



Πολυτεχνείο Κρήτης
Σχολή Χημικών Μηχανικών
και Μηχανικών Περιβάλλοντος

ΤΥΧΗ ΦΙΛΜ ΥΨΗΛΗΣ ΠΥΚΝΟΤΗΤΑΣ
ΠΟΛΥΑΙΘΥΛΕΝΙΟΥ (HDPE) ΚΑΙ ΦΙΛΜ
ΠΟΛΥΓΑΛΑΚΤΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ (PLA) ΣΕ ΕΔΑΦΗ
ΑΓΡΟΚΑΛΛΙΕΡΓΙΩΝ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
ΤΗΣ
ΧΡΟΝΗ ΕΛΛΗ

ΧΑΝΙΑ ΑΠΡΙΛΙΟΣ 2024



ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

ΣΧΟΛΗ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΚΑΙ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΙΟΧΗΜΙΚΗΣ ΜΗΧΑΝΙΚΗΣ

& ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΗΣ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ

ΤΥΧΗ ΦΙΛΜ ΥΨΗΛΗΣ ΠΥΚΝΟΤΗΤΑΣ
ΠΟΛΥΑΙΘΥΛΕΝΙΟΥ (HDPE) ΚΑΙ ΦΙΛΜ
ΠΟΛΥΓΑΛΑΚΤΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ (PLA) ΣΕ ΕΔΑΦΗ
ΑΓΡΟΚΑΛΛΙΕΡΓΙΩΝ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
ΤΗΣ
ΧΡΟΝΗ ΕΛΛΗ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΚΑΛΟΓΕΡΑΚΗΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ (ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ)

ΑΝ. ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΒΕΝΙΕΡΗ ΔΑΝΑΗ

DR. ΣΥΡΑΝΙΔΟΥ ΕΥΔΟΚΙΑ

Απαγορεύεται η αντιγραφή, αποθήκευση και διανομή της παρούσας εργασίας, εξ ολοκλήρου ή τμήματος αυτής, για εμπορικό σκοπό. Επιτρέπεται η ανατύπωση, αποθήκευση και διανομή για μη κερδοσκοπικό σκοπό, εκπαιδευτικού ή ερευνητικού χαρακτήρα, με την προϋπόθεση να αναφέρεται η πηγή προέλευσης. Ερωτήματα που αφορούν τη χρήση της εργασίας για άλλη χρήση θα πρέπει να απευθύνονται προς το συγγραφέα. Οι απόψεις και τα συμπεράσματα που περιέχονται σε αυτό το έγγραφο εκφράζουν τον συγγραφέα και δεν πρέπει να ερμηνευθεί ότι αντιπροσωπεύουν τις επίσημες θέσεις του Πολυτεχνείου Κρήτης.

Ευχαριστίες

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Νικόλαο Καλογεράκη, επιβλέποντα καθηγητή της παρούσας διπλωματικής εργασίας, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε στην ανάθεση της εργασίας και για την άριστη συνεργασία.

Επίσης να ευχαριστήσω την κ. Δανάη Βενιέρη, μέλος της τριμελούς επιτροπής, για το χρόνο που αφιέρωσε για την ανάγνωση και αξιολόγηση της διπλωματικής μου εργασίας

Στη συνέχεια θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την Dr. Συρανίδου Ευδοκία, μέλος της τριμελούς επιτροπής, με την οποία συνεργάστηκα στενά καθ' όλη την διάρκεια της διπλωματικής αυτής εργασίας. Η Dr Συρανίδου, ήταν ένας καθοριστικός παράγοντας για την εκπόνηση της διπλωματικής εργασίας μου, καθώς ήταν πρόθυμη πάντα με βοηθήσει να μου λύσει όλες τις απορίες και να με κατευθύνει.

Ένα ειλικρινές και μεγάλο ευχαριστώ, χρωστάω στην υποψήφια Διδάκτωρ, Καρκανοραχάκη Αικατερίνη η οποία πάντα με καλή διάθεση με βοήθησε ανιδιοτελώς σε πολλές από τις μετρήσεις του πειράματος μου.

Ευχαριστώ ακόμα, όλα τα μέλη του εργαστηρίου Βιοχημικής Μηχανικής και Περιβαλλοντικής Βιοτεχνολογίας του Πολυτεχνείου Κρήτης, και τη Πετρούλα Σερίδου για την βοήθειά της στο εργαστήριο.

Ένα τεράστιο ευχαριστώ στην οικογένεια μου και στους φίλους μου, για την υποστήριξη στην διάρκεια των σπουδών μου.

Περίληψη

Το πλαστικό είναι ένα υλικό που είναι αναπόσπαστο κομμάτι της σύγχρονης ζωής. Ωστόσο, παρόλα τα πλεονεκτήματά του, θεωρείται ως ένας από τους σημαντικότερους ρυπαντές του περιβάλλοντος, με επιπτώσεις οικολογικές όπως και στους ζωντανούς οργανισμούς. Η επίδραση των πλαστικών στα θαλάσσια οικοσυστήματα έχει μελετηθεί σε αντίθεση με τα χερσαία οικοσυστήματα. Τα πλαστικά χρησιμοποιούνται ευρέως στον τομέα των αγροκαλλιιεργειών, ως υλικό για τα γεφυφάσματα, σαν επένδυση των θερμοκηπίων και σε διάφορες άλλες δραστηριότητες, με αποτέλεσμα θραύσματα πλαστικού να καταλήγουν στο έδαφος. Μια καινούργια λύση στο χρόνιο πρόβλημα της ρύπανσης από τα πλαστικά, θεωρείται η χρήση των βιοπλαστικών. Τα βιοπλαστικά είναι πολυμερή κατασκευασμένα από ανανεώσιμες πρώτες ύλες και μπορούν να είναι βιοαποδομήσιμα, χωρίς να σημαίνει ότι όλα τα βιοπλαστικά είναι βιοαποδομήσιμα.

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η μελέτη της ικανότητας των μικροοργανισμών, που συλλέχθηκαν από το έδαφος αγροκαλλιέργειας ελιάς, από την περιοχή της Πολυτεχνειούπολης Κουνουπιδιανών Χανίων και από το έδαφος αγροκαλλιέργειας ντομάτας, από τις περιοχές της Φαλάσαρνας Χανίων, να βιοαποδομήσουν φιλμ πολυαιθυλενίου υψηλής πυκνότητας (HDPE) και φιλμ πολυγαλακτικού οξέος (PLA). Συγκεκριμένα μελετήθηκε η βιοποδόμηση των φιλμ χωρίς την επίδραση της ηλιακής ακτινοβολίας στο χερσαίο περιβάλλον, καθώς τα φιλμ θάφτηκαν κάτω από την επιφάνεια του εδάφους. Η διάρκεια του πειράματος ήταν περίπου 6 μήνες (168 ημέρες) και αναλύθηκαν 48 δείγματα φιλμ HDPE και 48 φιλμ PLA. Πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις που αφορούσαν το βιοφίλμ (έκταση βιοφίλμ, πρωτεΐνες, μέτρηση κυττάρων), φασματοσκοπία υπέρυθρου με την τεχνική της αποσβένουσας ολικής ανάκλασης και συγκέντρωσης συνολικού οργανικού άνθρακα (TOC).

Οι μικροοργανισμοί των δύο αγροκαλλιιεργειών αναπτύχθηκαν στην επιφάνεια του πολυαιθυλενίου υψηλής πυκνότητας και του πολυγαλακτικού οξέος. Παρόλο που οι μετρήσεις δεν έδειξαν κάποιο μοτίβο σταθερής ανάπτυξης, οι διαφορές που εντοπίστηκαν στα δείγματα εδάφους ελιάς και στα δείγματα εδάφους ντομάτας, υποδεικνύουν πόσο σημαντικό είναι το περιβάλλον και οι παράμετροι του για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Επιπλέον, το βιοπλαστικό PLA, δεν έδειξε να αποδομείται ευκολότερα από τα δείγματα HDPE, γεγονός που υπογραμμίζει ότι παρόλο που θεωρείται βιοαποδομήσιμο πλαστικό αν δεν υπάρχουν οι κατάλληλες συνθήκες που ευνοούν την αποδόμηση του από μικροοργανισμούς, θα παραμείνει στο έδαφος χωρίς να υποστεί πολλές αλλαγές για μεγάλο χρονικό διάστημα.

Abstract

Plastic is a material that is an integral part of modern life. However, despite its advantages, it is considered as one of the most important pollutants of the environment, with ecological effects as well as on organisms. The impact of plastics on marine ecosystems has been studied in contrast to terrestrial ecosystems. Plastics are widely used in agriculture, as material for geotextiles, as greenhouse linings and in various other activities, resulting in plastic fragments ending up in the soil. A new solution to the chronic problem of plastic pollution is the use of bioplastics. Bioplastics are polymers made from renewable raw materials and can be biodegradable, however not all bioplastics are biodegradable.

The purpose of this thesis is to study the ability of microorganisms, collected from the olive farming soil from the area of Technical University of Crete campus at Chania and the tomato farming soil from Falasarna Chania, to biodegrade high density polyethylene film (HDPE) and polylactic acid (PLA) film. In particular, the biodegradation of the films was studied without the influence of solar radiation in soil microcosms, as the films were buried under the soil surface. The duration of the experiment was about 6 months (168 days) and 48 samples of HDPE films and 48 PLA films were analyzed. For this thesis several measurements were performed such as biofilm-related measurements (biofilm area, proteins, cell count), ATR-FTIR, total organic carbon (TOC) concentration.

The microorganisms of the two agricultures soil were grown on the surface of high-density polyethylene and polylactic acid. Although the measurements did not show any consistent growth pattern, the differences detected in the olive soil samples and the tomato soil samples indicate how important the environment and its parameters are for the growth of microorganisms. In addition, the PLA bioplastic did not appear to degrade more easily than the HDPE samples, which underlines that although it is considered a biodegradable plastic if there are not the right conditions that favor its degradation by microorganisms, it will remain in the soil without undergoing many changes.

Κατάλογος εικόνων

Εικόνα 1.1 Πλαστικά (πηγή: https://www.invaber.com/plastic-raw-materials)	1
Εικόνα 1.2 Χαρακτηρισμός Πολυμερών (πηγή: https://semesters.in/what-are-polymers-and-classification-of-polymers-notes-pdf-ppt/)	3
Εικόνα 1.3 Κώδικας αναγνώρισης Ρητίνης (https://en.wikipedia.org/wiki/Resin_identification_code)	4
Εικόνα 1.4 Παραγωγή πλαστικών σε διαφορετικούς τομείς (https://ourworldindata.org/plastic-pollution)	5
Εικόνα 1.5 Αποδόμηση πολυμερούς από μικροοργανισμό (https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-018-1234-9/figures/1)	8
Εικόνα 1.6 επίδραση των μικροπλαστικών στις παραμέτρους του εδάφους, τους οργανισμούς του εδάφους, τα φυτά και τους μικροοργανισμούς και την προσρόφηση ιόντων (Yu et al. 2022))	12
Εικόνα 1.7: κατηγορίες βιοπλαστικών (Ashter 2016)	15
Εικόνα 1.8 Κατηγορίες βιοπλαστικών βάση πρώτης ύλης (Lisitsyn et al. 2021)	16
Εικόνα 1.9 Μέθοδος παραγωγής του PLA (Mann et al. 2021)	18
Εικόνα 1.10 Καταναλωτές βιοπλαστικού (Kab 2010)	19
Εικόνα 3.1 Δείγματα φιλμ HDPE και PLA μετά από τον ψεκασμό με την αιθανόλη	26
Εικόνα 3.2 Δειγματοληψία φιλμ PLA	29
Εικόνα 3.3 Δείγμα αιθανόλης με crystal violet μετά από αραιώσεις	30
Εικόνα 3.4 Δείγματα βιοφίλμ με Quick Start™ Bradford 1x Dye Reagent	31
Εικόνα 3.5 Καθαρισμός φιλμ με υπερήχους, μέτρηση απορρόφησης φιλμ PLA	34
Εικόνα 3.6 Κυτταρόμετρο CytoFLEX (https://www.beckman.com/flow-cytometry/research-flow-cytometers/cytoflex)	35
Εικόνα 3.7 Multi N/C 2100S (Series n.d.)	36
Εικόνα 4.1 Στάδια Ανάπτυξης του βιοφίλμ σε αβιοτική επιφάνεια (Abdallah et al. 2014)	37
Εικόνα 4.2 Περιοχές εμφάνισης των χαρακτηριστικών ομάδων το IR φάσμα (Wade, Jr. 2003)	53

Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 3.1 Εργαστηριακός εξοπλισμός	24
Πίνακας 3.2 Συσκευές εργαστηρίου	24
Πίνακας 3.3 Ουσίες	25
Πίνακας 3.4 Υπολογισμός Υγρασίας Εδάφους Ελιάς	27
Πίνακας 3.5 Υπολογισμός Υγρασίας Εδάφους Ντομάτας	27
Πίνακας 3.6 Μέτρηση pH για τα δύο εδαφών	27

Κατάλογος Διαγραμμάτων

Διάγραμμα 4.1 Εκτίμηση του βιοφίλμ στα HDPE και PLA φιλμς για το έδαφος ελιάς.....	38
Διάγραμμα 4.2 Μέτρηση οπτικής απορρόφησης για δείγματα HDPE και PLA για το έδαφος ντομάτας	39
Διάγραμμα 4.3 Μέτρηση οπτικής απορρόφησης για δείγματα HDPE για το έδαφος ελιάς και ντομάτας	40
Διάγραμμα 4.4 Μέτρηση οπτικής απορρόφησης για δείγματα PLA για το έδαφος ελιάς και ντομάτας	41
Διάγραμμα 4.5 Συγκέντρωση πρωτεϊνών σε δείγματα PLA-HDPE στο έδαφος ελιάς	42
Διάγραμμα 4.6 Συγκέντρωση πρωτεϊνών σε δείγματα PLA-HDPE στο έδαφος ντομάτας.....	43
Διάγραμμα 4.7 Συγκέντρωση πρωτεϊνών σε δείγματα HDPE στο έδαφος ελιάς και ντομάτας	44
Διάγραμμα 4.8 Συγκέντρωση πρωτεϊνών σε δείγματα PLA στο έδαφος ελιάς και ντομάτας	45
Διάγραμμα 4.9 Συγκέντρωση κυττάρων στα δείγματα HDPE και PLA στο έδαφος ελιάς ..	46
Διάγραμμα 4.10 Συγκέντρωση κυττάρων στα δείγματα HDPE και PLA στο έδαφος ντομάτας	47
Διάγραμμα 4.11 Συγκέντρωση κυττάρων στα δείγματα HDPE στο έδαφος ελιάς και ντομάτας	48
Διάγραμμα 4.12 Συγκέντρωση κυττάρων στα δείγματα PLA στο έδαφος ελιάς και ντομάτας	49
Διάγραμμα 4.13 Συγκέντρωση TOC στους μικρόκοσμους εδάφους ελιάς για τα δείγματα HDPE και PLA	50
Διάγραμμα 4.14 Συγκέντρωση TOC στους μικρόκοσμους εδάφους ντομάτας για τα δείγματα HDPE και PLA.....	51
Διάγραμμα 4.15 Συγκέντρωση TOC στους μικρόκοσμους εδάφους ελιάς και ντομάτας για τα δείγματα HDPE	51
Διάγραμμα 4.16 Συγκέντρωση TOC στους μικρόκοσμους εδάφους ελιάς και ντομάτας για τα δείγματα PLA.....	52
Διάγραμμα 4.17 Φασματοσκοπία δειγμάτων HDPE σε έδαφος ελιάς.....	54
Διάγραμμα 4.18 Φασματοσκοπία δειγμάτων HDPE σε έδαφος ντομάτας	55
Διάγραμμα 4.19 Φασματοσκοπία δειγμάτων PLA σε έδαφος ελιάς	56
Διάγραμμα 4.20 Φασματοσκοπία δειγμάτων PLA σε έδαφος ντομάτας.....	56
Διάγραμμα 4.21 Φασματοσκοπία δειγμάτων HDPE που βρίσκονται εκτός του εδάφους από μικροκόσμο εδάφους ελιάς.	57
Διάγραμμα 4.22 Φασματοσκοπία δειγμάτων HDPE που βρίσκονται εκτός του εδάφους από μικροκόσμο εδάφους ντομάτας	57
Διάγραμμα 4.23 Φασματοσκοπία δειγμάτων PLA που βρίσκονται εκτός του εδάφους από μικροκόσμο εδάφους ελιάς.....	58
Διάγραμμα 4.24 Φασματοσκοπία δειγμάτων PLA που βρίσκονται εκτός του εδάφους από μικροκόσμο εδάφους ντομάτας.	59
Διάγραμμα 4.25 Φασματοσκοπία δειγμάτων HDPE από έδαφος ελιάς σε βάθος 5-15 cm.	59
Διάγραμμα 4.26 Φασματοσκοπία δειγμάτων HDPE από έδαφος ντομάτας σε βάθος 5-15 cm.....	60

Διάγραμμα 4.27 Φασματοσκοπία δειγμάτων PLA από έδαφος ελιάς σε βάθος 5-15 cm. .61	
Διάγραμμα 4.28 Φασματοσκοπία δειγμάτων PLA από έδαφος τομάτας σε βάθος 5-15 cm.61	

Περιεχόμενα

1	Εισαγωγή.....	1
1.1	Πλαστικά.....	1
1.1.1	Ιστορικά Στοιχεία	1
1.1.2	Πολυμερή	3
1.1.3	Κώδικας Αναγνώρισης Ρητίνης.....	4
1.2	Στατιστικά Στοιχεία για την Παραγωγή Πλαστικών	5
1.2.1	Μικροπλαστικά	6
1.3	Αποδόμηση Πλαστικών	6
1.3.1	Φωτοαποδόμηση.....	6
1.3.2	Θερμική οξείδωση.....	7
1.3.3	Υδρόλυση	7
1.3.4	Βιοαποδόμηση.....	8
1.3.5	Αποδόμηση πλαστικών στο έδαφος	9
1.4	Πολυαιθυλένιο(PE)	9
1.4.1	Πολυαιθυλένιο υψηλής πυκνότητας	10
1.4.2	Φωτοποδόμηση πολυαιθυλενίου	10
1.4.3	Βιοαποδόμηση πολυαιθυλενίου	10
1.4.4	Βιοφίλμ	11
1.5	Επιπτώσεις πλαστικών στο έδαφος αγροκαλλιιεργειών	12
1.5.1	Επιπτώσεις στο έδαφος.....	12
1.5.2	Επιπτώσεις στην πανίδα του εδάφους.....	13
1.5.3	Επιπτώσεις στα φυτά.....	14
1.5.4	Οικολογικές επιπτώσεις	14
1.5.5	Επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία	14
1.6	Βιοπλαστικά.....	15
1.6.1	Ιστορικά στοιχεία	15
1.6.2	Κατηγορίες Βιοπλαστικών.....	16
1.6.3	Φυσικά Βιοπολυμερή.....	16
1.6.4	Συνθετικά βιοπολυμερή	17
1.6.5	Στατιστικά στοιχεία.....	19
1.6.6	Αποδόμηση βιοπλαστικών.....	20
1.6.7	Αποδόμηση PLA.....	20
1.6.8	Αποδόμηση PLA στο έδαφος.....	21
1.6.9	Επιπτώσεις βιοπλαστικών στο έδαφος	21
2	Σκοπός Εργασίας	22

