



National and Kapodistrian
University of Athens



Περιβαλλοντική Βιοτεχνολογία

Θέμα σεμιναρίου: “Βιοαποικοδόμηση πετρελαιοκηλίδων - πετρελαϊκών αποβλήτων: Βιολογική διαχείριση της ρύπανσης από το πετρέλαιο και τα παράγωγά του”

Ντινόπουλος Δημήτρης

Ιούνιος 2024

Ενότητες

1. Το μέγεθος του προβλήματος της ρύπανσης από πετρελαιοειδή
2. Πετρελαϊκοί ρύποι
3. Γενικές αρχές των μ/ο βιοεξυγίανσης οργανικών ενώσεων
4. Αερόβια & αναερόβια αποικοδόμηση
5. Γενετικά τροποποιημένοι μικροοργανισμοί (GEMs)
6. Υφιστάμενες τεχνολογίες βιοεξυγίανσης
7. Παράδειγμα συνέργειας στην αποκατάσταση ρυπασμένων εδαφών
8. Πλεονεκτήματα & μειονεκτήματα της βιοεξυγίανσης

Το μέγεθος του προβλήματος της ρύπανσης από πετρελαιοειδή

- Με βάση τα πιο πρόσφατα στοιχεία, η κατανάλωση πετρελαίου το 2020 αυξήθηκε κατά ~ 1 εκατομμύριο βαρέλια ανά ημέρα ενώ η ζήτηση για υγρά καύσιμα έφτασε σε ιστορικά υψηλά φτάνοντας τα 100 εκατομμύρια βαρέλια ανά ημέρα.
- Η εξόρυξη και η διύλιση αργού πετρελαίου παραμένει μια εξαιρετικά έντονη δραστηριότητα. Αυτή η μαζική εξόρυξη προκαλεί πολυάριθμα προβλήματα κρίσιμα για την περιβαλλοντική ρύπανση του εδάφους και των υδάτων.
- Πολλά είναι τα ατυχήματα που έχουν καταγραφεί όλα αυτά τα χρόνια που σχετίζονται με τη μεταφορά πετρελαίου που έχουν προκαλέσει περιβαλλοντικά προβλήματα.

Πηγή: Rosa Paola Radice et al., 2023, *Crude Oil Bioremediation: From Bacteria to Microalgae*

1. Deepwater Horizon - Κόλπος Μεξικού [2010]

- Τύπος υδρογονάνθρακα: Αργό πετρέλαιο
- Εύρος ρύπανσης: 210 εκατομμύρια γαλόνια (~ 318 πισίνες ολυμπιακών διαστάσεων)
- Μέθοδος Απορρύπανσης: Καμία (Φυσική εξασθένιση)
- Βιοποικιλότητα: υδρόβια ασπόνδυλα, ψάρια, θαλάσσιες χελώνες, παράκτια τρωκτικά

2. Amoco Cadiz – Βρετάνη, Γαλλία [1978]

- Τύπος υδρογονάνθρακα: Αργό πετρέλαιο και μαζούτ
- Εύρος ρύπανσης: 68.7 εκατομμύρια γαλόνια (~ 104 πισίνες ολυμπιακών διαστάσεων)
- Μέθοδος Απορρύπανσης: Λιπάσματα, καλλιέργεια βακτηρίων
- Βιοποικιλότητα: θαλάσσια πανίδα

3. Exxon Valdez - Κόλπος Αλάσκας [1989]

- Τύπος υδρογονάνθρακα: Αργό πετρέλαιο
- Εύρος ρύπανσης: 10.9 εκατομμύρια γαλόνια (~ 16 πισίνες ολυμπιακών διαστάσεων)
- Μέθοδος Απορρύπανσης: Ελαιοφιλικά λιπάσματα
- Βιοποικιλότητα: θαλάσσιες ενυδρίδες, φώκιες, αετοί, πάπιες, σολομοί

