούν να επιφέρουν δυσμενείς επιπτώσεις στους βενθικούς οργανισμούς (Elmgren & Frithsen, 1982).

Τα θαλάσσια πτηνά, οι χελώνες και τα ζώα όπως οι φώκιες, είναι γνωστά θύματα του πετρελαίου, ενώ σε πολικές περιοχές αυτό επεκτείνεται σε φάλαινες και αρκούδες. Οι αρκούδες συγκεκριμένα δηλητηριάζονται προσπαθώντας να καθαρίσουν τη γούνα τους από το πετρέλαιο. Στις φώκιες το πετρέλαιο που κολλά στα μουστάκια τους εμποδίζει την όσφρηση, με αποτέλεσμα οι μητέρες να μην

μπορούν εύκολα να αναγνωρίσουν τα μικρά τους και τα τελευταία να εγκαταλείπονται και να πεθαίνουν από ασιτία. Τα πτηνά συχνά εξολοθρεύονται σε έκταση ολόκληρης βιοκοινωνίας. Όπως φαίνεται και στην Εικόνα 9, τα πετρελαιοειδή αχρηστεύουν τα φτερά τους, χάνουν την αναγκαία άνωση για το νερό και πνίγονται. Επίσης, χάνουν την μόνωσή τους και αυξάνεται κατά πολύ ο μεταβολισμός τους, στην προσπάθεια του οργανισμού τους να αντισταθμίσει τη χαμηλή θερμοκρασία, ενώ ταυτόχρονα ελαττώνεται η δυνατότητά τους να βρουν τροφή. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα να πεθαίνουν από ψύξη ή ασιτία (Σκούλλος, 1988; WWF/toxics).



Εικόνα 9: Καφέ Πελεκάνοι (*Pelecanus occidentalis*) στο *Grand Isle* της Λουιζιάνα περιμένουν να καθαριστούν από πετρέλαιο (πετρελαιοκηλίδα του *Deepwater Horizon*, Ιούνιος 2010) (πηγή: *Encyclopedia Britannica/The Editors of Encyclopædia Britannica/Science/Oil Spill/ International Bird Rescue*)



Εικόνα 10: Νεκρό ψάρι εξαιτίας πετρελαϊκού ατυχήματος σε ακτή της Ταϊλάνδης (πηγή: *Greenpeace International/Oceans/Fit for the future/Pollution*)

Αμμώδεις ακτές

Το πετρέλαιο δεν αποκολλάται εύκολα από τις αμμώδεις ακτές. Όταν μάλιστα βρίσκεται ακόμα σε υγρή μορφή, έχει την ιδιότητα να απορροφάται σε μεγαλύτερο βάθος, όπου λόγω χαμηλότερης διαθεσιμότητας οξυγόνου δεν ευνοείται η αποδόμησή του. Με τον τρόπο αυτό, διατηρείται η τοξικότητά του για μεγαλύτερο διάστημα (Rostron, 1990). Ας αναφερθούμε στο ατύχημα του Amoco Cadiz έξω από τις ακτές της Βρετανίας τον Μάρτιο του 1978, κατά το οποίο χύθηκαν 223.000 τόνοι αργού πετρελαίου. Ένα μεγάλο μέρος του μεταφέρθηκε στις εκβολές των παρακείμενων ποταμών και κατακάθισε στα ιζήματα^[25].

Πέρα από τις άμεσες επιπτώσεις στην πανίδα, οι χαμηλοί ρυθμοί αποδόμησης, που όπως είπαμε καθιστούν το πετρέλαιο τοξικό για μεγαλύτερο διάστημα, εμπόδισαν την επανάκαμψη των οικοσυστημάτων της περιοχής. Επιπλέον, το πετρέλαιο που προερχόταν από τα ιζήματα συνέχιζε να ρυπαίνει την περιοχή και τον ερχόμενο χρόνο (Clark, 1986). Τα συστατικά του πετρελαίου μπορούν να παραμείνουν στα ιζήματα ακόμη και για δεκάδες ή εκατοντάδες χρόνια αν επικρατούν αναερόβιες συνθήκες (Howarth & Marino, 1991).

Βραχώδεις ακτές

Όπως προκύπτει από την εμπειρία από ατυχήματα όπως αυτό του Torrey Canyon τον Μάρτιο του 1967 στη νοτιοδυτική Αγγλία ή του Tampico Maru στο Μεξικό (Μάρτιος 1957), οι επιπτώσεις των πετρελαιοκηλίδων στα οικοσυστήματα των βραχωδών ακτών είναι ιδιαίτερα σοβαρές. Ένας μεγάλος αριθμός ζώων και τα πιο ευαίσθητα κόκκινα και πράσινα άλγη πεθαίνουν. Σε όλες τις περιπτώσεις, υπήρξε διαταραχή του οικοσυστήματος και η επανάκαμψη δεν έγινε δυνατή για πολλά χρόνια, εξαιτίας μιας αρχικής εξάλειψης των κυρίαρχων φυτοφάγων οργανισμών^[25]. Σαν αποτέλεσμα, υπήρξε υπέρμετρη ανάπτυξη και επικράτηση των αλγών, γεγονός που με τη σειρά του εμπόδισε την επαναποικιοποίηση της περιοχής με φυτοφάγους οργανισμούς (Wardley-Smith, 1983). Στην περίπτωση του Torrey Canyon, ακόμα και δέκα χρόνια μετά, η πανίδα της περιοχής δεν είχε τον πλούτο και την ποικιλία που είχε πριν το ατύχημα (Clark, 1986).

Παράκτια βλάστηση

Το πετρέλαιο προσκολλάται στα παράκτια φυτά και δεν ξεπλένεται εύκολα με την παλίρροια. Τα φύλλα κιτρινίζουν και τελικά νεκρώνονται μετά από μερικές μέρες. Όταν η ρύπανση είναι μικρής έκτασης, τα φυτά ξαναβγάζουν νέα φύλλα μέσα σε τρεις εβδομάδες περίπου, σε περίπτωση όμως σοβαρής ρύπανσης νεκρώνονται τελείως. Τα ετήσια φυτά νεκρώνονται από την επάλειψη με πετρέλαιο και η επανάκαμψη του οικοσυστήματος απαιτεί δύο με τρεις περιόδους^[25]. Τα πολυετή φυτά δείχνουν μια ποικιλία αντιδράσεων, από ανθεκτικότητα μέχρι νέκρωση ανάλογα με τις συνθήκες και τις ποσότητες του πετρελαίου, ενώ κάποια εκδηλώνουν επίσης προβλήματα ανθοφορίας (Rostron, 1990).

Όσον αφορά στο έδαφος των ακτών, το πετρέλαιο επιδρά με δύο τρόπους. Ο πρώτος είναι, διαπερνώντας το χώμα και επηρεάζοντας το ριζικό σύστημα των φυτών, τους μικροβιακούς πληθυσμούς και τη διαθεσιμότητα του οξυγόνου. Εναλλακτικά, όταν επικαθίσει πετρέλαιο στους βλαστούς των φυτών, επηρεάζεται η διάχυση του οξυγόνου προς το ριζικό σύστημα, εμποδίζοντας με τον τρόπο αυτό την οξυγόνωση των ριζών, καθώς και των μικροοργανισμών του εδάφους.

Κίνδυνοι για τη δημόσια υγεία

Αν και οι άμεσες επιπτώσεις του πετρελαίου στις τροφικές αλυσίδες και στα δίκτυα θεωρούνται συχνά μικρής κλίμακας, δεν αποκλείονται ωστόσο, μακροχρόνιες επιπτώσεις, καθώς και φαινόμενα βιοσυσσώρευσης, κυρίως καρκινογόνων πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων. Οι βενθικοί οργανισμοί που φιλτράρουν την τροφή τους (π.χ μύδια, στρείδια) συσσωρεύουν υδρογονάνθρακες με γοργούς ρυθμούς. Τα στρείδια αποκτούν δυσάρεστη γεύση όταν οι συγκεντρώσεις υδρογονανθράκων φτάνουν τα 10 ppb. Για τα ψάρια και τα καρκινοειδή οι αντίστοιχες συγκεντρώσεις κυμαίνονται από 4 έως 300 ppm (Rostron, 1990). Τα θαλασσινά περιέχουν γενικά μικρές ποσότητες καρκινογόνων πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων (PAH). Η κατανάλωση θαλασσινών εκτιμάται ότι συνεισφέρει σε ποσοστό 2-3% της συνολικής κατανάλωσης PAH από τρόφιμα. Ακόμη κι αν οι συγκεντρώσεις αυτές των PAH δεν αποτελούν άμεσο κίνδυνο για τον άνθρωπο, οι καρκινογόνες αυτές ουσίες ευθύνονται για όγκους και

απολεπίσεις ψαριών σε περιοχές με χρόνια ρύπανση από πετρελαιοειδή, καθώς και όγκους και προκαρκινικές καταστάσεις σε όστρακα αυτών των περιοχών (Clark, 1986).

1.1.9 Καταγραφέντα Ατυχήματα

Στον πίνακα 4 παρουσιάζονται, τα μεγαλύτερα ατυχήματα των τελευταίων χρόνων.

Όνομα Πλοίου	Χρονολογία	Τοποθεσία	Πετρέλαιο (τόνοι)
Atlantic Empress	1979	Τομπάγκο, Δυτικές Ινδίες	287
ABT Summer	1991	700 ναυτικά μίλια από την Ανγκόλα	260
Castillo de Bellver	1983	Νότια Αφρική, Όρμος Saldanha	252
Amoco Cadiz	1978	Γαλλία, Βρετάνη	223
Haven	1991	Ιταλία, Τζενόα	144
Odyssey	1988	Καναδάς, 700 ναυτικά μίλια από τη Νέα Σκωτία	132
Torrey Canyon	1967	Ηνωμένο Βασίλειο, Νησιά Σίλι	119
Sea Star	1972	Κόλπος του Ομάν	115
Irenes Serenade	1980	Ελλάδα, Ναυαρίνο	100
Urquiola	1976	Ισπανία, Λα Κορούνια	100
Hawaiian Patriot	1977	300 ναυτικά μίλια από τη Χονολουλού	95
Independenta	1979	Τουρκία, Βόσπορος	95
Jacob Maersk	1975	Πορτογαλία, Πόρτο	88
Braer	1993	Ηνωμένο Βασίλειο, Νησιά Σέτλαντ	85
Khark 5	1989	120 ναυτικά μίλια από τη Αντλαντική ακτή του Μαρόκο	80
Prestige	2002	Ισπανική ακτή	77

Πίνακας 4: Τα μεγαλύτερα ατυχήματα των τελευταίων χρόνων (πηγή: Ινστιτούτο Εδαφολογίας Αθηνών/Εθνικό Ίδρυμα Αγροτικής Έρευνας/Δρ. Ντούλα Μαρία/Φαινόμενα Ρύπανσης στο θαλάσσιο περιβάλλον-Επιπτώσεις στις βιοκοινωνίες)

Από το 1974 καταγράφονται στοιχεία από την ITOPF (International Tanker Owners Pollution Federation) σχετικά με πετρελαιοκηλίδες που δημιουργήθηκαν λόγω ατυχημάτων, χωρίς όμως να περιλαμβάνονται οι κηλίδες λόγω πολεμικών δραστηριοτήτων. Για ιστορικούς λόγους, έχει επικρατήσει οι πετρελαιοκηλίδες να χωρίζονται σε τρεις βασικές ομάδες, ανάλογα με τον όγκο πετρελαίου που διαρρέει στη θάλασσα. Στην πρώτη κατηγορία ανήκουν πετρελαιοκηλίδες μικρότερες των 7 τόνων, στη δεύτερη πετρελαιοκηλίδες μεταξύ 7 και 700 τόνων, ενώ στην τελευταία, αυτές που περιλαμβάνουν περισσότερους από 700 τόνους. Οι πλειονότητα των ατυχημάτων κατατάσσεται στην τελευταία κατηγορία, σε ποσοστό 85%.

1.1.10 Τεχνικές Απορρύπανσης

Έχουν αναπτυχθεί ποικίλες τεχνικές που αποσκοπούν στην αποκατάσταση μιας περιοχής που έχει ρυπανθεί με πετρελαϊκά, οι οποίες όμως στη συντριπτική πλειονότητά τους αφορούν επιφανειακές ρυπάνσεις. Όσον αφορά τα ιζήματα πετρελαίων, τα οποία μελετήθηκαν και στη συγκεκριμένη διπλωματική εργασία οι πιθανές τεχνικές που μπορούν να χρησιμοποιηθούν είναι ακόμα υπό μελέτη. Συνήθως περιλαμβάνουν υλικά ή ρομποτικά μηχανήματα, τα οποία εμπλουτίζουν το βυθό σε οξυγόνο και θρεπτικά, προκειμένου να ενισχυθεί η δράση των μικροοργανισμών.

Σε γενικές γραμμές, η επιλογή της καταλληλότερης μεθόδου ανά περίπτωση επηρεάζεται από παράγοντες όπως, τα χαρακτηριστικά, η ευαισθησία και η γεωλογία της ρυπασμένης περιοχής, η σύσταση του πετρελαίου, καθώς και οι καιρικές συνθήκες^[5]. Πολλές φορές για την επίτευξη του βέλτιστου αποτελέσματος, επιλέγεται ο συνδυασμός τεχνικών εξυγίανσης.

1.1.10.1 Φυσικές Μέθοδοι

Φυσική αποκατάσταση (natural degradation)

Κατά την εφαρμογή αυτής της τεχνικής, στην ουσία δεν λαμβάνεται κάποιο μέτρο και η ρύπανση αφήνεται να απομακρυνθεί ή να αποικοδομηθεί με φυσικά μέσα. Η τεχνική αυτή βασίζεται στη φυσική βιοαποδόμηση του πετρελαίου από αυτόχθονες μικροοργανισμούς σε συνδυασμό με τις διάφορες διεργασίες γήρανσης που αυτό υφίσταται.

Για την εφαρμογή της συγκεκριμένης τεχνικής, πρέπει να συντρέχουν συγκεκριμένοι λόγοι και απαιτείται συστηματική παρακολούθηση ώστε να αξιολογηθεί η αποτελεσματικότητά της. Οι συνήθεις περιπτώσεις επιλογής της είναι οι ακόλουθες:

- ❖ Πετρελαιοκηλίδες σε απρόσιτες ή πολύ μακρινές αποστάσεις.
- ❖ Πετρελαιοκηλίδες σε ευαίσθητες περιοχές, όπου υπάρχει κίνδυνος με οποιαδήποτε παρέμβαση να προκληθεί περισσότερη ζημιά.
- ❖ Όταν τα φυσικά ποσοστά απομάκρυνσης είναι γρήγορα.

1.1.10.2 Μη χημικές- Μηχανικές μέθοδοι

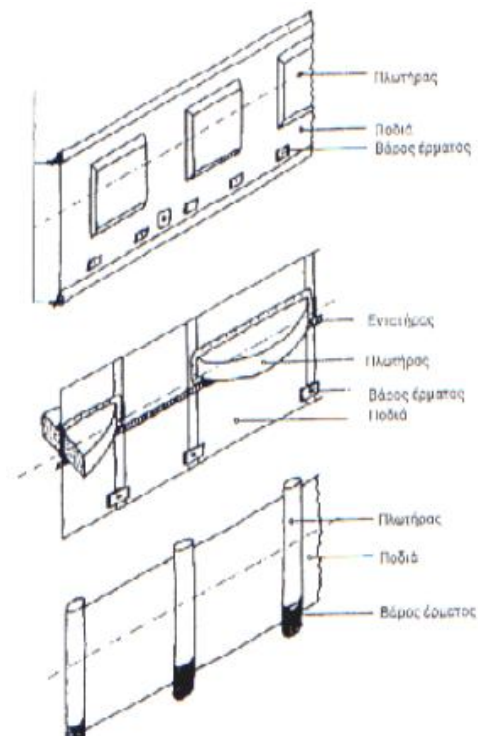
Οι μη-χημικές ή μηχανικές μέθοδοι αποσκοπούν στον περιορισμό και την ταυτόχρονη ανάκτηση όσο περισσότερου πετρελαίου γίνεται.

Φράγματα (*barriers/booms*)

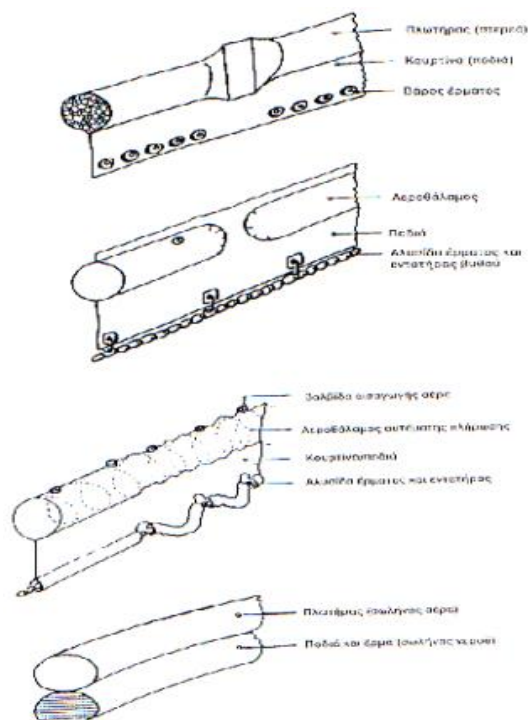
Περιλαμβάνει τη χρήση πλωτών φραγμάτων, ειδικά σχεδιασμένων για τον έλεγχο της κίνησης του πετρελαίου στη επιφάνεια της θάλασσας. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν για εγκλωβισμό, συγκέντρωση, περισυλλογή, προστασία ή κατεύθυνση του ρύπου. Συνήθως χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με ειδικά πλοιάρια-πετρελαιοσυλλέκτες (αναλύονται στη συνέχεια), ώστε η πετρελαιοκηλίδα να περιοριστεί και να συλλεχθεί^[21]. Επίσης, έχουν κατασκευαστεί φράγματα ανθεκτικά σε υψηλές θερμοκρασίες, μη εύφλεκτα ώστε να μπορούν να χρησιμοποιηθούν συνδυαστικά με τη μέθοδο της επί τόπου ανάφλεξης, όπως βλέπουμε και στην Εικόνα 11. Η απόδοσή τους επηρεάζεται από παράγοντες όπως η ταχύτητα του ανέμου, οι μετεωρολογικές συνθήκες και το ύψος των κυμάτων.



Εικόνα 11: Συνδυασμός της τεχνικής πλωτών φραγμάτων (booms) με επί τόπου άφλεξη (In-situ burning) (πηγή: Verde/Spill Response Equipment/Booms & Accessories/Hydro-Fire Boom)



Εικόνα 12: Φράγμα τύπου φράκτου (πηγή: Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο/Τμήμα Ναυπηγών Μηχανολόγων Μηχανικών/Περιβάλλον και Ανάπτυξη/Ενότητα «Πετρελαιοκηλίδες»/Καθ. Γ. Τριανταφύλλου/Μ. Βεργέτης διπλ. Ν.Μ.Μ./Αθήνα 2004)



Εικόνα 13: Φράγμα τύπου κουρτίνας, (πηγή: Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο/Τμήμα Ναυπηγών Μηχανολόγων Μηχανικών/Περιβάλλον και Ανάπτυξη/Ενότητα «Πετρελαιοκηλίδες»/Καθ. Γ. Τριανταφύλλου/Μ. Βεργέτης διπλ. Ν.Μ.Μ./Αθήνα 2004)

Τα φράγματα διακρίνονται σε δύο βασικές κατηγορίες ανάλογα με τον τρόπο κατασκευής τους, οι οποίες είναι: τα φράγματα τύπου φράκτου και τύπου κουρτίνας, όπως φαίνονται στις εικόνες 12 και 13 αντίστοιχα. Κατασκευαστικά, αποτελούνται από τέσσερα βασικά μέρη:

- ❖ Τον πλωτήρα (το κομμάτι που επιπλέει)
- ❖ Την ποδιά (το κομμάτι που συγκρατεί το πετρέλαιο)
- ❖ Το έρμα
- ❖ Τους εντατήρες

Ο τύπος του φράγματος που θα επιλεγεί και ο τρόπος που θα χρησιμοποιηθεί, εξαρτάται από αρκετούς παράγοντες, σημαντικότεροι από τους οποίους είναι:

- ❖ Η θέση και το μέγεθος της κηλίδας.
- ❖ Η κίνησή της.

- ❖ Μετεωρολογικές και υδρολογικές συνθήκες.
- ❖ Μορφολογία ξηράς και σχήμα υδάτινης μάζας.
- ❖ Προτεραιότητες όσον αφορά την προστασία.

Για να εξασφαλιστεί η αποτελεσματική εξυγίανση, πρέπει να ληφθούν υπόψιν οι παρακάτω παράγοντες, προκειμένου να επιλεγθεί ο καταλληλότερος τύπος φράγματος:

- ❖ Πιθανή τοποθεσία εντοπισμού πετρελαιοκηλίδας
- ❖ Αν η περιοχή είναι προστατευόμενη από πιθανή προσβολή πετρελαίου.
- ❖ Μέγεθος του φράγματος
- ❖ Συχνότητα εμφάνισης κηλίδων
- ❖ Μέγεθος της κηλίδας
- ❖ Αντοχή φράγματος
- ❖ Ταχύτητα κινητοποίησης
- ❖ Αποθήκευση και ανάπτυξη φραγμάτων
- ❖ Λειτουργία

Πετρελαιοσυλλέκτες (Skimmers)

Ένας συλλέκτης πετρελαίου αποτελείται από μία συσκευή ανάκτησης πετρελαίου, μια αντλία για τη μεταφορά του πετρελαίου σε βυτίο και μία συσκευή για να διατηρεί σταθερό το επίπεδο σε σχέση με τη θάλασσα. Η απόδοση των πετρελαιοσυλλεκτών εξαρτάται κατά πολύ από την κατάσταση της θάλασσας, δηλαδή ύψος κύματος και ταχύτητα ρεύματος. Ανασταλτικό παράγοντα στην απόδοση των πετρελαιοσυλλεκτών, μπορεί να αποτελέσουν τα σκουπίδια τα οποία ενδέχεται να προκαλέσουν και ζημιά στη συσκευή^[21].

Στην Εικόνα 14, βλέπουμε τα μηχανικά μέρη ενός πετρελαιοσυλλέκτη και γενικά διακρίνουμε δύο μεγάλες κατηγορίες, (οι οποίες περιλαμβάνουν επιμέρους υποκατηγορίες), ανάλογα με το μηχανισμό που χρησιμοποιούν για τη συλλογή του πετρελαίου. Αυτές είναι:

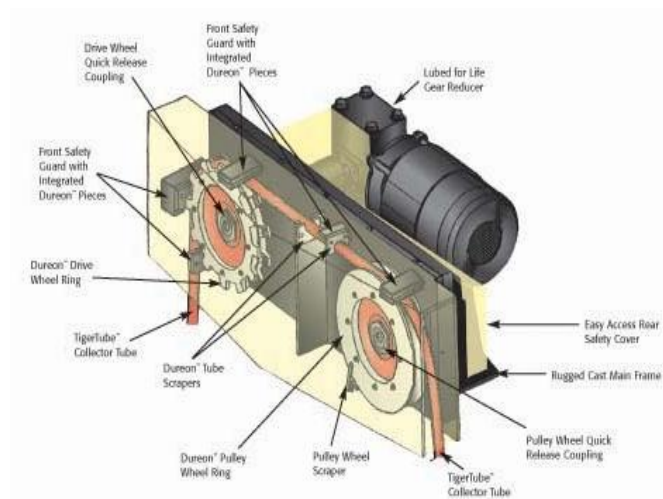
❖ **Μηχανικοί πετρελαιοσυλλέκτες:** βασίζονται στις ιδιότητες των πετρελαίων και των μειγμάτων πετρελαίου/νερού, καθώς και στη διαφορά πυκνότητας μεταξύ ρύπου και νερού.

- **Άμεσης αναρρόφησης:** Απορροφούν άμεσα το επιφανειακό στρώμα του ρύπου.
- **Τύπου WEIR:** Τοποθετούνται λίγο κάτω από την επιφάνεια του νερού και με τη βοήθεια της βαρύτητας το πετρέλαιο ρέει στο φρεάτιο του πετρελαιοσυλλέκτη, από όπου αντλείται στη δεξαμενή αποθήκευσης.
- **Φυγοκεντρικοί (δίνης):** Η δίνη δημιουργείται είτε από την κίνηση του πετρελαιοσυλλέκτη, είτε από στροφέιο και συγκεντρώνει πετρέλαιο στο κέντρο της δίνης από όπου αυτό αντλείται συνεχώς.
- **Με κυλιόμενο ιμάντα:** Ένας κεκλιμένος, κυλιόμενος ιμάντας από μη ελαιόφιλο υλικό, μεταφέρει το πετρέλαιο στην περιοχή περισυλλογής.