3	Υλικά και Μέθοδοι	24
3.1	Υλικά	24
3.2	Μέθοδοι	26
3.2.1	Προετοιμασία Πειράματος.....	26
3.2.2	Δειγματοληψία	29
3.2.3	Χρώση δειγμάτων με κρυσταλλικό ιώδες (sample staining with crystal violet) 30	
3.2.4	Μέτρηση Κυττάρων	30
3.2.5	Προσδιορισμός ολικών πρωτεϊνών	31
3.2.6	Απορρόφηση του φωτός.....	32
3.2.7	Φασματοφωτόμετρο ορατού-υπεριώδους (UV-VIS).....	32
3.2.8	Φασματοσκοπία Υπέρυθρου με την τεχνική της Αποσβένουσας Ολικής Ανάκλασης (Attenuated Total Reflection, ATR).....	32
3.2.9	Κυτταρομετρία ροής (Κυτταρόμετρο CytoFLEX)	34
3.2.10	Μέτρηση pH του εδάφους.....	35
3.2.11	Μέτρηση ολικού οργανικού άνθρακα (TOC).....	36
4	Αποτελέσματα και Συζήτηση.....	37
4.1	Βιοφίλμ	37
4.1.1	Ποσοτικός προσδιορισμός ανάπτυξης του βιοφίλμ	37
4.1.2	Προσδιορισμός Εξωκυτταρικών πολυμερικών ουσιών.....	42
4.1.3	Μέτρηση κυττάρων	46
4.2	Ολικός οργανικός άνθρακας TOC	50
4.3	Φασματοσκοπία Υπέρυθρου με την τεχνική της Αποσβένουσας Ολικής Ανάκλασης (Attenuated Total Reflection, ATR)	53
5	Συμπεράσματα	62
6	Βιβλιογραφία.....	66

1 Εισαγωγή



Εικόνα 1.1 Πλαστικά (πηγή: <https://www.invaber.com/plastic-raw-materials>)

1.1 Πλαστικά

Πλαστικά είναι μια ομάδα συνθετικών ή φυσικών υλικών που έχουν την ικανότητα να σχηματιστούν όταν είναι μαλακά και στην συνέχεια να σκληρύνουν ώστε να διατηρήσουν το δοσμένο σχήμα (MELVILLE 1949). Μπορούν να παραχθούν από ορυκτά υλικά όπως το πετρέλαιο, το φυσικό αέριο και τον άνθρακα, καθώς και από ανανεώσιμες πρώτες ύλες (Plastics Europe-Association of Plastics Manufactures 2020). Ενώ το κάθε πολυμερές έχει τα δικά του μοναδικά χαρακτηριστικά, σαν ομάδα εμφανίζουν κάποιες κοινές ιδιότητες, όπως το ότι είναι ανθεκτικά στα χημικά, δεν είναι καλοί αγωγοί της θερμότητας και του ηλεκτρισμού, έχουν μικρό βάρος αλλά είναι ανθεκτικά και μπορούν να επεξεργαστούν σε διαφορετικές μορφές (φύλλα, ίνες, αφρός) (MELVILLE 1949). Τα παραπάνω χαρακτηριστικά καθιστούν το πλαστικό ένα από τα υλικά που η παραγωγή του αυξάνεται κάθε χρόνο παγκοσμίως, καθώς έχει εφαρμογές σε πολλές βιομηχανίες. (Plasctic Europe-Association of Plastics Manufactures 2020). Οι δύο βασικές κατηγορίες στις οποίες κατατάσσονται τα πλαστικά είναι τα θερμοπλαστικά και τα θερμοσκληραινόμενα πλαστικά. Τα θερμοπλαστικά παραμορφώνονται όταν θερμανθούν και διατηρούν το δοσμένο σχήμα όταν ψυχθούν, μια διαδικασία που μπορεί να επαναληφθεί πολλές φορές (PlascticEurope-Association of Plastics Manufactures 2020). Τα θερμοσκληραινόμενα πλαστικά σχηματίζονται από ένα αρχικά υγρό διάλυμα που μέσω θέρμανσης σκληραίνει και γίνεται στερεό, χωρίς να μπορεί να αλλάξει (Pascault and Williams 2013). Τα πιο διαδεδομένα θερμοπλαστικά είναι το πολυαιθυλένιο (PE), το πολυπροπυλένιο (PP), το πολυβινυλοχλωρίδιο (PVS), το πολυστυρένιο (PS), το τереφθαλικό πολυαιθυλένιο (PET), τα θερμοπλαστικά ελαστομερή (TPE) και άλλα. Τα πιο ευρέως γνωστά θερμοσκληραινόμενα πλαστικά είναι η εποξική ρητίνη, η ακρυλική ρητίνη, η σιλικόνη, η πολυουρεθάνη (PUR), η φαινολική ρητίνη και άλλα (PlascticEurope-Association of Plastics Manufactures 2020).

1.1.1 Ιστορικά Στοιχεία

Τα φυσικά πολυμερή υπάρχουν εδώ και αρκετούς αιώνες στην φύση, οι πρώτες αναφορές για φυσικά πλαστικά, όπως κέρατα ζώων και κελύφη χελώνας, χρονολογούνται

το 1284 (https://www.bpf.co.uk/plastipedia/plastics_history/default.aspx). Το πρώτο πλαστικό υλικό δημιουργήθηκε το 1862 από τον Parkes από τον οποίο πήρε το όνομα Parkesine γνωστό ως κυτταρίνη, που προκύπτει από την προσθήκη καμφοράς σε νιτροκυτταρίνη, και μέχρι το 1900 η κύρια του χρήση ήταν ως φιλμ κινηματογράφου. Το πρώτο συνθετικό πλαστικό γνωστό ως Βακελίτης (Bakelite) δημιουργήθηκε από τον Baekeland το 1907 μέσω της διαδικασίας πολυσυμπύκνωσης φαινόλης με φορμαλδεΐδη. Η μαζική παραγωγή του Βακελίτη ξεκίνησε το 1909 και σήμανε την αρχή της βιομηχανίας των πλαστικών (Feldman 2008). Η εκτεταμένη χρήση των πλαστικών ξεκίνησε με τον δεύτερο παγκόσμιο πόλεμο, όπου σπάνια φυσικά υλικά αντικαταστάθηκαν από το πλαστικό, με αποτέλεσμα στις Ηνωμένες Πολιτείες η παραγωγή του πλαστικού να αυξηθεί κατά 300%. Χαρακτηριστικά παραδείγματα είναι η αντικατάσταση του μεταξιού από νάilon στα αλεξιπτώτα, στις στολές στα σχοινιά και η αντικατάσταση του γυαλιού με πλεξιγκλάς στα αεροσκάφη (<https://www.sciencehistory.org/the-history-and-future-of-plastics>). Η εκτόξευση της χρήσης πλαστικών συνεχίστηκε και μετά τον πόλεμο όπου νεότερα είδη πλαστικού χρησιμοποιούνταν καθημερινά. Παρακάτω θα αναφερθεί συνοπτικά η εξέλιξη των πλαστικών υλικών στο πέρασ του χρόνου.

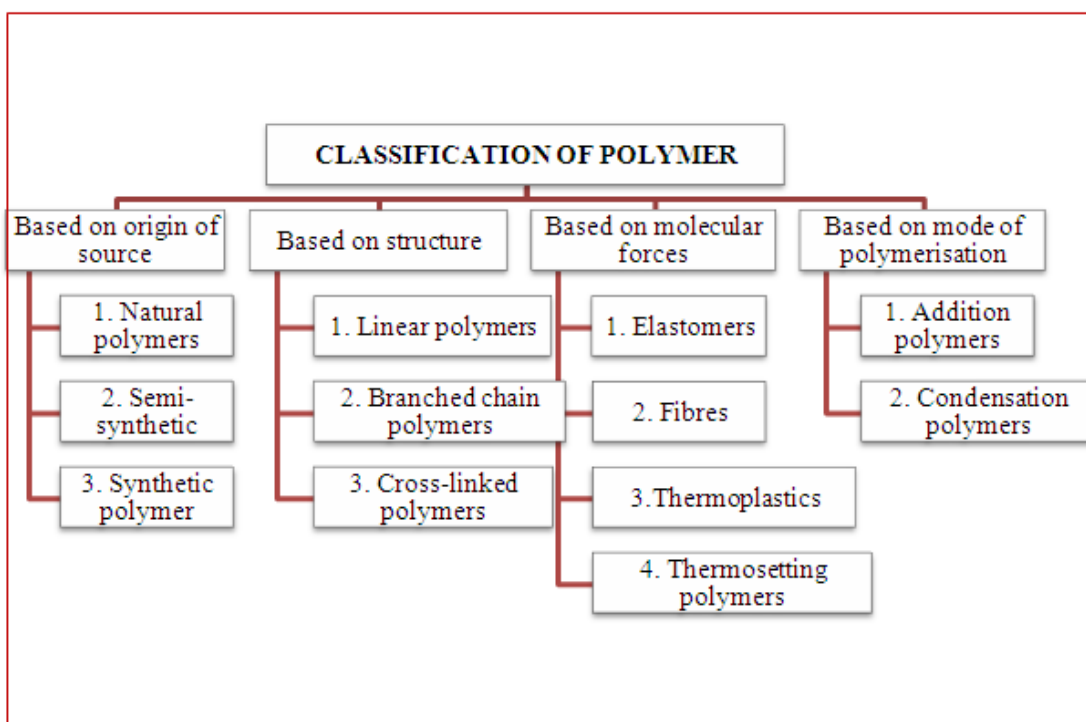
- Το 1839 εφευρέθηκε το φυσικό καουτσούκ από τον Charles Goodyear
- Το 1843 εφευρέθηκε ο εβονίτης από τον Thomas Hancock
- Το 1843 εφευρέθηκε η γουταπέρκα από τον William Montgomerie
- Το 1856 εφευρέθηκε το Shellac από τους Alfred Critchlow and Samuel Peck.
- Το 1856 εφευρέθηκε το Bois durci από τον Francois Charles Lepage
- Το 1839 εφευρέθηκε το πολυστυρένιο από τον Eduard Simon
- Το 1862 εφευρέθηκε το Parkesine από τον Alexander Parkes
- Το 1863 εφευρέθηκε η νιτρική κυτταρίνη από τον John Wesley Hyatt
- Το 1872 εφευρέθηκε το πολυβινυλοχλωρίδιο (PVC) από Eugen Baumann
- Το 1895 εφευρέθηκε η βισκόζη από τους Charles Frederick Cross και Edward John Bevan.
- Το 1908 εφευρέθηκε το σελοφάν από τον Jacques E. Brandenberger
- Το 1907 εφευρέθηκε ο Βακελίτης από τον Leo Hendrik Baekeland
- Το 1926 εφευρέθηκε το βινύλιο από τον Walter Semon
- Τα 1933 εφευρέθηκε το πολυβινυλιδενοχλωρίδιο από τον Ralph Wiley
- Το 1935 εφευρέθηκε το χαμηλής πυκνότητας πολυαιθυλαίνιο (LDPE) από τους Reginald Gibson and Eric Fawcett
- Το 1936 εφευρέθηκε το ακρυλικό
- Το 1937 εφευρέθηκαν οι πολυουρεθάνες από τον Otto Bayer και του συνεργάτες του
- Το 1938 το πολυστυρένιο άρχισε να χρησιμοποιείται ευρέως
- Το 1938 εφευρέθηκε το πολυτετραφθοροαιθυλενίο (PTFE / εμπορική ονομασία teflon) από τον Roy Plunkett
- Το 1939 εφευρέθηκαν το νάilon και το νεοπροπάνιο από τον Wallace Hume Carothers
- Το 1941 εφευρέθηκε το αιθυλενοτερεφθαλικού (Pet) από τους Whinfield και Dickson
- Το 1942 εφευρέθηκε ο ακόρεστος πολυεστέρας (PET) από τους John Rex Whinfield και James Tennant Dickson

- Το 1951 εφευρέθηκε το υψηλής πυκνότητας πολυαιθυλένιο (HDPE) και το πολυπροπυλένιο(PP) από τους Paul Hogan και Robert Banks
- Το 1953 ξεκίνησε η εμπορική διάθεση του Saran Wrap
- Το 1954 εφευρέθηκε το Styrofoam από τον Ray McIntire
- Το 1964 εφευρέθηκε η πολυιμιδική
- Το 1970 εφευρέθηκε ο θερμοπλαστικός πολυεστέρας
- Το 1978 εφευρέθηκε το γραμμικό πολυαιθυλένιο χαμηλής πυκνότητας
- Το 1985 εφευρέθηκαν τα Liquid Crystal Polymers

(<https://www.thoughtco.com/history-of-plastics-1992322>)

1.1.2 Πολυμερή

Πολυμερή, ονομάζονται πολύ υψηλής μοριακής μάζας χημικές οντότητες, οι οποίες δομούνται από πολλές επαναλαμβανόμενες μονάδες μικρής μοριακής μάζας, που ονομάζονται μονομερή (Cassen 1977).



Εικόνα 1.2 Χαρακτηρισμός Πολυμερών (πηγή: <https://semesters.in/what-are-polymers-and-classification-of-polymers-notes-pdf-ppt/>)


Τα πολυμερή μπορούν να κατηγοριοποιηθούν με διαφορετικούς τρόπους:

- 1) Βάση προέλευσης: Φυσικά (πρωτεΐνες), Συνθετικά (πολυαιθυλένιο), Ημι-συνθετικά
- 2) Βάση της δομής: Γραμμικά (PVC), Με διακλαδώσεις (LDPE), Σταυροειδή (Βακελίτης)
- 3) Βάση των μοριακών δυνάμεων: Ελαστομερή, Θερμοπλαστικά (πολυεστυρένιο), Θερμοσκληραινόμενα (Βακελίτης), Ίνες (νάιλον)
- 4) Βάση της μεθόδου πολυμερισμού: Πολυμερή προσθήκης, Πολυμερή συμπύκνωσης (Sharma 2021)

Παρόλο που κάθε πολυμερές έχει μοναδικά χαρακτηριστικά, εμφανίζουν κάποιες κοινές ιδιότητες, είναι ανθεκτικά στα χημικά, είναι μονωτές της θερμότητας και του

ηλεκτρισμού, έχουν μικρό βάρος και ποικίλους βαθμούς αντοχής, μπορούν να επεξεργαστούν με διάφορους τρόπους (MELVILLE 1949).

1.1.3 Κώδικας Αναγνώρισης Ρητίνης

Resin Identification Number	Resin	Resin Identification Code -Option A	Resin Identification Code -Option B
1	Poly(ethylene terephthalate)	 PETE	 01 PET
2	High density polyethylene	 HDPE	 02 PE-HD
3	Poly(vinyl chloride)	 V	 03 PVC
4	Low density polyethylene	 LDPE	 04 PE-LD
5	Polypropylene	 PP	 05 PP
6	Polystyrene	 PS	 06 PS
7	Other resins	 OTHER	 07 O

Εικόνα 1.3 Κώδικας αναγνώρισης Ρητίνης
(https://en.wikipedia.org/wiki/Resin_identification_code)

Ο κώδικας αναγνώρισης ρητίνης (Resin Identification Code, RIC) αποτελεί ένα σύστημα κωδικοποίησης των πλαστικών, βάση της ρητίνης από την οποία κατασκευάζονται. Παρουσιάστηκε για πρώτη φορά το 1998, με σκοπό να διευκολύνει την ανακύκλωση των πλαστικών (Agarwal, Gudi, and Saxena 2022). Η πλειονότητα των πλαστικών παράγονται από έξι είδη ρητίνης: τερεφθαλικό πολυαιθυλένιο (PETE), υψηλής πυκνότητας (HDPE), πολυβινυλοχλωρίδιο (PVC ή V), πολυαιθυλένιο χαμηλής πυκνότητας (LDPE), πολυπροπυλένιο (PP), πολυστυρένιο (PS) που είναι αντίστοιχα τα νούμερα 1-6 του κώδικα (<https://cambrianpackaging.co.uk/what-are-resin-identification-codes/>). Τα νούμερα συμβολίζουν το πόσο εύκολο είναι να ανακυκλωθεί το εκάστοτε υλικό, με το νούμερο 1 (PETE) να είναι το πιο εύκολο (Coltro, Gasparino, and Queiroz 2008). Το νούμερο 7 του κώδικα είναι μια περίπλοκη κατηγορία καθώς περιλαμβάνει βιοπλαστικά (πολυγαλακτικό οξύ), ακριλικό, νάιλον, αλλά και πλαστικά που παράγονται από δύο είδη ρητίνης (<https://www.craftechind.com/resin-identification-codes/>). Μερικά από αυτά είναι ανακυκλώσιμα, όπως το πολυανθρακικό (polycarbonate), άλλα είναι βιοδιασπώμενα (PLA), ενώ κάποια δεν ανακυκλώνονται καθόλου (<https://everydayrecycler.com/plastic-number-7/>).

Το 2013 ο κώδικας αναθεωρήθηκε, με κύρια αλλαγή τα γραφικά σύμβολα μετατρέποντας τα κυκλικά βέλη σε τρίγωνο. Σκοπός αυτής της αλλαγής, είναι γίνει γνωστό στο ευρύ κοινό ότι ο RIC χρησιμοποιείται για την αναγνώριση του είδους ρητίνης του εκάστοτε πλαστικού και όχι για την ανακύκλωση (<https://sn.astm.org/?q=features/modernizing-resin-identification-code-ja13.html>) .

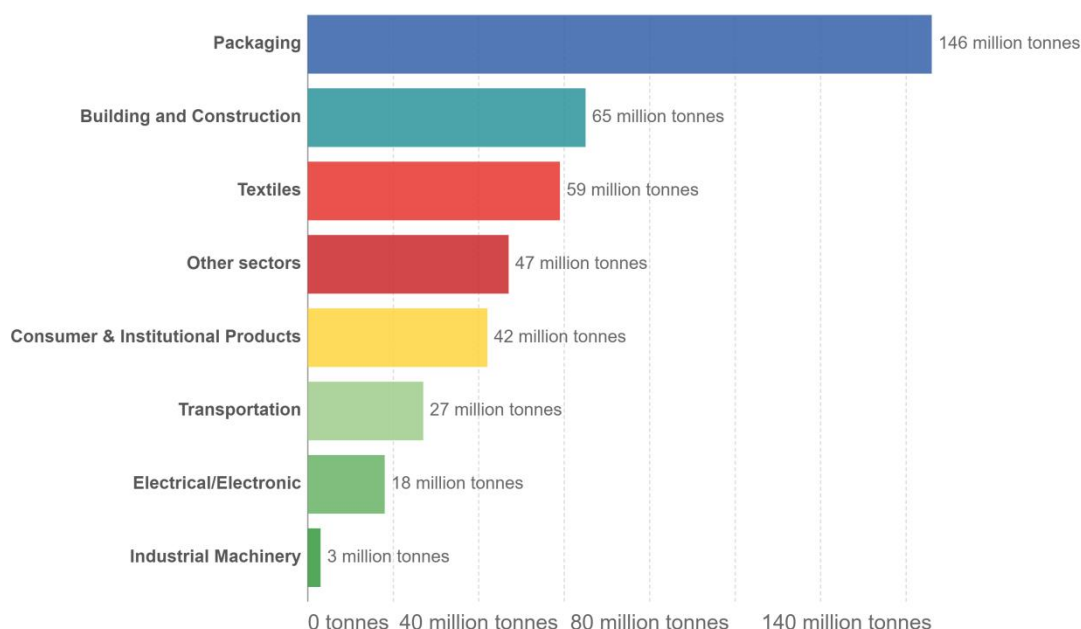
1.2 Στατιστικά Στοιχεία για την Παραγωγή Πλαστικών

Ο Βακελίτης, το πρώτο συνθετικό πλαστικό, παρουσιάστηκε στην αγορά στις αρχές του εικοστού αιώνα, παρόλα αυτά η μαζική παραγωγή πλαστικών ξεκίνησε γύρω στο 1950. Από το 1950 μέχρι και σήμερα παρατηρείται ετήσια αύξηση παραγωγής με ρυθμό 8,4% ανά έτος, με παραγωγή 2 Mt πλαστικού το 1950 και 380 Mt το 2015 (Geyer, Jambeck, and Law 2017).