Πετρελαϊκοί ρύποι

1

Αργό Πετρέλαιο

- ❖ Το αργό πετρέλαιο είναι ένα φυσικό, μη διυλισμένο προϊόν που αποτελείται από κοιτάσματα υδρογονανθράκων και άλλα οργανικά υλικά.
- ❖ Η σύνθεση του αργού πετρελαίου περιλαμβάνει: αλκάνια, κυκλοαλκάνια, αρωματικούς υδρογονάνθρακες και άλλες σύνθετες ενώσεις, καθεμία από τις οποίες παρουσιάζει διαφορετικά επίπεδα τοξικότητας και βιοδιασπασιμότητας (π.χ. το BTEX αποτελεί ιδιαίτερα προβληματικό ρύπο)
- ❖ Η χημική σύσταση του αργού πετρελαίου είναι πολύ μεταβλητή και εξαρτάται από τη γεωγραφική του προέλευση. Τυπικά, το αργό πετρέλαιο αποτελείται από: υδρογονάνθρακες (84-87% άνθρακα και 11-14% υδρογόνο), θείο (0,05-6,0%), άζωτο (0,1-2,0%), οξυγόνο (0,1-1,5%) και ιχνοστοιχεία μετάλλων όπως το νικέλιο και το βανάδιο.
- ❖ Η ρύπανση από αργό πετρέλαιο μπορεί να διαταράξει τις αναπαραγωγικές και διατροφικές συμπεριφορές της πανίδας, οδηγώντας σε μακροπρόθεσμη μείωση του πληθυσμού της. Επιπλέον, δύναται να υποβαθμιστούν ευαίσθητα ενδιαιτήματα, όπως κοραλλιογενείς ύφαλοι, μαγγρόβια και αλμυρά έλη, τα οποία είναι ζωτικής σημασίας για τη διατήρηση της βιοποικιλότητας και των υπηρεσιών του εκάστοτε οικοσυστήματος.

2

Προϊόντα Διύλισης

- ❖ Τα προϊόντα διύλισης πετρελαίου, όπως η βενζίνη, το ντίζελ και τα λιπαντικά έλαια, προέρχονται από το αργό πετρέλαιο μέσω διαφόρων διεργασιών διύλισης.
- ❖ Όταν απελευθερωθούν στο περιβάλλον, τα προϊόντα διύλισης μπορεί να είναι ακόμη πιο επικίνδυνα από το αργό πετρέλαιο, λόγω της παρουσίας πρόσθετων χημικών ουσιών και της εξευγενισμένης φύσης τους, η οποία τους επιτρέπει να εξαπλωθούν πιο γρήγορα και να διεισδύσουν βαθύτερα στα θαλάσσια οικοσυστήματα.
- ❖ Αυτά τα προϊόντα περιέχουν συχνά υψηλότερες συγκεντρώσεις τοξικών ενώσεων, όπως οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες (PAH), οι οποίες είναι γνωστές για την ανθεκτικότητά τους στο περιβάλλον και την πιθανότητα να προκαλέσουν μακροπρόθεσμη οικολογική βλάβη.
- ❖ Για παράδειγμα, το μαζούτ εξαπλώνεται στο νερό πολύ γρήγορα και δημιουργεί μία στρώση στην επιφάνεια με πάχος 1 mm. Συνεπώς, αυτή διακόπτει τη μεταφορά του ατμοσφαιρικού οξυγόνου στο νερό και άρα μειώνεται η ποσότητα του διαλυμένου οξυγόνου το οποίο έχει σαν συνέπεια το υψηλότερο ποσοστό θνησιμότητας των θαλάσσιων οργανισμών.