❖ **Ελαιοφιλικόι Πετρελαιοσυλλέκτες:** Η αρχή λειτουργίας βασίζεται στα χαρακτηριστικά ορισμένων υλικών που έχουν μεγαλύτερη συγγένεια στο πετρέλαιο παρά στο νερό. Τα υλικά είναι γνωστά ως ελαιόφιλα. Ανάλογα με τη μορφή της κινούμενης επιφάνειας στην οποία προσκολλάται το πετρέλαιο, διακρίνονται τέσσερις υποκατηγορίες πετρελαιοσυλλεκτών:

- **Τυμπάνου:** Το πετρέλαιο προσκολλάται σε τύμπανο το οποίο είναι ημιβυθιζόμενο σε οριζόντια θέση και φέρει επίστρωση από ελαιόφιλο υλικό.
- **Δίσκου:** Αποτελούνται από ένα μεταβλητό αριθμό περιστρεφόμενων δίσκων που είναι κατασκευασμένοι από ελαιόφιλο υλικό. Το πετρέλαιο που προσκολλάται στην επιφάνεια των δίσκων αφαιρείται με ξύστρες, οι οποίες το οδηγούν σε δεξαμενή άντλησης.

- **Ιμάντα:** Το πετρέλαιο προσκολλάται σε ένα ημιβυθισμένο ιμάντα που έχει κατασκευασθεί από ελαιόφιλο υλικό και με την κίνηση του ιμάντα μεταφέρεται στο ανώτερο μέρος αυτού, όπου αφαιρείται.
- **Σχοινιού:** Διαθέτουν ελαιόφιλο σχοινί που επιπλέει και είτε περιστρέφεται μεταξύ δύο τροχαλιών, είτε σύρεται στην επιφάνεια της θάλασσας από σκάφος. Το πετρέλαιο συλλέγεται σε φρεάτιο από όπου αντλείται.



Εικόνα 14: Μηχανικά μέρη ενός πετρελαιοσυλλέκτη (skimmer) (πηγή: SkimTech Inc.)

Σχεδόν όλοι οι συλλέκτες χρησιμοποιούν μία από τις παρακάτω μεθόδους για την ανάκτηση:

- ❖ **Ανάκτηση με ρόφηση:** Το πετρέλαιο ανακτάται με αντλία. Η ανάκτηση με ρόφηση είναι αποτελεσματικότερη σε περιπτώσεις πετρελαίου με μεγάλο ιξώδες. Οι συλλέκτες που χρησιμοποιούν αυτή την τεχνική πρέπει να έχουν μεγάλη ικανότητα διαχωρισμού νερού – πετρελαίου και μεγάλη ικανότητα ανάκτησης.
- ❖ **Ανάκτηση με προσκόλληση:** Η μέθοδος χρησιμοποιεί την απορροφητική ικανότητα ορισμένων μερών του συλλέκτη όπως είναι

έναν κινούμενο ιμάντα, ένα τύμπανο, ένας δίσκος ή ένα σχοινί.

Αυτή η μέθοδος αφορά πετρέλαια μεσαίου ιξώδους.

Για την επιλογή του κατάλληλου πετρελαιοσυλλέκτη πρέπει να ληφθούν υπόψη οι ακόλουθες παράμετροι:

- ❖ Πιθανή τοποθεσία εντοπισμού πετρελαιοκηλίδας
- ❖ Μέγεθος συσκευής περισυλλογής
- ❖ Χειρισμός συσκευής
- ❖ Αποθήκευση συσκευών
- ❖ Αποδοτικότητα συσκευής

Απορροφητικά Υλικά (Sorbents)

Τα απορροφητικά, είναι υλικά που χρησιμοποιούν απορροφητικές ή προσκολλητικές ιδιότητες, προκειμένου να περισυλλέξουν ρευστά και είναι ειδικά σχεδιασμένα για τη συλλογή πετρελαίου από την επιφάνεια του νερού^[21]. Τα απορροφητικά που επιλέγονται θα πρέπει να έχουν καλές ελαιοφιλικές ιδιότητες και για να είναι αποτελεσματικά, πρέπει να είναι αβύθιστα και να απωθούν το νερό.

Σε πρώτο στάδιο, η εφαρμογή τους περιλαμβάνει διασκορπισμό τους στην κηλίδα. Στη συνέχεια, αναμένεται να κορεστούν σε πετρέλαιο και να περισυλλεχθούν. Συνήθως χρησιμοποιούνται συνδυαστικά και με άλλες μεθόδους απορρύπανσης. Η μεγάλη ποσότητα απορροφητικών που απαιτείται για την καταπολέμηση σε μεγάλων κηλίδων, κάνει αποτρεπτική την επιλογή της συγκεκριμένης μεθόδου, οπότε πρακτικά, η χρήση της καθίσταται δυνατή μόνο σε μικρού και μεσαίου μεγέθους κηλίδες (μέχρι μερικές δεκάδες τόνοι). Μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αντιμετώπιση ρύπανσης διαφορετικών μορφών, για τις οποίες άλλες μέθοδοι καταπολέμησης δεν είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν λόγω τεχνικών ή οικολογικών προβλημάτων. Χαρακτηριστικές περιπτώσεις αποτελούν η καταπολέμηση πετρελαίων μεγάλου ιξώδους ή κοντά σε ακτές.

Η απόδοση των απορροφητικών υλικών χαρακτηρίζεται από τρία μεγέθη, τα οποία είναι:

- ❖ **Η απορροφητική ικανότητα (Recovery Capacity):** ο λόγος της συνολικής ποσότητας πετρελαίου που ανακτάται προς το βάρος του απορροφητικού.
- ❖ **Απορροφητικότητα (Recovery Efficiency):** Είναι ο λόγος της ποσότητας ρύπου προς τη συνολική ποσότητα μείγματος νερού-πετρελαίου που ανακτάται. Χαρακτηρίζει το κατά πόσο το υλικό είναι ελαιοφιλικό.
- ❖ **Χρόνος Κορεσμού (Recovery Rate):** Χαρακτηρίζει την ποσότητα που ανακτάται στη μονάδα του χρόνου.

Υπάρχουν τρεις τύποι υλικών, που διακρίνονται ανάλογα με την πρώτη ύλη κατασκευής τους:

- ❖ **Κατεργασμένα Φυτικά (Natural Organic Sorbents)**
- ❖ **Κατεργασμένα Ορυκτά (Mineral Sorbents)**
- ❖ **Συνθετικά-Πολυμερή (Synthetic Sorbents)**

Πλύση

Γίνεται έκπλυση (συνήθως με καυτό νερό) του πετρελαίου που εμμένει κατά μήκος των ακτών. Η πλύση αυτή μπορεί να γίνει:

- ❖ **Με χαμηλή πίεση:** Χρησιμοποιείται κυρίως σε ακτές, για την αφαίρεση ελαφριού και όχι πολύ παχύρρευστου πετρελαίου. Ενδείκνυται για οικολογικά ευαίσθητες περιοχές, καθώς δεν επηρεάζεται σημαντικά το υπόστρωμα.
- ❖ **Με υψηλή πίεση:** Εφαρμόζεται κυρίως σε ακτές με βράχια, μεγάλες πέτρες ή τεχνικές κατασκευές.

Καθαρισμός με ατμό

Χρησιμοποιείται μόνο όταν είναι απολύτως αναγκαίο για τον καθαρισμό πολύ παχύρρευστων πετρελαιοειδών και αφού γίνει εκτίμηση των πιθανών επιπτώσεων στο περιβάλλον. Είναι πολύ πιθανό να καταστραφεί κάθε ζωντανός

οργανισμός στην επιφάνεια που καθαρίζεται, γι' αυτό η χρήση του συνιστάται σε τεχνικές κατασκευές.

Μηχανικός καθαρισμός

Περιλαμβάνει τη συλλογή και απομάκρυνση ρυπασμένων επιφανειών και ιζημάτων με χρήση μηχανολογικού εξοπλισμού. Επιλέγεται μόνο όταν απαιτείται η αφαίρεση μικρών ποσοτήτων ρυπασμένων με πετρέλαιο και πρέπει να αποφεύγεται όταν τίθεται ζήτημα διάβρωσης ή όταν έχουν ρυπανθεί ευαίσθητοι βιότοποι.

Αμμοβολή

Η μέθοδος αυτή, καλό είναι να περιορίζεται σε τεχνικές κατασκευές στις οποίες απαιτείται “τέλειος” καθαρισμός. Περιστασιακά μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε μεγάλες πέτρες και βράχια, τα οποία όμως δεν παρουσιάζουν οικολογική ευαισθησία.

Χειρωνακτικός καθαρισμός

Μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε όλους τους τύπους ακτών, για την περισυλλογή πετρελαίου και ρυπασμένου υλικού, ιδιαίτερα σε προσβολές μικρής και μεσαίας έκτασης. Στην Εικόνα 15, βλέπουμε τον καθαρισμό βράχου σε παραλία του Green Island, στην Αλάσκα.



Εικόνα 15: Χειρωνακτικός καθαρισμός βράχου σε παραλία του 'Green Island' στην Αλάσκα (1989) (πηγή: Encyclopedia Britannica/The Editors of Encyclopedia Britannica/Science/Oil Spill/ Natalie Fobes/Corbis)

Μεταφορά Ιζημάτων και επεξεργασία (Sediment relocation and tilling)

Το ρυπασμένο με πετρέλαιο ίζημα μεταφέρεται από το ένα τμήμα της παραλίας σε άλλο. Στη συνέχεια, γίνεται επιφανειακή κατεργασία (tilling) του εδάφους και ανάμειξή του με το ρυπασμένο ίζημα, προκειμένου να ενισχυθεί ο φυσικός καθαρισμός μέσω της διασποράς του πετρελαίου στην υδάτινη στήλη και την προώθηση της αλληλεπίδρασης μεταξύ πετρελαίου και ανόργανων σωματιδίων. Πρέπει να σημειωθεί, πως κατά την επιφανειακή κατεργασία του εδάφους, υπάρχει κίνδυνος διείσδυσης πετρελαίου βαθιά στα ιζήματα των ακτών. Εκτός αυτού, πρέπει να ληφθούν υπόψιν οι πιθανές περιβαλλοντικές επιδράσεις από την απελευθέρωση πετρελαίου και ρυπασμένων ιζημάτων στα παρακείμενα υδάτινα στρώματα.

“Σκούπισμα” με απορροφητικά υλικά (Wiping with absorbent materials)

Χρησιμοποιούνται υδροφοβικά υλικά για απομάκρυνση πετρελαίου επάνω από τη μολυσμένη επιφάνεια. Στην Εικόνα 16, βλέπουμε την επέμβαση στο Ρίο ντε Τζανέιρο, για αποκατάσταση της ακτής που ρυπάνθηκε, από διαρροή πετρελαίου ραγισμένου δεξαμενόπλοιου. Τίθεται βέβαια το ζήτημα διάθεσης των ρυπασμένων απορριμμάτων, όμως η περιβαλλοντική επίπτωση αυτής της μεθόδου είναι περιορισμένη εάν η κυκλοφορία των πληρωμάτων καθαρισμού και η παραγωγή αποβλήτων είναι ελεγχόμενη.



Εικόνα 16: Επείγουσα επέμβαση για αποκατάσταση ακτής (“σκούπισμα” με απορροφητικά υλικά) στο Ρίο ντε Τζανέιρο, από ραγισμένο δεξαμενόπλοιο (2005) (πηγή: Encyclopedia Britannica/The Editors of Encyclopedia Britannica/Science/Oil Spill/Associated Press)

1.1.10.3 Χημικές Μέθοδοι

Σε περιπτώσεις που η χρήση μηχανικών μέσων δεν ενδείκνυται (λόγω τοποθεσίας, καιρικών συνθηκών κ.ά.), η χρήση χημικών μεθόδων είναι συνήθως μονόδρομος. Η βασική διαφορά τους με τις πρώτες είναι ότι, το πετρέλαιο δεν απομακρύνεται από το θαλάσσιο περιβάλλον, απλά διασκορπίζεται σε αυτό, μειώνοντας τις αρνητικές επιπτώσεις και κάνοντας ευκολότερη τη διαδικασία βιοδιάσπασής του.

Χημικές Ενώσεις Διασποράς

Αποτελούνται από μία επιφανειακά δραστική ουσία και ένα διαλύτη και λειτουργούν μειώνοντας την επιφανειακή τάση μεταξύ νερού και πετρελαίου. Σαν αποτέλεσμα, η πετρελαιοκηλίδα διασπάται σε μικρά σταγονίδια που διασκορπίζονται στην υδάτινη φάση λόγω της φυσικής κίνησης του νερού, αυξάνοντας με τον τρόπο αυτό τη βιοδιαθεσιμότητά τους στους μικροοργανισμούς που θα το καταναλώσουν. (Οι επιφανειοδραστικές ουσίες, αναλύονται εκτενέστερα στο κεφάλαιο 1.2 της παρούσας εργασίας).

Η εφαρμογή τους μπορεί να γίνει με δύο τρόπους:

- ❖ **Με καράβια:** οι ουσίες εκτοξεύονται στην πετρελαιοκηλίδα από βραχίονες με ειδικά ακροφύσια, συνδεδεμένες με αντλίες παροχής και δεξαμενές.
- ❖ **Με αεροσκάφη (συνήθως γεωργικά):** Κατάλληλα διαμορφωμένο αεροσκάφος, προσφέρει δυνατότητα για ταχύτερη καταπολέμηση μεγάλων κηλίδων. Κυρίως χρησιμοποιείται για κηλίδες που βρίσκονται μακριά από λιμάνια.

Υπάρχουν δύο τύποι ουσιών που χρησιμοποιούνται, ανάλογα το περιστατικό και είναι:

- ❖ **Τα συμβατικά διασκορπιστικά (2^η γενιάς):** καταπολεμούν $1 \frac{m^3 \rho \acute{o}που}{h}$
με αναλογία $\frac{\text{διασκορπιστικ}}{\rho \acute{o}πος} \acute{o} = \frac{1}{2}$.

❖ **Τα συμπυκνωμένα διασκορπιστικά (3^{ης} γενιάς):** είναι ικανά να

$$\text{καταπολεμήσουν } 1 \frac{m^3 \text{ ρύπου}}{h} \text{ με αναλογία } \frac{\text{διασκορπιστικ } \delta}{\text{ρύπος}} = \frac{1}{20}.$$

Για την επιλογή του καλύτερου διασκορπιστικού αλλά και της μεθόδου εφαρμογής, υπάρχουν μαθηματικά μοντέλα και προγράμματα, που σε συνδυασμό με ομάδες οργανισμών όπως ο IMO (International Marine Organism), συμβάλλουν στην τελική απόφαση.

Στερεοποιητές (Solidifiers)

Ενισχύουν τον πολυμερισμό του πετρελαίου και χρησιμοποιούνται για να σταθεροποιήσουν το πετρέλαιο, να ελαχιστοποιήσουν τη διάδοση και για να αυξήσουν την αποτελεσματικότητα των φυσικών διεργασιών αποκατάστασης.

Απογαλακτοματοποιητές (Emulsion Breakers/Demulsifiers)

Χρησιμοποιούνται για να διασπάσουν τα γαλακτώματα και για να ενισχυθεί η φυσική διασπορά.

Μεταβολείς Επιφανειακής Τάσης (Gelling Agents)

Οι ουσίες αυτές εκτοξεύονται στο νερό που περιβάλλει την κηλίδα και παρεμποδίζουν την εξάπλωσή της.

Χημικά Επιφανειακά φιλμ (Surface film chemicals)

Οι film-forming agents μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να αποτρέψουν το πετρέλαιο από το να προσκολληθεί στα υποστρώματα των ακτών και για να ενισχύσουν την αφαίρεση της ποσότητας που εμμένει στις επιφάνειες με διαδικασίες έκπλυσης υπό πίεση.

Μέσα Ανάφλεξης (Burning Agents)

Είναι ουσίες που εισάγονται στις κηλίδες ώστε να καταστήσουν δυνατή την ανάφλεξη του πετρελαίου πάνω στην ακτή ή στη θάλασσα. Χρησιμοποιούνται κατά την εφαρμογή της τεχνικής της επί-τόπου καύσης (μη-χημική μέθοδος).

Ουδετεροποιητές (Neutralizing Agents)

Οι ουσίες αυτές αντιδρούν χημικά με το πετρέλαιο και τελικά σχηματίζουν λιγότερο τοξικές ενώσεις, με στόχο να μειώσουν τις επιπτώσεις της ρύπανσης.

1.1.10.4 Εναλλακτικές Μέθοδοι

Επί τόπου ανάφλεξη (In-situ burning)

Όσον αφορά την καύση στην ακτή, αυτή μπορεί να γίνει όταν το πετρέλαιο βρίσκεται πάνω σε καύσιμο υπόστρωμα (π.χ. βλάστηση, κούτσουρα, συντρίμμια). Η καύση πετρελαιοκηλίδων στη θάλασσα παρέχει τη δυνατότητα απομάκρυνσης μεγάλων ποσοτήτων πετρελαίου από την επιφάνειά της^[21].

Αν και φαινομενικά μοιάζει απλή, η μέθοδος αυτή παρουσιάζει πολλά προβλήματα κατά την εφαρμογή της και επιλέγεται πολύ σπάνια (έχει απαγορευτεί στην Ευρώπη). Εκτός του ότι είναι επιβλαβής για το περιβάλλον, δεν είναι ιδιαίτερα αποδοτική, διότι η καύση είναι συνήθως ατελής. Εντούτοις, συνεχίζει να θεωρείται η πιο “αποτελεσματική” μέθοδος σε περιπτώσεις πετρελαιοκηλίδων από τη βιομηχανία. Παραδείγματος χάριν, στο πρόσφατο ατύχημα της *bp* στον κόλπο του Μεξικού, η αμερικανική EPA (Environmental Protection Agency) έδωσε άδεια για πάνω από 400 καύσεις σε επιπλέοντες υδρογονάνθρακες.

Οι δυσκολίες που παρουσιάζονται στην εφαρμογή της είναι^[22]:

- ❖ **Η αδυναμία ανάφλεξης ή διατήρησης της καύσης** (απαιτείται πάχος τουλάχιστον 2-3 mm για να μην υπερिσχύσει η ψύξη λόγω νερού και ανέμων).
- ❖ **Η πολύ γρήγορη εξάτμιση των ελαφριών συστατικών** πετρελαίου κάνει την ανάφλεξη σχεδόν ανέφικτη.
- ❖ **Η δύσκολη ανάφλεξη πετρελαίου που έχει υποστεί γήρανση** (αν έχει εξατμιστεί το 20% κ.β. πρακτικά είναι ανεφάρμοστη η τεχνική αυτή).

Περιβαλλοντικά προβλήματα που δημιουργούνται:

- ❖ **Παραγωγή μαύρου καπνού** που μπορεί να επικαθήσει σε απόσταση μέχρι και 100 km μακριά.
- ❖ **Τα επιπλέοντα υπολείμματα** της καύσης είναι πιθανό να βιοδιασπώνται πολύ δύσκολα έως καθόλου.
- ❖ **Τα καταβυθιζόμενα υπολείμματα** μπορεί να αποβούν τοξικά για τους βενθικούς οργανισμούς.

Βιοεξυγίανση ως τεχνική καθαρισμού πετρελαιοκηλίδων

Οι συμβατικές μέθοδοι που περιγράφηκαν παραπάνω, σπάνια επιτυγχάνουν πλήρη απορρύπανση και συγκεκριμένα, σύμφωνα με το γραφείο OTA (Office of Technology Assessment)^[8] της Αμερικής, οι τρέχουσες τεχνολογίες ανακτούν λιγότερο από 10-15% του πετρελαίου από μια πετρελαιοκηλίδα. Η βιοεξυγίανση, με οποιαδήποτε μορφή της, αποτελεί μια από τις πιο ελπιδοφόρες δευτεροβάθμιες επιλογές επεξεργασίας (secondary treatment options), έπειτα από την επιτυχή εφαρμογή της στο ατύχημα του 'Εκχον Valdez' (Alaska 1989) ^[9].

Ως βιοεξυγίανση, ορίζεται η τεχνική αύξησης του ρυθμού φυσικής αποδόμησης του πετρελαίου, με την παρέμβαση του ανθρώπου. Ουσιαστικά, η τεχνική αυτή εκμεταλλεύεται το γεγονός πως η πλειονότητα των πετρελαϊκών και πολυκυκλικών υδρογονανθράκων βιοαποικοδομείται από πλήθος μικροοργανισμών που είτε βρίσκονται στο έδαφος, είτε μπορούν να προστεθούν σε αυτό. Η βιοεξυγίανση μπορεί να λάβει δύο μορφές, τη βιοενίσχυση ή τη βιοδιέγερση, οι οποίες περιγράφονται αναλυτικά στη συνέχεια.

Βιοδιέγερση (Biostimulation)

Βασίζεται στο γεγονός ότι υπάρχουν πάντα γηγενείς μικροοργανισμοί που μπορούν να διασπάσουν το πετρέλαιο, αλλά σε μία πετρελαιοκηλίδα η αναλογία άνθρακα-αζώτου-φωσφόρου δεν είναι η ιδανική (C:N:P=120:10:1 σε moles), με αποτέλεσμα να μην ευνοείται η ανάπτυξη των εν λόγω μικροοργανισμών. Για το λόγο αυτό, γίνεται προσθήκη λιπασμάτων για να επιτευχθεί η επιθυμητή αναλογία θρεπτικών. Εναλλακτικά, οι επιθυμητές συνθήκες μπορούν να επιτευχθούν με

αλλαγές περιβαλλοντικών συνθηκών, όπως έκπλυση από τα κύματα (surf-washing), προσθήκη οξυγόνου από την ανάπτυξη φυτών κλπ.

Παρά την αποτελεσματικότητα της τεχνικής αυτής, συχνά παρουσιάζονται προβλήματα εφαρμογής της, λόγω της συνεχούς διασποράς ή και διάλυσης των πρόσθετων, μακριά από τα σταγονίδια πετρελαίου. Ως μέτρο αντιμετώπισης, προτείνεται η χρήση ελαιοφιλικών (υδρόφοβων) πρόσθετων (π.χ. το S200 που χρησιμοποιήθηκε στο ατύχημα του τάνκερ Prestige στις ισπανικές ακτές, ή το Inipol). Από την άλλη, τα σκευάσματα αυτά έχουν αποδειχθεί τοξικά για τους θαλάσσιους αποικοδομητές του πετρελαίου, επομένως χρησιμοποιούνται πλέον βιολογικά παρασκευασμένες επιφανειοδραστικές ουσίες (Biosurfactants).

Βιοενίσχυση (Bioaugmentation) ^([7], [13],[22])

Η τεχνική αυτή, περιλαμβάνει εμβολιασμό εξειδικευμένων μικροοργανισμών, που αποδεδειγμένα διασπούν πετρελαιοειδή, τα οποία σε συνδυασμό με τους εγχώριους, επιτυγχάνουν υψηλότερο βαθμό βιοδιάσπασης.

Εν τούτοις, και για τη συγκεκριμένη μέθοδο υπάρχει ένας σκεπτικισμός. Κατ' αρχάς, δεν ενδείκνυται η εφαρμογή της σε περιοχές με μόνιμη πετρελαϊκή ρύπανσης. Εκτός αυτού, αμφισβητείται η αποτελεσματικότητά της, δεδομένου ότι ο αριθμός των προστιθέμενων μικροοργανισμών συχνά ξεπερνά τον αριθμό των αυτόχθονων και από κάποιο σημείο και μετά, λόγω ανταγωνισμού, οι πρώτοι υποχωρούν, εφόσον δεν έχουν συνηθίσει να ζουν στις δεδομένες συνθήκες, σε αντίθεση με τους γηγενείς. Επιπλέον, η απομόνωση και αποθήκευση ενός στελέχους στο εργαστήριο είναι μια επίπονη διαδικασία, η οποία μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα ένα αποδυναμωμένο στέλεχος. Ένας τρόπος, με τον οποίο θα μπορούσε να εξασφαλιστεί η δραστηριότητα του εμβολίου για μεγάλο χρονικό διάστημα, είναι η τεχνητή ακινητοποίηση ή ο σχηματισμός βιοφίλμ (Fantroussi and Agathos 2005). Ακόμα ένα αρνητικό σενάριο, περιλαμβάνει την επιλογή από τους μικροοργανισμούς, άλλων πηγών άνθρακα εκτός των ρυπογόνων ενώσεων.

