



Τεχνολογικό  
Πανεπιστήμιο  
Κύπρου

Σχολή Γεωτεχνικών  
Επιστήμων και Διαχείρισης  
Περιβάλλοντος

Μεταπτυχιακή διατριβή

**ΒΙΟΑΠΟΘΕΙΩΣΗ ΔΙΒΕΝΖΟΘΕΙΟΦΑΙΝΙΟΥ ΚΑΙ  
ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΥ ΑΠΟ ΝΕΟ ΑΠΟΜΟΝΩΜΕΝΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ  
*KLEBSIELLA SP. LAB***

**Ραφαέλα Κωνσταντίνου**

Λεμεσός, Μάιος 2017



ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΥΠΡΟΥ  
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΤΕΧΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ  
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

Μεταπτυχιακή διατριβή

ΒΙΟΑΠΟΘΕΙΩΣΗ ΔΙΒΕΝΖΟΘΕΙΟΦΑΙΝΙΟΥ ΚΑΙ  
ΠΕΤΡΕΛΑΙΟΥ ΑΠΟ ΝΕΟ ΑΠΟΜΟΝΩΜΕΝΟ ΣΤΕΛΕΧΟΣ

*KLEBSIELLA SP. LAB*

της

Ραφάελας Κωνσταντίνου

Λεμεσός, Μάιος 2017

## Έντυπο έγκρισης

Μεταπτυχιακή διατριβή

### **Βιοαποθείωση διβενζοθειοφαινίου και πετρελαίου από νέο απομονωμένο στέλεχος *Klebsiella* sp. LAB**

Παρουσιάστηκε από

Ραφαέλα Κωνσταντίνου

Επιβλέπων καθηγητής: Ιωάννης Βυρίδης

Υπογραφή \_\_\_\_\_

Μέλος επιτροπής: Μιχάλης Κουτίνας

Υπογραφή \_\_\_\_\_

Μέλος επιτροπής: Κώστας Ανδρέου

Υπογραφή \_\_\_\_\_

Τεχνολογικό Πανεπιστήμιο Κύπρου

Λεμεσός, Μάιος 2017

## **Πνευματικά δικαιώματα**

Copyright © Ραφαέλα Κωνσταντίνου, 2017

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Η έγκριση της μεταπτυχιακής διατριβής από το Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Περιβάλλοντος του Τεχνολογικού Πανεπιστημίου Κύπρου δεν υποδηλώνει απαραίτητως και αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα εκ μέρους του Τμήματος.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Επιβλέποντα Καθηγητή Δρ. Ιωάννη Βυρίδη, για την στήριξη και καθοδήγηση του καθ' όλη την διάρκεια διεκπεραίωσης της μεταπτυχιακής μου διατριβής. Επιπλέον τον ευχαριστώ για την εμπιστοσύνη που έδειξε στο πρόσωπο μου μέσα από την ανάθεση του συγκεκριμένου θέματος και για την διδακτική εμπειρία που μου προσέφερε. Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω στην διδακτορικό φοιτήτρια Μαρία Πάτσαλου για την πολύτιμη βοήθεια της στην εργαστηριακή εκπόνηση της εργασίας. Η συνεργασία μαζί της μου έδωσε την δυνατότητα να αποκτήσω γνώσεις στον εργαστηριακό τομέα και συνέβαλλε ευχάριστα στην ολοκλήρωση της εμπειρίας αυτής, καθιστώντας την εποικοδομητική. Ακόμη θα ήταν παράλειψη μου να μην ευχαριστήσω το προσωπικό της εταιρία Nortest, τόσο για το ενδιαφέρον που έδειξαν στην έρευνα μου όσο και για την παραχώρηση των εργαστηριακών τους χώρων για διεξαγωγή πειραμάτων. Τελειώνοντας, είμαι ευγνώμων σε όλους όσους με στήριξαν άμεσα ή έμμεσα να εκπληρώσω τον στόχο της μεταπτυχιακής διατριβής μου και να αντιμετωπίσω τις προκλήσεις που γέννησε η ιδέα αυτή.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα εργασία επικεντρώνει το ενδιαφέρον της σε μια χημική ουσία που ανήκει στην κατηγορία των πολυαρωματικών ετεροκυκλικών ενώσεων του θείου (PASHs) και χρησιμοποιείται συχνά ως μοντέλο σε μελέτες αποθείωσης, το διβενζοθειοφαίνιο (DBT). Η αντιμετώπιση της συγκεκριμένης ουσίας και όμοιες της, προτείνεται να γίνει με φυσικές μεθόδους όπως η βιοαποθείωση (BDS).