3

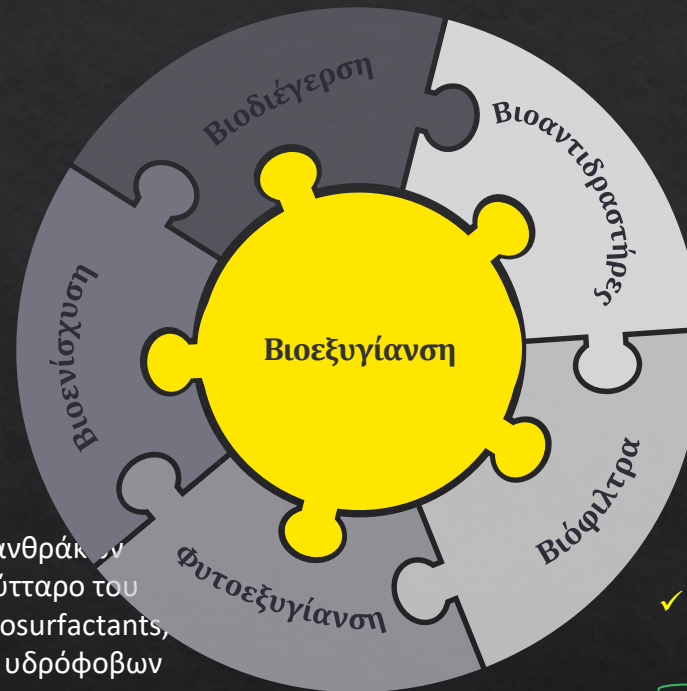
Απόβλητα Πετρελαίου

- ❖ Τα απόβλητα πετρελαίου περιλαμβάνουν υπολείμματα πετρελαίου, ελαιώδη λάσπη και άλλα παραπροϊόντα των διεργασιών εξόρυξης και διύλισης πετρελαίου. Αυτά τα απόβλητα δημιουργούν σημαντικές προκλήσεις διάθεσης και μπορούν να ρυπάνουν σοβαρά του έδαφος και τους υδάτινους πόρους εάν δεν διαχειρίζονται ορθά.
- ❖ Η διαχείριση των αποβλήτων πετρελαίου είναι ζωτικής σημασίας για την πρόληψη μακροπρόθεσμης περιβαλλοντικής ζημίας και τη διασφάλιση βιώσιμων βιομηχανικών πρακτικών.
- ❖ Η ελαιώδης ιλύς, για παράδειγμα, περιέχει ένα μείγμα υδρογονανθράκων, βαρέων μετάλλων και άλλων τοξικών ουσιών που μπορούν να αναστείλουν τη μικροβιακή αποικοδόμηση και άρα να παρατείνουν την παρουσία τους στο περιβάλλον.

Γενικές αρχές των μ/ο βιοεξυγίανσης οργανικών ενώσεων

Αίτια

- ✓ Οι μ/ο όπως τα βακτήρια και οι μύκητες χρησιμοποιούν τους υδρογονάνθρακες ως πηγή άνθρακα και ενέργειας.
- ✓ Διαφορετικά είδη μ/ο έχουν ποικίλες ικανότητες να αποικοδομούν συγκεκριμένους τύπους υδρογονανθράκων.
- ✓ Η διαδικασία αποικοδόμησης τυπικά περιλαμβάνει την ενζυματική οξείδωση των υδρογονανθράκων, που οδηγεί στη μετατροπή τους σε απλούστερα μόρια όπως το διοξείδιο του άνθρακα και το νερό.



Τύποι μ/ο

- ✓ Οι κοινί μικροοργανισμοί που αποικοδομούν τους υδρογονάνθρακες περιλαμβάνουν *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Rhodococcus* και *Mycobacterium*.
- ✓ Κάθε τύπος μικροοργανισμού έχει μια μοναδική μεταβολική οδό που του επιτρέπει να στοχεύει συγκεκριμένους υδρογονάνθρακες, καθιστώντας τους αποτελεσματικούς σε διαφορετικά στάδια της διαδικασίας βιοαποικοδόμησης ή σε διαφορετικούς τύπους υδρογονανθράκων. Για παράδειγμα:
 - Το *Pseudomonas putida* έχει μελετηθεί εκτενώς για την ικανότητά του να αποικοδομεί το τολουόλιο και τη ναφθαλίνη.