Primary plastic production by industrial sector, 2015

Primary global plastic production by industrial sector allocation, measured in tonnes per year.

Our World
in Data



Source: Geyer et al. (2017)

CC BY

Εικόνα 1.4 Παραγωγή πλαστικών σε διαφορετικούς τομείς (<https://ourworldindata.org/plastic-pollution>)

Η πλειοψηφία των πλαστικών που παράγονται, χρησιμοποιούνται για τον τομέα της συσκευασίας, συγκεκριμένα το 42%. Ο τομέας που ακολουθεί σε μικρότερο ποσοστό είναι ο κατασκευαστικός με ποσοστό 19% και η βιομηχανία υφασμάτων. Αξίζει να σημειωθεί ότι τα πλαστικά απορρίμματα που προκύπτουν από τους παραπάνω τομείς σχετίζονται με τον χρόνο ζωής τους, δηλαδή τον χρόνο που χρησιμοποιούνται, με τον τομέα των κατασκευών να έχει τον μεγαλύτερο χρόνο ζωής των πλαστικών (35 χρόνια) και τον τομέα της συσκευασίας τον μικρότερο (μισό έτος) (<https://ourworldindata.org/grapher/mean-product-lifetime-plastic>). Η απόθεση των πλαστικών απορριμμάτων έχει αλλάξει με το πέρασμα των δεκαετιών. Πριν το 1980 δεν ήταν γνωστές οι μέθοδοι της ανακύκλωσης και της αποτέφρωσης με αποτέλεσμα, όλος ο όγκος των πλαστικών να απορρίπτεται σε χώρους ταφής απορριμμάτων. Η μέθοδος της αποτέφρωσης άρχισε να χρησιμοποιείται ως εναλλακτικός τρόπος διαχείρισης των πλαστικών αποβλήτων το 1980 και η μέθοδος της ανακύκλωσης το 1990. Το 2015 εκτιμάται ότι το 25% των πλαστικών αποβλήτων

αποτεφρώνεται και το 20% ανακυκλώνεται (<https://ourworldindata.org/plastic-pollution>). Η πανδημία που ξέσπασε παγκοσμίως το 2020 επηρέασε την παραγωγή πλαστικών λόγω των περιορισμών που επιβλήθηκαν για την προστασία της δημόσιας υγείας. Παγκοσμίως η παραγωγή μειώθηκε κατά 0,3%, αλλά στην Ευρώπη το πλήγμα για την βιομηχανία ήταν μεγάλο με μείωση παραγωγής κατά 4,5% (OECD (2022)). Η μείωση της παραγωγής όμως ήρθε σε αντίθεση με την χρήση των πλαστικών, καθώς η χρήση πλαστικών μιας χρήσης για την διαχείριση της πανδημίας, ειδικά στον ιατρικό τομέα, παρουσίασε άνοδο της τάξης του 13,2%. Άνοδος παρουσιάστηκε και στον τομέα της συσκευασίας, καθώς οι παραγγελίες μέσω του διαδικτύου αυξηθήκαν σημαντικά την περίοδο της πανδημίας. Εκτός από την παραγωγή, η πανδημία επηρέασε και την διαχείριση των αποβλήτων, με το ποσοστό ανακύκλωσης να μειώνεται και τα περισσότερα απόβλητα να καταλήγουν σε χώρους ταφής (Shams, Alam, and Mahbub 2021).

1.2.1 Μικροπλαστικά

Μικροπλαστικά, θεωρούνται τα πλαστικά με μέγεθος μικρότερο των 5 mm (Terminologies and Facts 2015). Διακρίνονται σε 2 κατηγορίες τα πρωτογενή και τα δευτερογενή. Τα πρωτογενή, είναι αυτά που έχουν κατασκευαστεί σε αυτό το μέγεθος, καθώς και η σκόνη που δημιουργείται κατά την κατασκευή πλαστικών προϊόντων (Laskar and Kumar 2019). Κάποια από τα προϊόντα που περιέχουν πρωτογενή μικροπλαστικά είναι καθαριστικά, απολεπιστικά προσώπου, και οδοντόκρεμες, που απορρίπτονται αμέσως μετά την χρήση τους. Δευτερογενή, είναι αυτά που προέρχονται από πλαστικά που έχουν διασπαστεί σε μικροπλαστικά από φθορές που έχουν υποστεί. Οι φθορές αυτές μπορεί να έχουν γίνει κατά την χρήση τους πλαστικού προϊόντος, ή από τις καιρικές συνθήκες όταν το πλαστικό έχει απορριφτεί στο περιβάλλον (Welden and Lusher 2020).

1.3 Αποδόμηση Πλαστικών

Ο όρος αποδόμηση, περιγράφει την χημική αλλαγή που διαφοροποιεί τις ιδιότητες, όπως την υψηλή ανθεκτικότητα, ενός πλαστικού υλικού υπό την επίδραση περιβαλλοντικών παραγόντων. Οι βασικοί περιβαλλοντικοί παράγοντες που οδηγούν σε αποδόμηση είναι η ηλιακή ακτινοβολία μέσω της οποίας γίνεται η φωτοαποδόμηση, ο αέρας που οδηγεί στην θερμική οξειδωση, το νερό με το οποίο πραγματοποιείται το φαινόμενο της υδρόλυσης και οι μικροοργανισμοί που δρουν με την βιοαποδόμηση (Andrady 2015).

1.3.1 Φωτοαποδόμηση

Οι σημαντικότεροι μέθοδοι αποδόμησης πολυμερών με την επίδραση της ηλιακής ακτινοβολίας είναι η φωτόλυση και η φωτοοξειδωση, με την δεύτερη να είναι ο κυρίαρχος μηχανισμός (Gijsman and Diepens 2009). Η φωτοοξειδωση είναι μια διαδικασία που λαμβάνει χώρα παρουσία ηλιακής ακτινοβολίας και οξυγόνου, ξεκινώντας κάποιες αντιδράσεις με αρχική το σπάσιμο των δεσμών της αλυσίδας του πολυμερούς και δημιουργία ελευθέρων ριζών (<https://eclass.upatras.gr/modules/document/file.php/MECH1236/%CF%80%CE%BF%CE%BB%CF%85%CE%BC%CE%B5%CF%81%CE%AE4.pdf>). Οι ελεύθερες ρίζες που σχηματίζονται μπορούν να προσθέσουν μοριακό οξυγόνο σε υπεροξειδικές ρίζες, οι οποίες αφαιρούν το υδρογόνο και σχηματίζουν ομάδες υδροϋπεροξειδίου, που απορροφούν το υπεριώδες φως ή διεγείρονται από τη μεταφορά ενέργειας με αποτέλεσμα οι ασθενείς δεσμοί οξυγόνου να σπάνε και να σχηματίζονται ρίζες υδροξυλίου που μπορούν να αντιδράσουν με διάφορους τρόπους, π.χ. με αφαίρεση υδρογόνου, σχάση

αλυσίδας, αναδιάταξη κ.λπ. και επιτάχυνση της φωτοαποδόμησης (Singh and Sharma 2008). Η φωτοοξειδωση παρόλο που είναι ο πιο καταλυτικός παράγοντας στην αποδόμηση πλαστικών δεν θα μελετηθεί περαιτέρω, καθώς στην παρούσα διπλωματική εργασία μελετάται η αποδόμηση πλαστικών απουσία ηλιακής ακτινοβολίας. Η φωτοαποδόμηση πραγματοποιείται σε τρία στάδια:

- Έναρξη (Initiation)

Η φωτοαποδόμηση ξεκινά με την απορρόφηση ακτινοβολίας UV από το πολυμερές. Στη συνέχεια η ακτινοβολία διασπά χημικούς δεσμούς στην αλυσίδα του πολυμερούς, ειδικότερα δεσμούς άνθρακα-άνθρακα (C-C) και άνθρακα-υδρογόνου (C-H). Οι διάσπαση των δεσμών οδηγεί στο σχηματισμό ελευθέρων ριζών.

- Διάδοση (Propagation)

Οι ελεύθερες ρίζες, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, αντιδρώντας με το οξυγόνο σχηματίζουν ρίζες υδροϋπεροξειδίου. Μέσω των οξειδωτικών αντιδράσεων αυτών συμβαίνουν αλλαγές στο πολυμερές όπως η δημιουργία διασταυρωμένης σύνδεσης (cross linking), σχηματισμός χημικών ενώσεων στην επιφάνεια του πολυμερούς και διάσπαση της αλυσίδας (chain scission).

- Τερματισμός (Termination)

Ο τερματισμός των οξειδωτικών αντιδράσεων πραγματοποιείται όταν δύο ελεύθερες ρίζες αντιδρούν, σχηματίζοντας σταθερά μόρια. Σε αυτό το στάδιο το πολυμερές έχει υποστεί γήρανση, με τις μηχανικές του ιδιότητες να έχουν αλλάξει, το υλικό να είναι πλέον πιο εύθραυστο και να θρυμματίζεται ευκολότερα (Singh and Sharma 2008).

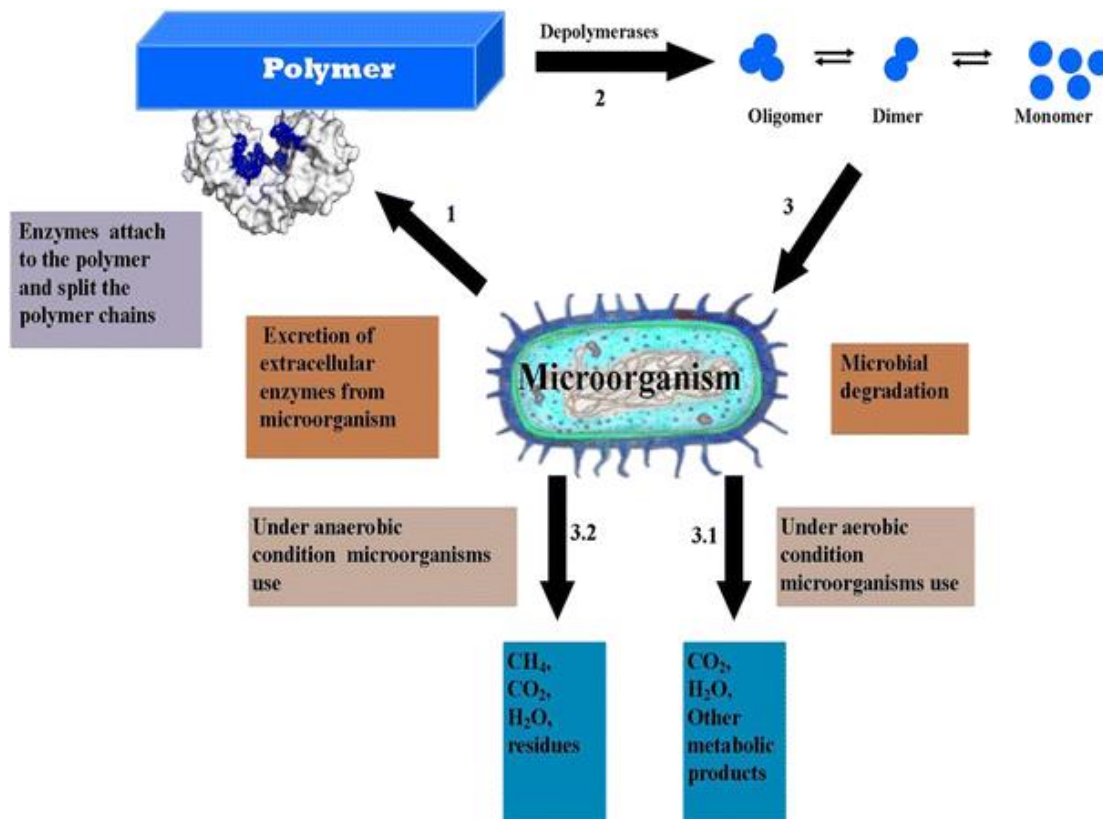
1.3.2 Θερμική οξείδωση

Το φαινόμενο της θερμικής οξείδωσης λαμβάνει χώρα όταν αλλάζουν οι ιδιότητες μέσω της θερμοκρασίας. Υπάρχουν τρεις τύποι θερμικής αποδόμησης ο πρώτος είναι η διάσπαση της βασικής αλυσίδας του πολυμερούς και η πλήρης αποικοδόμηση του. Ο δεύτερος τρόπος περιλαμβάνει σπάσιμο των δεσμών στην πλευρική αλυσίδα που οδηγεί στη δημιουργία πτητικών προϊόντων και ο τελευταίος αφορά διαδικασίες που σχετίζονται με σταυροειδής αλυσίδες. Συχνά το σημείο έναρξης της διαδικασίας θερμικής αποδόμησης είναι οι αλυσίδες που βρίσκονται στο τέλος του πολυμερούς. Θερμική αποικοδόμηση σε αντίθεση με τη φωτοαποδόμηση μπορεί να συμβεί σε ολόκληρο τον όγκο του πολυμερούς υλικού. Γενικά, οι ιδιότητες του υλικού καθορίζουν την πρόοδο της θερμικής αποδόμησης (Izdebska 2015).

1.3.3 Υδρόλυση

Κατά την διαδικασία της υδρόλυσης, οι ασθενείς δεσμοί στην αλυσίδα των πολυμερών, αντιδρούν με τα μόρια του νερού και σπάνε με αποτέλεσμα η αλυσίδα να μικραίνει και το πολυμερές να κατακερματίζεται (Lyu and Untereker 2009). Η διαδικασία ξεκινά σε υδάτινο περιβάλλον με την διάσπαση του εστέρα, που αλληλεπιδρά με το νερό και η διάρκεια της εξαρτάται από τέσσερις βασικές παραμέτρους: τη σταθερά του ρυθμού, την ποσότητα του απορροφούμενου νερού, τη διάχυση σε συνδυασμό με τα θραύσματα της αλυσίδας μέσα στο πολυμερές και τη διαλυτότητα των προϊόντων αποδόμησης (Proiakakis et al. 2006).

1.3.4 Βιοαποδόμηση



Εικόνα 1.5 Αποδόμηση πολυμερούς από μικροοργανισμό
(<https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-018-1234-9/figures/1>)

Η βιοαποδόμηση αναφέρεται στη διαδικασία χημικής διάσπασης ενός υλικού λόγω της δράσης ζωντανών οργανισμών. Γενικά, είναι η δράση των μικροοργανισμών που υπάρχουν στο έδαφος, το νερό ή σε χώρους κομποστοποίησης που ευθύνεται για τη διαδικασία της βιοαποδόμησης (Andrady 1998). Η αποδόμηση ξεκινάει με τους μικροοργανισμούς να διασπούν τα πολυμερή σε μονομερή, καθώς τα μεγάλα πολυμερή δεν μπορούν να περάσουν την κυτταρική μεμβράνη τους επομένως αποπολυμερίζονται και εισέρχονται στο εσωτερικό του κυττάρου. Στη διαδικασία συμβάλουν δύο τύποι ενζύμων οι ενδοκυτταρικές και οι εξωκυτταρικές αποπολυμεράσες. Κατά την αποδόμηση τα εξωένζυμα των μικροοργανισμών μετατρέπουν τα πολυμερή σε μόρια με μικρότερες αλυσίδες. Αυτά τα μόρια είναι μονομερή, διμερή ή ολιγομερή που είναι αρκετά μικρά ώστε να περνούν από την ημιπερατή βακτηριακή κυτταρική μεμβράνη. Τα παραπάνω προϊόντα χρησιμοποιούνται από τα βακτήρια ως πηγές άνθρακα και ενέργειας. Αυτή η διαδικασία ονομάζεται αποπολυμερισμός. Η διαδικασία κατά την οποία τα τελικά προϊόντα είναι νερό, διοξείδιο του άνθρακα ή μεθάνιο, ονομάζεται ανοργανοποίηση (Muthukumar and Veerappapillai 2015).

Συχνά ο όρος βιοποδομήσιμα πλαστικά συγγέεται με τα βιοπλαστικά. Η δεύτερη κατηγορία περιλαμβάνει πλαστικά που παράγονται από ανανεώσιμες πηγές(βιομάζα)

αυτό όμως δεν εξασφαλίζει ότι είναι βιοαποδομήσιμα, καθώς ορισμένα όπως το πολυαιθυλένιο, το νάιλον δεν είναι βιοδιασπώμενα. Αντίθετα ορισμένα πλαστικά όπως το πολυγαλακτικό οξύ (PLA) εμπίπτουν και στις δύο κατηγορίες καθώς είναι βιοπλαστικά και βιοαποδομούνται.

Η πλειοψηφία των πλαστικών που χρησιμοποιούνται στην καθημερινότητα δεν είναι βιοαποδομήσιμα (Tokiwa et al. 2009). Οι συνθετικές πολυολεφίνες (θερμοπλαστικά όπως το πολυαιθυλένιο, το πολυπροπυλένιο) είναι αδρανείς και η ραχοκοκαλιά τους αποτελείται από μακριές αλυσίδες άνθρακα. Η υψηλή υδρόφοβη φύση τους και το μεγάλο μοριακό τους βάρος δεν επιτρέπουν την αποδόμησή τους από μικροοργανισμούς. Ωστόσο, ορισμένοι μικροοργανισμοί είναι ικανοί να διασπών πολυολεφίνες χαμηλού μοριακού βάρους, αφού αυτές έχουν υποστεί φωτοαποδόμηση είτε χημική αποδόμηση (Muthukumar and Veerappapillai 2015).