Σύμφωνα με μελέτες εργαστηριακές, αλλά και στο πεδίο, οι εν λόγω μέθοδοι και κυρίως η βιοδιέγερση μπορεί να ενισχύσει τη βιοδιάσπαση του πετρελαίου στις

ρυπασμένες ακτές ^{[10],[11]}. Η βιοδιέγερση καταδεικνύεται αποτελεσματικότερη, επειδή, αν και επιφέρει τα ίδια αποτελέσματα με τη βιοενίσχυση, η τελευταία είναι πιο κοστοβόρα. Συμπερασματικά, ο συνδυασμός των δύο αυτών μεθόδων, αποτελεί μια πολλά υποσχόμενη προσέγγιση για την ενίσχυση της βιοαποδόμησης (Fantroussi and Agathos 2005, Silva et al, 2004, Atagana 2004, Trindale et al. 2005).

Συνοπτικά τα πλεονεκτήματα των δύο αυτών μεθόδων βιοεξυγίανσης είναι:

- ❖ **Χαμηλό κόστος:** ο εξοπλισμός και οι διοικητικές μέριμνες για τη βιοεξυγίανση είναι απλούστερες και επιπλέον απαιτείται λιγότερη χειρονακτική εργασία. Χαρακτηριστικό είναι το παράδειγμα καθαρισμού της πετρελαιοκηλίδας Exxon Valdez όπου το κόστος βιοεξυγίανσης 120 km ακτής ήταν λιγότερο από την ημερήσια δαπάνη για φυσική έκπλυση (physical washing)^[12].
- ❖ **Επιτυγχάνεται on-site** και προσφέρει απλούστερη και πιο λεπτομερή λύση στις ρυπασμένες περιοχές ^[7].
- ❖ **Δεν απαιτείται μεγάλος μηχανικός εξοπλισμός** και λογιστική ικανότητα (logistical capability) για την αντιμετώπισης μιας μεγάλης πετρελαιοκηλίδας ^[7].
- ❖ **Περιβαλλοντικά φιλική τεχνολογία:** Η τελική αποδόμηση του πετρελαίου έχει ανόργανα προϊόντα ($\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$), σε αντίθεση με τις φυσικοχημικές μεθόδους που αλλάζουν την κατανομή του ρυπαντή στο χώρο, προκειμένου να διευκολυνθεί η αποδόμηση του ^[12].
- ❖ **Ως πράσινη τεχνολογία** επιφέρει ελάχιστες βλάβες στη ρυπασμένη περιοχή (βασίζεται σε φυσικές διεργασίες) και μπορεί να γίνει πιο εύκολα αποδεκτή από το ευρύ κοινό ^[12].

Συνοπτικά τα μειονεκτήματα των δύο αυτών μεθόδων βιοεξυγίανσης είναι:

- ❖ **Ως αρχικό μέτρο** για την αντιμετώπιση μιας απειλής, απαιτεί αρκετό χρόνο μέχρι να δουλέψει. Ενδείκνυται η εφαρμογή ως δευτερεύουσα μέθοδος αντιμετώπισης.
- ❖ Συνήθως είναι **δύσκολο να λειτουργήσει στα ανοιχτά**, λόγω της έντονης διάλυσης.

- ❖ **Η προσέγγιση της βιοεξυγίανσης**, πρέπει να προσαρμοστεί συγκεκριμένα σε κάθε ρυπασμένη περιοχή. Αν και αυτό ισχύει γενικά για κάθε τεχνολογία, η προηγμένη γνώση που απαιτείται όσον αφορά τη εφαρμογή κάποιας μεθόδου βιοεξυγίανσης είναι μεγαλύτερη (π.χ. η προηγμένη γνώση της αποδοτικότητας γηγενών βακτηρίων και η διαθεσιμότητα των περιοριστικών θρεπτικών ουσιών είναι μερικοί από τους παράγοντες που πρέπει να προσδιοριστούν).
- ❖ **Το κοινό**, αν και είναι θετικό στη χρήση φυσικών τεχνολογιών, δεν είναι εύκολο να αποδεχτεί τη χρήση μικροοργανισμών ως μέτρο αντιμετώπισης. Για το λόγο αυτό, προτού οι τεχνολογίες βιοεξυγίανσης χρησιμοποιηθούν ευρέως, πρέπει να διασφαλιστεί η αποτελεσματικότητα και η ασφάλειά τους.

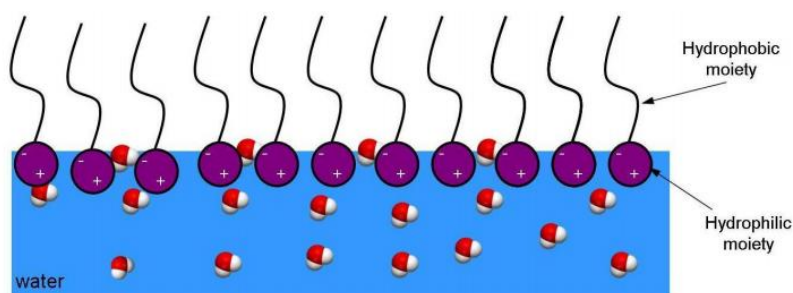
1.2 Τασιενεργές ουσίες^{[2],[4],[7]}

Οι επιφανειακά δραστικές ή τασιενεργές ουσίες, είναι οργανικά αμφίφιλα μόρια που αποτελούνται από ένα υδρόφιλο και ένα υδρόφοβο τμήμα. Το υδρόφιλο, δίνει στις ουσίες αυτές την ιδιότητα να διαλύονται στο νερό, ενώ μέσω του υδρόφοβου τμήματος συσσωματώνονται σε διεπιφάνειες, μειώνοντας την επιφανειακή τάση υδατικών διαλυμάτων. Ποικιλία προϊόντων που χρησιμοποιούμε καθημερινά περιέχει τέτοιου είδους ουσίες, μερικά από αυτά είναι τα σαπούνια, τα μελάνια, οι οδοντόκρεμες, οι κόλλες κ.ά. Οι τρόποι παρασκευής των τασιενεργών ουσιών μπορεί να είναι συνθετικοί ή βιολογικοί.

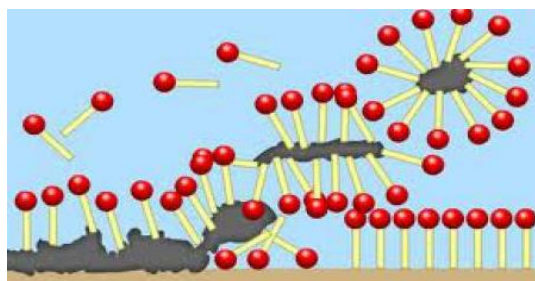
Ένας τρόπος κατάταξης των τασιενεργών ουσιών, είναι ανάλογα με το φορτίο τους, οπότε έχουμε ανιονικές, κατιονικές, διιονικές και μη ιονικές βιοτασιενεργές ουσίες και συνήθως η ταξινόμησή τους γίνεται βάσει της υδρόφιλης κεφαλής. Τα υδρόφιλα τμήματα, περιλαμβάνουν μια καρβοξυλική ή θειική ομάδα (ανιονικές), μια ομάδα τεταρτογενούς αμμωνίου (κατιοντική), πολυοξυαιθυλένιο, σακχαρόζη ή ένα πεπτίδιο (ουδέτερη). Η υδρόφοβη ουρά αποτελείται είτε από μια αλυσίδα υδρογονανθράκων, είτε από αρωματικούς υδρογονάνθρακες.

Σε χαμηλά επίπεδα συγκεντρώσεων, οι τασιενεργές ουσίες βρίσκονται ως μονομερείς αιωρούμενες στην υδατική φάση, μέχρις ότου η συγκέντρωσή τους να φτάσει την κρίσιμη συγκέντρωση μικκυλίου (CMC), όπου αν η θερμοκρασία του συστήματος είναι μεγαλύτερη από την κρίσιμη θερμοκρασία μικκυλίου, επέρχεται ένωση των μονομερών και σχηματισμός μικκυλίου. Ο σχηματισμός των μικκυλίων γίνεται σύμφωνα με τους νόμους της θερμοδυναμικής και σε υδάτινο διαλύτη (όπως στην περίπτωση που μελετάμε), ενώ βασικός παράγοντας σχηματισμού τους είναι η υδροφοβικότητα των επιφανειοδραστικών ουσιών.

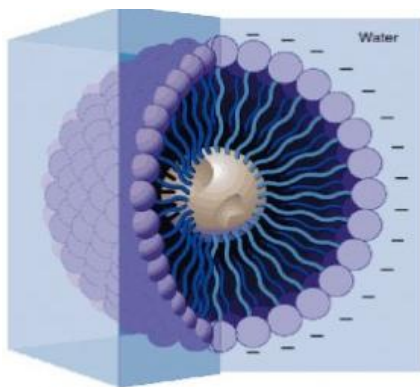
Στη συνέχεια, παρατίθενται κάποιες εικόνες για να κατανοηθεί καλύτερα η δράση των επιφανειοδραστικών ουσιών. Αυτές περιλαμβάνουν, στην Εικόνα 17, τη σχηματική απεικόνιση της συσσώρευσης επιφανειοδραστικών ουσιών στη διεπιφάνεια νερού-αέρα και στις εικόνες 18 και 19, τη σταδιακή δημιουργία μικκυλίου από τασιενεργές ουσίες και την εικόνα ενός μικκυλίου αντίστοιχα.



Εικόνα 17: Συσσώρευση επιφανειοδραστικών ουσιών στη διεπιφάνεια νερού-αέρα (πηγή: Πανεπιστήμιο Πατρών-Τμήμα Χημικών Μηχανικών)



Εικόνα 18: Σταδιακή δημιουργία μικκυλίου από τασιενεργές (πηγή: J R HESS & COMPANY)



Εικόνα 19: Μικκύλιο τασιενεργών ουσιών στο νερό (πηγή: J R HESS & COMPANY)

1.2.1 Μηχανισμός δράσης τασιενεργών ουσιών

Συνοπτικά, η διαδικασία που λαμβάνει χώρα και έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της βιοδιαθεσιμότητας των υδρογονανθράκων περιλαμβάνει τα στάδια που περιγράφονται παρακάτω.

Αρχικά, επέρχεται μείωση της επιφανειακής τάσης μεταξύ υδατικής και μη-υδατικής φάσης. Στη συνέχεια, η αύξηση της διαλυτότητας των υδρογονανθράκων συντελεί στη διαλυτοποίηση αυτών, λόγω της παρουσίας μικκυλίων. Επηρεάζεται από παράγοντες όπως, ο τύπος, η συγκέντρωση, η υδροφοβικότητα της τασιενεργής ουσίας, οι αλληλεπιδράσεις που έχει με το θαλάσσιο νερό καθώς και από το χρόνο παραμονής του ρύπου στη θάλασσα. Σαν αποτέλεσμα, διευκολύνεται η προσκόλληση ή αποκόλληση των μικροοργανισμών από την επιφάνεια του ρύπου, επηρεάζοντας με τον τρόπο αυτό την υδροφοβικότητα της επιφάνειας των κυττάρων και των ρυπογόνων ενώσεων.

Απαραίτητη προϋπόθεση για την επιτυχή προσθήκη ουσιών διασποράς είναι το ιξώδες των επιπλεόντων συστατικών του πετρελαίου να μην είναι πολύ υψηλό, προκειμένου να προλάβει ο διαλύτης να εισέλθει στην οργανική φάση, προτού τα τασιενεργά διαλυθούν στην υδατική φάση. Το μέγιστο επιτρεπτό ιξώδες έχει υπολογιστεί στα 2.000 cP (2 Pa*s) και η προσθήκη πρέπει να γίνει εντός 24 ωρών (το αργότερο εντός 48 ωρών).

Η προσθήκη των ουσιών γίνεται συνήθως με γεωργικά αεροπλάνα ή πλοiάρια. Ωστόσο, πολλές φορές, επιφυλάσσει και κάποιες αρνητικές επιπτώσεις, που αφορούν κυρίως τα οικοσυστήματα. Αυτές οφείλονται στην προσρόφηση των ουσιών αυτών, καθώς και στην πιθανή χρήση τους ως θρεπτικό υπόστρωμα από μικροοργανισμούς. Εκτός αυτού, η υψηλή διαθεσιμότητα του ρύπου μπορεί να επιφέρει τοξικότητα, ενώ ταυτόχρονα η δημιουργία μικκυλίων τα οποία δεσμεύουν τους ρύπους, έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της βιοδιαθεσιμότητας των τελευταίων. Ιδιαίτερα στη Μεσόγειο θάλασσα, (που είναι μια ευαίσθητη περιοχή), η εφαρμογή διασκορπιστικών στην παράκτια ζώνη δεν θεωρείται η καλύτερη επιλογή για την καταπολέμηση μιας σοβαρής ρύπανσης. Ωστόσο, επιλέγεται σε ορισμένες περιπτώσεις, αν ύστερα από σοβαρές οικολογικές μελέτες προκύψει ότι είναι αποδεκτή η τοπική χρησιμοποίησή τους.

Όπως προαναφέρθηκε, υπάρχουν δύο πιθανοί τρόποι παρασκευής τασιενεργών ουσιών. Ο πρώτος περιλαμβάνει χημικές διεργασίες, ενώ ο δεύτερος βιολογικές. Στο σημείο αυτό θα παρατεθούν τα χαρακτηριστικά των δύο αυτών ειδών τασιενεργών ουσιών, ξεκινώντας με τις συνθετικά παραγόμενες τασιενεργές και τελειώνοντας με τις βιολογικά παραγόμενες, οι οποίες χρησιμοποιήθηκαν και στην εν λόγω διπλωματική εργασία.

1.2.2 Συνθετικά παραγόμενες τασιενεργές

Η συγκεκριμένη κατηγορία επιφανειοδραστικών υπερτερεί συγκριτικά με τις βιολογικά παραγόμενες σε ό,τι αφορά το κόστος παραγωγής τους, το οποίο είναι αρκετά χαμηλότερο. Μια κατηγορία ενώσεων που χρησιμοποιείται ευρέως για την παραγωγή τασιενεργών είναι οι λιπαρές αλκοόλες, αλκοόλες δηλαδή με το υδροξύλιο στη θέση 1 της ανθρακικής τους αλυσίδας.

Προκειμένου οι ουσίες αυτές να αξιοποιηθούν για εξυγίανση, συνδυάζονται με κάποιον διαλύτη, σχηματίζοντας “χημικές ουσίες διασποράς”, οι οποίες δρουν με τον μηχανισμό που περιγράφεται στο υποκεφάλαιο 1.2.1. Ο διαλύτης έχει την ικανότητα να εισέρχεται στην οργανική φάση ευκολότερα και επομένως μπορεί να μεταφέρει συγχρόνως και τις τασιενεργές ουσίες σε αυτήν.

1.2.3 Βιολογικά παραγόμενες τασιενεργές ουσίες

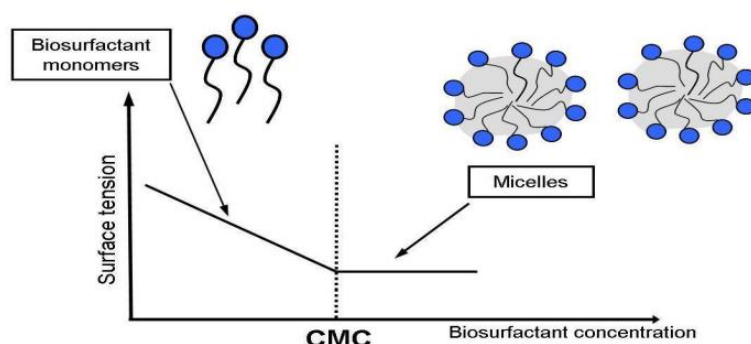
Οι βιοτασιενεργές ουσίες βιολογικής προέλευσης (βιοτασιενεργές) παράγονται από πλήθος βακτηρίων, μυκήτων καθώς και ζυμών. Τα γένη βακτηρίων που συμμετέχουν είναι κυρίως τα “Bacillus”, “Pseudomonas”, “Acetobacter”, “Mycobacterium” και “Alcanivorax”.

Τα χαρακτηριστικά των βιοτασιενεργών ουσιών δεν διαφέρουν από αυτά των συνθετικά παραγόμενων τασιενεργών και για την ακρίβεια συγκεντρώνουν πολλά από τα πλεονεκτήματα αυτών, σχεδόν όμως κανένα από τα μειονεκτήματά τους. Η ποικιλία των βιοεπιφανειοδραστικών τα ανάγει σε μια πολύ ενδιαφέρουσα ομάδα με δυνατότητες εφαρμογής σε τομείς όπως η γεωργία, η δημόσια υγεία, η αξιοποίηση αποβλήτων, ο έλεγχος ρύπανσης περιβάλλοντος κ.ά. Εκτός αυτού, η σταθερότητα που παρουσιάζουν σε ακραίες τιμές pH, θερμοκρασίας καθώς και αλατότητας, τα καθιστούν σχεδόν ιδανικά. Ωστόσο, έχουν ένα βασικό μειονέκτημα, το οποίο είναι το κόστος παραγωγής τους.

Η συνεχής μετάβαση των περιβαλλοντικών κανονισμών σε όλο και αυστηρότερους, σε συνδυασμό με την ανάγκη προστασίας των οικοσυστημάτων, ενισχύει το ενδιαφέρον προς ενώσεις βιολογικής προέλευσης, οι οποίες θα λειτουργούν ισάξια και πολλές φορές αποτελεσματικότερα από τις αντίστοιχα χημικά παραγόμενες. Πιο συγκεκριμένα, οι βιολογικά παραγόμενες τασιενεργές ουσίες είναι μη-τοξικές, ακίνδυνες, βιοδιασπάσιμες και φιλικές προς το περιβάλλον. Οι εν λόγω ουσίες, μπορούν να παραχθούν υπό συνθήκες *ex-situ* στη ρυπασμένη περιοχή ενδιαφέροντος και στη συνέχεια να ανακτηθούν και να ανακυκλωθούν. Στο σημείο αυτό, αξίζει να σημειωθεί πως σύμφωνα με έρευνες, οι βιοτασιενεργές ουσίες έχουν την ικανότητα να σταθεροποιούν νερό σε πετρελαιογαλακτώματα, χρησιμοποιώντας ποσότητα μικρότερη του 1% κατ’ όγκο.

Όπως προκύπτει και από το διάγραμμα στην Εικόνα 20 , όσο χαμηλότερη κρίσιμη συγκέντρωση μικκυλίου (critical micellar concentration-CMC-) έχει μια τασιενεργή ουσία, τόσο πιο δραστική είναι, διότι απαιτείται μικρότερη ποσότητα αυτής για μείωση της επιφανειακής τάσης στον ίδιο βαθμό. Ένας εναλλακτικός τρόπος προσδιορισμού της βιοεπιφανειακής αποδοτικότητας αποτελεί η μέτρηση

της ικανότητας αλλαγής της επιφανειακής και διεπιφανειακής τάσης, η σταθεροποίηση των γαλακτωμάτων και η μελέτη υδρόφιλης-λιπόφιλης ισορροπίας (HLB), η τιμή της οποίας δηλώνει το κατά πόσο ένα βιοεπιφανειοδραστικό σχετίζεται με το γαλάκτωμα νερού-ελαίου ή ελαίου-νερού. Ο παράγοντας αυτός, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό της κατάλληλης εφαρμογής των επιφανειοδραστικών.



Εικόνα 20: Σχέση μεταξύ συγκέντρωσης βιοεπιφανειοδραστικού παράγοντα, επιφανειακής τάσης και σχηματισμού μικκυλίων (πηγή: Whang et al, 2008)

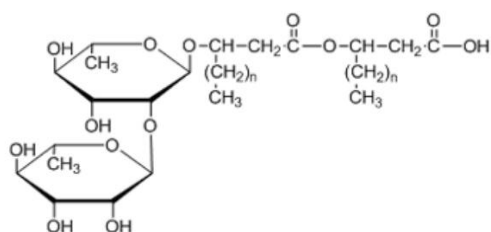
Συνεχίζοντας με τα χαρακτηριστικά των εν λόγω ουσιών, οι περισσότερες έχουν ανιονικό ή ουδέτερο χαρακτήρα, ενώ η μειοψηφία τους που ανήκει στις κατιονικές αποτελείται κυρίως από αμινομάδες. Το υδρόφοβο τμήμα τους μπορεί να αποτελείται από λιπαρά οξέα με μεγάλη αλυσίδα (π.χ. υδρόξυ-λιπαρά ή α-αλκυλ-β-υδροξυ-λιπαρά οξέα), ενώ το υδρόφοβο μπορεί να είναι καρβοξυλικό οξύ, αμινοξύ, πεπτίδιο, αλκοόλη ή φωσφορική ομάδα. Έχει επικρατήσει η κατάταξή τους σε πέντε μεγάλες κατηγορίες, με βάση τη μικροβιακή τους προέλευση, οι οποίες αναγράφονται ακολούθως μαζί με τις βασικές περιβαλλοντικές εφαρμογές τους:

- ❖ **Γλυκολιπίδια** (ενίσχυση και διασπορά H/C, ανάκτηση H/C από κατακάθια και λάσπες, γαλακτωματοποίηση υδρογονανθράκων και φυτικών ελαίων, ενίσχυση βιοδιαθεσιμότητας υδρογονανθράκων).
- ❖ **Φωσφολιπίδια και λιπαρά οξέα** (απομάκρυνση μεταλλικών ιόντων από υδατικά διαλύματα, λύση υδρόφιλων χρωστικών, προετοιμασία

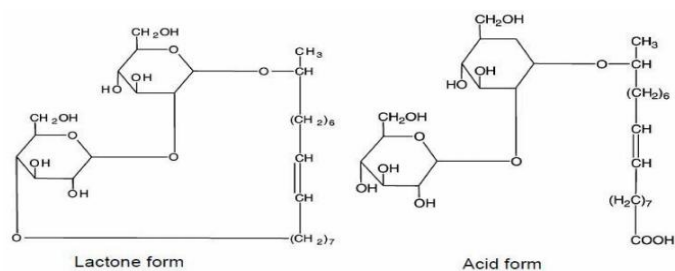
νέου τύπου γαλακτωμάτων, αύξηση αντοχής των βακτηρίων σε βαρέα μέταλλα).

- ❖ **Λιποπεπτίδια/ λιποπρωτεΐνες** (ενίσχυση βιοαποικοδόμησης H/C και χλωριωμένων φυτοφαρμάκων, ενίσχυση ανάκτησης πετρελαίου).
- ❖ **Πολυμερικές επιφανειοδραστικές ενώσεις** (σταθεροποίηση H/C σε γαλακτώματα νερού).
- ❖ **Σωματιδιακές επιφανειοδραστικές**

Στις εικόνες 21 και 22 παρουσιάζονται οι χαρακτηριστικές δομές τριών λιπιδίων, που υπάγονται στην κατηγορία των γλυκολιπιδίων.



Εικόνα 21: Χαρακτηριστική δομή του δι-ραμνολιπιδίου που ανήκει στην κατηγορία των γλυκολιπιδίων (πηγή: Πανεπιστήμιο Πατρών/Τμήμα Χημικών Μηχανικών)



Εικόνα 22: Χαρακτηριστική δομή των σοφορολιπιδίων λακτονικής (αριστερά) και όξινης μορφής (δεξιά) που ανήκουν στην κατηγορία των γλυκολιπιδίων (πηγή: Πανεπιστήμιο Πατρών/Τμήμα Χημικών Μηχανικών)

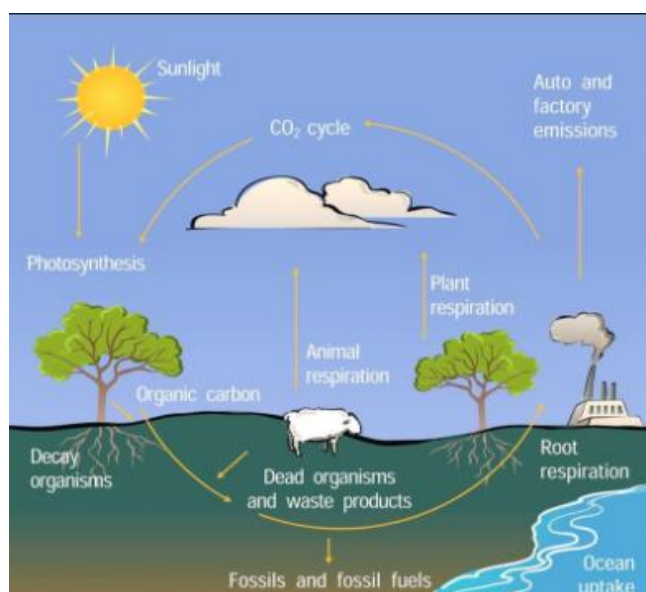
Στο σημείο αυτό, αξίζει να σημειωθεί πως τα χαμηλού μοριακού βάρους μόρια όπως, γλυκολιπίδια, λιποπεπτίδια και φωσφολιπίδια, δρουν αποτελεσματικότερα στη μείωση της επιφανειακής τάσης, ενώ τα βαρύτερα

πολυμερή όπως, αμφιπαθείς πολυσακχαρίτες, πρωτεΐνες, λιποπολυσακχαρίτες, λιποπρωτεΐνες, είναι αποδοτικότερα ως γαλακτοματοποιητές-σταθεροποιητές (Rosenberg & Ron, 1999; Calvo et al, 2009).