Συνοπτική διαδικασία

- ❖ Το αρχικό βήμα στη μικροβιακή αποικοδόμηση των υδρογονανθράκων είναι η πρόσληψη του μορίου του υδρογονάνθρακα από το κύτταρο του μ/ο. Αυτή η διαδικασία διευκολύνεται από την παραγωγή biosurfactants, τα οποία αυξάνουν τη διαλυτότητα και τη διαθεσιμότητα των υδρογονανθράκων.
- ❖ Μόλις εισέλθουν στο κύτταρο, οι υδρογονάνθρακες υφίστανται ενζυμική οξείδωση, ξεκινώντας με την εισαγωγή ενός μορίου οξυγόνου για να σχηματιστεί μια αλκοόλη. Αυτή η αντίδραση καταλύεται από ένζυμα με αποτέλεσμα τα προϊόντα της αντίδρασης να μπορούν να αποδομηθούν από διαφορετικούς μ/ο ή να αποτελούν μη τοξικές ενώσεις για το περιβάλλον.

Άμεσες επιδράσεις

- ✓ Διάφοροι παράγοντες επηρεάζουν τον ρυθμό βιοαποδόμησης, όπως είναι για παράδειγμα:

- Η θερμοκρασία
- Η διαθεσιμότητα του οξυγόνου
- Τα επίπεδα των θρεπτικών συστατικών
- Η παρουσία άλλων ρύπων

Έμμεσες επιδράσεις

- Η αλατότητα [επηρεάζουν τη διαλυτότητα των υδρογονανθράκων]
- Το pH [ακραίες τιμές αναστέλλουν την λειτουργία ενζύμων]
- Η πίεση [τα μεγάλα βάθη επιδρούν στην δομή των μ/ο]
- Χημική και φυσική σύνθεση υδρογονάνθρακα

Αερόβια & αναερόβια αποικοδόμηση

Αερόβια Αποικοδόμηση

Συμβαίνει **παρουσία οξυγόνου**, όπου οι μικροοργανισμοί χρησιμοποιούν οξυγόνο για να διασπάσουν τους υδρογονάνθρακες

Είναι γενικά **ταχύτερη** και πιο **αποτελεσματική** σε σύγκριση με την αναερόβια αποδόμηση

Τα τελικά προϊόντα είναι συνήθως το **διοξείδιο του άνθρακα** και το **νερό**

Η αρχική οξείδωση καταλύεται από **οξυγενάσες** (ενσωμάτωση μοριακού οξυγόνου στο μόριο του υδρογονάνθρακα). Ακολούθως, πραγματοποιείται σχηματισμός **διολών** και στην συνέχεια η παραγωγή **καρβοξυλικών οξέων** τα οποία μέσω του κύκλου του κιτρικού οξέος παράγονται τα **τελικά προϊόντα**

Περιοριστικός παράγοντας είναι το **οξυγόνο**

Αναερόβια Αποικοδόμηση

Δέκτες ηλεκτρονίων είναι **θειικά** (SO_4^{2-}), **νιτρικά** (NO_3^-) ή το **διοξείδιο του άνθρακα** (CO_2). Σημαντικοί μ/ο είναι τα **βακτήρια που μειώνουν τα θειικά** και τα **μεθανογόνα αρχαία**

Οι υδρογονάνθρακες ενεργοποιούνται αρχικά μέσω **καρβοξυλίωσης**, ακολουθούμενες από αναγωγική **αφυδροξυλίωση** και **βήτα-οξείδωση**

Τα βακτήρια τύπου **SRB** είναι ικανά να αποικοδομούν ένα ευρύ φάσμα υδρογονανθράκων, συμπεριλαμβανομένων των **αλκανίων**, των **απλών αρωματικών** υδρογονανθράκων και των **PAH**

Τα προϊόντα της οξειδοαναγωγής υπό αναερόβιες συνθήκες για τα **μεθανογενή αρχαία** είναι το **μεθάνιο** και πραγματοποιείται υπό **ανοξικές συνθήκες** που υπάρχουν σε μεγάλα βάθη

Τα προϊόντα της οξειδοαναγωγής υπό **αναερόβιες συνθήκες** για τα **βακτήρια** τύπου **SRB** είναι: το **υδρόθειο**, το **διοξείδιο του άνθρακα** και η **βιομάζα**

Γενετικά τροποποιημένοι μικροοργανισμοί (GEMs)

Εισαγωγή

- Οι εξελίξεις στη γενετική μηχανική επέτρεψαν την ανάπτυξη μικροοργανισμών με βελτιωμένες ικανότητες αποικοδόμησης του πετρελαίου. Αυτοί οι γενετικά τροποποιημένοι οργανισμοί (GEMs) διαθέτουν συγκεκριμένα χαρακτηριστικά που βελτιώνουν την αποτελεσματικότητά τους στη διάσπαση σύνθετων υδρογονανθράκων.