1.3.5 Αποδόμηση πλαστικών στο έδαφος

Η αποδόμηση των πλαστικών στο έδαφος είναι ένα θέμα που μπορεί να προκύψει με διαφορετικούς τρόπους, που εξαρτώνται από την φύση του ίδιου του πλαστικού αλλά και από εξωγενείς παράγοντες. Τα πλαστικά, όταν εισέρχονται στο έδαφος υποβάλλονται σε διάφορες βιολογικές, χημικές και φυσικές διεργασίες. Οι βιολογικές διεργασίες συντελούνται κυρίως από δραστηριότητα των γαιοσκωλήκων, τη βιοστροβιλοποίηση από τις ρίζες των φυτών και τη μικροβιολογική αποσύνθεση. Οι φυσικές και οι χημικές διεργασίες περιλαμβάνουν την προσρόφηση, την εκρόφηση, την καθίζηση, την ενσωμάτωση στα συσσωματώματα του εδάφους, την χημική αλληλεπίδραση με το νερό και την δράση χουμικών ενώσεων και άλλων συστατικών που υπάρχουν στο χώμα. Οι παραπάνω διαδικασίες σε συνδυασμό με περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως η ηλιακή ακτινοβολία και η βροχή, έχουν ως αποτέλεσμα τα πλαστικά να κατακερματίζονται σε μακροπλαστικά (<150 mm), μικροπλαστικά (<5mm) και νανοπλαστικά (<100 nm) σωματίδια (Liwerska-Bizukojs 2021). Σε περίπτωση που το πλαστικό είναι υπό της επιφάνειας του εδάφους, περίπτωση που συναντάται συχνά σε αγροκαλλιέργειες, η αποδόμηση γίνεται με πολύ αργό ρυθμό, καθώς δεν υπάρχει UV ακτινοβολία και έντονη φυσική τριβή (Bläsing and Amelung 2018). Ακόμα και η αποδόμηση από τους μικροοργανισμούς παρουσιάζει δυσκολίες, λόγω της στερεής φύσης τους οι μικροοργανισμοί έρχονται σε επαφή μόνο με ένα μικρό μέρος του πολυμερούς. Ένα άλλο εμπόδιο στη μικροβιακή αποδόμηση των πλαστικών σχετίζεται με τη μακρομοριακή τους δομή, η οποία απαιτεί την εξωκυτταρική έναρξη της διάσπασης σε μικρότερα προϊόντα κατάλληλα για κυτταρική πρόσληψη και περαιτέρω μεταβολισμό. Η εξωκυτταρική μικροβιακή επίθεση είναι περίπλοκη στα μη υδρολυόμενα πολυμερή, όπως το πολυαιθυλένιο (Krueger, Harms, and Schlosser 2015).

Τα πλαστικά που έχουν κατακερματιστεί σε μικρότερα (μικρο-νανοσωματίδια), μπορούν εύκολα να μεταφερθούν κάθετα και οριζόντια στη μήτρα του εδάφους και μερικά από αυτά μπορεί να φτάσουν στον υδροφόρο ορίζοντα. Η μεταφορά αυτή διαδίδει τα σωματίδια μακριά από το σημείο του εδάφους που ξεκίνησε η αποδόμηση σε μη αστικές τοποθεσίες, ακόμη και στις ακτές των πιο απομακρυσμένων νησιών (Liwerska-Bizukojs 2021).

1.4 Πολυαιθυλένιο(PE)

Το πολυαιθυλένιο είναι ένα πολυμερές που ανακαλύφθηκε το 1933 από τον Reginald Gibson και τον Eric Fawcett σε μια βρετανική βιομηχανία. Έχει χημικό τύπο $\text{CH}_2=\text{CH}_2$ και παράγεται σε υψηλή πίεση και θερμοκρασία παρουσία καταλύτη, διαφορετικού ανάλογα με τις ιδιότητες που χρειάζεται να έχει το τελικό προϊόν. (Vasile and Pascu 2005). Είναι

ένα ημικρυσταλλικό πολυμερές με γραμμική μοριακή δομή επαναλαμβανόμενων μονάδων, που επιμηκύνεται πριν σπάσει με αποτέλεσμα να ενισχύεται η σκληρότητα του υλικού. Οι μηχανικές ιδιότητες του πολυαιθυλενίου εξαρτώνται κυρίως από την έκταση και τον τύπο της διακλάδωσης, τη κρυσταλλική δομή και το μοριακό βάρος. Θεωρείται ένα ισχυρό, ελαφρύ θερμοπλαστικό με πολύ καλή χημική αντοχή σε πυκνά οξέα, αλκάλια και οργανικούς διαλύτες (Park and Seo 2011). Το πολυαιθυλένιο ταξινομείται σε διαφορετικές κατηγορίες με κριτήριο κυρίως την πυκνότητα και τη διακλάδωσή του. Μερικές κατηγορίες είναι

- Πολυαιθυλένιο υψηλής πυκνότητας (HDPE)
- Πολυαιθυλένιο χαμηλής πυκνότητας (LDPE)
- Γραμμικό πολυαιθυλένιο χαμηλής πυκνότητας (LLDPE)
- Ελαστομερή πολυεφίνες (POEs)
- Πλαστομερή πολυεφίνες (POPs)
- Πολύ χαμηλής πυκνότητας πολυαιθυλένιο (VLDPE) (Patel 2016)

1.4.1 Πολυαιθυλένιο υψηλής πυκνότητας

Το πολυαιθυλένιο υψηλής πυκνότητας (HDPE) είναι ένα συμπαγές σκληρό θερμοπλαστικό με μεγάλο μοριακό βάρος, πυκνότητα και κρυσταλλικότητα. Λόγω των παραπάνω ιδιοτήτων που αναφέρθηκαν το HDPE είναι ανθεκτικό στην τριβή και δεν μπορεί να τρυπήσει ή να γδαρθεί εύκολα. Επίσης, έχει μεγάλο όριο θραύσης, δεν διαβρώνεται, απορροφά ελάχιστη υγρασία, δεν αντιδρά με φρέσκο ή θαλασσινό νερό, είναι μη τοξικό και δεν αφήνει χρώμα (Vasile and Pascu 2005). Ένα ακόμα πλεονέκτημα αυτού σχετίζεται με την ελαστικότητα που έχει. Το σημείο τήξης του HDPE είναι υψηλό με αποτέλεσμα να παραμένει άκαμπτο μέχρι πολύ υψηλές θερμοκρασίες (<https://www.acmeplastics.com/what-is-hdpe>). Οι ιδιότητες του HDPE το κάνουν να είναι ένα από τα πλαστικά που έχει εφαρμογές σε πολλούς τομείς: σε συσκευασίες τροφίμων, σε πλαστικά μπουκάλια, δεξαμενές καυσίμων, παιχνίδια, σωλήνες, ως μονωτικό καλωδίων, σε καλλυντικά προϊόντα και για αποθήκευση χημικών ουσιών. Παρόλο που είναι ένα αξιόπιστο και εύχρηστο πλαστικό έχει κάποια μειονεκτήματα, μπορεί να σπάσει αν του ασκηθεί μεγάλη πίεση, είναι πιο εύκαμπτο από άλλα πλαστικά, συρρικνώνεται αρκετά όταν χυτευθεί, αλλοιώνεται σημαντικά από την UV ακτινοβολία και όταν θερμανθεί σε μεγάλες θερμοκρασίες εκπέμπει τοξικά αέρια (Vasile and Pascu 2005).

1.4.2 Φωτοποδόμηση πολυαιθυλενίου

Στη φωτοαποδόμηση πλαστικών που αναλύθηκε παραπάνω, αναφέρθηκε ότι οι χημικοί δεσμοί της αλυσίδας πολυμερών σπάνε από την ακτινοβολία ή τη θερμότητα και παράγονται ελεύθερες ρίζες. Ωστόσο, τα πολυμερή πρέπει να περιέχουν ακόρεστες χρωμοφόρες ομάδες που απορροφούν την φωτεινή ενέργεια. Στο καθαρό πολυαιθυλένιο ωστόσο δεν περιέχονται, γεγονός που καθιστά το PE ανθεκτικό στην φωτοποδόμηση. Το πολυαιθυλένιο όμως που χρησιμοποιείται στους περισσότερους τομείς, έχει προσμίξεις ή δομικές ανωμαλίες που βοηθούν στο να προκύψει η αποδόμηση από την ακτινοβολία (Ali et al. 2021).

1.4.3 Βιοαποδόμηση πολυαιθυλενίου

Το πολυαιθυλένιο είναι ένα πολυμερές υδρόφοβο και με μεγάλο μοριακό βάρος. Για να μπορεί να βιοαποδομηθεί το PE πρέπει να γίνει τροποποίηση του κρυσταλλικού του επιπέδου, του μοριακού βάρους και των μηχανικών του ιδιοτήτων που είναι υπεύθυνες για

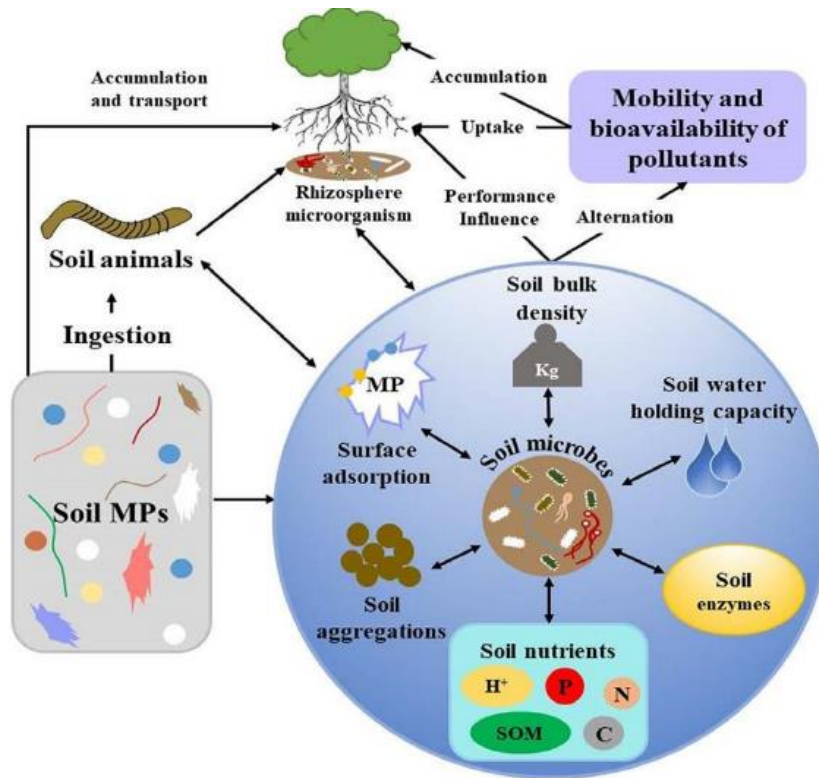
την αντίσταση του PE στην αποδόμηση. Αυτό μπορεί να πραγματοποιηθεί με την αύξηση της υδροφιλικότητας ή τη μείωση του μήκους της πολυμερικής αλυσίδας του με οξείδωση ώστε να ξεκινήσει η μικροβιακή αποδόμηση (Shah et al. 2008). Η μείωση του μοριακού βάρους απαιτείται για δύο λόγους, πρώτον για να επιτραπεί η μεταφορά των μορίων μέσω της κυτταρικής μεμβράνης και δεύτερον επειδή τα ενζυμικά συστήματα που υπάρχουν στους μικροοργανισμούς είναι σε θέση να επιτεθούν μόνο σε ορισμένα μοριακά βάρη (Restrepo-Flórez, Bassi, and Thompson 2014). Οι μικροοργανισμοί που αλληλεπιδρούν με το πολυαιθυλένιο και αποικούν την επιφάνεια του έχουν ποικίλες επιδράσεις στις ιδιότητές του. Επτά διαφορετικά χαρακτηριστικά παρακολουθούνται συνήθως για αλλαγές προκειμένου να καθοριστεί η έκταση της βιοαπξοδόμησης του πολυμερούς: λειτουργικές ομάδες στην επιφάνεια, υδροφοβία και υδροφιλικότητα, κρυσταλλικότητα, τοπογραφία επιφάνειας, μηχανικές ιδιότητες, κατανομή μοριακού βάρους και ισορροπία μάζας. Η παρουσία των μικροοργανισμών, οδηγεί σε μείωση της συγκέντρωσης του αριθμού των επιφανειακών λειτουργικών ομάδων, κάτι που συνήθως αναφέρεται ως μείωση των καρβονυλικών δεικτών. Αυτό συμβαίνει επειδή οι μικροοργανισμοί συνδέονται συνήθως με τις καρβονυλικές ομάδες (Fotopoulou and Karapanagioti 2017).

1.4.4 Βιοφίλμ

Οι μικροοργανισμοί στο περιβάλλον δεν επιβιώνουν ως διασκορπισμένα μεμονωμένα κύτταρα, αλλά συσσωρεύονται σε διεπιφάνειες για να σχηματίσουν μεμβράνες, στρώματα, κροκίδες, λάσπη, το αναφερόμενο ως βιοφίλμ. Στα περισσότερα βιοφίλμ, οι μικροοργανισμοί αντιπροσωπεύουν λιγότερο από το 10% της ξηρής μάζας, ενώ το υπόλοιπο 90% είναι το εξωκυτταρικό υλικό, που παράγεται κυρίως από τους ίδιους τους οργανισμούς. Αυτό αποτελείται από μια συσσώρευση διαφορετικών τύπων βιοπολυμερών, γνωστών ως εξωκυτταρικές πολυμερικές ουσίες (EPS), που είναι η βάση για την τρισδιάστατη αρχιτεκτονική του βιοφίλμ, για την πρόσφυση στις επιφάνειες και για τη συνοχή στο βιοφίλμ (Flemming and Wingender 2010). Οι πολυσακχαρίτες και τα νουκλεϊκά οξέα του EPS που εκκρίνονται από τους πρώτους αποικιστές είναι γνωστό ότι είναι σχετικά κολλώδη, γεγονός που ρυθμίζει το φιλμ και διευκολύνει τον αποικισμό σε άλλους οργανισμούς (Ghosh, Qureshi, and Purohit 2019). Ο σχηματισμός βιοφίλμ είναι ωφέλιμος για τον κυτταρικό πληθυσμό στο σύνολό του, καθώς επιτρέπει στα κύτταρα να επιβιώνουν σε περιβάλλοντα με αντίξοες συνθήκες (Lambert et al. 2014). Ο σχηματισμός βιοφίλμ στην επιφάνεια πλαστικών είναι ένας πολύ χρήσιμος μηχανισμός βιοαποδόμησης τους, καθώς επιφέρουν φυσικοχημικές αλλαγές στα πλαστικά. Η υδροφοβία είναι ένας σημαντικός παράγοντας για την προσκόλληση και την αποδόμηση, διότι τα πλαστικά πολυμερή είναι υδρόφοβα επομένως τα βακτήρια πρέπει να ξεκινήσουν υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις με την πλαστική επιφάνεια. Μη ειδικοί χημικοί δεσμοί και αρκετές λειτουργικές ομάδες εισάγονται στο πολυμερές από την προσκολλημένη μικροβιακή χλωρίδα που αυξάνουν την υδροφιλία και την αποδόμηση. Επιπλέον, το βιοφίλμ αλληλεπιδρά με τα πολυμερή μέσω της έκκρισης ουσιών που οδηγούν σε θραύση της πολυμερικής αλυσίδας, κατακερματίζοντας τις μηχανικές ιδιότητες, αυξάνοντας την αγωγιμότητα και αποχρωματίζοντας το πλαστικό (Ghosh et al. 2019). Συγκεκριμένα για το πολυαιθυλένιο, που έχει υδρόφοβη επιφάνεια, έχει προταθεί ότι όσο πιο υδρόφοβη είναι η βακτηριακή κυτταρική επιφάνεια, τόσο μεγαλύτερη είναι η αλληλεπίδραση με το PE (Fotopoulou and Karapanagioti 2017).

1.5 Επιπτώσεις πλαστικών στο έδαφος αγροκαλλιεργειών

Υπάρχουν πολλές ενδείξεις ότι το πλαστικό στο έδαφος είναι άφθονο (Bläsing and Amelung 2018) και είναι πολλές οι πηγές προέλευσης του με κύρια τα φιλμ πλαστικού που χρησιμοποιούνται ως υφάσματα (συνήθως PE). Τα φιλμ αυτά όταν πέφτουν στο έδαφος αποσυντίθενται σε μικροπλαστικά με φυσικές, χημικές και βιολογικές διεργασίες (Sajjad et al. 2022). Τα μικροπλαστικά αυτά δημιουργούν κάποιες επιπτώσεις οι οποίες διακρίνονται σε διάφορα επίπεδα:



Εικόνα 1.6 επίδραση των μικροπλαστικών στις παραμέτρους του εδάφους, τους οργανισμούς του εδάφους, τα φυτά και τους μικροοργανισμούς και την προσρόφηση ιόντων (Yu et al. 2022))

- Επιπτώσεις στο έδαφος
- Επιπτώσεις στην πανίδα του εδάφους
- Επιπτώσεις στα φυτά
- Οικολογικές επιπτώσεις
- Επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου

1.5.1 Επιπτώσεις στο έδαφος

Τα πλαστικά που έχουν κατακερματιστεί σε μικροπλαστικά, επιφέρουν πολλές αλλαγές στα φυσικά, θερμικά και χημικά χαρακτηριστικά του εδάφους (Yu et al. 2022). Μειώνουν τη διείσδυση από το νερό της βροχής και το νερό άρδευσης, με αρνητικές επιπτώσεις στην ικανότητα συγκράτησης νερού του εδάφους και πιθανώς προκαλώντας ανοξία. Λειτουργούν και ως κατασταλτικοί παράγοντες στην διαδικασία της εξάτμισης, προκαλώντας αυξημένα επίπεδα υγρασίας. Επιπλέον έχει παρατηρηθεί ότι μειώνεται η διαπερατότητα, δηλαδή το πορώδες του εδάφους, ο αερισμός του νερού στο έδαφος με αποτέλεσμα να αλλάζουν τα φυσικά χαρακτηριστικά και η δομή του εδάφους και να

σχηματίζουν σταθερά συσσωματώματα εδάφους, τα οποία δεν έχουν την ικανότητα να συγκρατήσουν νερό.. Ανάλογα με τον τύπο εδάφους επέρχονται διαφορετικές αλλαγές από τα πλαστικά, καθώς σε αμμώδες έδαφος τροποποιούν τη διατήρηση του νερού και τη διαπερατότητα του αμμώδους εδάφους, με αποτέλεσμα να διαταράσσουν την εξάτμιση. Σε αντίθεση με το αμμώδες έδαφος, το αργιλώδες έδαφος μπορεί να επηρεαστεί διαφορετικά, συρρικνώνεται και εμφανίζει ραγίσματα κατά τη διαδικασία της εξάτμισης (Sajjad et al. 2022).

Τα μικροπλαστικά έχουν σημαντικές επιπτώσεις και στις δραστηριότητες των ενζύμων του εδάφους με υψηλή καταλυτική ικανότητα, όπως η ουρεάση και η υδρολάση της λουσιφερίνης του διοξικού οξέος (FDase). Αυτά τα ένζυμα σχετίζονται στενά με μια ποικιλία βιοχημικών διεργασιών του εδάφους και παίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση του κύκλου των θρεπτικών στοιχείων του εδάφους. Επιπλέον το υψηλό επίπεδο πλαστικών και μικροπλαστικών ενισχύουν σημαντικά την περιεκτικότητα σε θρεπτικά συστατικά (π.χ. C, N και P) στη διαλυμένη οργανική ύλη (DOM), γεγονός που μπορεί να οφείλεται στο ότι προωθούν την ενζυμική δραστηριότητα του εδάφους και τη συσσώρευση διαλυτών θρεπτικών ουσιών. Τα μικροπλαστικά στο έδαφος επηρεάζουν την τιμή του pH του εδάφους αυξάνοντας την, την αγωγιμότητα μειώνοντας την και την αναλογία αζώτου άνθρακα (Zhou et al. 2020).