1.3 Μικροοργανισμοί^{[5],[13],[14]}

Οι μηχανισμοί με τους οποίους οι μικροοργανισμοί έρχονται σε επαφή με τους υδρογονάνθρακες είναι τρεις και είναι οι ακόλουθοι:

1. **Πρόσληψη** των διαλυμένων υδρογονανθράκων στην υδατική φάση (αφορά κυρίως υδρογονάνθρακες μικρής αλυσίδας).
2. **Άμεση επαφή** με τα σταγονίδια ή τις επιφάνειες της αδιάλυτης φάσης.
3. **Άμεση αλληλεπίδραση** με υδρογονάνθρακες, οι οποίοι έχουν υποστεί διάλυση ύστερα από την εφαρμογή τασιενεργών ουσιών.



Εικόνα 23: Ο κύκλος του άνθρακα (πηγή: University of New Hampshire/ Readings from Natural Resources Stewards Class)

Οι υδρογονάνθρακες ως μέρος του κύκλου του άνθρακα, που σχηματικά απεικονίζεται στην Εικόνα 23, υπάρχουν στη φύση εδώ και χρόνια, όμως οι μικροοργανισμοί που μπορούν να τους διασπάσουν παρουσιάζονται σε χαμηλή αφθονία. Αν και οι ποσότητες πετρελαίου που απελευθερώνονται στη θάλασσα

μπορούν να έχουν καταστροφικές συνέπειες για το θαλάσσιο οικοσύστημα και το περιβάλλον γενικότερα, ταυτόχρονα συντελούν στην ανάπτυξη αποικιών από μικροοργανισμούς που μπορούν να τις αποικοδομήσουν (Harayama et al., 2004).

Οι μικροοργανισμοί που “τρώνε” υδρογονάνθρακες έχουν ευέλικτο μεταβολισμό και οι υδρογονάνθρακες (που περιέχονται και στο πετρέλαιο) δεν είναι πάντα η πρώτη πηγή άνθρακα που θα προτιμήσουν (Harayama et al., 2004; amrgesin et al., 2003). Ωστόσο, υπάρχει μια τάξη βακτηρίων που έχει παρατηρηθεί πως χρησιμοποιεί υδρογονάνθρακες ως βασικό υπόστρωμα και ανήκουν στην κατηγορία OHBC (obligate hydrocarbonoclastic bacteria) (Harayama et al., 2004; Head et al., 2006; Yakimov et al., 2007). Αποτελούν “βασικούς παίκτες” σε περιπτώσεις αποκατάστασης θαλάσσιων περιοχών από πετρελαιοκηλίδες. Το βασικό πρόβλημα που προκύπτει με τους εν λόγω μικροοργανισμούς έγκειται στο ότι δεν μπορούν εύκολα να ανακτηθούν με τις κλασσικές μεθόδους καλλιέργειας. Έχουν γίνει εκτενείς μελέτες τα τελευταία χρόνια, με μοριακές τεχνικές όπως η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR), σε συνδυασμό με μεθόδους που δημιουργούν “δακτυλικά αποτυπώματα”, όπως η ηλεκτροφόρηση σε πηκτή με βαθμίδωση αποδιατακτικών ουσιών (DGGE, Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) (Muyzer et al., 1993). Τα αποτελέσματα επέφεραν ικανοποιητικό χαρακτηρισμό και απομόνωση βακτηρίων που αποικοδομούν υδρογονάνθρακες και συνήθως ανήκουν στα γένη, “Alcnivorax”, “Cycloclasticus”, “Marinobacter”, “Thalassolituus”, “Neptunomonas”, “Oleiphilus” και “Oleispira”, μεταξύ των γ-*Proteobacteria* και “Planococcus” μεταξύ των Gram-θετικών βακτηρίων (Harayama et al., 2004; Head et al., 2006; Yakimov et al., 2007). Μεταξύ αυτών, χαρακτηριστικότεροι αντιπρόσωποι των OHBC είναι τα γένη “Alcnivorax”, “Cycloclasticus”, “Marinobacter”, “Thalassolituus” και “Oleispira”, λόγω της παγκόσμιας διανομής τους και του γεγονότος ότι έχουν διερευνηθεί σε μεγάλο βαθμό όσον αφορά την αποικοδόμηση υδρογονανθράκων (Yakimov et al., 2007).

Γενικά, η ακολουθία βιοδιάσπασης υδρογονανθράκων από μικροοργανισμούς είναι: ν-αλκάνια → διακλαδισμένα → χαμηλού μοριακού βάρους αρωματικά → κυκλικά αλκάνια. Ωστόσο, αυτό το πρότυπο δεν ακολουθείται πάντα και επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από την ετερογένεια σύνθεσης των διαφόρων

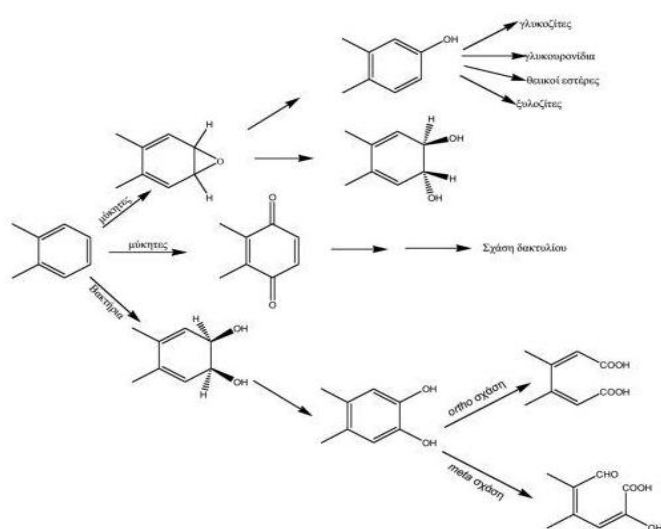
πετρελαίων και πετρελαϊκών προϊόντων, με τις ρητίνες και τα ασφαλτένια να παρουσιάζονται ως τις πλέον ανθεκτικότερες ενώσεις.

Όσον αφορά τα αλκάνια, η αποικοδόμησή τους υποκινείται από αλκανο-υδροξυλάσες, οι οποίες εισάγουν άτομα οξυγόνου προερχόμενα από μοριακό οξυγόνο, εντός του αλκανοϋλικού υποστρώματος μετατρέποντας τα αλκάνια σε αλκανόλες. Σύμφωνα με τους van Beilen και Funhoff (2007) ανάλογα με το μήκος της αλυσίδας, υπάρχουν τρία είδη αλκανο-υδροξυλάσεων που δρουν. Στις μικρού μήκους αλκανικές αλυσίδες (από 2 έως 4 άτομα άνθρακα) έχουμε ως ένζυμα τις μονοοξυγενάσες μεθανίου (methane monooxygenase-like enzymes). Οι αλυσίδες μεσαίου μήκους (από 5 έως 16 άτομα άνθρακα) οξυγονώνονται από ενσωματωμένες μη-αιμερείς μονοοξυγενάσες σιδήρου, που συνδέονται με την *Pseudomonas putida* GPoI AlkB αλκανική υδροξυλάση (integral membrane non-heme iron monooxygenases, related to the well-characterized *Pseudomonas putida* GPoI AlkB alkane hydroxylase) ή με μονοοξυγενάσες του κυτοχρώματος P450 (cytochrome P450 monooxygenases). Τέλος, στις μεγάλες αλυσίδες (από 17 άτομα άνθρακα και άνω) δρουν άλλοι τύποι αλκανικών υδροξυλάσεων για τις οποίες πρόσφατα έχουν ξεκινήσει έρευνες που αφορούν τον ακριβή χαρακτηρισμό τους (van Beilen και Funhoff 2007).

Συνεχίζοντας με τους αρωματικούς υδρογονάνθρακες, αν και γενικά είναι αρκετά ανθεκτικοί, μπορούν να μεταβολιστούν από συγκεκριμένους μικροοργανισμούς. Οι μικροοργανισμοί αυτοί, διαθέτουν τα κατάλληλα γονίδια που κωδικοποιούν τα αρχικά ένζυμα μονο- και δυοοξυγενάσες, τα οποία καταλύουν τις αντιδράσεις υδροξυλίωσης και ενεργοποιούνται οι αρωματικοί δακτύλιοι με την προσθήκη ατόμων μοριακού οξυγόνου σε ένα ή περισσότερα άτομα άνθρακα. Τα κυκλικά αρωματικά προϊόντα που περιέχουν δύο υδροξυλικούς υποκαταστάτες σε γειτονικά άτομα άνθρακα του δακτυλίου, στη συνέχεια μετατρέπονται σε μη κυκλικά προϊόντα με διοξυγενάσες διάσπασης δακτυλίου (ring-cleavage dioxygenases) που δεσμεύουν τον δεσμό C-C είτε μεταξύ του υδροξυλιωμένου άνθρακα (ορθο-διάσπαση) είτε μεταξύ ενός υδροξυλιωμένου και μη υδροξυλιωμένου άνθρακα (μετα-διάσπαση). Τα μονοπάτια αποικοδόμησης ποικίλων αρωματικών ενώσεων, συχνά συγκλίνουν με τη διοχέτευση ενδιάμεσων

προϊόντων προς την παραγωγή κοινών υδροξυλιωμένων υποστρωμάτων διάσπασης δακτυλίου (hydroxylated ring-cleavage substrate) όπως οι (μεθυλο)κατεχόλες^[5]. Μετά τις επακόλουθες αντιδράσεις διάσπασης του δακτυλίου, προκύπτουν προϊόντα όπως, οξικό άλας, (acerate), πυροσταφυλικό οξύ (pyruvate) και το ηλεκτρικό οξύ (succinate) που είτε εισέρχονται στον τρικαρβοξυλικού οξέος (κύκλος Krebs) είτε χρησιμοποιούνται για βιοσύνθεση (Haddock, 2010).

Στην Εικόνα 24, παρουσιάζεται η μεταβολική πορεία αποδόμησης πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων από βακτήρια και μύκητες.



Εικόνα 24: Γενική μεταβολική πορεία αποδόμησης πολυκυκλικών αρωματικών υδρογονανθράκων από βακτήρια και μύκητες (πηγή: Cernilia C.E. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons, Biodegradation 3, 351-368, 1992)

Κλείνοντας, αξίζει να αναφερθούμε σε μια μελέτη του Yakimov et al., 2007 σύμφωνα με την οποία, η εισροή πετρελαίου σε θαλάσσιες εκτάσεις, έχει ως αποτέλεσμα αύξηση της πληθυσμιακή πυκνότητας των OHBC (obligate hydrocarbonoclastic bacteria) σε ποσοστό μέχρι και 90% του συνολικού μικροβιακού πληθυσμού. Μεταξύ αυτών, ιδιαίτερο ρόλο παίζουν τα γένη “Alcinivorax borkumensis”, “Thalassolituus oleivorans” και “Cycloclasticus spp.”, εξαιτίας της παγκόσμιας ανευρεσιμότητάς τους και της ιδιότητάς τους να αποικοδομούν

αντίστοιχα αλκάνια και αρωματικές ενώσεις. Συμπερασματικά, οι μικροοργανισμοί αυτοί θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως αξιόπιστοι βιοδείκτες για την παρακολούθηση της ηλικίας και του τύπου μόλυνσης που σημειώνεται στα εκάστοτε θαλάσσια περιβάλλοντα, μέσω της παρακολούθησης των γονιδίων τους που ελέγχουν την αποικοδόμηση.

Κεφάλαιο 2: Υλικά και μέθοδοι

Στην παρούσα εργασία, μελετήθηκε η αποικοδόμηση βαρέως κλάσματος πετρελαίου σε ίζημα, με χρήση μικροοργανισμών που αποδομούν υδρογονάνθρακες. Συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκαν αυτόχθονες μικροοργανισμοί από την παραλία του Αγίου Ονούφριου και μικροοργανισμοί που έχουν απομονωθεί από ίζημα λίμνης στην Τυνησία. Εξετάστηκαν δύο σενάρια, τα οποία περιλάμβαναν την προσθήκη ή μη βιοεπιφανειοδραστικών ουσιών.

2.1 Υλικά-Παρασκευή Δειγμάτων

Το πετρελαϊκό κλάσμα που χρησιμοποιήθηκε, είναι προϊόν διυλιστηρίου και αποτελείται κατά βάρος από κορεσμένους υδρογονάνθρακες, αρωματικούς υδρογονάνθρακες και πολικές ενώσεις σε ποσοστά 57,8%, 31,2% και 10,9% αντίστοιχα. Σε κάθε δείγμα προστέθηκαν **0,1 g** πετρελαϊκού κλάσματος σε 15 ml νερού, προκειμένου η αναλογία πετρελαίου σε νερό να είναι 0,7% κ.β.

Πραγματοποιήθηκαν δύο σειρές πειραμάτων. Στην πρώτη σειρά παρασκευάστηκαν πέντε διαφορετικά δείγματα σε τρεις επαναλήψεις, τα οποία αφέθηκαν για χρονικά διαστήματα 0, 60, 180 και 270 ημερών, σε τράπεζα ανάδευσης (100 rpm), προκειμένου να προσομοιάζονται οι συνθήκες κυματισμού που επικρατούν στο θαλάσσιο περιβάλλον. Η τασιενεργή ουσία που χρησιμοποιήθηκε στο συγκεκριμένο πείραμα είναι μείγμα λιπιδίων παραγμένο από μικροοργανισμούς χρησιμοποιώντας ως πηγή άνθρακα ηλιέλαιο.

Επίσης, σε μία προσπάθεια δημιουργίας πιο αντιπροσωπευτικών συνθηκών, μελετήθηκε και δεύτερη σειρά δειγμάτων, όμοια με τα παραπάνω αλλά με την προσθήκη άμμου από τον Άγιο Ονούφριο (αυτόχθονες μικροοργανισμοί) και χρήση διαφορετικής επιφανειοδραστικής ουσίας φυτικής προέλευσης (Oil begone). Τα δείγματα αυτά μελετήθηκαν για χρονικό διάστημα 0, 3 και 6 μηνών.

Συγκεκριμένα τα δείγματα που αναλύθηκαν περιγράφονται ακολούθως:.

- ❖ 3 δείγματα με αποστειρωμένο νερό και πετρέλαιο (**Control**)
- ❖ 3 δείγματα με θαλασσινό νερό από τον Αγ. Ονούφριο (περιέχει αυτόχθονες μικροοργανισμούς) και πετρέλαιο (**Sea water**)

- ❖ 3 δείγματα με αποστειρωμένο θαλασσινό νερό και μείγμα μικροοργανισμών που έχουν απομονωθεί από ίζημα λίμνης στην Τυνησία (**Sea water*-Consortia**)
- ❖ 3 δείγματα με θαλασσινό νερό και βιοτασιενεργή ουσία (**Sea water-Biosurfactants**)
- ❖ 3 δείγματα με αποστειρωμένο θαλασσινό νερό, μείγμα μικροοργανισμών που έχουν απομονωθεί από ίζημα λίμνης στην Τυνησία και βιοτασιενεργή ουσία (**Sea water*-Consortia-Biosurfactants**)

2.2 Μέθοδοι

Το πρώτο στάδιο επεξεργασίας, περιλαμβάνει εκχύλιση υγρού-υγρού (LPE) και στη συνέχεια εκχύλιση στερεής φάσης (solid phase extraction (SPE)). Η εκχύλιση νοείται σαν την διαδικασία όπου μια ουσία μεταφέρεται από μια φάση όπου βρίσκεται είτε υπό μορφή διαλύματος είτε διασποράς σε μια υγρή φάση. Με την τεχνική της εκχύλισης, επιτυγχάνεται η απομόνωση μιας ουσίας από ένα μείγμα, μέσω στενής επαφής του με ένα διαλυτικό μέσο το οποίο την διαλύει εκλεκτικά.

Στο σημείο αυτό να επισημανθεί πως, στην τελευταία σειρά δειγμάτων, τα οποία περιείχαν και άμμο, προηγήθηκε διαχωρισμός της στερεής φάσης (άμμος) και της υγρής. Στη συνέχεια, εφαρμόστηκε στο πρώτο κλάσμα η τεχνική εκχύλισης soxhlet (Soxhlet Extraction Apparatus), ενώ στο δεύτερο η εκχύλιση υγρού σε υγρή φάση.

Σε τελικό στάδιο, τα κλάσματα που προέκυψαν από την εκχύλιση στερεής φάσης, μεταφέρθηκαν σε μπουκαλάκια των 4 ml και έπειτα από κατάλληλη προετοιμασία, που περιγράφεται λεπτομερώς στο κεφάλαιο 2.2.4, αναλύθηκαν με αέρια χρωματογραφία-φασματοσκοπία μάζας (GC/MS).

2.2.1 Εκχύλιση υγρού σε υγρό (liquid to liquid extraction)

Βασική παράμετρος στην εκχύλιση υγρής φάσης είναι ο συντελεστής κατανομής (K_D) ο οποίος ορίζεται ως εξής^[20]:

$$K_D = \frac{C_{org.}}{C_{aq.}}$$

Όπου

C_{org} : η συγκέντρωση της ουσίας στην οργανική φάση

C_{aq} : η συγκέντρωση της ουσίας στην υδατική φάση

Είναι προφανές πως όσο μεγαλύτερη είναι η τιμή της σταθεράς κατανομής, τόσο καλύτερος θα είναι και ο διαχωρισμός που θα επέλθει με την εκχύλιση.

Κριτήρια επιλογής οργανικού διαλύτη:

- ❖ Μικρή μοριακή διαλυτότητα στο νερό (<10%)
- ❖ Πτητικότητα, για εύκολη απομάκρυνση μετά την εκχύλιση
- ❖ Πολικότητα και ιδιότητες δεσμού υδρογόνου, που αυξάνουν την αάκτηση του αναλύτη στην οργανική φάση
- ❖ Μεγάλη καθαρότητα, για ελαχιστοποίηση μόλυνσης του δείγματος

Στο συγκεκριμένο πείραμα ο διαλύτης που χρησιμοποιήθηκε για την εκχύλισης υγρής φάσης ήταν το διχλωρομεθάνιο (DCM), το οποίο έχει τη δυνατότητα να διαλύει τόσο τα κορεσμένα, όσο και τα αρωματικά συστατικά του πετρελαίου.

Προβλήματα που μπορεί να προκύψουν κατά την εκχύλιση υγρού σε υγρό:

- ❖ **Σχηματισμός γαλακτώματος** (Εικόνα 25): Για να αντιμετωπιστεί πρέπει το μείγμα να ανακινηθεί και στη συνέχεια να αφεθεί σε ηρεμία με ανοιχτό το καπάκι της διαχωριστική χοάνης, μέχρι το γαλάκτωμα να διασπαστεί.
- ❖ **Παρουσία υγρασίας** στην οργανική φάση, σε μορφή σταγονιδίων κολλημένων στο τζάμι της διαχωριστική χοάνης: Αντιμετωπίζεται προσθέτοντας μικρή ποσότητα χλωριούχου νατρίου (NaCl) και ανακινώντας καλά τη διαχωριστική χοάνη, μέχρι να διαλυθεί το αλάτι και να μην εμφανίζονται πλέον σταγονίδια.
- ❖ **Αμοιβαία διαλυτότητα** μεταξύ δύο φάσεων.



Εικόνα 25: Σχηματισμός γαλακτώματος κατά την εκχύλιση υγρού σε υγρό

Πειραματικός Εξοπλισμός

- Vial 30 ml
- DCM analysis
- DCM suprasolv
- Ογκομετρικός κύλινδρος 50 ml
- Διαχωριστική Χοάνη 250 ml
- Καπάκι (για τη διαχωριστική χοάνη)
- Κλάμερ
- Συσκευή VORTEX
- Σφαιρική φυάλη 250 ml
- Περιστροφικός εξατμιστήρας

- 1) Το δείγμα εκχυλίζεται τρεις φορές με ίσους όγκους διαλύτη (DCM analysis)

- 2) Στη συνέχεια εξατμίζουμε το διαλύτη σε περιστροφικό εξατμιστήρα (στους 60 °C και 90 στροφές)
- 3) Το δείγμα μεταφέρεται με DCM suprasoln σε προζυγισμένο vial και εξατμίζεται κάτω από ρεύμα αζώτου.
- 4) Τέλος, τοποθείται το δείγμα σε ξηραντήρα για 24 ώρες και ζυγίζεται.

2.2.2 Εκχύλιση Soxhlet

Η εκχύλιση soxhlet. αποτελεί μια διάταξη συνεχούς εκχύλισης (~24 ώρες), η οποία διαχωρίζει μια στερεή φάση από τα περιεχόμενα οργανικά. Στην περίπτωση μας χρησιμοποιήθηκε για να απομακρύνει τον πετρελαϊκό ρύπο από την άμμο που υπήρχε στη δεύτερη σειρά δειγμάτων (Εικόνα 26).

Σε πρώτη φάση, οι ατμοί του διαλύτη φθάνουν μέσω του πλευρικού σωλήνα στον ψυκτήρα, όπου υγροποιούνται κι εισέρχονται στο χώρο του εκχυλιστήρα soxhlet, στον οποίο υπάρχει το δείγμα, εντός του ηθμού. Όταν η στάθμη του διαλύτη φτάσει στην κορυφή, έχουμε αναρρόφηση, οπότε ο διαλύτης μαζί με την ουσία που ξέπλυνε χύνεται στη φλάσκα. Η όλη διαδικασία συνεχίζεται αυτόματα για τις επόμενες 24 ώρες περίπου, μέχρι να ξεπλυθεί όλο το πετρέλαιο που περιέχεται στην άμμο^[37].



Εικόνα 26: Διάταξη εκχύλισης soxhlet

Πειραματικός Εξοπλισμός

- Υποδοχέας δείγματος-Φυσίγγι
- Ηθμός Εκχύλισης (extraction hulsen)
- Ψυκτήρας
- Σφαιρική φυάλη 500 ml
- Θειικό Νάτριο (Sodium Sulfate) ενεργοποιημένο στους 400 °C για 4 ώρες
- DCM analysis (330 ml ανά δείγμα)
- Υαλοβάμβακας (glass wool)⁵
- Μπίλιες βρασμού (Boiling balls)
- Γυάλινη πιπέτα μιας χρήσης
- Σπάτουλα
- Τσιμπίδα
- Πουάρ

- 1) Στα δείγματα της άμμου προστίθεται ενεργοποιημένο θειικό νάτριο, προκειμένου να απομακρυνθεί η υγρασία και μεταφέρονται στον ηθμό εκχύλισης
- 2) Προσθέτουμε υαλοβάμβακα, ώστε να καλυφθεί η πάνω επιφάνεια του δείγματος.
- 3) Στη συνέχεια τοποθετούμε τον ηθμό στον υποδοχέα.
- 4) Στη σφαιρική φυάλη, προστίθενται 330 ml DCM analysis και 7-10 μπίλιες βρασμού.
- 5) Η εκχύλιση λαμβάνει χώρα στους 40 °C για 24 ώρες.

2.2.3 Εκχύλιση στερεής φάσης (solid phase extraction)

Κατά τη διεργασία αυτή, τα συστατικά της κινητής φάσης (mobile phase), διαχωρίζονται από αυτά της στατικής φάσης (stationary phase). Ως διαλύτες χρησιμοποιήθηκαν το εξάνιο C₆, για την απομάκρυνση των κορεσμένων υδρογονανθράκων και το διχλωρομεθάνιο DCM, για την απομάκρυνση των

⁵ **Υαλοβάμβακας:** είναι απαραίτητη η χρήση του, διότι αποτρέπει την αιώρηση στερεών απ' το δείγμα στο φυσίγγι, προστατεύοντας τα σωληνάκια από πιθανό φράξιμο.