Μέθοδος

- Τεχνικές όπως η επεξεργασία γονιδίων CRISPR-Cas9 επιτρέπουν ακριβείς τροποποιήσεις των μικροβιακών γονιδιωμάτων, επιτρέποντας την εισαγωγή συγκεκριμένων γονιδίων που εμπλέκονται στην αποικοδόμηση των υδρογονανθράκων. Για παράδειγμα, γονίδια που κωδικοποιούν αλκανικές υδροξυλάσες, διοξυγενάσες διάσπασης δακτυλίου και άλλα βασικά ένζυμα μπορούν να εισαχθούν σε μικροοργανισμούς, ενισχύοντας την ικανότητά τους να αποικοδομούν ένα ευρύ φάσμα υδρογονανθράκων.

Παραδείγματα

- Με την εισαγωγή γονιδίων για τη διοξυγενάση τολουολίου και άλλα καταβολικά ένζυμα, οι ερευνητές έχουν δημιουργήσει στελέχη που μπορούν να αποικοδομήσουν γρήγορα το τολουόλιο και τις σχετικές ενώσεις. Ομοίως, τα είδη *Rhodococcus* έχουν κατασκευαστεί για να αποδομούν τους PAH πιο αποτελεσματικά με την ενσωμάτωση γονιδίων για τις διοξυγενάσες που διασπούν τον δακτύλιο και άλλα ένζυμα που εμπλέκονται στο μεταβολισμό του PAH

Επιπτώσεις

- Ενώ η δυνατότητα των γενετικά τροποποιημένων μικροοργανισμών (GEMs) στη βιοαποκατάσταση είναι πολλά υποσχόμενη, η χρήση τους εγείρει αρκετές ανησυχίες. Η απελευθέρωση GEM στο περιβάλλον πρέπει να ελέγχεται προσεκτικά για να αποφευχθούν ακούσιες οικολογικές επιπτώσεις και οριζόντια μεταφορά γονιδίων σε γηγενείς μικροβιακές κοινότητες.

Υφιστάμενες τεχνολογίες βιοεξυγίανσης

- Ανάλογα με τη διαδικασία εφαρμογής, η διαδικασία της βιοεξυγίανσης μπορεί να ταξινομηθεί σε δύο τύπους:
 - In-situ βιοεξυγίανση
 - Ex-situ βιοεξυγίανση
- Οι τεχνικές in-situ είναι οι πιο επιθυμητές, λόγω του χαμηλότερου συγκριτικά κόστους τους και της αποφυγής του κινδύνου διαρροής των ρύπων στο περιβάλλον κατά τη μεταφορά τους που πραγματοποιείται στο πλαίσιο των ex-situ τεχνικών.

In-situ Τεχνολογίες Βιοεξυγίανσης

Βιοδιέγερση

Τροποποίηση των περιβαλλοντικών συνθηκών τοπικά με στόχο την ανάπτυξη των υφιστάμενων πληθυσμών των μικροοργανισμών

Biosparging

Παροχή αερίων (π.χ. μεθάνιο) για την ενεργοποίηση των μ/ο

Βιοαερισμός

Παροχή οξυγόνου στην ακόρεστη ζώνη (vadose zone)

Βιοενίσχυση

❖ Περιλαμβάνει την προσθήκη καλλιεργημένων μικροοργανισμών για να ενισχυθεί η ικανότητα του υπάρχοντος μικροβιακού πληθυσμού να αποικοδομεί συγκεκριμένους ρύπους.

Φυτοεξυγίανση

❖ Περιλαμβάνει την προσθήκη ειδικών ειδών φυτών τα οποία έχουν την ικανότητα να βιοσυσσωρεύουν ρύπους (βαρέα μέταλλα, PAHs, κλπ.)