1.5.2 Επιπτώσεις στην πανίδα του εδάφους

Η πανίδα του εδάφους επηρεάζεται από τα πλαστικά κυρίως μέσω της διαδικασίας σίτισης, καθώς μπορούν να καταναλωθούν από οργανισμούς του εδάφους, με διαφορετικές φυσιολογικές επιδράσεις στην ανάπτυξη, στην αναπαραγωγή, στο ανοσοποιητικό σύστημα, ακόμη και στο γαστρεντερικό σύστημα τους. Πολλά ζώα δεν θα είναι σε θέση να αφομοιώσουν πλαστικά υπολείμματα, τα οποία θα εμποδίσουν την απορρόφηση των τροφίμων κατά τη διέλευση από το κύριο έντερο, με αποτέλεσμα να υπάρχει η τάση συσσώρευσης στην τροφική αλυσίδα και να βλάπτονται οι οργανισμοί του εδάφους σε διαφορετικά τροφικά επίπεδα και μερικές φορές ολόκληρα τα οικοσυστήματα (Sajjad et al. 2022). Δεν έχουν γίνει πολλές μελέτες για τις επιπτώσεις των πλαστικών στο έδαφος στην πανίδα και οι γαιοσκώληκες είναι το μόνο ζώο που έχει μελετηθεί εκτενέστερα. Οι γαιοσκώληκες είναι διαδεδομένα ασπόνδυλα στο περιβάλλον του εδάφους και είναι υπεύθυνοι για πολλούς ζωτικούς ρόλους όπως η ανακύκλωση θρεπτικών ουσιών, η αποσύνθεση της οργανικής ύλης και η αναδιαμόρφωση της δομής του εδάφους (Sobhani et al. 2022). Έρευνες έχουν δείξει ότι η χαμηλή συγκέντρωση MPs δεν έχει καμία επίδραση στην ανάπτυξη του γαιοσκώληκα, αλλά η υψηλή συγκέντρωση περιορίζει την ανάπτυξη γαιοσκώληκα και την επακόλουθη θνησιμότητα (Cao et al. 2017). Τα μικροπλαστικά εισέρχονται στο σώμα του γαιοσκώληκα μετά την κατάποση προκαλώντας εντερική βλάβη, συσσωματώνονται εύκολα στο σώμα, επηρεάζουν τη διατροφή και την απέκκριση και επηρεάζουν σοβαρά την ανάπτυξη και την επιβίωση του γαιοσκώληκα. Τα μικροπλαστικά πολυαιθυλενίου έχουν σαφή ιστοπαθολογική επίδραση και στο ανοσοποιητικό σύστημα των γαιοσκωλήκων, αυξάνοντας την περιεκτικότητά τους σε πρωτεΐνες, λιπίδια και πολυσακχαρίτες κατά 10% (Rodriguez-Seijo et al. 2017). Επιπλέον, υπάρχει διαταραχή στη δομή της μικροβιακής κοινότητας και σημαντική αλλαγή στην αφθονία και τη βιοποικιλότητα της εντερικής μικροχλωρίδας. Σε περίπτωση επαρκούς κατανάλωσης μικροπλαστικών, η μικροβιακή ποικιλότητα και η δομή της κοινότητας των μικροοργανισμών στο έδαφος μπορεί να αλλάξει (van Gestel and Selonen 2018).

1.5.3 Επιπτώσεις στα φυτά

Οι αλλαγές που αναφέρθηκαν παραπάνω, όπως οι αλλαγές στα φυσικά χαρακτηριστικά του εδάφους και οι αλλαγές στην πανίδα του εδάφους, επηρεάζουν σημαντικά τα φυτά προκαλώντας αλλαγές στο ριζικό τους σύστημα και στην περίοδο βλάστησης τους. Η ανάπτυξη των φυτών εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τους μικροοργανισμούς της ριζόσφαιρας, επομένως, οι αλλαγές στις ιδιότητες του εδάφους που προκαλούνται από τα μικροπλαστικά θα αλλάξουν τη δομή των μικροβιακών κοινοτήτων και επακολούθως τη μικροβιακή δραστηριότητα, επηρεάζοντας έτσι έμμεσα την απόδοση των φυτών. Σημαντικό παράγοντα παίζει το είδος του πλαστικού, καθώς πλαστικά όπως το PE δεν επιδρά σημαντικά στα φυτά, ενώ βιοπλαστικά, όπως το PLA, επηρεάζουν την βιομάζα των φυτών (Zhou et al. 2020). Επιπλέον, τα φυτά του εδάφους μπορούν να απορροφήσουν και να συσσωρεύσουν μικροπλαστικά. Μελέτες σε καπνικές καλλιέργειες αποκάλυψαν ότι πλαστικά σφαιρίδια νανο-μεγέθους μπορούν να εισέλθουν στα κύτταρα του καπνού μέσω ενδοκυττάρωσης, υπονοώντας ότι πλαστικά μικρού μεγέθους μπορεί να απορροφηθούν στο φυτό σώμα μέσω της ριζόσφαιρας του φυτού. Η συσσώρευση μικροπλαστικών στα φυτά μπορεί να επηρεάσει την απορρόφηση και τη μεταφορά θρεπτικών ουσιών και άλλων σημαντικών διαλυτών προϊόντων εμποδίζοντας τους πόρους του κυτταρικού τοιχώματος ή τις κυτταρικές συνδέσεις. Πρέπει να σημειωθεί ότι έρευνες δεν έχουν πραγματοποιηθεί σε πολλά είδη φυτών, επομένως αυτά που αναφέρθηκαν παραπάνω δεν ισχύουν για όλους τους τύπους φυτών (Yu et al. 2022).

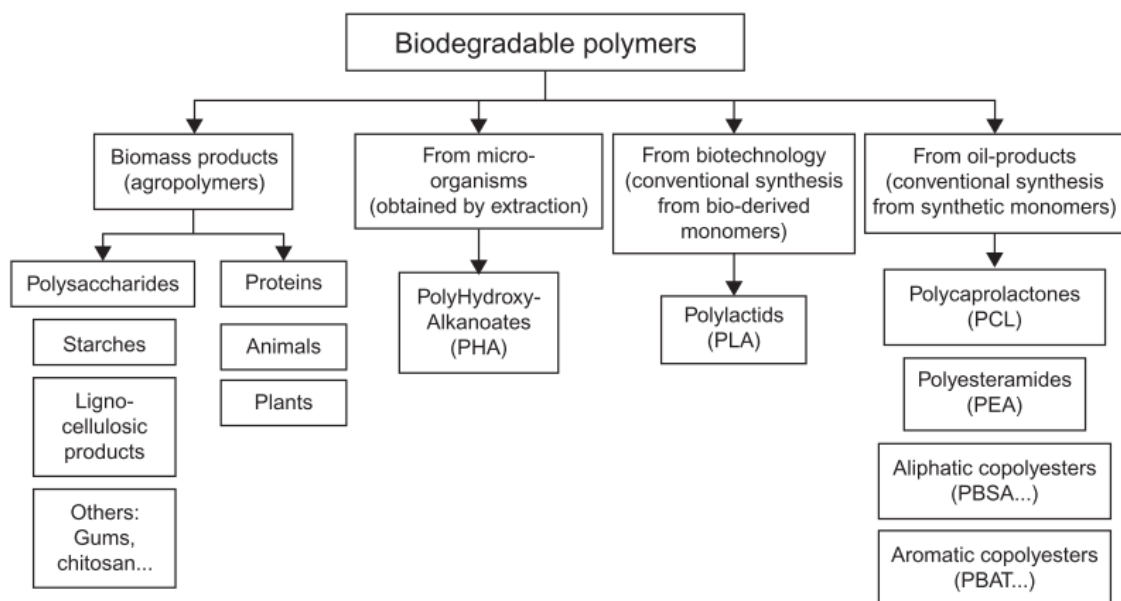
1.5.4 Οικολογικές επιπτώσεις

Τα πλαστικά στο έδαφος επιφέρουν ορισμένες σημαντικές οικολογικές επιπτώσεις, που επηρεάζουν αρκετούς τομείς. Όταν τα πλαστικά βρεθούν στο έδαφος αλληλεπιδρούν με ρύπους που υπάρχουν ήδη στο έδαφος και λειτουργούν ως μεταφορείς για αυτούς τους ρύπους. Συγκεκριμένα οι οργανικοί ρύποι, όπως στραγγίσματα από χώρους υγειονομικής ταφής, βρίσκονται συχνά στην υδρόφοβη επιφάνεια των πλαστικών. Τα δευτερογενή μικροπλαστικά μπορούν να τροποποιήσουν την ικανότητα προσρόφησης, την κινητικότητα, τη συμπεριφορά διάχυσης και κατανομής των οργανικών ρύπων και επομένως μπορούν να ρυπάνουν το οικοσύστημα του εδάφους. Επιπλέον, έρευνες έχουν δείξει ότι τα μικροπλαστικά προσροφούν περισσότερους επίμονους οργανικούς ρύπους (POPs) σε σύγκριση με τα φυσικά ιζήματα του εδάφους, υπογραμμίζοντας τον κίνδυνο της συνδυασμένης επίδρασης πλαστικών-POPs για το περιβάλλον του εδάφους (Sajjad et al. 2022).

1.5.5 Επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία

Δεν έχουν γίνει εκτενείς έρευνες σχετικά με τις επιπτώσεις των πλαστικών στο έδαφος και τις άμεσες επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω η παρουσία πλαστικών εγκυμονεί κινδύνους για την πανίδα του εδάφους, που μέσω της τροφικής αλυσίδας μεγαλύτερα ζώα που καταναλώνει ο άνθρωπος, για παράδειγμα πουλερικά έρχονται σε επαφή και καταναλώνουν μικροπλαστικά που μπορούν να βρεθούν στον άνθρωπο μέσω της βιοσυσσώρευσης (Zhou et al. 2020). Παρόλα αυτά δεν είναι ένα θέμα που έχει μελετηθεί ιδιαίτερα, καθώς η ανίχνευση μικροπλαστικών στον άνθρωπο είναι μια δύσκολη διαδικασία (Lim 2021), και οι λίγες μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί υποδεικνύουν ότι τα μικροπλαστικά επηρεάζουν κυρίως το γαστρεντερικό σύστημα προκαλώντας φλεγμονές (Campanale et al. 2020).

1.6 Βιοπλαστικά



Εικόνα 1.7: κατηγορίες βιοπλαστικών (Ashter 2016)

Ο όρος βιοπλαστικό χρησιμοποιείται για να περιγράψει τα πλαστικά που έχουν βάση φυσικές πηγές, πλαστικά που είναι βιοαποδομήσιμα ή και τα δυο. Συχνά δημιουργείται σύγχυση από τον παραπάνω ορισμό καθώς ορισμένα πλαστικά, όπως το πολυαιθυλένιο που παραδοσιακά παράγονται από ορυκτές πηγές, πλέον μπορούν να παρασκευαστούν από ανανεώσιμη πρώτη ύλη. Ο όρος βιο-βασισμένα ταιριάζει περισσότερο στα παραδοσιακά πλαστικά που έχουν παραχθεί από φυσικά υλικά, επομένως ο όρος βιοπλαστικά περιγράφει καινοτόμα βιοπλαστικά που είναι και βιοδιασπώμενα (Razza and Degli Innocenti 2009). Στην παρούσα διπλωματική εργασία, ως βιοπλαστικά θα αναφέρονται τα πλαστικά που έχουν παραχθεί από φυσικές πηγές και είναι βιοαποδομήσιμα.

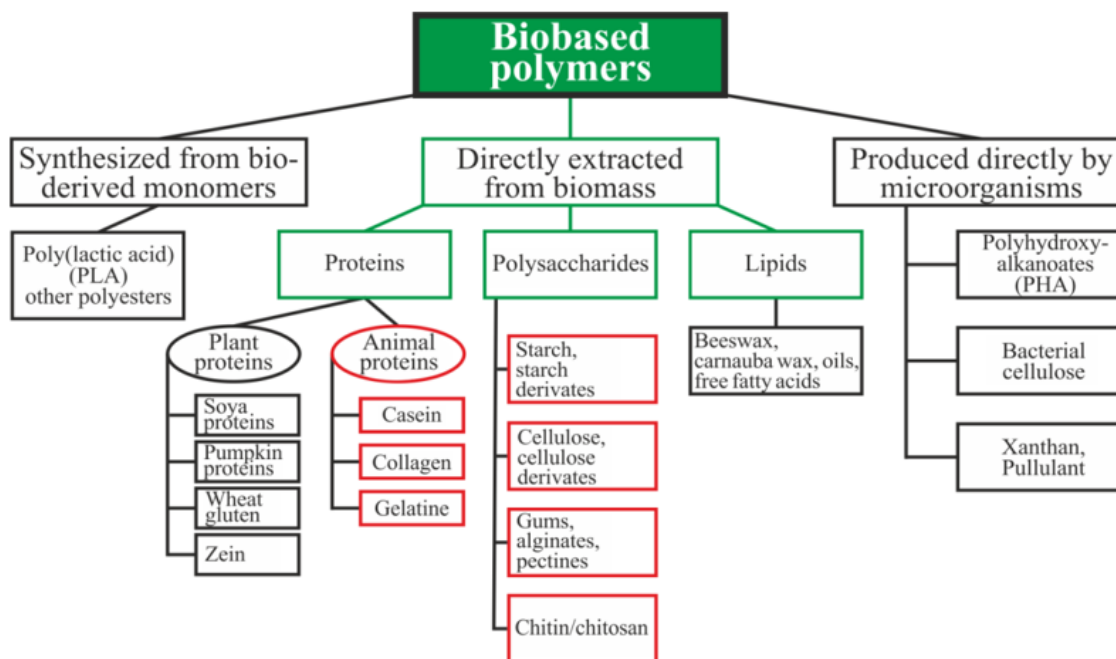
1.6.1 Ιστορικά στοιχεία

Ένα από τα πρώτα πλαστικά που δημιουργήθηκαν από τον άνθρωπο είναι στην πραγματικότητα βιοπλαστικό, το Parkesine που είχε βάση την κυτταρίνη. Παρακάτω θα αναφερθούν επιγραμματικά τα κομβικά σημεία στην ιστορία των βιοπλαστικών.

- 1862 δημιουργείται το Parkesine από τον Alexander Parkes
- 1897 το Galalith εφευρίσκεται από Γερμανούς χημικούς αλλά δεν σημειώνει εμπορική επιτυχία λόγω της δυσκολίας στην χύτευση του
- 1912 εφευρίσκεται το σελοφάν που έχει παρασκευαστεί από ξύλο, βαμβάκι, και κυτταρίνη κάνναβης.
- 1926 ο Maurice Lemoigne συνθέτει το πολυυδροξυβουτυρικό (PHB) από βακτήρια δημιουργώντας το πρώτο βιοπλαστικό από μικροοργανισμούς.
- 1973 η ενεργειακή κρίση βοηθά την ανάπτυξη της βιομηχανίας των βιοπλαστικών
- 1983 η πρώτη εταιρία που εμπορεύεται βιοπλαστικά ανοίγει και κατασκευάζει βιοπλαστικά από μικροοργανισμούς

- 2001 αρχίζει να παράγεται PLA από την βιομηχανία Cargil and Dow
- 2010 παράγονται βιοπλαστικά από φύκια, μια σημαντική εξέλιξη αφού τα φύκια δεν χρειάζονται λίπασμα ή γη για να αναπτυχθούν. Τα βιοπλαστικά που παράγονται από τα φύκια βιοδιασπώνται γρήγορα στο έδαφος και στο νερό (<https://bioplasticsnews.com/2018/07/05/history-of-bioplastics/>).

1.6.2 Κατηγορίες Βιοπλαστικών



Εικόνα 1.8 Κατηγορίες βιοπλαστικών βάση πρώτης ύλης (Lisitsyn et al. 2021)

Τα βιοπολυμερή μπορούν να χωριστούν σε τρεις κύριες κατηγορίες ανάλογα με την προέλευση και την μέθοδο παραγωγή τους (Lisitsyn et al. 2021). Στη παρούσα διπλωματική θα μελετηθούν τα πολυμερή βάση της προέλευσης τους.

1.6.3 Φυσικά Βιοπολυμερή

Τα φυσικά βιοπολυμερή είναι πολυμερή τα οποία υπάρχουν στο φυσικό περιβάλλον ή μπορεί να βρίσκονται σε φυτά και ζώα. Οι πρωτεΐνες, η κυτταρίνη, το άμυλο είναι κάποια παραδείγματα φυσικών πολυμερών που βρίσκονται στην φύση, με τα δύο τελευταία να είναι ευρέως διαδεδομένα για την δημιουργία βιοπολυμερών (Caillol 2020).

1.6.3.1 Πολυμερή με βάση το άμυλο

Το άμυλο χρησιμοποιείται σε μεγάλο βαθμό στην επεξεργασία τροφίμων, όπως δημητριακά, σνακ, κονσερβοποιημένα προϊόντα, κατεψυγμένα τρόφιμα, γαλακτοκομικά προϊόντα και πολλά άλλα. Χρησιμοποιείται επίσης σε μια ποικιλία βιομηχανιών όπως κόλλες, εξόρυξη, μέταλλο, χαρτί, καλλυντικά και φαρμακευτικά προϊόντα, κατασκευές και κλωστοϋφαντουργία σε πολλά προϊόντα. Το άμυλο, στη φυσική του μορφή, έχει κοκκώδη δομή και με αυτή την μορφή ενσωματώνεται στα πλαστικά ως πληρωτικό υλικό. Προκειμένου να χρησιμοποιηθεί το άμυλο για την κατασκευή ενός βιοπλαστικού, εκχυλίζονται οι πολυμερείς δομές αμυλόζη και αμυλοπηκτίνη. Η εκχύλιση πραγματοποιείται διαταράσσοντας την κοκκώδη δομή με διαλυτοποίηση των κόκκων αμύλου στο νερό σε υψηλές θερμοκρασίες, που ονομάζεται ζελατινοποίηση. Παρουσία

νερού οι κόκκοι διογκώνονται και τελικά σκάνε, οδηγώντας στην απελευθέρωση πολυμερούς στο περιβάλλον νερό. Για να μπορέσει το άμυλο να θεωρείται θερμοπλαστικό άμυλο (TPS), το οποίο μπορεί να έχει εφαρμογές που έχουν τα κλασσικά πολυμερή, πρέπει να υποβληθεί σε περαιτέρω επεξεργασία. Το θερμοπλαστικό άμυλο ορίζεται ως αποδομημένο ή ζελατινοποιημένο άμυλο που συνδυάζεται με ένα ή περισσότερα πρόσθετα για να παραχθεί ένα υλικό που μπορεί να υποστεί επεξεργασία όπως άλλα θερμοπλαστικά πολυμερή. Τα πρόσθετα αυτά ονομάζονται πλαστικοποιητές και συνήθως είναι η γλυκερόλη, η σορβιτόλη, η πολυαιθυλενογλυκόλη ή άλλες πολυόλες που προστίθενται στο εκχυλισμένο πολυμερές. Οι πλαστικοποιητές έχουν την ικανότητα να διαφοροποιούν τη θερμοκρασία τήξης από τη θερμοκρασία θερμικής αποδόμησης για να μπορούν να χυτευτούν τα εξαγόμενα πολυμερή. Το τελικό προϊόν αποβάλλεται από τη μήτρα στην ομογενή τετηγμένη φάση και στη συνέχεια ψύχεται και σφαιροποιείται (Telis 2012).