Σκοπός της εργασίας ήταν η απομόνωση μικροοργανισμού από περιβαλλοντικά δείγματα και η εύρεση της βέλτιστης κυτταρικής ανάπτυξη του σε καλλιέργειες με μόνη πηγή θείου και άνθρακα το DBT. Παράλληλα, προσδιορίστηκε η μέγιστη ποσότητα DBT και θείου από το πετρέλαιο που μπορεί να αποδομήσει ο μικροοργανισμός σε συγκεκριμένο χρονικό διάστημα.

Για την επίτευξη του σκοπού αυτού ακολουθήθηκε διαδικασία μικροβιολογικής απομόνωσης και ταυτοποίησης του μικροβιακού στελέχους. Πραγματοποιήθηκαν πειράματα υγρών καλλιεργειών, για την επιλογή του βέλτιστου μικροοργανισμού ανάμεσα σε πολλούς, με τις μετρήσεις να λαμβάνονται φασματοφωτομετρικά. Με την χρήση της HPLC, προέκυψε η μεταβολή της συγκέντρωσης του DBT με την πάροδο του χρόνου, παρουσίας των μικροοργανισμών. Επιπρόσθετα παρατηρήθηκε η ποσοστιαία μεταβολή του θείου, που σημείωσε ο επιλεγθέντας μικροοργανισμός σε δείγμα πετρελαίου diesel, με την βοήθεια του XRF.

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από την ολοκλήρωση του πειραματικού μέρους, έδειξαν πως ο βέλτιστος μικροοργανισμός που απομονώθηκε από δείγμα αερόβιας λάσπης, είναι στέλεχος του γένους *Klebsiella*. Ο εν λόγω μικροοργανισμός, όσον αφορά την βιοδιάσπαση του DBT παρουσίασε ολική απομάκρυνση αυτού σε διάστημα 192 ωρών με αρχική συγκέντρωση DBT 540 mg/L. Σε πετρελαίου diesel 0.206% S κ.β, μείωσε την περιεκτικότητα του δείγματος σε θείο κατά 10,19% σε διάστημα 144 ωρών.

**Λέξεις κλειδιά:** διβενζοθειοφαίνιο, βιοαποθείωση, *Klebsiella* sp, θείο, πετρέλαιο.

## ABSTRACT

This thesis focuses on dibenzothiophene (DBT), a chemical substance that belongs to the category of polycyclic aromatic sulfur heterocycles (PASHs) and is often used as a model compound for desulfurization studies. The pollution caused by DBT and other similar substances is proposed to be achieved by using physical methods, such as biodesulfurization (BDS).

The purpose of this paper is the isolation of a microorganism from environmental samples and finding the optimum cell growth in DBT cultures, as sulfur and carbon sources. Furthermore, the process of DBT and sulfur in the diesel oil biodegradation was investigated and the maximum quantity that can be departed by the microorganisms in a given period of time was determined as part of this thesis.

In order to achieve the isolation of the microorganism, a procedure was followed that is based on various microbiological processes followed by the identification of the strain. Liquid cultures experiments were conducted to select optimal microorganism by many, with measurements being spectrophotometrically. The decay time was studied using the HPLC, which showed a variation in the concentration of DBT by the isolated microorganisms over time. Additionally, the percent changes in sulfur observed by the selected microorganism in a sample of petroleum oil with XRF was observed.

The results obtained after the completion of the experimental part of this thesis have shown that the optimal isolated microorganism from aerobic sludge, is a strain of the genus *Klebsiella*. This specific microorganism, regarding DBT biodegradation, showed total removal of DBT over 144 hours, with initial concentration of DBT in 540 mg/L. Also, it was observed that the reduction of sulfur in diesel oil from the microorganism at a rate of 10.19% over 144 hours.

**Keywords:** dibenzothiophene, biodesulfurization, *Klebsiella* sp, sulfur, petroleum oil.