Φυσική εξασθένιση

❖ Βασίζεται σε φυσικές διαδικασίες για τη μείωση των συγκεντρώσεων των ρύπων σε αποδεκτά επίπεδα. Αυτές οι διεργασίες δύναται να περιλαμβάνουν:

- Βιοαποικοδόμηση
- Διασπορά
- Αραίωση
- Ρόφηση
- Εξάτμιση
- Σταθεροποίηση (χημική, βιολογική)

Ex-situ Τεχνολογίες Βιοεξυγίανσης

Βιοαντιδραστήρες

❖ Το ρυπασμένο έδαφος ή νερό τοποθετείται σε ειδικό κλειστό δοχείο όπου ρυθμίζονται βέλτιστα όλες οι συνθήκες για την ενίσχυση της βιοαποικοδόμησης των ρύπων

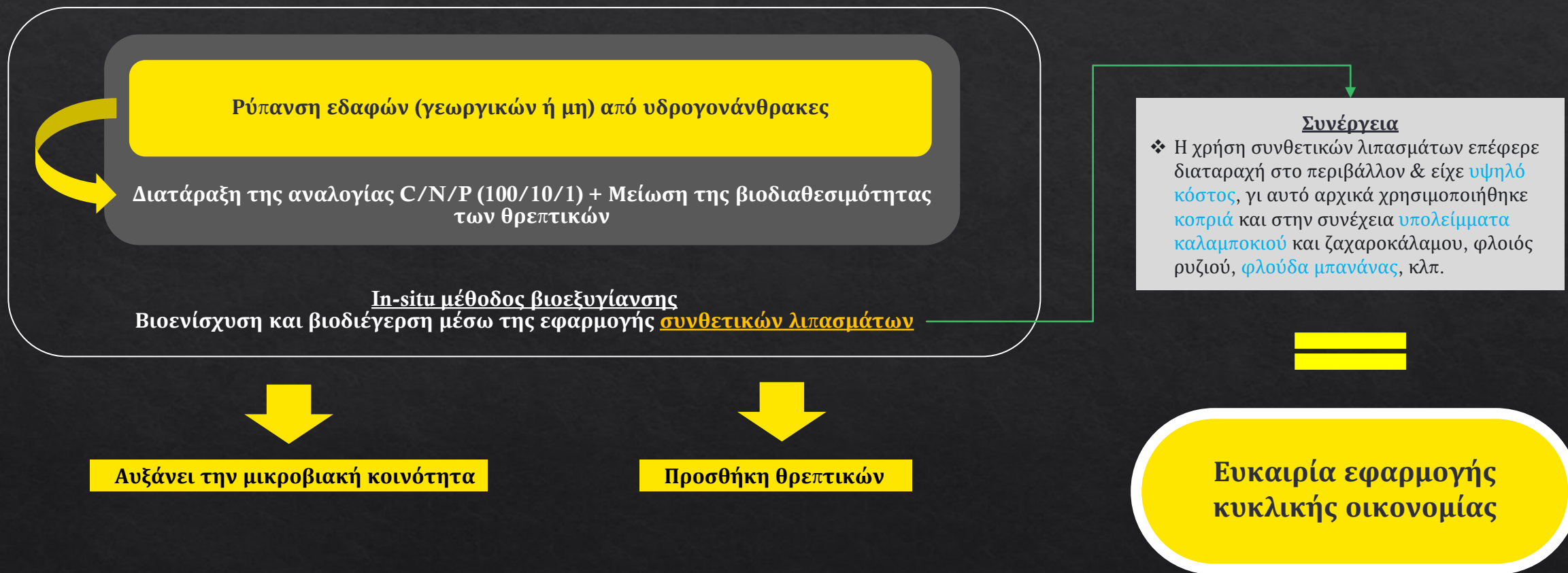
❖ Υποκατηγορία των βιοαντιδραστήριων είναι οι slurry-phase βιοαντιδραστήρες όπου στόχος είναι η δημιουργία ενός μείγματος νερού-στερεού.