αρωματικών υδρογονανθράκων, που περιέχονται στο δείγμα του πετρελαίου. Η βαρύτητα θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως κινητήριος δύναμη, αλλά η ροή μέσω των στηλών είναι εξαιρετικά αργή και πρακτικά ανεφάρμοστη. Για το λόγο αυτό, η διάταξη SPE, της Εικόνα 27, συνδέεται με αντλία κενού^[20]. Το υλικό πλήρωσης των συριγγών αποτελείται από σωματίδια πυριτικής γέλης (silica gel particles), τα οποία κατακρατούν συστατικά του πετρελαίου, όπως ασφατένια και ρητίνες.

Πειραματικός Εξοπλισμός

- Συσκευή spe
- Ογκομετρικοί κύλινδροι των 10 ml
- Φυσίγγιο πυριτίου (TPH - total petroleum hydrocarbons cartridges)
- DCM suprasolv
- C₆ suprasolv
- Αντλία κενού

- 1) Σε προζυγισμένο vial (30 ml) προστίθεται ποσότητα δείγματος (<50 mg⁶) και ξαναζυγίζουμε.
- 2) Τοποθετούμε vial (12 ml) στη συσκευή SPE.
- 3) Τοποθετούμε το φυσίγγιο στη συσκευή spe, συνδέουμε με την αντλία κενού
- 4) 2 ml εξανίου (C₆ suprasolv) χρησιμοποιούνται για το pre-conditioning της στήλης spe.
- 5) Συνεχίζουμε με προσθήκη 4 ml C₆ suprasolv, για την ανάκτηση των κορεσμένων υδρογονανθράκων.
- 6) Επαναλαμβάνουμε τη διαδικασία με 4 ml DCM suprasolv, για την ανάκτηση των αρωματικών συστατικών.
- 7) Στη συνέχεια τα δείγματα εξατμίζονται κάτω από ρεύμα αζώτου

⁶ Η ποσότητα δείγματος που θα περάσει από τις στήλες της spe πρέπει να είναι μικρότερη από 50 mg, καθώς αυτή είναι η μέγιστη χωρητικότητα των φυσιγγίων.



Εικόνα 27: Διάταξη εκχύλισης στερεής φάσης (*spe*)

2.2.4 Περιγραφή της Μεθόδου GC/MS (Αέρια Χρωματογραφία /Φασματομετρία Μάζας)

2.2.4.1 Αέρια Χρωματογραφία

Στην αέρια χρωματογραφία, ο αέριος αναλύτης μεταφέρεται μέσω της στήλης από μια αέρια κινητή φάση που ονομάζεται φέρον αέριο και μπορεί να είναι ήλιο (He), υδρογόνο (H_2), ή άζωτο (N_2) ^[15]. Στη ουσία έχουμε μια κινητή φάση (το αέριο), μια στατική φάση (συνήθως μη πτητικό υγρό και ενίοτε στερεό) και τον αναλύτη (αέριο ή πτητικό υγρό). Στη χρωματογραφία κατανομής αέριου-υγρού, στατική φάση είναι ένα μη πτητικό υγρό, συνδεδεμένο στο εσωτερικό της στήλης ή σε ένα λεπτό στερεό υλικό στήριξης, ενώ στη χρωματογραφία προσρόφησης αερίου-στερεού, ο αναλύτης προσροφάται απευθείας στα στερεά σωματίδια της στατικής φάσης^[15]. Στο συγκεκριμένο πείραμα χρησιμοποιήθηκε η χρωματογραφία προσρόφησης αέριου-στερεού. Σχηματικά, η διάταξη ενός αέριου χρωματογράφου, παρουσιάζεται στην Εικόνα 29.

Αρχικά το πτητικό υγρό ή αέριο μείγμα εισάγεται μέσω ενός ελαστικού διαφράγματος σε ένα θερμαινόμενο θάλαμο, στον οποίο εξατμίζεται απότομα. Ο ατμός παρασύρεται στη στήλη από το φέρον αέριο και οι διαχωρισμένοι αναλύτες περνούν στον ανιχνευτή, του οποίου η απόκριση παρουσιάζεται σε έναν υπολογιστή. Απαραίτητη προϋπόθεση για τη σωστή λειτουργία του συστήματος, είναι να διατηρείται η θερμοκρασία της στήλης σε υψηλά επίπεδα, προκειμένου να

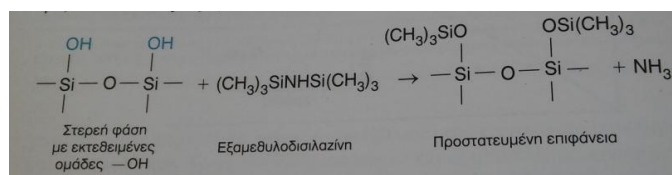
υπάρχει ικανοποιητική πίεση ατμών και οι αναλυτές να εκλούονται σε εύλογο χρόνο. Ο ανιχνευτής διατηρείται σε υψηλότερη θερμοκρασία από τη στήλη, ώστε όλοι οι αναλυτές να βρίσκονται στην αέρια φάση. Ουσιαστικά, Ο διαχωρισμός επιτυγχάνεται εξαιτίας των διαφόρων δυνάμεων συγκράτησης και έκλυσης ανάμεσα στα συστατικά του μείγματος, το υλικό πλήρωσης της στήλης και της ροής του φέροντος αερίου^[15].

Επιλογή σωληνοειδούς στήλης

Υπάρχουν δύο είδη στηλών που μπορούν να χρησιμοποιηθούν. Οι πρώτες είναι μακριές, στενές, **ανοικτές σωληνοειδείς** στήλες από τηγμένη πυριτία (SiO_2), καλυμμένες με πολυϊμίδιο (πλαστικό που αντέχει στους 350°C) για τη στήριξη και την προστασία τους από την ατμοσφαιρική υγρασία. Έχουν συνήθως διάμετρο 0,10-0,53 mm, μήκος 15-100 m (τυπική τιμή 30 m). Χρησιμοποιούνται στη συντριπτική πλειονότητα των αναλύσεων, εξαιτίας κάποιων πλεονεκτημάτων τους, που παρουσιάζονται στη συνέχεια, έναντι του δεύτερου είδους στηλών^[15].

Η δεύτερη κατηγορία είναι οι **πληρωμένες** στήλες, οι οποίες περιέχουν λεπτά σωματίδια στερεού υλικού στήριξης, καλυμμένα με μη πτητική υγρή στατική φάση ή με το ίδιο το στερεό να αποτελεί τη στατική φάση. Συνήθως κατασκευάζονται από ανοξείδωτο χάλυβα ή γυαλί, με το στερεό υλικό στήριξης να είναι συχνά πυριτία σιλιανοποιημένη⁷, ώστε να μειωθούν οι δεσμοί υδρογόνου με

⁷ **Σιλιανοποίηση:** Μερικές φορές, μικρές ποσότητες ουσίας, κατακρατούνται ισχυρότερα από τις μεγάλες ποσότητες, με αποτέλεσμα να δημιουργείται μια μεγάλη "ουρά" λόγω της συνεχούς ελάττωσης συγκέντρωσης μετά την κορυφή. Οι επιφάνειες διοξειδίου του πυριτίου των στηλών και τα σωματίδια της στατικής φάσης που έχουν ομάδες υδροξειδίου, που δημιουργούν δεσμούς υδρογόνου με τους πολικούς διαλύτες, οδηγούν σε κορυφές με μεγάλη ουρά. Με τη σιλιανοποίηση, ελαττώνεται αυτή η ουρά, καλύπτοντας τις ομάδες υδροξειδίου με μη πολικές τριμεθυλοπυριτιλο ομάδες. Οι στήλες γιαλιού και διοξειδίου του πυριτίου που χρησιμοποιούνται στην αεριοχρωματογραφία και την υγροχρωματογραφία, μπορούν επίσης να σιλιανοποιηθούν ώστε να ελαχιστοποιηθεί η αλληλεπίδραση της ουσίας με τις ενεργές θέσεις των τοιχωμάτων^[15].



Αντίδραση σιλιανοποίησης (πηγή: Ποσοτική Χημική Ανάλυση/Τόμος Β'/Daniel C. Harris/Πανεπιστημιακές εκδόσεις Κρήτης/Ηράκλειο 2010)

πολικούς διαλύτες. Για ουσίες που προσδένονται ισχυρά, χρησιμοποιείται ως υλικό στήριξης Teflon⁸, το οποίο όμως είναι κατάλληλο για θερμοκρασίες μεγαλύτερες των 200 °C. Κατά κανόνα, οι πληρωμένες στήλες, έχουν διάμετρο 3-6 mm και μήκος 1-5 m.

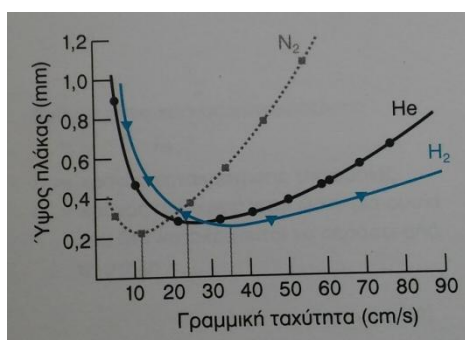
Συγκριτικά με τις πληρωμένες, οι ανοικτές υπερτερούν σε κάποια σημεία, διότι έχουν υψηλότερη διαχωριστική ικανότητα, μικρότερο χρόνο ανάλυσης και μεγαλύτερη ευαισθησία, μειονεκτούν όμως όσον αφορά τη χωρητικότητα δείγματος, η οποία είναι αρκετά μικρότερη καθώς και λόγω του ότι λειτουργούν σε μεγαλύτερες πιέσεις. Για το λόγο αυτό, οι πληρωμένες στήλες είναι προτιμότερες για παρασκευαστικούς διαχωρισμούς, οι οποίοι απαιτούν μεγαλύτερη ποσότητα στατικής φάσης και για το διαχωρισμό αερίων που δεν κατακρατούνται ισχυρά.

Επιλογή φέροντος αερίου

Οι παράγοντες που καθορίζουν την επιλογή του φέροντος αερίου είναι αρχικά, το είδος του ανιχνευτή, η επιθυμητή απόδοση καθώς και η ταχύτητα διαχωρισμού. Το πιο συνηθισμένο φέρον αέριο είναι το ήλιο (He), γιατί είναι συμβατό με την πλειονότητα των ανιχνευτών που κυκλοφορούν και επιτυγχάνει ταχύτερο διαχωρισμό συγκριτικά με τα άλλα δύο. Γενικά η βέλτιστη διαχωριστική ικανότητα μειώνεται κατά σειράν $\text{He} > \text{H}_2 > \text{N}_2$ (Εικόνα 28) ενώ η βέλτιστη ταχύτητα ροής αυξάνεται κατά σειράν $\text{N}_2 < \text{He} < \text{H}_2$ (Εικόνα 28) ^[15]. Αν και όπως βλέπουμε, ταχύτεροι διαχωρισμοί επιτυγχάνονται με χρήση υδρογόνου ως φέρον αέριο, υπάρχουν κάποια μειονεκτήματα στη χρήση του, που ιδιαίτερα στο παρελθόν, απέτρεπαν τους ερευνητές να το επιλέξουν. Αρχικά, μπορεί να αντιδράσει καταλυτικά σε μεταλλικές επιφάνειες με ακόρεστες ενώσεις και δεν μπορεί να

⁸ **Teflon**: Κοινή ονομασία του πολυτετραφθοροαιθυλενίου (συντομογραφικά PTFE), είναι ένα δυνάμει τοξικό οργανικό πολυμερές, που χρησιμοποιείται κυρίως ως επικάλυψη αντικειμένων και συστατικό πλαστικών αντικειμένων. Είναι χημικά αδρανές, αντέχει σε υψηλές θερμοκρασίες είναι ολισθηρό και άκαυστο. Εκλύει τοξικές ουσίες κυρίως όταν θερμαίνεται, ενώ το ίδιο το υλικό δεν είναι τοξικό. Επιπλέον, το πολυτετραφθοροαιθυλένιο έχει πολύ καλές διηλεκτρικές ιδιότητες και προτιμάται στην κατασκευή ηλεκτρικών κυκλωμάτων γιατί ταυτόχρονα έχει υψηλή θερμοκρασιακή αντοχή. Χρησιμοποιείται με επικάλυψη σε άλλα αντικείμενα κυρίως σε εξαρτήματα ολίσθησης, ως στεγανωτικό, αντικολλητικό σε μαγειρικά σκεύη, στα ηλεκτρονικά κυκλώματα για την κατασκευή πυκνωτών και καλωδίων και στην κατασκευή πλαστικών αντικειμένων^[30].

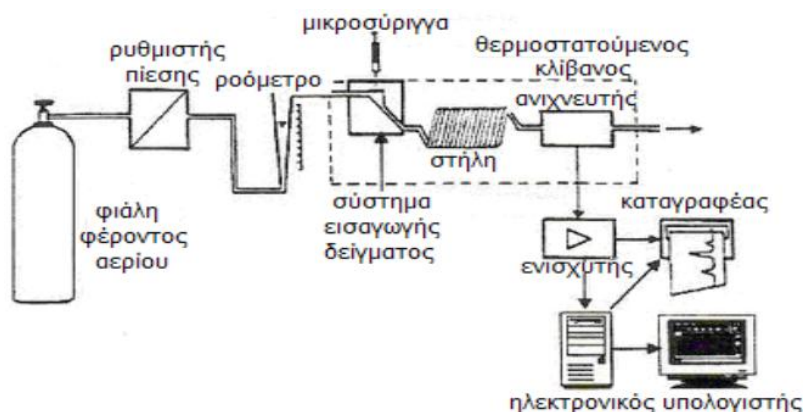
χρησιμοποιηθεί με φασματομετρικό ανιχνευτή μάζας, διότι καταστρέφει το λάδι της αντλίας κενού του ανιχνευτή. Επιπλέον, έχει την ιδιότητα να σχηματίζει εκρηκτικά μείγματα στον αέρα, αν η περιεκτικότητά του σε αυτόν ξεπερνά το 4% κ.ο. Από την άλλη, οι ταχύτητες ροής στην τριχοειδή χρωματογραφία είναι πρακτικά απίθανο να δημιουργήσουν επικίνδυνη συγκεντρωση υδρογόνου και οι ηλεκτρολυτικές γεννήτριες παράγουν υψηλής καθαρότητας υδρογόνο, εξαλείφοντας την ανάγκη χρήσης δεξαμενών συμπιεσμένου H_2 .



Εικόνα 28: Καμπύλες van Deemter αεριοχρωματογραφίας του $n-C_{17}H_{36}$ @175 °C, χρησιμοποιώντας N_2 , He και H_2 , σε στήλη διαμέτρου 0,25 m, μήκους 25 m, με επικαλυμμένα τοιχώματα με στατική φάση OV-101 (πηγή: R.R Freeman, ed., *High Resolution Gas Chromatography* (Palo Alto, CA: Hewlett Packard Co., 1981))

Άλλα μέρη της διάταξης

Στην αέρια χρωματογραφία, υπάρχει επίσης μια **προστατευτική στήλη** (προστήλη) και μια **στήλη κατακράτησης**, που είναι άδεια τριχοειδείς σωλήνες μήκους 3-10 m, οι οποίοι είναι σιλιανοποιημένοι (ώστε οι ουσίες να μην κατακρατούνται από τα τοιχώματα της πυριτίδας) και βρίσκονται πριν από την τριχοειδή χρωματογραφική στήλη. Από άποψη φυσικής, τα δύο αυτά είδη σωλήνων είναι ίδια, απλά έχουν διαφορετική χρησιμότητα. Η προστατευτική στήλη (έχει συνήθως ίδια διάμετρο με τη χρωματογραφική στήλη), αποσκοπεί τη συσσώρευση των μη πτητικών ουσιών, οι οποίες αν δεν απομακρυνθούν, μπορούν να μολύνουν τη χρωματογραφική στήλη, μειώνοντας την αποδοτικότητά της. Από την άλλη, η στήλη κατακράτησης έχει την ικανότητα να βελτιώνει το σχήμα των κορυφών υπό συγκεκριμένες συνθήκες, διαχωρίζοντας τον πτητικό διαλύτη από τις λιγότερο πτητικές διαλυμένες ουσίες, επιτρέποντας την εξάτμιση του διαλύτη προτού αυτός εισέλθει στη χρωματογραφική στήλη και επέλθει διαχωρισμός.



Εικόνα 29: Σχηματική απεικόνιση λειτουργίας του αέριου χρωματογράφου (πηγή: chimikoergastirio.blogspot.gr/2009/Αέρια Χρωματογραφία-GC)

2.2.4.2 Φασματομετρία Μάζας

Αποτελεί μια τεχνική για τη μελέτη των μαζών ατόμων, μορίων ή θραυσμάτων μορίων. Για να ληφθεί ένα φάσμα μάζας, ουσίες στην αέρια φάση, οι οποίες έχουν εκροφηθεί από μια συμπυκνωμένη φάση, ιοντίζονται, τα ιόντα επιταχύνονται μέσω ηλεκτρικού πεδίου και κατόπιν διαχωρίζονται βάση του λόγου $\frac{\text{μάζα (m)}}{\text{φορτίο (z)}}$ και καταγράφονται. Με τον τρόπο αυτό, δίνεται η δυνατότητα να προσδιοριστεί το μοριακό βάρος (MB) της ένωσης και ο τρόπος σύνδεσης των διαφόρων ομάδων μεταξύ τους. Ο χώρος όπου δημιουργούνται και επιταχύνονται τα ιόντα διατηρείται σε κατάσταση υψηλού κενού και σε συνδυασμό με τις χαμηλές θερμοκρασίες θέρμανσης, δημιουργούνται ατμοί της προς προσδιορισμό ουσίας χωρίς τη διάσπασή της, οι οποίοι οδηγούνται στο θάλαμο ιοντισμού. Ταυτόχρονα, απομακρύνονται τα μόριά της και τα ουδέτερα προϊόντα της διάσπασης από το χώρο της ανάλυσης μετά από κάθε μέτρηση. Το φάσμα μάζας, στην ουσία δείχνει την απόκριση του ανιχνευτή ως προς το λόγο $\frac{m}{z}$ και το εμβαδόν κάθε κορυφής αντιστοιχεί στην αφθονία της κάθε ουσίας.

Τα φασματόμετρα μαζών αποτελούνται από^[27]:

- ❖ **Το θάλαμο ιοντισμού**, όπου μετατρέπεται η ένωση σε ιόντα, (συνήθως κατιόντα) με απόσπαση ενός ηλεκτρονίου.
- ❖ **Τον αναλυτή μαζών**, όπου λαμβάνει χώρα ο διαχωρισμός των ιόντων με βάση το λόγο $\frac{m}{z}$.
- ❖ **Τον ανιχνευτή**

Ο αναλυτής αποτελείται από ένα σωλήνα σε σχήμα τόξου, που βρίσκεται μέσα σε ομογενές μαγνητικό πεδίο μεγάλης έντασης (3000-4000 gauss) και σε διεύθυνση κάθετη προς τις δυναμικές γραμμές του μαγνητικού πεδίου. Με δύο κυκλικές οπές (διαφράγματα μεταβλητής ακτίνας) στην αρχή και στο τέλος του σωλήνα, έτσι ώστε μέρος από τα ιόντα που δεν εστιάζονται στο κέντρο των διαφραγμάτων, να απορρίπτεται. Οι πιο διαδεδομένοι αναλυτές είναι, ο αναλυτής **τομέα**, ο **τετραπολικός** αναλυτής, η **παγίδα ιόντων** και ο αναλυτής **χρόνου πτήσης**.

Ο συνηθέστερος τρόπος ιοντισμού είναι μέσω **πρόσκρουσης με ηλεκτρόνια** (ηλεκτρονιακός ιοντισμός), όπου ηλεκτρόνια που εκπέμπονται από ένα θερμό νήμα (π.χ. νήμα λαμπτήρα φθορισμού) επιταχύνονται μέσω μιας διαφοράς δυναμικού της τάξης των 70 V, πριν αλληλεπιδράσουν με τα εισερχόμενα μόρια. Σχεδόν όλα τα σταθερά μόρια έχουν άρτιο αριθμό ηλεκτρονίων και όταν χάσουν ένα, το παραγόμενο ιόν με το ασύζευκτο ηλεκτρόνιο γράφεται ως $M^{+\bullet}$ και αποτελεί μοριακό ιόν. Οι κατιοντικές αυτές ρίζες επιταχύνονται αρχικά με ηλεκτρικό πεδίο και στη συνέχεια κινούνται μέσα στο μαγνητικό πεδίο, οπότε εκτρέπονται και διαχωρίζονται με βάση το $\frac{m}{z}$. Μετά τον ιοντισμό, το $M^{+\bullet}$ έχει συνήθως αρκετή εσωτερική ενέργεια (~ 1 eV) ώστε να διασπαστεί σε θραύσματα^[15].

Ένα μικρό θετικό δυναμικό στην πλάκα απώθησης της πηγής ιόντων, τα ωθεί προς τον σωλήνα ανάλυσης και ένα μικρό δυναμικό στην πλάκα εστίασης ιόντων παράγει μια εστιασμένη δέσμη. Το υψηλό δυναμικό (1.000-10.000 V) μεταξύ των πλακών ενίσχυσης των ιόντων, τους δίνει μεγάλη ταχύτητα καθώς αυτά εξέρχονται στο κάτω μέθος της διάταξης παραγωγής ιόντων. Η κινητική ενέργεια των

ηλεκτρονίων στα 70 eV είναι κατά πολύ μεγαλύτερη από την ενέργεια ιοντισμού των μορίων.

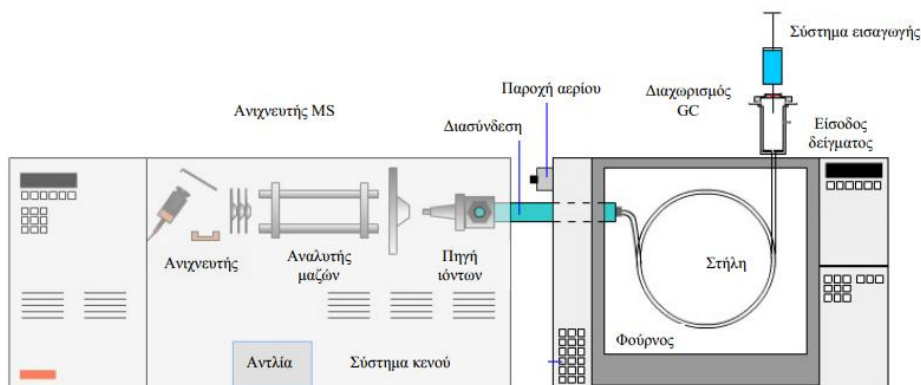
Άλλοι τρόποι σχηματισμού ιόντων περιλαμβάνουν, **χημικό ιοντισμό (CI), εφαρμογή ηλεκτρικού πεδίου (FI), βομβαρδισμό με γρήγορα ουδέτερα άτομα Xe ή Ar ή ιόντα Cs (FIB)** ^[27].

2.2.4.3 Σύζευξη αέριου χρωματογράφου με φασματόμετρο μάζας (GC/MS)

Τα φασματόμετρα μάζας, χρησιμοποιούνται ευρέως ως ανιχνευτές τη χρωματογραφία, καθώς παρέχουν τόσο ποσοτικές, όσο και ποιοτικές πληροφορίες. Το φασματόμετρο μπορεί να είναι πολύ επιλεκτικό για έναν αναλύτη και η επιλεκτικότητα αυτή μειώνει τις απαιτήσεις στην προετοιμασία του δείγματος, ή τον “τέλειο” διαχωρισμό ουσιών στο μείγμα, ενώ αυξάνει και το λόγο $\frac{\text{Σήμα}}{\text{Θόρυβος}}$.