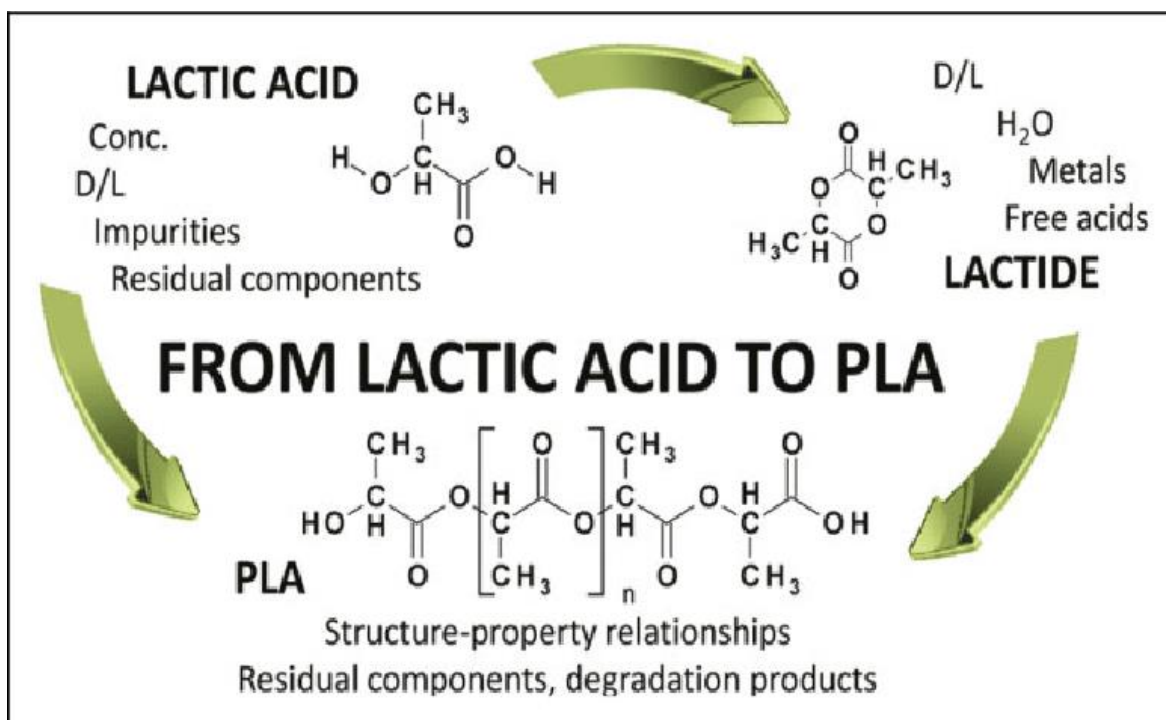
1.6.3.2 Πολυμερή με βάση την κυτταρίνη

Η κυτταρίνη μπορεί να συλλεχθεί από πολλές φυτικές πηγές καθώς αποτελεί το μεγαλύτερο μέρος του κυτταρικού τοιχώματος και να παραχθεί με ζύμωση ορισμένων βακτηρίων. Η ζύμωση λαμβάνει χώρα σε έναν βιοαντιδραστήρα μέσω της αναερόβιας μεταβολικής διαδικασίας, που είναι η διάσπαση μεταβολικών οργανικών ουσιών απουσία οξυγόνου. Σημαντικές παράμετροι που ελέγχονται κατά τη διάρκεια της διαδικασίας είναι η θερμοκρασία, το pH και η περιεκτικότητα σε σάκχαρα από το υλικό πρώτης ύλης. Η ζύμωση μπορεί επίσης να πραγματοποιηθεί από γενετικά τροποποιημένους μικροοργανισμούς οι οποίοι μπορούν να σχεδιαστούν ώστε να διασπούν συγκεκριμένα υλικά του υποστρώματος κατά τη διαδικασία της ζύμωσης, καθώς και να επιβιώνουν στις δύσκολες συνθήκες. Η κυτταρίνη που παράγεται από βακτήρια μπορεί να ληφθεί ως συνεχές φιλμ καλλιεργώντας τα βακτήρια σε διάλυμα γλυκόζης. Η κυτταρίνη που έχει προέλευση φυτικές πηγές μπορεί να εξαχθεί με διεργασίες χημικής διαλυτοποίησης όπως η πολυτοποίηση, η οποία έχει ως αποτέλεσμα την αλλαγή της δομής της, καταλήγοντας σε μια εκλεπτυσμένη δομή. Η δομή της κυτταρίνης διαταράσσεται και η κυτταρίνη που παραμένει σε διάλυμα στη συνέχεια κατακάθεται. Αυτή η μέθοδος χρησιμοποιείται για την παρασκευή αναγεννημένης κυτταρίνης. Η αναγεννημένη κυτταρίνη διαφέρει από την φυσική κυτταρίνη επειδή κατά τη διαδικασία της διάλυσης λαμβάνει χώρα εκτεταμένη αποδόμηση και το τελικό προϊόν είναι συνήθως λιγότερο κρυσταλλικό. Άλλα προϊόντα που προέρχονται από την κυτταρίνη περιλαμβάνουν νιτρική κυτταρίνη, εστέρας κυτταρίνης, και οξική κυτταρίνη (Telis 2012).

1.6.4 Συνθετικά βιοπολυμερή

Τα συνθετικά βιοπολυμερή είναι πολυμερή τα οποία έχουν προέλθει από φυσικά πολυμερή ή από συνθετικά μονομερή που συνήθως προέρχονται από ανανεώσιμες πρώτες ύλες, όπως φυτική βιομάζα (Caillol 2020; Kubicek 2015). Τα συνθετικά πολυμερή πρέπει να επεξεργαστούν χημικά, με την διαδικασία του πολυμερισμού, προκειμένου να είναι λειτουργικά. Για την παραγωγή των συνθετικών βιοπολυμερών οι πιο συνήθεις τύποι πολυμερισμού είναι: πολυμερισμός προσθήκης, πολυμερισμός συμπύκνωσης, πολυμερισμός μετάθεσης (Kubicek 2015). Τα συνθετικά βιοδιασπώμενα βιοπολυμερή είναι κυρίως πολυεστέρες όπως το πολυγαλακτικό οξύ (PLA) (Environment Australia 2002).

1.6.4.1 Πολυγαλακτικό οξύ (PLA)



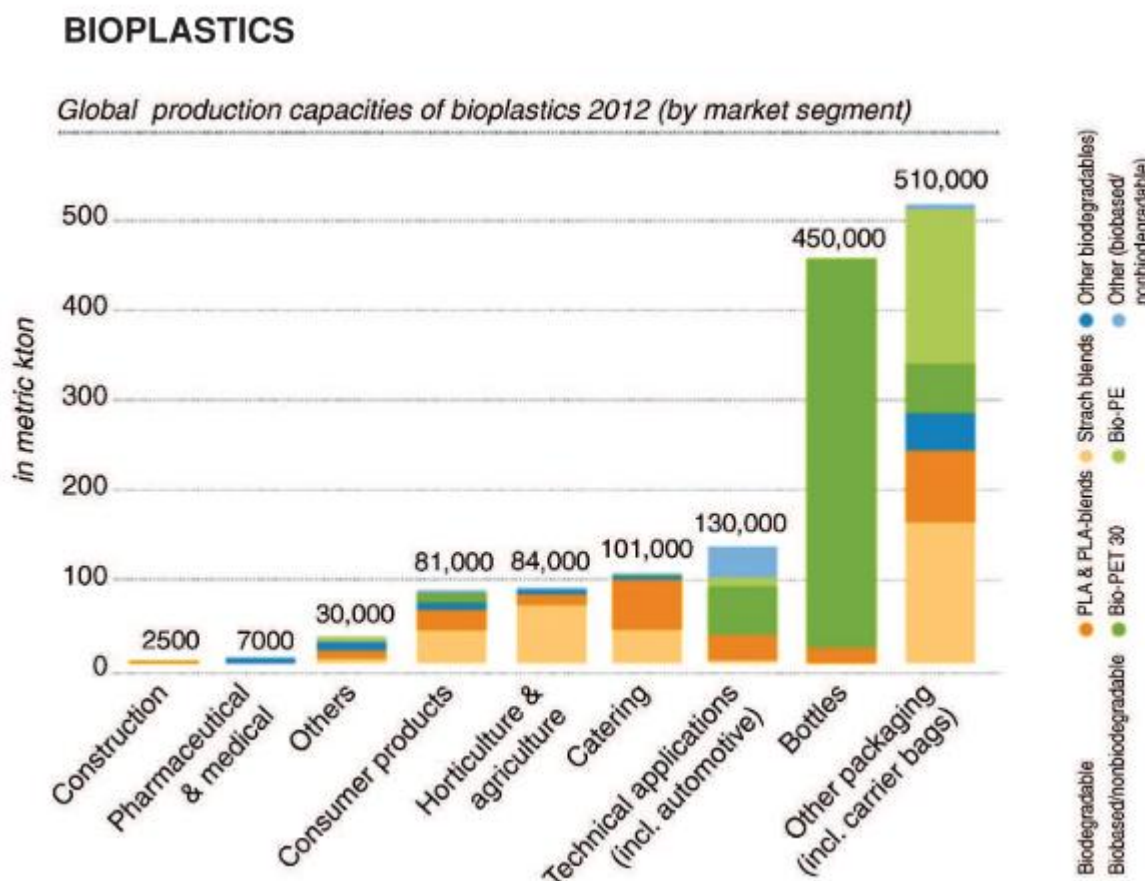
Εικόνα 1.9 Μέθοδος παραγωγής του PLA (Mann et al. 2021)

Το πολυγαλακτικό οξύ κατατάσσεται ως θερμοπλαστικός αλιφατικός πολυεστέρας και είναι ένα από τα πιο χρήσιμα βιοπλαστικά, καθώς είναι βιοαποδομήσιμο και παράγεται 100% από ανανεώσιμες πηγές (Drumright, Gruber, and Henton 2000). Το PLA παράγεται από το μονομερές γαλακτικό οξύ. Οι δύο μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή του PLA είναι η μέθοδος άμεσης πολυσυμπύκνωσης (DP) και η μέθοδος πολυμερισμού με άνοιγμα δακτυλίου (ROP) (Sin, Rahmat, and Rahman 2013). Η μέθοδος άμεσης συμπύκνωσης παρόλο που είναι πιο εύκολη στην πραγματοποίηση της δεν απομακρύνει όλα τα ίχνη νερού στα τελευταία στάδια του πολυμερισμού περιορίζοντας το τελικό μοριακό βάρος. Αντίθετα με την μέθοδο πολυμερισμού με άνοιγμα δακτυλίου επιτυγχάνεται η λήψη PLA υψηλού μοριακού βάρους (Drumright et al. 2000). Το γαλακτικό οξύ για τη διαδικασία λαμβάνεται από τη ζύμωση της ζάχαρης ανανεώσιμων πηγών, όπως το σιτάρι, το καλαμπόκι και άχυρο. Έχει καλή αντοχή σε εφελκυσμό και η ολκιμότητα του το καθιστούν κατάλληλο για διαφορετικά μέσα επεξεργασίας, όπως χύτευση με εξώθηση τήγματος, χύτευση με έγχυση, χύτευση με φουσητό φιλμ, χύτευση με αφρό και χύτευση υπό κενό και επιπλέον, εμφανίζει καλά χαρακτηριστικά όσον αφορά τη γυαλάδα, τη διαφάνεια, την αίσθηση στο δέρμα και στην αντοχή στην θερμότητα. Πολλά από τα χαρακτηριστικά, όπως η συμπεριφορά κρυστάλλωσης, οι μηχανικές ιδιότητες του PLA εξαρτώνται από το μοριακό βάρος. Η κρυσταλλικότητα επηρεάζει την αποδόμηση του PLA, αφού τα πολυμερή υψηλής κρυσταλλικότητας διαρκούν αρκετούς μήνες, με τον μεταβολισμό να πραγματοποιείται μόνο μετά από λίγα χρόνια, ενώ τα πολυμερή με χαμηλή κρυσταλλικότητα μπορούν να αποσυντεθούν σε λίγες εβδομάδες. (Li et al. 2020). Το PLA έχει πολλές εφαρμογές στην καθημερινότητα, από προϊόντα μιας χρήσης έως εφαρμογές στην ιατρική. Κύριες εφαρμογές στην καθημερινότητα βρίσκει στα προϊόντα μιας χρήσης (ποτήρια, μαχαιροπίρουνα, πιάτα, σακούλες), καθώς και στον τομέα της κλωστοϋφαντουργίας (υφάσματα, τέντες, ενδύματα μίας χρήσης). Επιπλέον χρησιμοποιείται και ως ανταλλακτικό αυτοκινήτων (πατάκια πάνελ) και ως μελάνι για 3D

εκτυπωτές (<https://www.gianeco.com/>). Στον τομέα της αγροκαλλιέργειας βρίσκει εφαρμογή κυρίως σαν γεωύφασμα αντικαθιστώντας το κλασσικό πολυαιθυλένιο. Το PLA έχει την ικανότητα να αποδομείται σε γαλακτικό οξύ το οποίο είναι αβλαβές για τον άνθρωπο, καθιστώντας το κατάλληλο να χρησιμοποιείται ως υλικό για τα ιατρικά εμφυτεύματα (Suzuki et al. 2010).

1.6.5 Στατιστικά στοιχεία

Τα βιοπλαστικά αποτελούν περίπου το 1% της παγκόσμια παραγωγής πλαστικού, αλλά η παραγωγή τους αναμένεται να αυξηθεί καθώς η ζήτηση για αυτά είναι μεγαλύτερη χρόνο με τον χρόνο. Βιοπολυμερή όπως το πολυγαλακτικό οξύ (PLA) και τα πολυυδροξυαλκανοϊκά (PHAs) είναι αυτά που οδηγούν στην ανάπτυξη της βιομηχανίας των βιοπλαστικών, αφού είναι εξαιρετικοί αντικαταστάτες των κλασσικών πολυμερών. Τα βιοπλαστικά έχουν εφαρμογές σε πολλούς τομείς, λόγω της αυξανόμενης ζήτησης για βιώσιμα προϊόντα τόσο από τους καταναλωτές όσο και από τις μεγάλες εταιρίες λόγω της αυξανόμενης ευαισθητοποίησης των επιπτώσεων στο περιβάλλον και της ανάγκης μείωσης της εξάρτησης από ορυκτές πηγές, καθώς και των συνεχών προόδων και καινοτομιών της βιομηχανίας βιοπλαστικών σε νέα υλικά με βελτιωμένες ιδιότητες και νέες λειτουργίες (Gironi, Piemonte, and European Bioplastics 2011).



Εικόνα 1.10 Καταναλωτές βιοπλαστικού (Kab 2010)

Η βιομηχανία συσκευασίας είναι ο μεγαλύτερος καταναλωτής βιοπλαστικών, ακριβώς όπως είναι και των παραδοσιακών πλαστικών. Ένας ακόμα τομέας που τα βιοπλαστικά

έχουν αρχίσει να χρησιμοποιούνται είναι η γεωργία, χρησιμοποιώντας γεωυφάσματα από βιοπλαστικά και όχι από πολυαιθυλένιο όπως συνήθως (Kab 2010).

1.6.6 Αποδόμηση βιοπλαστικών

Η αποδόμηση των βιοπλαστικών περιλαμβάνει διαφορετικούς μηχανισμούς διάσπασης που επηρεάζονται από την πρώτη ύλη παραγωγής τους, καθώς και από την χημική δομή τους. Οι βασικοί μηχανισμοί είναι η υδρόλυση, η φωτοοξείδωση και η αποδόμηση από μικροοργανισμούς (Environment Australia 2002). Οι διαδικασίες της υδρόλυσης και της φωτοοξείδωσης αποτελούν αβιοτικούς τρόπους αποδόμησης και δεν αντιπροσωπεύουν την βιοαποδομησιμότητα των βιοπλαστικών. Η βιοαποδόμηση είναι η αποδόμηση που αξιοποιεί τους μικροοργανισμούς που υπάρχουν στο περιβάλλον διάθεσης των βιοπλαστικών στο τέλος του κύκλου ζωής τους (Narayan 2017). Η βιοαποδομησιμότητα εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τις περιβαλλοντικές συνθήκες: θερμοκρασία, παρουσία μικροοργανισμών, παρουσία οξυγόνου και νερού. Έτσι, τόσο η βιοαποδομησιμότητα όσο και ο ρυθμός αποδόμησης ενός βιοπλαστικού προϊόντος μπορεί να διαφέρουν αν η απόθεση του πλαστικού έχει γίνει μέσα στο έδαφος, στην επιφάνεια του έδαφος, σε υγρό ή ξηρό περιβάλλον, σε επιφανειακά ύδατα, σε θαλάσσια ύδατα ή σε ανθρωπογενή συστήματα όπως το περιβάλλον οικιακής κομποστοποίησης, βιομηχανικής κομποστοποίησης ή σε περιβάλλον αναερόβιας χώνευσης (Verma and Fortunati 2019). Επιπλέον, παράγοντες που αφορούν την φύση του βιοπλαστικού όπως η χημική δομή, οι αλυσίδες πολυμερών, οι λειτουργικές ομάδες και η κρυσταλλικότητα επηρεάζουν το ρυθμό βιοαποδόμησής τους στο περιβάλλον (Thakur et al. 2018).

Η βιοαποδόμηση των βιοπλαστικών μπορεί να περιγραφεί επιγραμματικά σε τρία στάδια:

- Πρώτο στάδιο η *βιοφθορά*, τα πολυμερή υφίστανται χημική, μηχανική και φυσική αλλαγή, ως αποτέλεσμα της βιολογικής δραστηριότητας των μικροοργανισμών στην επιφάνεια του υλικού. Το πορώδες του πολυμερούς επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό αυτό το στάδιο.
- Το δεύτερο στάδιο είναι αυτό του *βιοθρυμματισμού*, όπου η μικροβιακή δραστηριότητα προκαλεί τη διάσπαση των πολυμερών σε ολιγομερή και μονομερή
- Το τρίτο στάδιο περιλαμβάνει την *αφομοίωση* των βιοπλαστικών, στην οποία οι βιο-θρυμματισμένες ενώσεις χρησιμοποιούνται από τους μικροοργανισμούς και μετατρέπονται σε τελικά προϊόντα βιοαποδόμησης, όπως CO₂, H₂O και βιομάζα.

Ενώ τα στάδια αυτά περιγράφουν σε γενικές γραμμές τη διαδικασία βιοαποδόμησης των βιοπλαστικών, οι διαδικασίες και τα προϊόντα βιοαποδόμησης μπορεί να διαφέρουν ανάλογα με το περιβάλλον απόθεσης των βιοπολυμερών (Folino et al. 2020).