Βιοσωροί

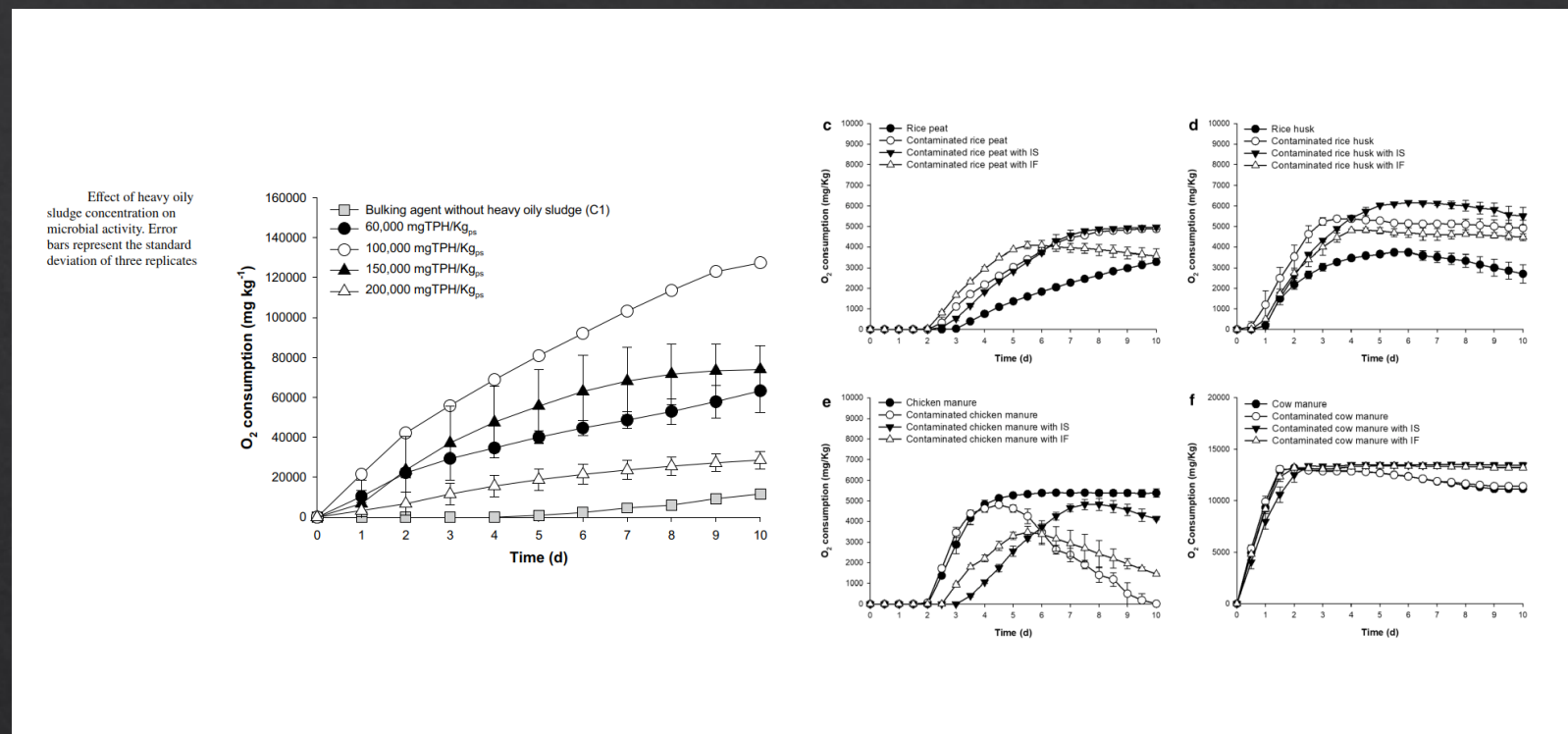
❖ Δημιουργία σωρών από ρυπασμένο έδαφος, οι οποίοι στη συνέχεια αερίζονται και επεξεργάζονται με θρεπτικά και ρύθμισης των περιβαλλοντικών συνθηκών για την ενίσχυση της βιοαποικοδόμησης των ρύπων.