Η λειτουργία της φασματομετρίας μάζας, προϋποθέτει υψηλό κενό ώστε να αποφεύγονται οι μοριακές συγκρούσεις κατά το διαχωρισμό των ιόντων, ενώ η χρωματογραφία είναι από τη φύση της μια τεχνική υψηλής πίεσης. Για τη επιτυχή σύζευξη των δύο αυτών τεχνικών, πρέπει να ξεπεραστεί το ζήτημα της απομάκρυνσης της τεράστιας ποσότητας ύλης που εξέρχεται από τη χρωματογραφία, πριν αυτή εισέλθει στο φασματόμετρο. Η αέρια χρωματογραφία έχει αναπτυχθεί ώστε να χρησιμοποιεί τριχοειδείς στήλες, από τις οποίες εξέρχεται μικρή σχετικά ποσότητα ύλης, που η απομάκρυνσή της δεν ξεπερνά τις αντιληπτικές ικανότητες των συστημάτων κενού των φασματομέτρων μάζας. Η ίδια αυτή τριχοειδής στήλη συνδέεται με την είσοδο του φασματομέτρου, μέσω μιας θερμαινόμενης γραμμής μεταφοράς. Στην Εικόνα 30, απεικονίζεται η διάταξη σύζευξης των δύο τεχνικών.

Για μεγαλύτερη επιλεκτικότητα της φασματομετρίας μάζας σε συγκεκριμένους αναλυτές, συχνά εφαρμόζεται η παρακολούθηση επιλεγμένου ιόντος (Selected Ion Monitoring -SIM-), κατά την οποία το φασματόμετρο μάζας έχει ρυθμιστεί να παρακολουθεί μόνο ορισμένες τιμές του λόγου $\frac{m}{z}$ (μέχρι 5 κάθε φορά). Με τον τρόπο αυτό, βελτιώνεται η ευαισθησία, μειώνοντας την απόκριση σε όλα τα υπόλοιπα ιόντα (δηλ. μειώνοντας το θόρυβο υποβάθρου) ^[15].



Εικόνα 30: Σχηματική διάταξη αέριου χρωματογράφου σε σύζευξη με φασματόμετρο μάζας (πηγή: Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης/Σχολή Θετικών Επιστημών/Τμήμα Χημείας/ Διπλωματική Εργασία της σπουδάστριας Σαχανίδου Ευφροσύνης με θέμα «Αρχαιομετρική μελέτη υπολειμμάτων οργανικών υλών σε θράυσμα γυάλινου αγγείου με αέρι χρωματογραφία σε συνδυασμό με φασματομετρία μάζας»/Θεσσαλονίκη 2013)

2.2.4.4 Προετοιμασία δειγμάτων για ανάλυση GC/MS

Πειραματικός Εξοπλισμός

- Vial 2 ml
- Σύριγγα internal standard (10 μL)
- Διάλυμα internal standard 200ppm⁹ (5 μL για κάθε δείγμα)
- Αμμόλουτρο (sandbath)
- Πουαρ
- Μείγμα DCM_{surpasolv}:C₆ suprasolv σε αναλογία 9:1

⁹ **Internal Standard:** Είναι ένα εσωτερικό πρότυπο διάλυμα τεσσάρων δευτεριωμένων (κάποια υδρογόνα (H), έχουν αντικατασταθεί με δευτέρια (²H)) επειδή τα δεύτερα συμπεριφέρονται πιο ουδέτερα στη διαδικασία ανάλυσης ενώσεων (*d₈-naphthalene*, *d₁₀-anthracene*, *d₁₂-chrysene*, *d₁₂-perylene*) όπου κάθε μία ποσοτικοποιεί διαφορετική ομάδα υδρογονανθράκων. Συγκεκριμένα το ***d₈-naphthalene*** ποσοτικοποιεί τους C10-C15 και το ναφθαλένιο το ***d₁₀-phenanthrene*** τους C16-C23, το πρυστάνιο, το φλουορένιο, το πυρένιο, το διβενζοθειοφαίνιο, το φαινανθρένιο, το ανθρακένιο και το φυτάνιο, το ***d₁₂-chrysene*** τους C24-C29, το φλουορανθένιο, το χρυζένιο και το πυρένιο και τέλος το ***d₁₂-perylene*** τους C30-C35, το βενζο(b)φλουρανθένιο, το βενζο(k)φλουρανθένιο, το βενζο(e)φλουρανθένιο, το βενζο(e)πυρένιο, το βενζο(a)πυρένιο, το ινδενο(1,2,3)πυρένιο, το διβενζο(a,h)ανθρακένιο, το βενζο(g,h,i)περυλένιο, το πυρένιο, το περυλενιο και το χοπάνιο. Τα 5 μL προτύπου συγκέντρωσης 200 ppm που προσθέσαμε στο 1mL δείγματος, ισοδυναμούν με συγκέντρωση 1ppm των επιμέρους δευτεριομένων στο 1mL δείγματος.

- 1) Ζυγίζεται καθαρό vial των 2 ml και το τοποθετείται στη βάση στήριξης και μεταφέρουμε τα δείγματα της εκχύλισης.
- 2) Στη συνέχεια, εξατμίζουμε το μείγμα διαλυτών κάτω από ρεύμα αζώτου, το αφήνουμε στον ξηραντήρα για 24 ώρες και ζυγίζουμε.
- 3) Προσθέτουμε με ρυθμιζόμενη πιπέτα 1ml από το μείγμα των διαλυτών και 5 μL internal standard (200ppm).
- 4) Τα δείγματα θερμαίνονται σε αμμόλουτρο για 20 λεπτά στους 50 °C, και αφήνονται να έρθουν σε θερμοκρασία δωματίου.
- 5) Τα δείγματα αναλύονται στο GC/MS.

Χρήση Χοπανίου ως διορθωτικός παράγοντας

Για να προσδιοριστούν οι μεταβολές στις συγκεντρώσεις των διαφόρων συστατικών που οφείλονται σε βιολογικούς παράγοντες (αποικοδόμηση από μικροοργανισμούς) και όχι σε φυσικοχημικούς (εξάτμιση, οξείδωση κ.ά.), είναι απαραίτητο τα αποτελέσματα να κανονικοποιηθούν με έναν μη-βιοδιασπάσιμο δείκτη (C2-ή C3φθενανθρένιο, C2-χρυσένιο, ή χοπάνιο). Στο συγκεκριμένο πείραμα χρησιμοποιήθηκε το χοπάνιο (17a21b_hopane).

Πιο αναλυτικά, τα αποτελέσματα από την διόρθωση των χρωματογραφημάτων, (οι συγκεντρώσεις των στοιχείων) εισάγονται στο excel, διαιρούνται (μονάδες ppm -parts per million-) με τις ποσότητες των εκχυλισμάτων από κάθε δείγμα (extracts), ώστε να ανάγουμε τις συγκεντρώσεις αυτές στην ποσότητα του δείγματος που έχουμε. Προκύπτει συγκέντρωση σε $\frac{\text{ppm}}{\text{gr extract}}$ και οι τιμές αυτές διαιρούνται με τη συγκέντρωση του χοπανίου (17a21b_hopane), για να προκύψει τελικά $\frac{\frac{\text{ppm}}{\text{gr extract}}}{\frac{\text{ppm hopane}}{\text{gr extract}}}$.

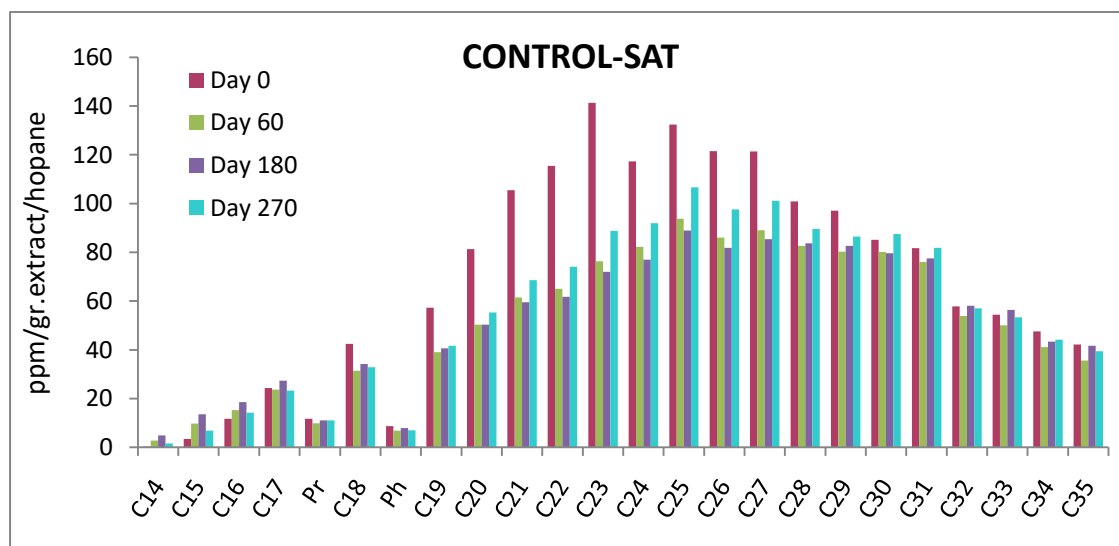
Κεφάλαιο 3: Αποτελέσματα

3.1 Βιοαποδόμηση βαρέως κλάσματος πετρελαίου σε ίζημα (χωρίς άμμο)

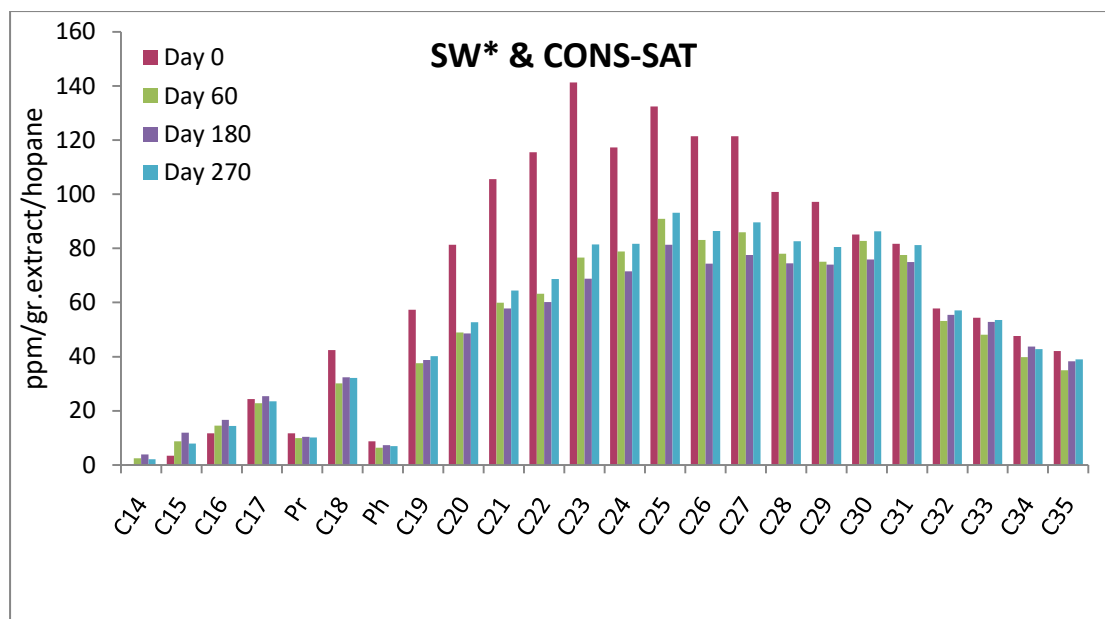
Όπως προκύπτει και από τα επόμενα διαγράμματα, η πρώτη σειρά πειραμάτων που αφορούσε τα δείγματα χωρίς άμμο δεν είχε κάποιο αξιοσημείωτο αποτέλεσμα. Η έλλειψη αποτελεσματικότητας μπορεί να δικαιολογηθεί, αν λάβουμε υπόψιν πως στην πρώτη σειρά δειγμάτων, το βαρύ κλάσμα πετρελαίου ήταν προσκολλημένο στα φιαλίδια, με αποτέλεσμα η βιοδιαθεσιμότητά του στους μικροοργανισμούς να είναι αρκετά μικρή. Από την άλλη, στα δείγματα με άμμο, προηγήθηκε ανάμειξη του κλάσματος με την άμμο, κάνοντας έτσι μεγαλύτερη τόσο τη διαλυτοποίηση, όσο και τη διαθέσιμη επιφάνεια δράσης των μικροοργανισμών.

3.1.1 Κορεσμένοι Υδρογονάνθρακες

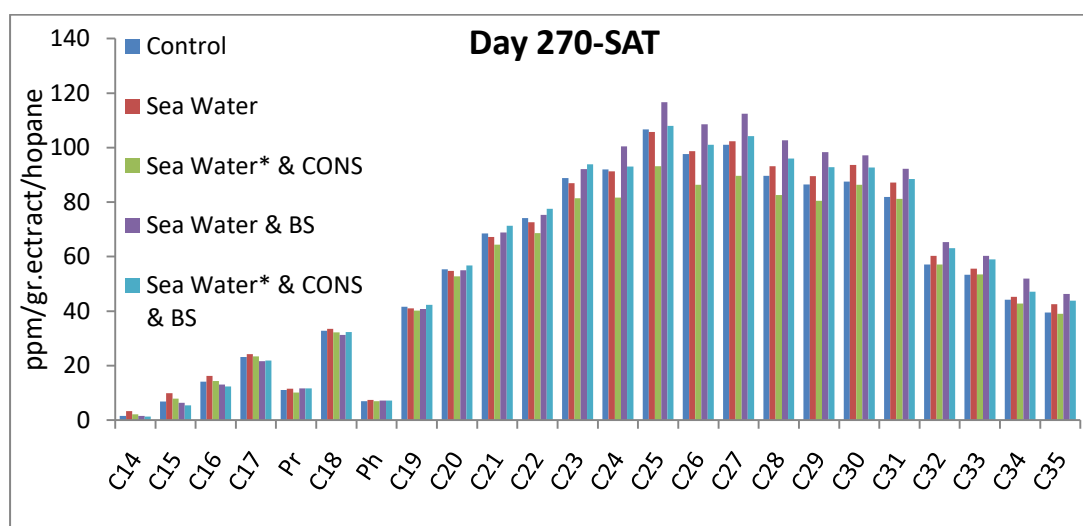
Η ποσότητα των κορεσμένων υδρογονανθράκων παρέμεινε σχεδόν σταθερή με ελάχιστες διακυμάνσεις, μετά το πρώτο δίμηνο, όπου παρατηρήθηκε η πρώτη μείωση συγκεντρώσεων σε ορισμένα μόνο συστατικά. Ενδεικτικά παρουσιάζονται τα Διάγραμμα 1 και Διάγραμμα 2, που αντιστοιχούν στα δείγματα: **control** (αποστειρωμένο νερό) και **sea water & cons** (αποστειρωμένο νερό και μείγμα μικροοργανισμών που απομονώθηκε από ίζημα λίμνης στην Τυνησία).



Διάγραμμα 1: Αποικοδόμηση κορεσμένων υδρογονανθράκων του δείγματος Control (1^η σειρά πειραμάτων)



Διάγραμμα 2: Αποικοδόμηση κορεσμένων υδρογονανθράκων του δείγματος Sea Water & Consortia (1^η σειρά πειραμάτων)



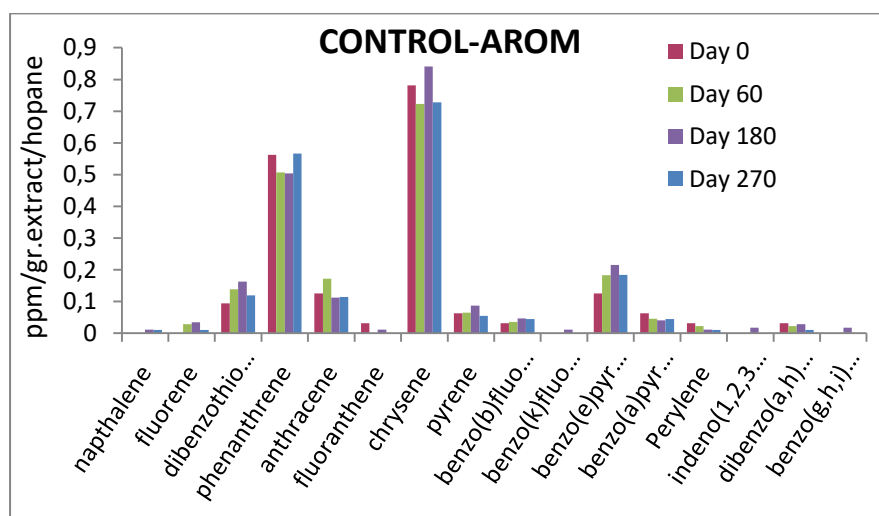
Διάγραμμα 3: Σύγκριση όλων το σεναρίων για την αποδόμηση των κορεσμένων υδρογονανθράκων, σε διάστημα 270 ημερών (1^η σειρά πειραμάτων)

Στο Διάγραμμα 3, παρουσιάζονται τα αποτελέσματα όλων των σεναρίων που εξετάστηκαν για το μήνα 9. Με εξαίρεση το δείγμα sea water* & consortia (αποστειρωμένο νερό και μικροοργανισμοί που απομονώθηκαν από ίζημα λίμνης στην Τυνησία), το οποίο φαίνεται λίγο αποτελεσματικότερο όσο αφορά τους υδρογονάνθρακες C21-C29, δεν βλέπουμε κάποιο σημαντικό βαθμό αποικοδόμησης.

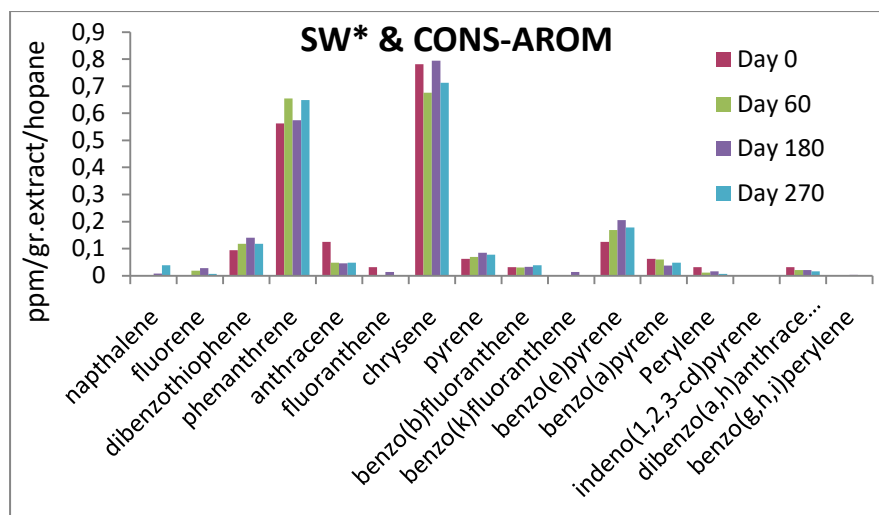
3.1.2 Αρωματικοί Υδρογονάνθρακες

Όσον αφορά στους αρωματικούς υδρογονάνθρακες, φαίνεται πως δεν έλαβε χώρα καθόλου αποικοδόμηση. Το γεγονός αυτό δικαιολογείται όπως αναφέραμε και παραπάνω, λόγω της μικρής βιοδιαθεσιμότητάς του ρύπου στους μικροοργανισμούς, σε συνδυασμό με την ούτως ή άλλως δύσκολη και χρονοβόρα διαδικασία αποικοδόμησης των αρωματικών συστατικών. Ενδεικτικά παρουσιάζονται τα Διάγραμμα 4 και Διάγραμμα 5, που αντιστοιχούν στα δείγματα: **control** (αποστειρωμένο νερό) και **sea water* & cons** (αποστειρωμένο νερό και μικροοργανισμοί που απομονώθηκαν από ίζημα λίμνης στην Τυνησία).

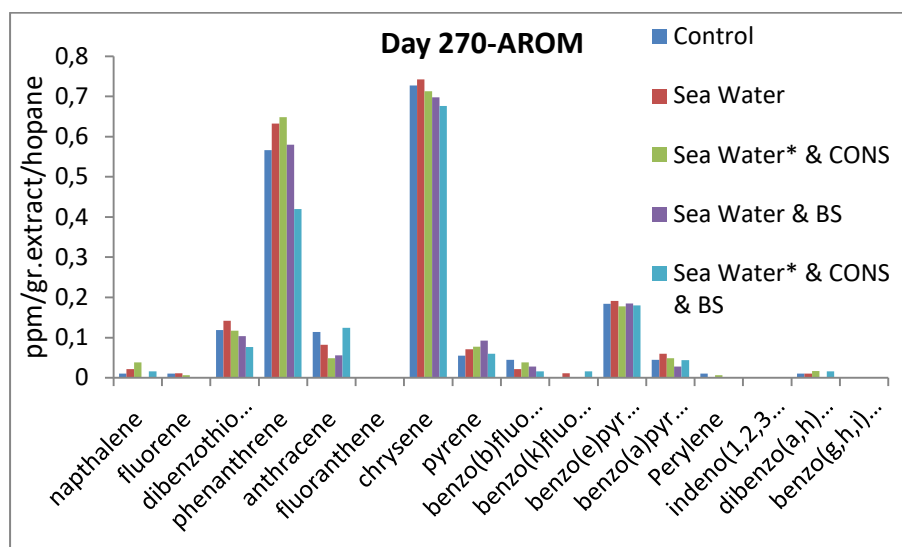
Στο σημείο αυτό να σημειωθεί, πως οι μικρές διακυμάνσεις που παρατηρούνται μεταξύ των διαφορετικών χρονικών περιόδων, οφείλονται ενδεχομένως σε σφάλμα κατά την ποσοτικοποίηση, καθώς οι συγκεντρώσεις των αρωματικών ήταν εξ' αρχής πολύ χαμηλές.



Διάγραμμα 4: Αποικοδόμηση αρωματικών υδρογονανθράκων του δείγματος Control (1^η σειρά πειραμάτων)



Διάγραμμα 5: Αποικοδόμηση αρωματικών υδρογονανθράκων του δείγματος Sea water & Consortia (1^η σειρά πειραμάτων)



Διάγραμμα 6: Σύγκριση όλων των σεναρίων για την αποδόμηση των αρωματικών υδρογονανθράκων, σε διάστημα 270 ημερών (1^η σειρά πειραμάτων)

Παρατηρώντας το Διάγραμμα 6, όπου γίνεται σύγκριση όλων των σεναρίων που εξετάστηκαν κατά τον ένατο μήνα, καταλήγουμε στο ότι κανένα δεν ξεχωρίζει όσον αφορά στη συνολική αποτελεσματικότητά του. Το δείγμα με τους μικροοργανισμούς από την Τυνησία μαζί με βιοτασιενεργές ουσίες, φαίνεται να έχει αποικοδομήσει μικρό ποσοστό από κάποια συστατικά, ωστόσο υπάρχει μια επιφύλαξη, καθώς όπως προαναφέρθηκε, λόγω των πολύ χαμηλών συγκεντρώσεων, ενδέχεται να υπάρχει σφάλμα στην ποσοτικοποίηση.

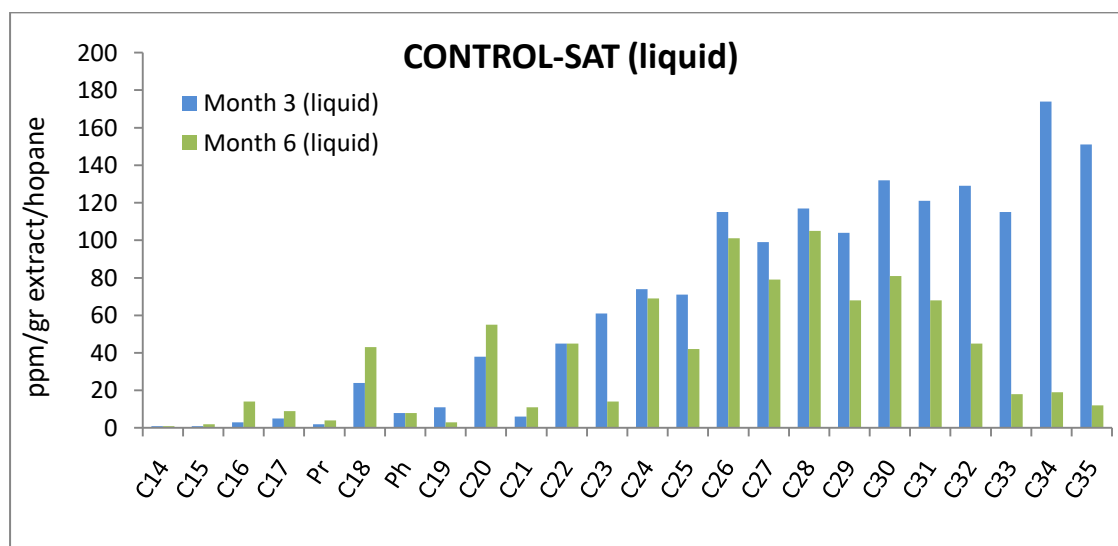
3.2 Βιοαποδόμηση βαρέως κλάσματος πετρελαίου σε ίζημα (με άμμο)

Στα αποτελέσματα της δεύτερης σειράς πειραμάτων παρατηρείται μεγάλο ποσοστό μείωσης, κυρίως των κορεσμένων υδρογονανθράκων. Πρέπει να σημειωθεί πως εξετάστηκαν χωριστά η υδατική φάση και η φάση της άμμου.