1.6.7 Αποδόμηση PLA

Το PLA είναι ένα βιοδιασπώμενο βιοπλαστικό, το οποίο σημαίνει ότι υπό κατάλληλες συνθήκες, παρουσία οξυγόνου και υγρασίας, θα αποσυντεθεί σε νερό, διοξείδιο του άνθρακα και λοιπές μη τοξικές ενώσεις (Zaaba and Jaafar 2020). Το PLA αποδομείται μέσω της διαδικασίας της ενζυματικής υδρόλυσης, κατά την οποία διασπώνται οι εστερικοί δεσμών στην αλυσίδα του πολυμερούς PLA από ένζυμα που εκκρίνονται από μικροοργανισμούς. Η διαδικασία της υδρόλυσης ξεκινά όταν τα μόρια του νερού απορροφώνται από την αλυσίδα του πολυμερούς. Τα μόρια του νερού προκαλούν τη διάσπαση των εστερικών δεσμών στην αλυσίδα του πολυμερούς, με αποτέλεσμα το σχηματισμό ολιγομερών και μονομερών γαλακτικού οξέος.

Ένζυμα που εκκρίνονται από μικροοργανισμούς μπορούν στη συνέχεια να συνδεθούν στην επιφάνεια του PLA και να διασπάσουν τα олиγομερή και τα μονομερή σε μικρότερα θραύσματα, τα οποία μπορούν να μεταβολιστούν περαιτέρω από μικροοργανισμούς ως πηγή ενέργειας και θρεπτικών συστατικών. Η διαδικασία της υδρόλυσης του PLA εξαρτάται από παράγοντες, όπως η θερμοκρασία, η υγρασία και το pH του περιβάλλοντος αποδόμησης. Γενικά, οι υψηλότερες θερμοκρασίες και τα υψηλά επίπεδα υγρασίας επιταχύνουν τη διαδικασία αποδόμησης. Επιπλέον ο ρυθμός αποδόμησης του PLA μπορεί να ποικίλλει ανάλογα με τη συγκεκριμένη σύνθεση του υλικού και με την κρυσταλλικότητα του (Karamanlioglu, Preziosi, and Robson 2017; Polidar, Metzsch-Zilligen, and Pfaendner 2022).

1.6.8 Αποδόμηση PLA στο έδαφος

Μελέτες έχουν δείξει ότι το PLA είναι πιο ανθεκτικό στη μικροβιακή αποδόμηση στη φύση, σε σύγκριση με άλλα βιοπλαστικά και ότι η πλήρης αποδόμηση του PLA διαρκεί περίπου 1 χρόνο στο έδαφος, ενώ διαρκεί 60 έως 100 ημέρες σε περιβάλλον κομποστοποίησης (Sankhla, Sharma, and Tak 2020). Κάτω από την επιφάνεια του εδάφους, η διαθεσιμότητα οξυγόνου είναι γενικά περιορισμένη, γεγονός που δημιουργεί αναερόβιες συνθήκες. Αναερόβια αποδόμηση είναι η αποδόμηση σε συνθήκες έλλειψης ή χαμηλού οξυγόνου οξυγόνο σε μεσόφιλες (37 °C) ή θερμόφιλες (55 °C) συνθήκες. Απουσία οξυγόνου, η οργανική ύλη μετατρέπεται σε αέριο μεθάνιο, διοξείδιο του άνθρακα, νερό και άλλες ενώσεις με αποτέλεσμα μια αλληλουχία μεταβολικών αλληλεπιδράσεων από διαφορετικές ομάδες μικροοργανισμών (Bátori et al. 2018). Ο ρυθμός αποδόμησης σε αναερόβιες συνθήκες είναι χαμηλότερος επειδή απουσία οξυγόνου οι μικροοργανισμοί παράγουν περιορισμένο αριθμό ενζύμων (Thakur et al. 2018). Το πολυγαλακτικό οξύ σε περιβάλλον εδάφους, εμφανίζει υψηλή αντοχή στους μικροοργανισμούς, των οποίων η δράση ευκολύνεται όταν το υλικό έχει υδρολυθεί ώστε να μειωθεί το μοριακό του βάρος και έπειτα να αρχίσει η διαδικασία της βιοαποδόμησης. Έρευνες έχουν δείξει ότι σε αναερόβιες συνθήκες σε έδαφος το PLA δεν μπόρεσε να αποδομηθεί από τους μικροοργανισμούς του εδάφους (Bátori et al. 2018). Επιπλέον, οι σχετικά χαμηλές θερμοκρασίες που επικρατούν στο φυσικό περιβάλλον του εδάφους δυσχεραίνουν την αποδόμηση του PLA από τους μικροοργανισμούς (Rudnik and Briassoulis 2011).

1.6.9 Επιπτώσεις βιοπλαστικών στο έδαφος

Οι φυσικές ιδιότητες των βιοπλαστικών είναι διαφορετικές από αυτά των μη βιοαποδομήσιμων πλαστικών, επειδή τα βιοπλαστικά κατακερματίζονται πιο εύκολα καθώς πολλοί δεσμοί σπάνε κατά την αποδόμηση. Έτσι, εάν τα βιοπλαστικά απορρίπτονται με ανεξέλεγκτο τρόπο στο φυσικό περιβάλλον θα υπάρχει η συσσώρευση μικροπλαστικών που παράγονται από τα βιοπλαστικά και κατά συνέπεια μπορούν να επιφέρουν πληθώρα επιπτώσεων στο έδαφος, στα φυτά καθώς και στην πανίδα του εδάφους (Liao and Chen 2021).

Επιπτώσεις στις ιδιότητες του εδάφους

Οι μηχανισμοί με τους οποίους τα βιοπλαστικά επηρεάζουν τις φυσικές και χημικές ιδιότητες του εδάφους, δεν έχουν μελετηθεί εκτενώς. Παρόλα αυτά πολλές έρευνες έχουν δείξει ότι τα υπολείμματα βιοπλαστικών επηρεάζουν σημαντικές φυσικές ιδιότητες του εδάφους, όπως η υφή του εδάφους, η δομή, το πορώδες, η πυκνότητα και η σταθερότητα

των αδρανών, οι οποίες με την σειρά τους επηρεάζουν άμεσα κρίσιμες λειτουργίες του εδάφους όπως η κυκλοφορία του αέρα του εδάφους, η κατακράτηση και η κίνηση του νερού, η δυναμική των θρεπτικών στοιχείων και η βιολογική παραγωγικότητα. Επιπλέον, σε μερικές περιπτώσεις έχει παρατηρηθεί αλλαγή στις χημικές ιδιότητες όπως το pH του εδάφους το οποίο επηρεάζει τις βιογεωχημικές διεργασίες καθορίζει την κινητικότητα διαφόρων ρύπων και θρεπτικών ουσιών, ρυθμίζει την οργανική ύλη του εδάφους και επηρεάζει τη μικροβιακή δραστηριότητα του εδάφους. Η χρήση διαφορετικών προσθέτων στην σύνθεση των βιοπλαστικών τα οποία απελευθερώνονται κατά την αποδόμηση μπορούν να διεισδύσουν σε βαθύτερα στρώματα του εδάφους, επηρεάζοντας περαιτέρω τα οικοσυστήματα του εδάφους και τις βιογεωχημικές λειτουργίες (Chah et al. 2022).

Επιπτώσεις στους μικροοργανισμούς του εδάφους

Ορισμένες μελέτες έδειξαν ότι τα βιοπλαστικά οδηγούν σε ουσιαστικές αλλαγές στις μικροβιακές κοινότητες και την ποικιλότητα του εδάφους. Οι μικροοργανισμοί του εδάφους επηρεάζονται από πολλαπλούς παράγοντες, όπως η οργανική ύλη, ο τύπος του εδάφους, το pH, η υγρασία του εδάφους, το πορώδες, παράγοντες οι οποίοι μπορούν να αλλάξουν λόγω της παρουσίας των βιοπλαστικών (Chah et al. 2022).

Επιπτώσεις στην πανίδα του εδάφους

Τα μικροπλαστικά που προκύπτουν από τα βιοπλαστικά, έχουν παρόμοιες επιπτώσεις στην πανίδα του εδάφους με τα μικροπλαστικά των συμβατικών πλαστικών παρόλο που σύμφωνα με υπάρχοντα πειράματα και δεδομένα, τα βιοπλαστικά φαίνεται να είναι πιο βιοτοξικά από τα συμβατικά πλαστικά. Η τοξικότητα τους για τα ζώα του εδάφους σχετίζεται στενά με τη συγκέντρωση έκθεσης, το σχήμα, το μέγεθος, τον τύπο και τα πρόσθετα των μικροπλαστικών. Οι σοβαρές απειλές για την υγεία των ζώων του εδάφους περιλαμβάνουν τον υποσιτισμό, τη φλεγμονή, τη χημική δηλητηρίαση, την παρεμπόδιση της ανάπτυξης, τη μείωση της γονιμότητας και τον θάνατο λόγω βλαβών σε ατομικά, όργανα, ιστούς, κύτταρα και μοριακά επίπεδα (Fan et al. 2022a).

Επιπτώσεις στην χλωρίδα του εδάφους

Τα μικροπλαστικά των βιοπλαστικών τείνουν να προσκολλώνται έντονα στις επιφάνειες των ριζών των φυτών και να απορροφώνται από αυτές. Τα βιοπλαστικά μπορούν να αναστείλουν την διαδικασία ανάπτυξης των φυτών, αναστέλλοντας το ύψος τους και την παραγωγή καρπών, με μελέτες να δείχνουν μειωμένο αριθμό των κόκκων σιταριού σε καλλιέργειες όπου υπήρχαν υπολείμματα βιοπλαστικών. Επιπλέον, πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι μπορούν να διεισδύσουν στις ρίζες διάφορων φυτών, όπως του σιταριού και του μαρουλιού, και να εισέλθουν στα βρώσιμα μέρη των καλλιεργειών μέσω της ροής νερού και θρεπτικών συστατικών υπό τη δράση της διαπνοής. Αυτό μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα να εκτεθεί ο ανθρώπινος οργανισμός στα βιοπλαστικά, ένα πεδίο στο οποίο δεν έχουν γίνει πολλές έρευνες και επομένως δεν είναι γνωστές οι επιπτώσεις των βιοπλαστικών στην ανθρώπινη υγεία (Fan et al. 2022a).

2 Σκοπός Εργασίας

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η μελέτη της βιοαποδόμησης δύο διαφορετικών ειδών πλαστικού, του HDPE ένα συμβατικό πλαστικό που έχει πολλές εφαρμογές στον τομέα της αγροκαλλιέργειας και του PLA, που είναι ένα βιοπλαστικό που

αρχίζει να χρησιμοποιείται ως υποκατάστατο των συμβατικών πλαστικών, από μικροοργανισμούς που βρίσκονται σε εδάφη δύο διαφορετικών αγροκαλλιεργειών, ελιάς από την περιοχή των Κουνουπιδιανών Χανίων και ντομάτας από τη Φαλάσαρνα Χανίων.

3 Υλικά και Μέθοδοι

3.1 Υλικά

Παρακάτω παρουσιάζονται σε πίνακες τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν για την εκπόνηση της παρούσας διπλωματικής εργασίας.

Πίνακας 3.1 Εργαστηριακός εξοπλισμός

	Εργαστηριακός Εξοπλισμός
Αναλώσιμα	Αλουμινόχαρτο
	Γάντια
	Πλαστικά Σακουλάκια
	Γάντια
	Γκαζάκι
	Χαρτοταινία
	Αλουμινένια Κύπελα
Γενικός Εξοπλισμός	Λαβίδα
	Ψαλίδι
	Ποτήρι Ζέσεως
	Falcon 15 ml
	Falcon 30 ml
	Erpenedorf
	Κυψελίδες
	Σπάτουλα με κουτάλι
	Βάση στήριξης Δοκιμαστικών Σωλήνων
	Ογκομετρικός Κύλινδρος
	Πλαστικά Τριβλία
Χειρισμός υγρών	Πλαστική Πιπέτα μιας χρήσεως
	Αυτόματη πιπέτα
	Ρύγχη για πιπέτα
	Πουάρ
	Σταγονόμετρο

Πίνακας 3.2 Συσκευές εργαστηρίου

Συσκευές Εργαστηρίου
Απαγωγός
Αναδευτήρας στροβιλισμού (vortex)
Ζυγαριά ακριβείας
Κλίβανος Αποστείρωσης
Τράπεζα Ανάδευσης

Φούρνος Ξήρανσης
Φασματοφωτόμετρο UV-VIS

Πίνακας 3.3 Ουσίες

Ουσίες
Bovine serum albumin (BSA)
Crystal Violet
Quick Start™ Bradford 1x Dye Reagent
Tween®80
Αιθανόλη
Αποστειρωμένο H ₂ O
Γλουταραλδεΰδη

3.2 Μέθοδοι

3.2.1 Προετοιμασία Πειράματος

Προετοιμασία Φιλμ

- Φιλμ Πολυγαλακτικού οξέος

Για το πείραμα χρησιμοποιήθηκαν καλαμάκια πολυγαλακτικού οξέος (PLA) κυλινδρικού σχήματος μήκους 15 cm και διαμέτρου 1 cm.

- Φιλμ Υψηλής Πυκνότητας Πολυαιθυλενίου (HDPE)

Για το πείραμα χρησιμοποιήθηκαν φιλμ HDPE μήκους 15 cm και πλάτους 1 cm.

Τα φιλμ PLA και HDPE ψεκάστηκαν με αιθανόλη ώστε να αποστειρωθούν και καλύφθηκαν με αλουμινόχαρτο έως ότου στεγνώσουν.



Εικόνα 3.1 Δείγματα φιλμ HDPE και PLA μετά από τον ψεκασμό με την αιθανόλη

Προετοιμασία Εδαφών

Στο πείραμα χρησιμοποιήθηκαν δύο είδη εδάφους. Το πρώτο είδος ήταν έδαφος καλλιέργειας ελιάς από τον χώρο του Πολυτεχνείου Κρήτης και το δεύτερο είδος εδάφους ήταν καλλιέργειας ντομάτας από θερμοκήπια της περιοχής Φαλάσαρνας Χανίων.

Το έδαφος κοσκινίστηκε ώστε να απομακρυνθούν φύλλα, πέτρες και άλλα υπολείμματα με κόσκινο με διαστάσεις οπών 4mm×4mm. Στην συνέχεια για να προσδιοριστεί η αρχική υγρασία του κάθε εδάφους τοποθετήθηκε μια συγκεκριμένη ποσότητα στον φούρνο ξήρανσης για 48 ώρες.

Έδαφος Ελιάς

Πίνακας 3.4 Υπολογισμός Υγρασίας Εδάφους Ελιάς

Βάρος πριν την ξήρανση	751,3
Βάρος μετά την ξήρανση	690
Υγρασία Εδάφους	$\frac{751,3 - 690}{751,3} \times 100 = 8,16\%$

Έδαφος Ντομάτας

Πίνακας 3.5 Υπολογισμός Υγρασίας Εδάφους Ντομάτας

Βάρος πριν την ξήρανση	750
Βάρος μετά την ξήρανση	713
Υγρασία Εδάφους	$\frac{750 - 713}{750} \times 100 = 4,93\%$

Παρατηρείται ότι η αρχική υγρασία των εδαφών απέχει σε μεγάλο βαθμό.

Δημιουργία Μικρόκοσμων

Ο κάθε μικρόκοσμος αποτελείται από ένα γυάλινο βάζο, 750 g εδάφους και 200 g χαλίκι. Τα βάζα πλύθηκαν με σαπούνι και νερό και τα χαλίκια ξεπλύθηκαν με νερό για την αφαίρεση σκόνης και υπολειμμάτων. Προκειμένου η υγρασία να είναι ελεγχόμενη στον κάθε μικρόκοσμο προστέθηκε ορισμένη ποσότητα απιονισμένου νερού. Η υγρασία στους μικρόκοσμους με έδαφος ελιάς ορίστηκε 10,88%, ενώ για αυτούς με το έδαφος ντομάτας 7,56%.

Σε κάθε μικρόκοσμο προστέθηκαν τα φιλμ HDPE και PLA με την χρήση λαβίδας, το κάθε βάζο καλύφθηκε περιμετρικά με αλουμινόχαρτο και φυλάχθηκαν σε εξωτερικό χώρο, στη Πολυτεχνειούπολη στα Κουνουπιδιανά Χανίων. Η μέρα που τα πλαστικά φιλμ μπήκαν στους μικρόκοσμους θεωρείται η μέρα μηδέν του πειράματος.

Επιπλέον μετρήθηκε το pH των δύο εδαφών:

Πίνακας 3.6 Μέτρηση pH για τα δύο εδαφών

Τύπος Εδάφους	1 ^η Μέτρηση	2 ^η Μέτρηση	3 ^η Μέτρηση	Μέσος όρος
Έδαφος Ελιάς	7,78	7,07	7,08	7,31
Έδαφος Ντομάτας	7,38	7,38	7,02	7,26

Μικρόκοσμοι ελέγχου

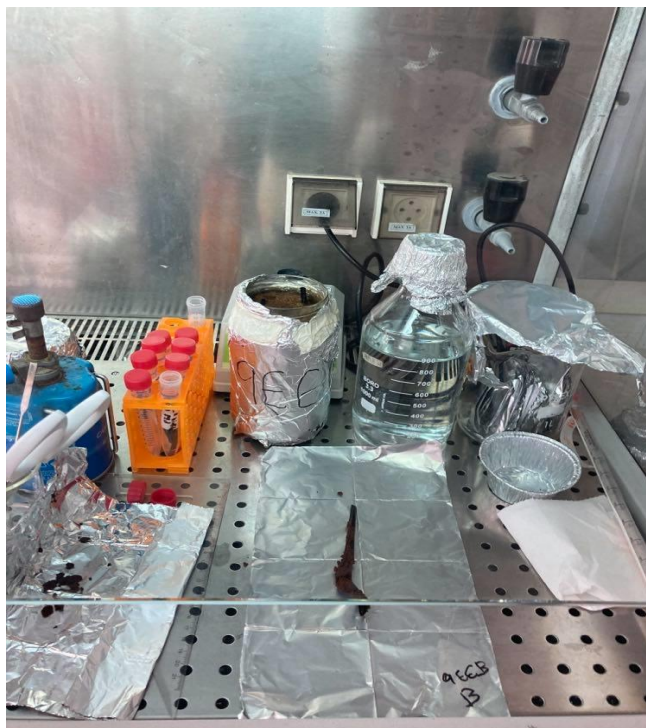
Οι μικρόκοσμοι ελέγχου αποτελούνται από 300 g εδάφους και 250 g χαλίκι μέσα σε ένα γυάλινο βάζο καλυμμένο περιμετρικά με αλουμινόχαρτο. Για τις ανάγκες του πειράματος

δημιουργήθηκαν τρεις μικρόκοσμοι για το έδαφος ελιάς και τρεις για το έδαφος ντομάτας
Δεν έγινε προσθήκη πλαστικών φιλμ στους μικρόκοσμους ελέγχου.

3.2.2 Δειγματοληψία

Σε διάστημα 168 ημερών πραγματοποιήθηκαν 6 δειγματοληψίες για κάθε είδος εδάφους.