❖ Υποκατηγορία των βιοσωρών είναι το landfarming όπου έχουμε διαφοροποίηση στην διάταξη.

Παράδειγμα συνέργειας στην αποκατάσταση ρυπασμένων εδαφών



Διαγραμματική απεικόνιση κατανάλωσης οξυγόνου ανά τύπο υποστρώματος



Παρατηρήσεις

- Στα διαγράμματα των φυσικών υποστρωμάτων υπάρχει μία αρχική περίοδος που διαρκεί από μερικές ώρες έως 2 ημέρες όπου οι μ/ο δεν έχουν ενεργοποιηθεί (ενώ αυτό δεν συμβαίνει στο αριστερό διάγραμμα).
- Στα δεξιά διαγράμματα υπάρχει ένα peak κατανάλωσης υποστρώματος περίπου στις 3-4 ημέρες όπου μετά υπάρχει μία σταθεροποίηση, το οποίο δεν συμβαίνει στο αριστερό διάγραμμα. Άρα, φτάνουν το μέγιστο ρυθμό πολύ πιο σύντομα.
- Στην πλειοψηφία των υποστρωμάτων, σε αυτά τα οποία αποτελούνται από μείγμα πετρελαίου – φυσικού υποστρώματος, οι μ/ο έχουν μεγαλύτερη ανάπτυξη για το ίδιο χρονικό διάστημα, σε σχέση με του αριστερού διαγράμματος.
- Επομένως, η ενίσχυση με φυσικά λιπάσματα μπορεί να βελτιώσει σημαντικά το ρυθμό αποικοδόμησης των μ/ο.

Πλεονεκτήματα & μειονεκτήματα της Βιοεξυγίανσης

Μειονεκτήματα	Πλεονεκτήματα
<ul style="list-style-type: none">▪ Η βιοεξυγίανση μπορεί να υλοποιηθεί σε βιοδιασπάσιμους ρύπους (π.χ. δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε χλωριωμένους υδρογονάνθρακες)	<ul style="list-style-type: none">▪ Η βιοεξυγίανση είναι μία φυσική μέθοδος η οποία είναι αποδεκτή από το ευρύ κοινό, με μεγάλη αποτελεσματικότητα στο πεδίο
<ul style="list-style-type: none">▪ Υπάρχει αναβρασμός σχετικά με το ότι τυχόν απόβλητα από την διαδικασία προκαλούν μεγαλύτερα προβλήματα στο περιβάλλον	<ul style="list-style-type: none">▪ Ένα μεγάλο εύρος ρύπων μπορεί να διαχειριστεί
<ul style="list-style-type: none">▪ Θα πρέπει να ρυθμίζονται συνεχώς οι συνθήκες για την βέλτιστη λειτουργία των μικροοργανισμών	<ul style="list-style-type: none">▪ Η μεταφορά του ρυπασμένου υποστρώματος ή η χρήση χημικών μέσω αυξάνουν το ρίσκο για περεταίρω ρύπανση ατυχηματικής φύσεως, κάτι που δεν είναι απαραίτητο να συμβεί
<ul style="list-style-type: none">▪ Σε περιοχές όπου υπάρχει ένα μείγμα από ρυπαντές με διαφορετική σύσταση και μορφή (υγρή, στερεή, κλπ.) απαιτείται ένα σύνολο μ/ο το οποίο είναι δύσκολο να εφαρμοστεί με αποτελεσματικότητα	<ul style="list-style-type: none">▪ Δύναται να έχει συνεργιστική δράση με το φυσικό περιβάλλον στο οποίο εφαρμόζεται και διαρκή αποτελέσματα σε αυτό (π.χ. τοπική αύξηση ζωοπλαγκτόν)
<ul style="list-style-type: none">▪ Απαιτείται μεγάλο χρονικό διάστημα για την βιοεξυγίανση γι αυτό και πολλές φορές πραγματοποιείται σε συνδυασμό με άλλα μέσα (εκσκαφή, καύση)	<ul style="list-style-type: none">▪ Είναι οικονομική επιλογή σε σχέση με τις υπόλοιπες μεθόδους

Σας ευχαριστώ πολύ για την προσοχή σας!