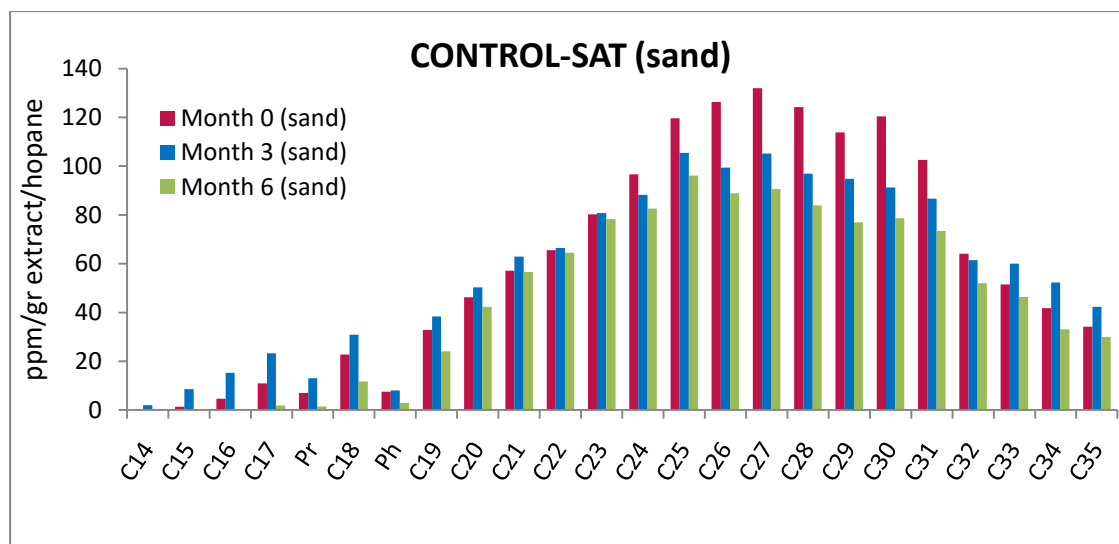
3.2.1 Κορεσμένοι υδρογονάνθρακες

Στο σημείο αυτό θα παρουσιαστούν τα αποτελέσματα που αφορούν τους κορεσμένους υδρογονάνθρακες της δεύτερης σειράς πειραμάτων, για τις δύο φάσεις (υγρή φάση και φάση άμμου).

Στα διαγράμματα που αφορούσαν τα δείγματα της υδατικής φάσης, στο χρόνο μηδέν (Month 0) θεωρήσαμε μηδενική συγκέντρωση υδρογονανθράκων στο νερό, καθώς δεν έχουν προλάβει να διαλυθούν από το ίζημα της άμμου. Επίσης, πρέπει να επισημανθεί πως μετά το πέρας των έξι μηνών, σε δύο δείγματα, είχε εξατμιστεί η υγρή φάση, με αποτέλεσμα να μην έχουμε αντιστοιχία υγρής με στερεή φάση.



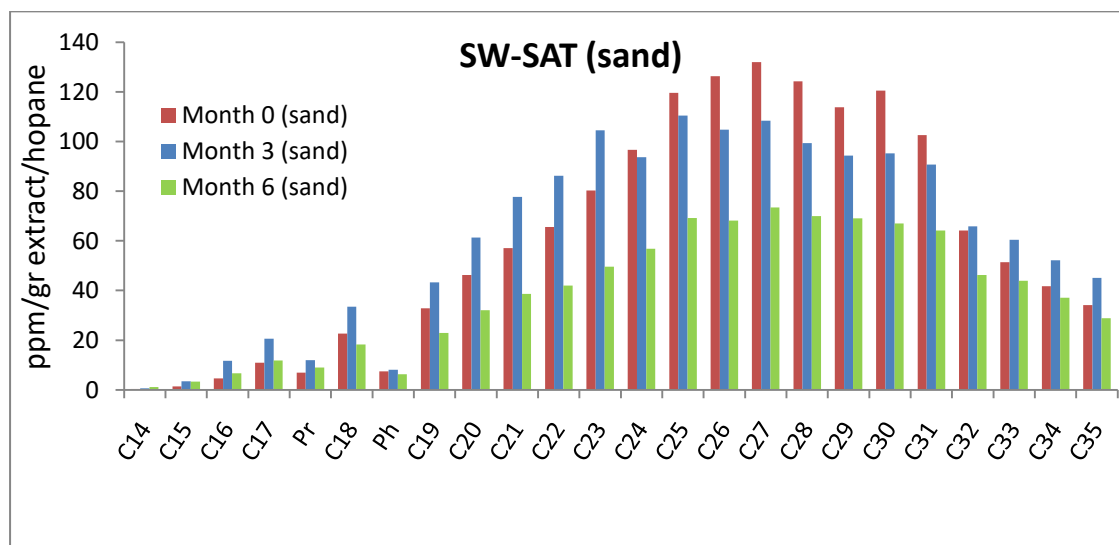
Διάγραμμα 7: Αποικοδόμηση κορεσμένων υδρογονανθράκων της υγρής φάσης του δείγματος Control (2^η σειρά πειραμάτων)



Διάγραμμα 8: Αποικοδόμηση κορεσμένων υδρογονανθράκων της φάσης άμμου του δείγματος Control (2^η σειρά πειραμάτων)

Στο Διάγραμμα 7, απεικονίζεται η πρόοδος του δείγματος με αποστειρωμένο νερό και πετρέλαιο, όσον αφορά στην υδατική φάση (**Control-liquid**). Όμοια με το αντίστοιχο γράφημα της στερεής φάσης του ίδιου δείγματος (Διάγραμμα 8), βλέπουμε πως έχει αποικοδομηθεί ένα μικρό ποσοστό υδρογονανθράκων. Η αποικοδόμηση αυτή, ενδεχομένως οφείλεται στο ότι μετά το πέρας κάποιων ημερών, υπήρξε κάποια επιμόλυνση και επομένως αναπτύχθηκαν μικροοργανισμοί, οι οποίοι χρησιμοποίησαν σαν πηγή άνθρακα τους υδρογονάνθρακες του πετρελαίου.

Αναφορικά με την υδατική φάση, η αύξηση που βλέπουμε τον τρίτο μήνα είναι φυσιολογική, καθώς υποδηλώνει πως υπήρξε διάλυση πετρελαίου, από την άμμο, στο νερό και έπειτα ακολούθησε αποικοδόμηση της διαλυμένης αυτής ποσότητας. Τέλος, η μικρή αύξηση που παρατηρείται στις ελαφρύτερες σχετικά ενώσεις (από 20 άτομα άνθρακα και κάτω) και στις δύο φάσεις, πιθανώς προέκυψε από την αποικοδόμηση βαρύτερων υδρογονανθράκων, οι οποίοι σε πρώτο στάδιο διασπάστηκαν σε ελαφρύτερους και στη συνέχεια καταναλώθηκαν από τους μικροοργανισμούς. Εναλλακτικά, στη φάση της άμμου, στις περιπτώσεις που η αύξηση σε σχέση με το μήνα μηδέν είναι πολύ μικρή, μπορεί να οφείλεται σε σφάλμα κατά την ποσοτικοποίηση των ενώσεων.

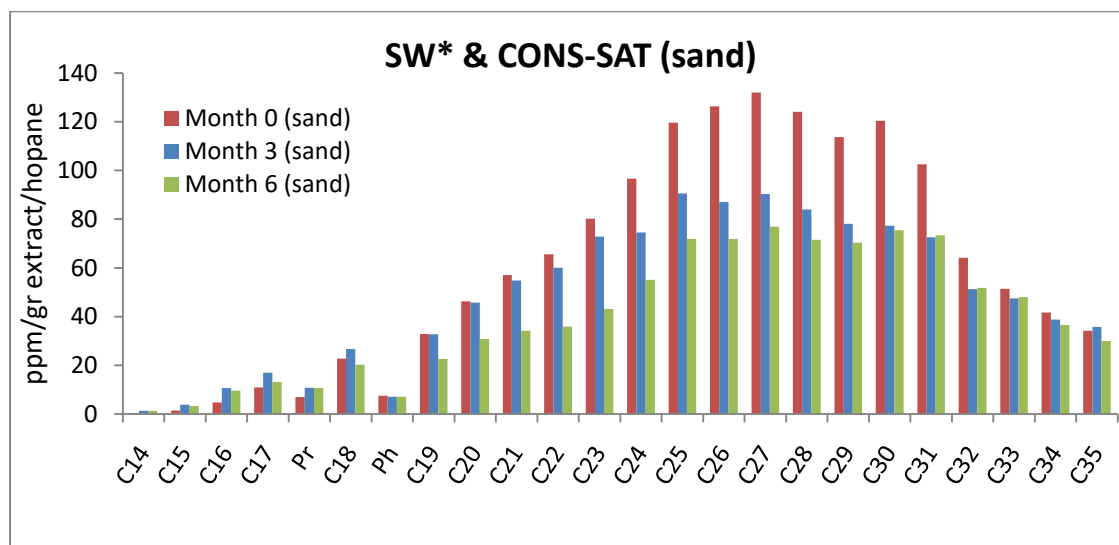


Διάγραμμα 9: Αποικοδόμηση κορεσμένων υδρογονανθράκων της φάσης άμμου του δείγματος Sea water (2^η σειρά πειραμάτων)

Το Διάγραμμα 9 αντιστοιχεί στη φάση άμμου του δείγματος που περιείχε θαλασσινό νερό από τον Άγιο Ονούφριο, με τους αυτόχθονες μικροοργανισμούς του (**sea water-sand**). Όπως βλέπουμε, παρατηρείται μείωση των κορεσμένων υδρογονανθράκων, ενώ η αύξηση που παρατηρείται στις ενώσεις C16-C23 θα μπορούσε όμοια με πριν, να εξηγηθεί από τη διάσπαση βαρύτερων, οι οποίες στη συνέχεια εν μέρει καταναλώθηκαν. Το νερό του δείγματος είχε εξατμιστεί τον έκτο μήνα, επομένως δεν έχουμε το αντίστοιχο διάγραμμα αποτελεσμάτων της υγρής φάσης.

Η πρόοδος του δείγματος που περιείχε αποστειρωμένο θαλασσινό νερό από τον Άγιο Ονούφριο, μαζί με μικροοργανισμούς που απομονώθηκαν από ίζημα λίμνης στην Τυνησία (sea water* & consortia-sand), φαίνεται στο Διάγραμμα 10 και βλέπουμε πως είναι παρόμοια, με το δείγμα που περιείχε τους αυτόχθονες μικροοργανισμούς (Διάγραμμα 9). Ωστόσο, παρατηρούμε πως το μεγαλύτερο μέρος της αποικοδόμησης των συστατικών έλαβε χώρα εντός του πρώτου τριμήνου, ενώ στη συνέχεια ο ρυθμός της μειώθηκε. Αναφορικά με τα βαρύτερα συστατικά (C29-

C35), αυτά αποικοδομήθηκαν εντός του πρώτου τριμήνου, στη συνέχεια όμως έμειναν σχεδόν σταθερά.

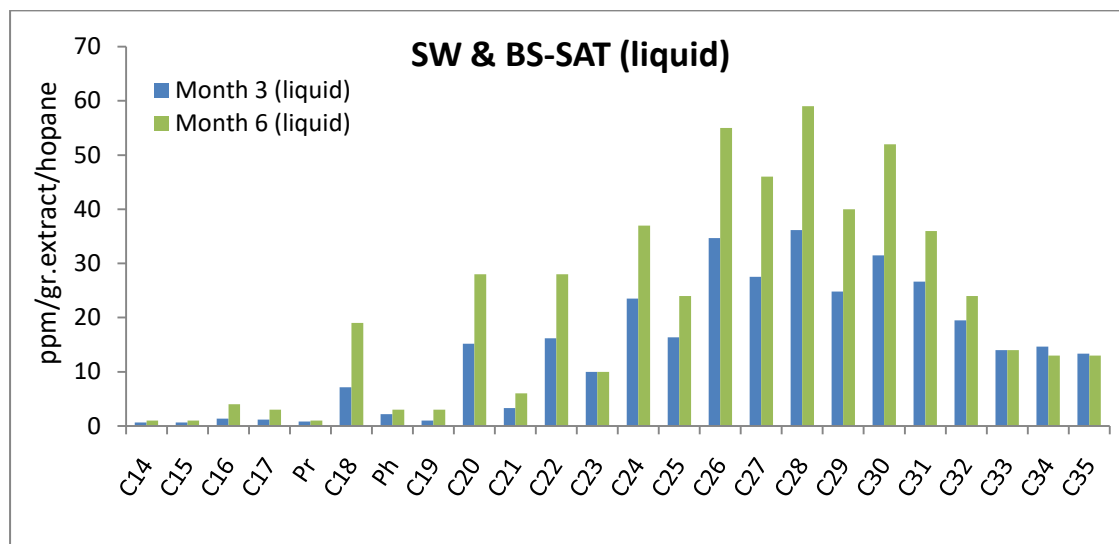


Διάγραμμα 10: Αποικοδόμηση κορεσμένων υδρογονανθράκων της φάσης άμμου του δείγματος Sea water & Consortia (2^η σειρά πειραμάτων)

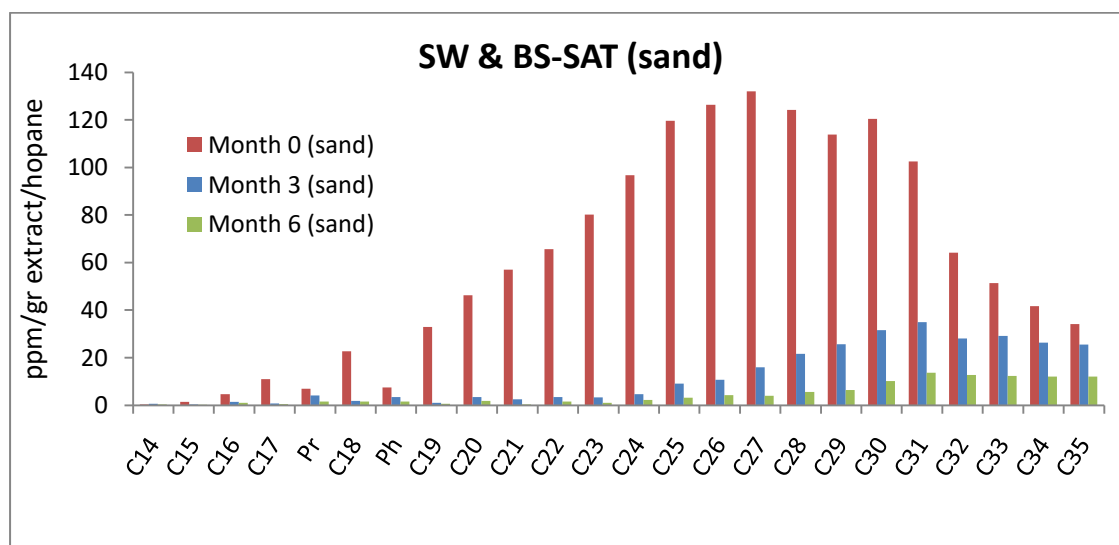
Όπως αναφέρεται και σε προηγούμενη παράγραφο, οι μικρές διακυμάνσεις που υπάρχουν στα πρώτα και ελαφρύτερα συστατικά (C14-C17, Pr και Ph) ενδεχομένως οφείλονται σε σφάλμα, διότι από την αρχή οι συγκεντρώσεις τους ήταν πολύ χαμηλές, γεγονός που οφείλεται στην μεγαλύτερη πτητικότητά τους. Όπως συνέβη και με το δείγμα που περιείχε θαλασσινό νερό με τους αυτόχθονες μικροοργανισμούς, είχε εξατμιστεί η υδατική φάση, επομένως δεν μπορέσαμε να παράξουμε το αντίστοιχο διάγραμμα αποτελεσμάτων και να τα συγκρίνουμε.

Συνεχίζοντας, στο Διάγραμμα 11 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της υδατικής φάσης του δείγματος που περιείχε αυτόχθονες μικροοργανισμούς από τον Άγιο Ονούφριο και τη βιοτασιενεργή ουσία Oil begone. Η συνεχής αύξηση των συγκεντρώσεων των συστατικών είναι φυσιολογική και υποδηλώνει πως υπήρχε συνεχής διάλυση υδρογονανθράκων από την άμμο στην υδατική φάση καθ' όλη τη διάρκεια των έξι μηνών. Εξαίρεση αποτελούν στο συγκεκριμένο δείγμα οι

βαρύτερες ενώσεις (C33-C35), οι ποσότητες των οποίων, μετά την πρώτη φάση διάλυσης κατά το πρώτο τρίμηνο έμειναν σταθερές.



Διάγραμμα 11: Αποικοδόμηση κορεσμένων υδρογονανθράκων της υγρής φάσης του δείγματος Sea water & Biosurfactants (2^η σειρά πειραμάτων)

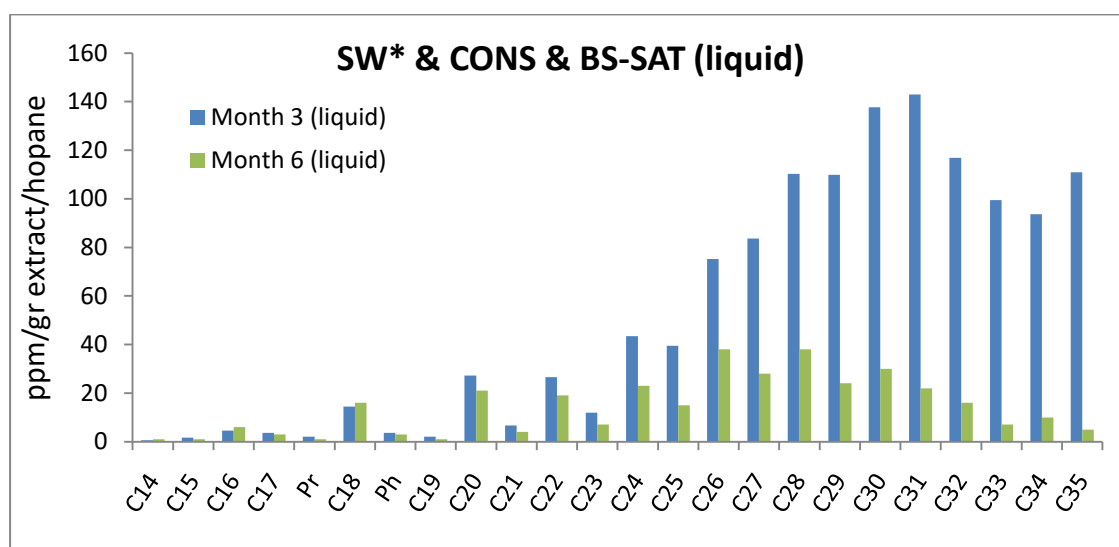


Διάγραμμα 12: Αποικοδόμηση κορεσμένων υδρογονανθράκων της φάσης άμμου του δείγματος Sea water & Biosurfactants (2^η σειρά πειραμάτων)

Αντίστοιχα, στο Διάγραμμα 12 έχουμε τη φάση της άμμου του δείγματος, όπου παρατηρείται μεγάλο ποσοστό αποικοδόμησης. Συγκρίνοντας με το Διάγραμμα 9, όπου έχουμε τους αυτόχθονες μικροοργανισμούς χωρίς όμως

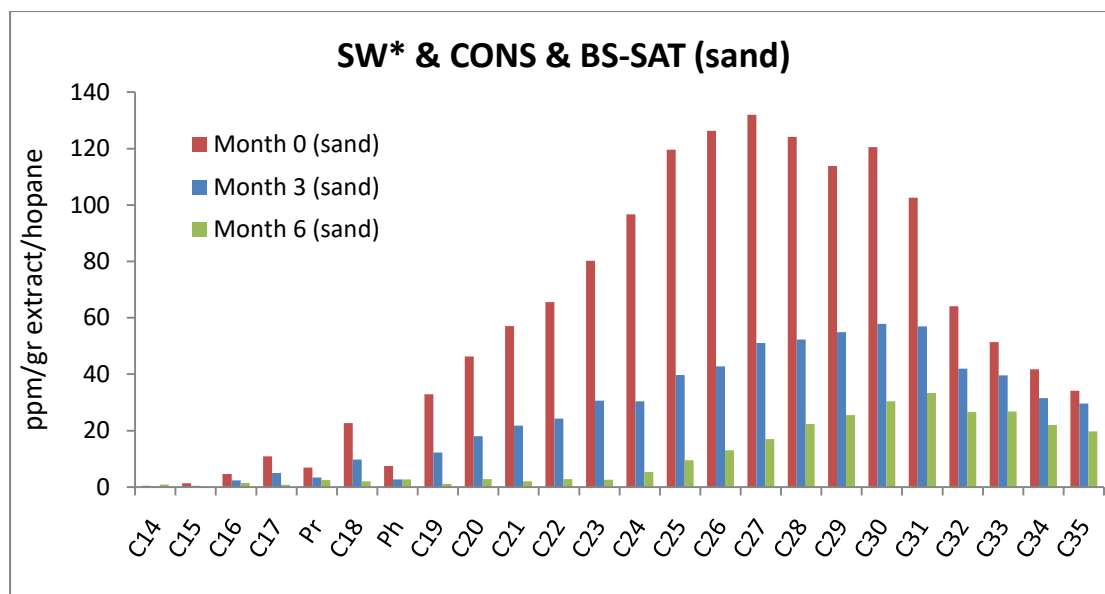
προσθήκη βιοτασιενεργής ουσίας, βλέπουμε πως η δράση τους ενισχύθηκε σημαντικά, με την προσθήκη Oil begone.

Το Διάγραμμα 13 αντιστοιχεί στα δείγματα που περιείχαν τους μικροοργανισμούς από την Τυνησία, μαζί με τη βιοτασιενεργή ουσία Oil begone. Στα δείγματα αυτά παρατηρείται το πρώτο τρίμηνο μεγάλη αύξηση των διαλυμένων συστατικών, ιδιαίτερα των ενώσεων με 26 άτομα άνθρακα και άνω, τα οποία στη συνέχεια καταναλώθηκαν σε πολύ μεγάλο ποσοστό. Το γεγονός αυτό, είναι πιθανό να οφείλεται στο ότι οι μικροοργανισμοί από την Τυνησία έχουν μεγαλύτερη ικανότητα παραγωγής βιοτασιενεργών ουσιών, σε σχέση με τους αυτόχθονες.



Διάγραμμα 13: Αποικοδόμηση κορεσμένων υδρογονανθράκων της υγρής φάσης του δείγματος Sea water & Consortia & Biosurfactants (2^η σειρά πειραμάτων)

Στο Διάγραμμα 14, βλέπουμε πως στη φάση της άμμου του συγκεκριμένου δείγματος, η βιοτασιενεργή ουσία Oil begone ενίσχυσε τη δράση των μικροοργανισμών. Παρατηρούμε μεγάλη αύξηση της αποικοδόμησης συγκριτικά με την περίπτωση μη-χρήσης της βιοτασιενεργής ουσίας (Διάγραμμα 10) και πάλι όμως, το συγκεκριμένο μείγμα μικροοργανισμών δεν ήταν τόσο αποτελεσματικό, όσο οι αυτόχθονες του Αγίου Ονουφρίου.



Διάγραμμα 14: Αποικοδόμηση κορεσμένων υδρογονανθράκων της φάσης άμμου του δείγματος *Sea water & Consortia & Biosurfactants* (2^η σειρά πειραμάτων)

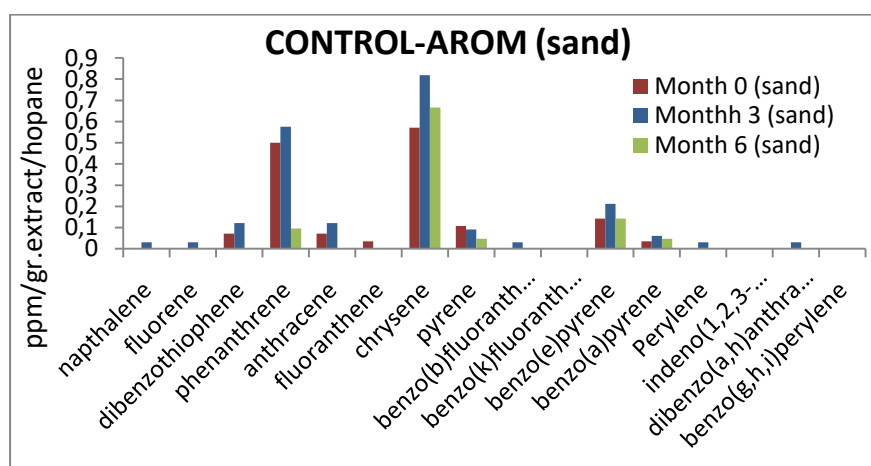
Συμπερασματικά, μεταξύ των πέντε σεναρίων που μελετήθηκαν όσον αφορά την αποικοδόμηση των κορεσμένων υδρογονανθράκων στην άμμο, βέλτιστα λειτούργησε η χρήση των βιοεπιφανειοδραστικών ουσιών, σε συνδυασμό με τους αυτόχθονες μικροοργανισμούς του Αγίου Ονουφρίου (δείγμα: **sea water & biosurfactants**).

3.2.2. Αρωματικοί Υδρογονάνθρακες

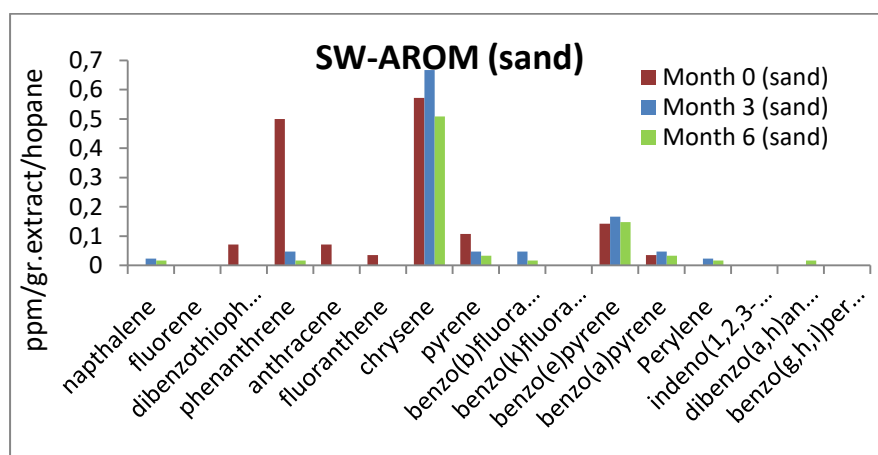
Όσον αφορά στους αρωματικούς υδρογονάνθρακες στην υδατική φάση, δεν μπορέσαμε να παράξουμε κάποια αποτελέσματα, καθώς οι συγκεντρώσεις τους, με ελάχιστες εξαιρέσεις, ήταν πολύ χαμηλές και μικρότερες από το όριο ανίχνευσης του προγράμματος ποσοτικοποίησης, που είναι τα 0,01 ppm. Για να αντιμετωπιστεί αυτό το πρόβλημα, θα πρέπει αρχικά, στη φάση της *spe* να χρησιμοποιηθεί μεγαλύτερη ποσότητα εκχυλίσματος και πάλι όμως μικρότερη των 50mg που είναι το όριο χρήσης των φυσιγγίων της *spe*. Επίσης, το δείγμα να χωριστεί σε δύο κλάσματα (κορεσμένα και αρωματικά) και όχι σε ένα ενιαίο, όπως έγινε στο συγκεκριμένο πείραμα. Αυτό είναι απαραίτητο καθώς, αν αυξηθεί η συγκέντρωση των αρωματικών, λόγω μεγαλύτερου εκχυλίσματος και βρίσκονται στο ίδιο διάλυμα με τους κορεσμένους, θα υπάρχει αλληλεπικάλυψη κορυφών, στο πρόγραμμα

ποσοτικοποίησης, κάνοντας τη διαδικασία δυσκολότερη και αυξάνοντας ταυτόχρονα τα ποσοστά σφάλματος.

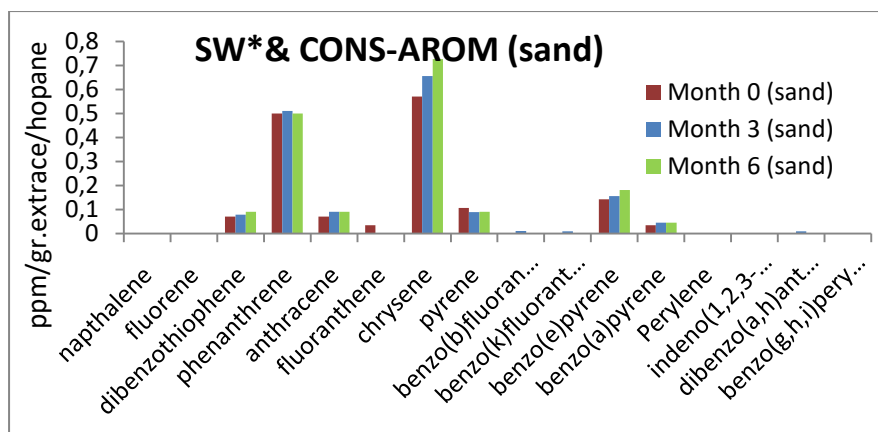
Συνεχίζοντας με τη φάση της άμμου, όπως φαίνεται και από τα επόμενα διαγράμματα, οι συγκεντρώσεις των αρωματικών ήταν πολύ χαμηλές, με αποτέλεσμα, το πρόγραμμα ποσοτικοποίησης που χρησιμοποιήθηκε να μην μπορεί σε πολλές περιπτώσεις να τους ανιχνεύσει. Ακόμα και όταν οι ποσότητες ήταν ανιχνεύσιμες, το σφάλμα ποσοτικοποίησης είναι περισσότερο εμφανές στα διαγράμματα των αρωματικών, σε σύγκριση με αυτά των κορεσμένων υδρογονανθράκων, όπου οι συγκεντρώσεις ήταν μέχρι και τρεις τάξεις μεγέθους μεγαλύτερες.



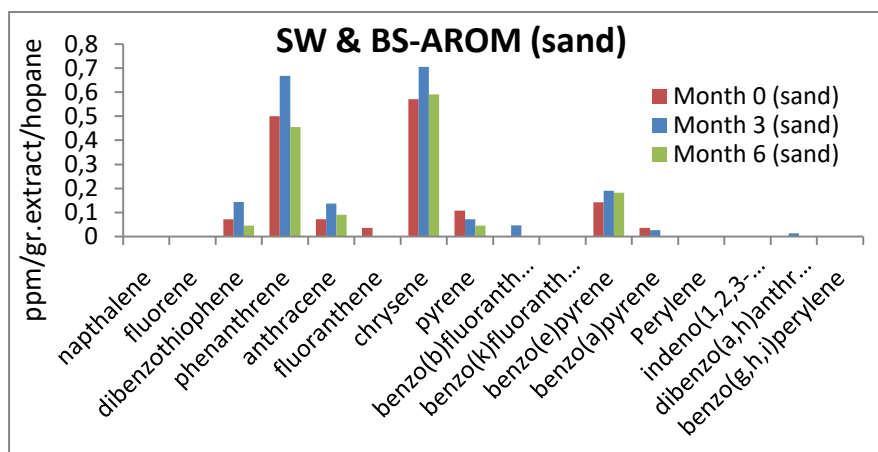
Διάγραμμα 15: Αποικοδόμηση αρωματικών υδρογονανθράκων του δείγματος Control (2^η σειρά πειραμάτων)



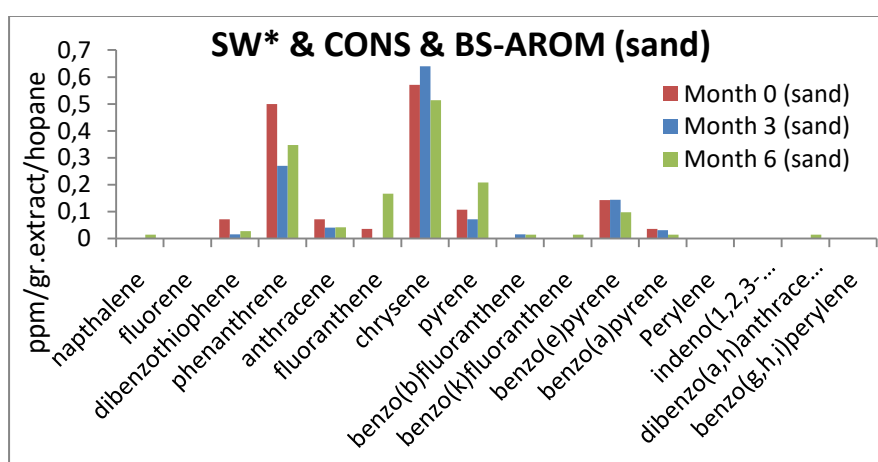
Διάγραμμα 16: Αποικοδόμηση αρωματικών υδρογονανθράκων του δείγματος Sea water (2^η σειρά πειραμάτων)



Διάγραμμα 17: Αποικοδόμηση αρωματικών υδρογονανθράκων του δείγματος Sea water & Consortia (2^η σειρά πειραμάτων)



Διάγραμμα 18: Αποικοδόμηση αρωματικών υδρογονανθράκων του δείγματος Sea water & Biosurfactants (2^η σειρά πειραμάτων)



Διάγραμμα 19: Αποικοδόμηση αρωματικών υδρογονανθράκων του δείγματος Sea water & Consortia & Biosurfactants (2^η σειρά πειραμάτων)

3.3 Υπολογισμός ποσοστού αποικοδόμησης

Στον πίνακα 5 βλέπουμε την κλιμάκωση του ποσοστού ρύπανσης σε κάθε δείγμα, για τα δύο διαφορετικά χρονικά διαστήματα που εξετάστηκαν (3 και 6 μήνες). Παρατηρούμε πως η μεγαλύτερη μείωση έχει επέλθει στο σενάριο των αυτόχθονων μικροοργανισμών του Αγίου Ονουφρίου, σε συνδυασμό με τη βιοτασιενεργή ουσία Oil begone, συμπέρασμα στο οποίο καταλήξαμε και με βάση τα διαγράμματα.

Υπενθυμίζουμε ότι στα δείγματα προστέθηκε ποσότητα 0,1 g κλάσματος πετρελαίου σε όγκο νερού 15 ml, δηλαδή 0,7% ρύπανση. Από το ποσοστό αυτό μελετήθηκε μέρος συστατικών, που αντιστοιχεί στο 0,0836%. Στο σημείο αυτό να επισημάνουμε πως για τους παρακάτω υπολογισμούς δεν έχει ληφθεί υπόψη η διόρθωση με το χοπάνιο. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα στην περίπτωση του δείγματος Sea water & Consortia το ποσοστό συνολικής αποικοδόμησης να μη συμβαδίζει με αυτό που φαίνεται στο Διάγραμμα 10.

	Month 0 (%)	Month 3 (%)	Month 6 (%)	Συνολική μείωση (%)
Control	0,0836	0,0557	0,0566	32,27188
Sea Water	0,0836	0,0556	0,0511	38,86531
Sea Water & CONS	0,0836	0,0173	0,0225	73,01995
Sea Water & BS	0,0836	0,0113	0,0106	87,35993
Sea Water & CONS& BS	0,0836	0,0178	0,0170	79,62392

Πίνακας 5: Ποσοστό ρύπανσης και συνολικό ποσοστό βιοαποικοδόμησης

Κεφάλαιο 4: Συμπεράσματα και Συζήτηση

4.1 Τελικά Συμπεράσματα

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η βιοαποικοδόμηση βαρέως κλάσματος πετρελαίου σε ίζημα και ο τρόπος που αυτή επηρεάζεται από την προσθήκη βιοτασιενεργών ουσιών. Η πρώτη σειρά πειραμάτων, στην οποία δεν χρησιμοποιήθηκε άμμος σαν ίζημα, δεν απέφερε ικανοποιητικά αποτελέσματα σε αντίθεση με τη δεύτερη όπου προστέθηκε άμμος και ο ρύπος διασκορπίστηκε σε αυτήν. Αυτό εν μέρει μπορεί να δικαιολογηθεί λόγω της μικρότερης βιοδιαθεσιμότητας του ρύπου στην πρώτη περίπτωση. Επιπλέον, τα πρώτα δείγματα περιείχαν διαφορετική βιοτασιενεργή ουσία από τα δεύτερα. Ωστόσο, δεν μπορούμε να οδηγηθούμε στο συμπέρασμα ότι η δεύτερη βιοτασιενεργή είναι αποτελεσματικότερη από την πρώτη, καθώς αυτή έδρασε σε πιο ευνοϊκές συνθήκες, με μεγαλύτερη βιοδιαθεσιμότητα ρύπου.

Εν συνεχεία, παρατηρήθηκε πως οι εγχώριοι μικροοργανισμοί που περιέχονταν στο θαλασσινό νερό του Αγίου Ονουφρίου (87% αποικοδόμηση), σε σχέση με αυτούς που απομονώθηκαν από ίζημα λίμνης στην Τυνησία (80% αποικοδόμηση), σε συνδυασμό με τη βιοτασιενεργή ουσία Oil begone, ήταν αποτελεσματικότεροι στην αποικοδόμηση των κορεσμένων υδρογονανθράκων. Σχετικά με τους αρωματικούς υδρογονάνθρακες δεν παρατηρήθηκαν ικανοποιητικά ποσοστά αποδόμησης.

4.2 Προτάσεις μελλοντικής έρευνας

Αρχικά θα μπορούσαν να εξεταστούν χρονικά διαστήματα μεγαλύτερα των έξι μηνών, καθώς τα βαριά κλάσματα πετρελαίου και ιδιαίτερα αυτά που περιέχουν αρωματικούς υδρογονάνθρακες, απαιτούν ενδεχομένως μεγαλύτερο χρονικό διάστημα προκειμένου να αποικοδομηθούν πλήρως.

Ακόμη, όπως αναφέρθηκε προηγούμενα, όσον αφορά στους αρωματικούς υδρογονάνθρακες, θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν δείγματα με μεγαλύτερη περιεκτικότητα, προκειμένου να εξαχθούν ασφαλή συμπεράσματα. Εκτός αυτού, η εξέταση κλασμάτων πετρελαίου που αποτελούνται μόνο από αρωματικά (ή έστω σε ποσοστό μεγαλύτερο του 90%) είναι επίσης απαραίτητη, καθώς σε κλάσματα που

περιέχουν και κορεσμένους υδρογονάνθρακες, οι μικροοργανισμοί μπορούν ευκολότερα να αποικοδομήσουν τους τελευταίους και μόνο εφόσον αναγκαστούν θα στραφούν στους αρωματικούς.

Εν κατακλείδι, προτείνεται να μελετηθεί η χρήση διαφόρων μικροοργανισμών και βιοτασιενεργών ουσιών σε συνδυασμό αλλά και ξεχωριστά, για διαφορετικής σύστασης κλάσματα πετρελαίου, προκειμένου να προκύψει μια βάση δεδομένων που θα αντιστοιχεί το εκάστοτε κλάσμα πετρελαίου με τη βέλτιστη μέθοδο βιοεξυγίανσης με μικροοργανισμούς.

Βιβλιογραφία

[1] Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης/Τμήμα Πολιτικών Μηχανικών/Τομέας Υδραυλικών Έργων/Διατμηματικό Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών «Υδραυλικά Έργα και Περιβάλλον»/Μεταπτυχιακή Διατριβή της Σπουδάστριας Ρίζου Ευαγγελίας με θέμα «Προσομοίωση Πετρελαιοκηλίδας στο Βόρειο Αιγαίο»/Ξάνη 2010

[2] Πανεπιστήμιο Πατρών/Τμήμα Χημικών Μηχανικών/Τομέας Μηχανικής Διεργασιών & Περιβάλλοντος/Μεταπτυχιακή Διατριβή του Σπουδαστή Ράπτη Γεωργίου με θέμα «Βιοτεχνολογική παραγωγή βιοεπιφανειοδραστικών ουσιών με χρήση καθαρής καλλιέργειας του μικροοργανισμού *Tetragenococcus koreensis*»/Πάτρα 2014

[3] The National Academy Press/Washington D.C. /Oil in the Sea III: Inputs, Fates, Effects/2003

[4] Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο/Τμήμα Χημικών Μηχανικών/Πετροχημική Βιομηχανία/Εργασία των Σπουδαστριών Ελμάλογλου Μαριάνθη, Κριεμπάρδη Έλενα, Τσέρτου Ειρήνη με θέμα «Απορρυπαντικές επιφανειοδραστικές ουσίες από τη λαυρική αλκοόλη (ανιοντικές, κατιοντικές, μη ιονικές)»

[5] Εθνικό Αρχείο Διδακτορικών Διατριβών/Πολυτεχνείο Κρήτης/Τμήμα Μηχανικών Περιβάλλοντος/Διδακτορική Διατριβή της Νικολοπούλου Μαρίας Π. με θέμα «Βιοαποδόμηση πετρελαιοειδών σε θαλάσσιο περιβάλλον-Χαρακτηρισμός σχηματισμού βιοστοιβάδας σε σταγονίδια υδρογονανθράκων»/Oil spills bioremediation in marine environment: biofilm characterization around oil droplets»/Χανιά 2013

[6] Ελληνικά Ακαδημαϊκά Ηλεκτρονικά Συγγράματα και Βοηθήματα/Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο/Βιομηχανική Οργανική Χημεία/ Δημήτρης Σ. Αχιλιάς-Ιωάννης Ελευθεριάδης-Νικόλαος Νικολαΐδης/Αθήνα 2015

[7] Πολυτεχνείο Κρήτης/Τμήμα Μηχανικών Περιβάλλοντος/ Νικολοπούλου Μαρία/Μεταπτυχιακή Διατριβή με τίτλο «Ενισχυμένη βιοδιέγερση εγγενών θαλάσσιων μικροοργανισμών με τη χρήση λιπόφιλων λιπασμάτων σε συνδυασμό με επιφανειοδραστικές βιολογικές ουσίες για αποικοδόμηση πετρελαιοκηλίδων»/ Χανιά 2005

[8] Office of Technology Assessment/ Coping With An Oiled Sea: An Analysis of Oil Spill Response Technologies/OTA-BP-O-63/Washington,DC/March 1990

- [9] Nature Publishing Group/Bragg J.R., Prince R.C., Harner E.J. and Atlas R.M./Effectiveness of bioremediation for the Exxon Valdez oil spill/ *Nature*, 368, 413-418/March 1994
- [10] National Center for Biotechnology Information/Crit. Rev. Microbiol/Prince R.C./ *Petroleum spill bioremediation in marine environments*/1993
- [11] National Center for Biotechnology Information/Microbiol Rev./ Swannel RP.-Lee K.-McDonagh M./ *Field evaluations of marine oil spill bioremediation* 60(2), 342-365 /1996
- [12] Atlas, R. M., and Cerniglia, C. E. (1995)/ *Bioremediation of Petroleum Pollutants*. Bioscience
- [13] Εθνικό Αρχείο Διδακτορικών Διατριβών/Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων/Σχολή Θετικών Επιστημών/Τμήμα Χημείας/Διδακτορική Διατριβή της Καραμπίκα Ευγείας με θέμα «Βιοχημική ανάλυση και περιβαλλοντικές εφαρμογές βακτηρίων που αποδομούν πετρελαϊκά κατάλοιπα»/ Ιωάννινα 2007
- [14] Πολυτεχνείο Κρήτης/Τμήμα Μηχανικών Περιβάλλοντος/Εργαστήριο Βιοχημικής Μηχανικής και Χημικών Τεχνολογιών/Μεταπτυχιακή Εργασία της σπουδάστριας Κορακάκη Εμμανουέλας, με θέμα «Απομόνωση μικροβιακών κοινοτήτων που αποικοδομούν τα πετρελαϊοειδή και παράγουν επιφανειοδραστικές ουσίες»/Χανιά 2012
- [15] Ποσοτική Χημική Ανάλυση/Τόμος Β'/Daniel C. Harris/Πανεπιστημιακές εκδόσεις Κρήτης/Ηράκλειο 2010
- [16] Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων/Σχολή Θετικών Επιστημών/Τμήμα Χημείας/Άγγελος Ε. Ντάνος/Χημικός/Διδακτορική διατριβή με θέμα « Βιοεξυγίανση εδαφών ρυπασμένων με πετρελαιοειδή και πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες από ελεύθερους και μικροενθυλακωμένους μικροοργανισμούς»/Ιωάννινα 2007
- [17] Ντάνος/Χημικός/PhD/ «Πετρελαιοειδή στο περιβάλλον και τεχνικές απορρύπανσης»/Cp Foodlab ltd
- [18] Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης/Σχολή Θετικών Επιστημών/Τμήμα Χημείας/ Διπλωματική Εργασία της σπουδάστριας Σαχανίδου Ευφροσύνης με θέμα «Αρχαιομετρική μελέτη υπολειμμάτων οργανικών υλών σε θραύσμα γυάλινου αγγείου με αέρι χρωματογραφία σε συνδυασμό με φασματομετρία μάζας»/Θεσσαλονίκη 2013

[19] *United States Enviromental Protection Agency/Office of Emergency and Remedial Response/Oil Programme Center/Understanding Oil Spills And Oil Spill Response/December 2009*

[20] Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών/Τμήμα Χημείας/Ε. Αρχοντάκη/Προκατεργασία Δείγματος για αναλύσεις με HPLC/Αθήνα 2008

[21] Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο/Τμήμα Ναυπηγών Μηχανολόγων Μηχανικών/Ενότητα 'Πετρελαιοκηλίδες'/Καθ. Γ.Τριανταφύλλου/διπλ. Ν.Μ.Μ. Μ. Βεργέτης/Αθήνα 2004

[22] Πολυτενείο Κρήτης/Τμήμα Μηχανικών Περιβάλλοντος/Εργαστήριο Βιοχημικής Μηχανικής & Περιβαλλοντικής Βιοτεχνολογίας/ Νικόλαος Καλογεράκης /Διδακτικές Σημειώσεις μαθήματος 'Βιολογικές Μέθοδοι Εξυγίανσης Περιβάλλοντος'/Χανιά 2013

[23] Γεωχημεία Πετρελαίου/Ν. Πασσαδάκης/Εκδόσεις Τζιόλα/Θεσσαλονίκη 2015

[24] Ινστιτούτο Εδαφολογίας Αθηνών/Εθνικό Ίδρυμα Αγροτικής Έρευνας/Δρ. Ντούλα Μαρία/Φαινόμενα Ρύπανσης στο θαλάσσιο περιβάλλον-Επιπτώσεις στις βιοκοινωνίες

[25] *Greenpeace Greece/Οι Επιπτώσεις της ρύπανσης από πετρελαιοειδή/Αύγουστος 2016*

[26] *World Wildlife Fund (WWF)/Threats/Oil and Gas developement*

[27] *Chimikoergastirio.blogspot.gr/2009/Αέρια Χρωματογραφία-GC*

[28] Σχολικό βιβλίο Χημείας Γ' γυμνασίου/Παναγιώτης Θεοδωρόπουλος-Παύλος Παπαθεοφάνους-Φιλλένια Σιδέρη/Οργανισμός Εκδόσεων Διδακτικών Βιβλίων/Αθήνα

[29] Βικιπαίδεια/Υδρογονάνθρακες

[30] Βικιπαίδεια/Πολυτετραφθοροαιθυλένιο (Teflon)

[31] Βικιπαίδεια/Πτυχή (γεωλογία)

[32] Βικιπαίδεια/Κυκλοαλκάνια

[35] *Oil-evolution.blogspot.gr/Μαύρος Χρυσός-Καταραμένος Πλούτος/Σύντομη ιστορία του πετρελαίου/Οκτώβριος 2007*

[36] *Oneman/Κείμενα/Η ιστορία του πετρελαίου*

[37] Σχολή Τεχνολογίας Τροφίμων & Διατροφής/Τμήμα Τεχνολογίας Τροφίμων/Δρα. Κουκουλίτσα Αικατερίνη, Χημικός/Μέθοδοι Διαχωρισμού Οργανικών Ενώσεων-Εκχύλιση