- Οι μικρόκοσμοι μεταφέρονταν από τον χώρο του θερμοκηπίου στον θάλαμο του εργαστηρίου.
- Με αποστειρωμένη λαβίδα απομακρύνονταν 4 φιλμ HDPE ή PLA από το μικρόκοσμο.
- Με αποστειρωμένο ψαλίδι αφαιρείται το αβιοτικό κομμάτι και φυλάσσεται για περαιτέρω αναλύσεις.
- Το υπόλοιπο φιλμ κόβεται ανά 2 cm. Με λαβίδα τοποθετήθηκε ένα κομμάτι του φιλμ σε αλουμινένιο κύπελλο για αερισμό, ώστε να πραγματοποιηθεί αργότερα η χρώση με κρυσταλλικό ιώδες.
- Τα λοιπά κομμάτια του φιλμ τοποθετούνται σε ένα falcon χωρητικότητας 15 ή 50 mL μαζί με 10 mL αποστειρωμένου απιονισμένου νερού και τρεις σταγόνες της ουσίας tween80.
- Τα falcons με τα φιλμ αφήνονται για ανάδευση για ένα μικρό διάστημα (1 ημέρα) ώστε να απομακρυνθεί το βιοφίλμ που είχε προσκολληθεί στην επιφάνεια τους.
- Το νερό πλύσης αποθηκεύεται στην κατάψυξη σε θερμοκρασία -20 °C για περαιτέρω αναλύσεις.
- Από κάθε μικρόκοσμο αφαιρείται μικρή ποσότητα εδάφους με κουτάλι και τοποθετείται σε αποστειρωμένο αλουμινόχαρτο. Το αλουμινόχαρτο με το έδαφος αποθηκεύεται στην κατάψυξη σε θερμοκρασία -20 °C για περαιτέρω αναλύσεις.



Εικόνα 3.2 Δειγματοληψία φιλμ PLA

3.2.3 Χρώση δειγμάτων με κρυσταλλικό ιώδες (sample staining with crystal violet)

Για την χρώση των δειγμάτων με κρυσταλλικό ιώδες ακολουθήθηκε η παρακάτω διαδικασία.

- Αερισμός των δειγμάτων στον απαγωγό αερίων για 45 λεπτά.
- Χρώση με 1% κρυσταλλικό ιώδες(2 σταγόνες) .
- Αερισμός των βαμμένων δειγμάτων στον απαγωγό αερίων για 45 λεπτά.
- Πλύση των δειγμάτων με απιονισμένο νερό(3 πλύσεις).
- Αερισμός των δειγμάτων στον απαγωγό αερίων για 45 λεπτά.
- Τοποθέτηση δείγματος σε erpendorf χωρητικότητας 2mL με 1 mL 95% αιθανόλης για 10 λεπτά.
- Μέτρηση τιμής οπτικής απορρόφησης στα 595 nm.

Δεκτές οι τιμές απορρόφησης που είναι μικρότερες του 1. Σε κάθε δείγμα γίνονται κατά μέσο όρο 5 αραιώσεις για να επιτευχθούν αποδεκτές τιμές.



Εικόνα 3.3 Δείγμα αιθανόλης με crystal violet μετά από αραιώσεις

3.2.4 Μέτρηση Κυττάρων

Για την μέτρηση των κυττάρων στο κυτταρόμετρο και την διατήρησή τους χρησιμοποιήθηκε γλουταραλδεΐδη (glutaraldehyde). Για κάθε δείγμα σε erpendorf χωρητικότητας 2mL προστέθηκαν:

- 1380 μ L βιοφιλμ
- 120 μ L glutaraldehyde 25%

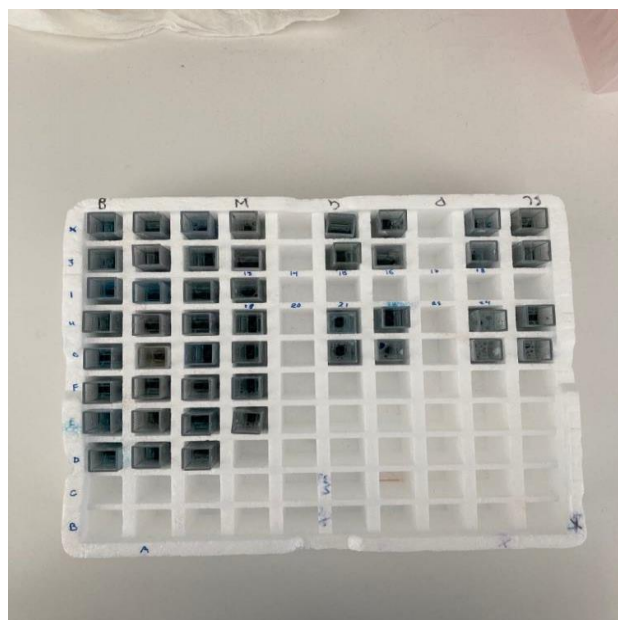
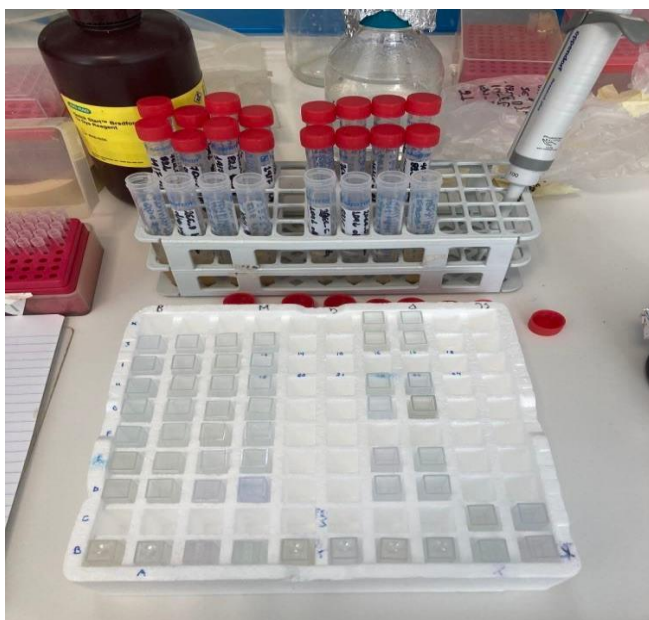
Τα erpendorfs αναδεύτηκαν με χρήση του αναδευτήρα στροβιλισμού (Vortex). Παρέμειναν μία ώρα στο ψυγείο πριν μεταφερθούν στην κατάψυξη όπου φυλάσσονταν για περαιτέρω αναλύσεις.

3.2.5 Προσδιορισμός ολικών πρωτεϊνών

Η μέθοδος προσδιορισμού ολικών πρωτεϊνών εφαρμόστηκε σε όλα τα δείγματα του βιοφίλμ. Για την δημιουργία της καμπύλης χρησιμοποιήθηκαν μικρά γυάλινα μπουκαλάκια. Αρχικά, έγινε η παραγωγή του διαλύματος B με προθήκη 25 mL απιονισμένου νερού και 20 mg bovine serum albumin (BSA). Έπειτα ακολουθεί η παραγωγή των εξής αραιώσεων:

- ο Διάλυμα B (500 $\mu\text{g/mL}$)
- ο Διάλυμα C (250 $\mu\text{g/mL}$): 2,5 ml H_2O + 2,5 ml B
- ο Διάλυμα D (200 $\mu\text{g/mL}$): 3 ml H_2O + 2 ml B
- ο Διάλυμα E (150 $\mu\text{g/mL}$): 3,5 ml H_2O + 1,5 ml B
- ο Διάλυμα F (125 $\mu\text{g/mL}$): 2,5 ml H_2O + 2,5 ml C
- ο Διάλυμα G (100 $\mu\text{g/mL}$): 4 ml H_2O + 1 ml B
- ο Διάλυμα H (75 $\mu\text{g/mL}$) : 2,5 ml H_2O + 2,5 ml E
- ο Διάλυμα I (50 $\mu\text{g/mL}$) : 2,5 ml H_2O + 2,5 ml G
- ο Διάλυμα J (25 $\mu\text{g/mL}$) : 2,5 ml H_2O + 2,5 ml I

Σε 8 κυψελίδες, μία για κάθε αραιώση από το C – J, προστέθηκε 1 ml Quick Start™ Bradford 1x Dye Reagent και 20 mL της εκάστοτε αραιώσης. Το υγρό στις κυψελίδες ομογενοποιείται με την χρήση της πιπέτας. Για κάθε κυψελίδα λαμβάνουμε 3 μετρήσεις στο φασματοφωτόμετρο και αφού υπολογίσουμε τον μέσο όρο δημιουργούμε την καμπύλη. Τέλος, με παρόμοιο τρόπο, δηλαδή με προσθήκη σε κυψελίδες 1 ml Quick Start™ Bradford 1x Dye Reagent και 20 ml βιοφίλμ υπολογίζουμε τις τιμές απορρόφησης για το βιοφίλμ. Μέσω της καμπύλης γίνεται η αντιστοίχιση και τελικά η εύρεση της συγκέντρωσης της πρωτεΐνης σε κάθε δείγμα.



Εικόνα 3.4 Δείγματα βιοφίλμ με Quick Start™ Bradford 1x Dye Reagent

3.2.6 Απορρόφηση του φωτός

Όταν το φως απορροφάται από το δείγμα, η ισχύς της ακτινοβολίας της δέσμης του φωτός μειώνεται. Η ένταση (ισχύς) της ακτινοβολίας (P) είναι η ενέργεια ανά δευτερόλεπτο ανά μονάδα επιφανείας της δέσμης του φωτός. Το φως περνά μέσω ενός μονοχρωμάτορα, ο οποίος μπορεί να είναι ένα πρίσμα, ένα φράγμα ή και ένα φίλτρο, για να επιλεγεί ένα μήκος κύματος. Το φως ενός μήκους κύματος (μονοχρωματικό) με ισχύ ακτινοβολίας διαπερνά ένα δείγμα πάχους b . Η ισχύς της δέσμης ακτινοβολίας που εξέρχεται από την άλλη πλευρά του δείγματος είναι P . Επομένως, μέρος του συνολικού φωτός μπορεί να έχει απορροφηθεί από το δείγμα. Ως διαπερατότητα (T) ορίζεται το κλάσμα του φωτός που διαπερνά το δείγμα και ορίζεται ως:

$$T = \frac{P}{P_0}$$

Για τον λόγο αυτό το T έχει εύρος από 0 έως 1, αφού η επί τοις εκατό διαπερατότητα είναι απλώς $100 \cdot T$. Η απορρόφηση ορίζεται ως:

$$A = \log \left(\frac{P_0}{P} \right) = -\log(T)$$

Η απορρόφηση στην οπτική ονομάζεται πολλές φορές και οπτική πυκνότητα, και είναι πολύ σημαντική διότι είναι ευθέως ανάλογη με τη συγκέντρωση (c) της ουσίας που απορροφά το φως στο δείγμα (Anon n.d.).

3.2.7 Φασματοφωτόμετρο ορατού-υπεριώδους (UV-VIS)

Με το φασματοφωτόμετρο πραγματοποιείται η μέτρηση της έντασης μιας επιλεγμένης συχνότητας ακτινοβολίας. Το πρώτο τμήμα του φασματοφωτόμετρου, αποτελείται από την πηγή παραγωγής ακτινοβολίας. Το δεύτερο τμήμα είναι αυτό που διαχωρίζει το επιθυμητό μήκος κύματος από τα υπόλοιπα που παράγει η πηγή, παρέχοντας έτσι στο τρίτο μέρος μονοχρωματική ακτινοβολία. Το τρίτο είναι αυτό που τοποθετείται το προς μέτρηση δείγμα και το τελευταίο είναι ο μετρητής της ακτινοβολίας. Η πιο απλή μορφή φασματοφωτόμετρου είναι το φασματοφωτόμετρο ορατού φάσματος (VIS από το Visible). Στο συγκεκριμένο η πηγή είναι μια λάμπα πυράκτωσης, το σύστημα διαχωρισμού είναι ένα πρίσμα ή ένα παραθλαστικό φράγμα το οποίο απομονώνει την επιθυμητή μονοχρωματική ακτινοβολία. Η ακτινοβολία αυτή περνάει μέσα από μια κυψελίδα ένα δηλαδή διαφανές άχρωμο δοχείο που περιέχει το προς εξέταση δείγμα και όσο φως δεν απορροφά το διάλυμα μετρείται από το φωτόμετρο που βρίσκεται από την απέναντι πλευρά της κυψελίδας (Χριστοδούλου 2009).

3.2.8 Φασματοσκοπία Υπέρυθρου με την τεχνική της Αποσβένουσας Ολικής Ανάκλασης (Attenuated Total Reflection, ATR)

Μία από τις σημαντικότερες τεχνικές ανάκλασης που έχουν αναπτυχθεί και χρησιμοποιείται ευρέως από τα φασματοφωτόμετρα FTIR, κυρίως για επιφανειακές αναλύσεις, είναι η τεχνική της αποσβένουσας ολικής ανάκλασης (attenuated total reflectance, ATR). Είναι κατάλληλη για μελέτη δειγμάτων μεγάλου πάχους ή υψηλά απορροφητικών και αδιαφανών στερεών ή υγρών υλικών που περιλαμβάνουν λεπτά φιλμ και επικαλύψεις, κονιοποιημένα υλικά (σκόνες), νήματα, πάστες, κόλλες, λεπτά υμένια πολυμερών και υδατικά διαλύματα. Το βασικό πλεονέκτημα της ATR-FTIR είναι ότι δεν

απαιτεί προ επεξεργασία του δείγματος ή ομογενοποίηση του, παρά μόνο μία απειροελάχιστη ποσότητα δείγματος που τοποθετείται σε επαφή με τον κρύσταλλο. Για να επιτυγχάνεται απόλυτη επαφή άρα και σωστή μέτρηση, επιλέγεται πάντα ο κατάλληλος εξοπλισμός, που εξασφαλίζει ότι το δείγμα πιέζεται πάνω στον κρύσταλλο (Skoog, Holler, and Crouch 2007).

Αρχές Λειτουργίας Μηχανήματος

Η λειτουργία του μηχανήματος βασίζεται στο φαινόμενο ολικής ανάκλασης, το οποίο λαμβάνει χώρα όταν η δέσμη ακτινοβολίας εισάγεται από ένα μέσο με υψηλό δείκτη διάθλασης (διαφανής κρύσταλλος) σε ένα μέσο με χαμηλή διάθλαση. Το δείγμα τοποθετείται πάνω στο κρύσταλλο και η δέσμη της υπέρυθρης ακτινοβολίας που προσπίπτει στον κρύσταλλο υφίσταται πολλαπλές ολικές ανακλάσεις στον κρύσταλλο, με αποτέλεσμα να διέρχεται από το δείγμα πολλές φορές, από το οποίο και απορροφάται. Η εσωτερική ολική ανάκλαση της ακτινοβολίας στη διεπιφάνεια μεταξύ των δύο μέσων με διαφορετικούς δείκτες διάθλασης έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός φθίνοντος κύματος, το οποίο διεισδύει κι εκτείνεται στο μέσο με τον χαμηλότερο δείκτη διάθλασης και εξασθενεί στις περιοχές του υπέρυθρου ηλεκτρομαγνητικού φάσματος όπου το δείγμα απορροφά ενέργεια (Khan et al. 2018).

Ο βαθμός κρυσταλλικότητας εκφράζει το ποσοστό του κρυσταλλικού υλικού επί του συνόλου. Το πολυμερές αποτελείται από κρυσταλλικές και άμορφες περιοχές. Όταν το υλικό αποδομείται, δημιουργούνται άμορφες περιοχές στο πολυμερές, γεγονός που αποτελεί ένδειξη βιοαποδόμησης (Zerbi et al. 1989). Το ποσοστό της κρυσταλλικότητας της επιφάνειας του πολυαιθυλενίου προκύπτει από την ποσοτική αξιολόγηση των άμορφων έναντι των κρυσταλλικών περιοχών, και υπολογίζεται από την παρακάτω εξίσωση (Δασενάκης 2019; Παπαδάκη 2020):

$$\text{Κρυσταλλικότητα (\%)} = 100 - \left[\left(1 - \frac{I_a - (1,233 * I_b)}{1 + \frac{I_a}{I_b}} \right) * 100 \right]$$

Όπου:

- I_a η απορρόφηση στα 730 μήκη κύματος (cm^{-1})
- I_b η απορρόφηση στα 720 μήκη κύματος (cm^{-1})

Πειραματική Διαδικασία

Πριν την διαδικασία μέτρησης των δειγμάτων χρειάστηκε μια προεργασία προκειμένου τα φιλμ να είναι καθαρά από τυχόν υπολείμματα εδάφους στην επιφάνειά τους. Τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε ποτήρι ζέσεως με καθαρή αιθανόλη και στη συνέχεια έγινε ο καθαρισμός τους με τη χρήση υπερήχων. Το κάθε δείγμα τοποθετήθηκε στους υπερήχους για 1 λεπτό.



Εικόνα 3.5 Καθαρισμός φιλμ με υπερήχους, μέτρηση απορρόφησης φιλμ PLA

στέγνωσαν πραγματοποιήθηκε η μέτρηση. Μετρήθηκε η απορρόφηση 3 μερών του κάθε φιλμ από την δειγματοληψία:

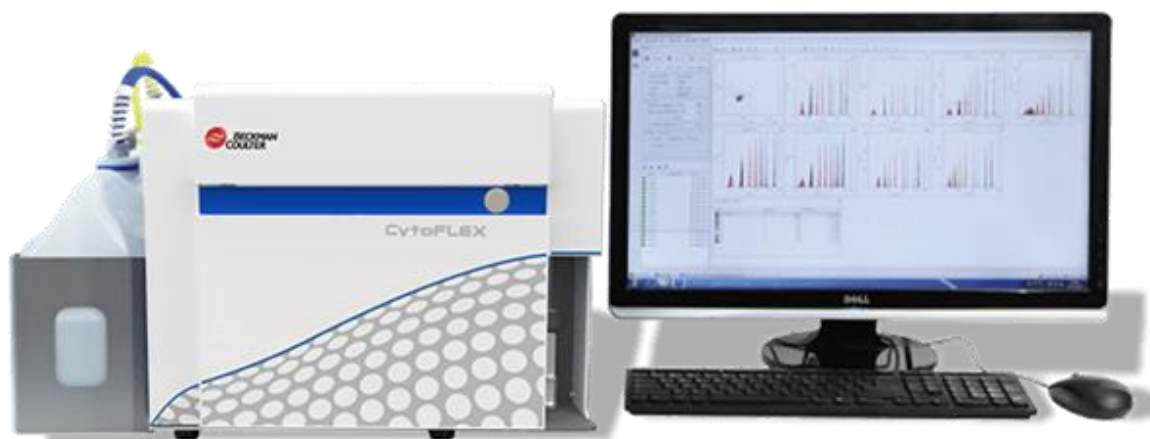
- Αβιοτικό μέρος
- 0-5cm
- 5-15cm

Συνολικά μετρήθηκαν $3 \times 8 = 24$ δείγματα από κάθε δειγματοληψία, δηλαδή 144 δείγματα για τις 6 δειγματοληψίες που πραγματοποιήθηκαν στο έδαφος ελιάς και 144 δείγματα για το έδαφος ντομάτας. Πάντα από την μία μέτρηση στην άλλη, η επιφάνεια και ο κρύσταλλος καθαρίζονταν με ειδικό πανί και γινόταν μέτρηση του background noise.

3.2.9 Κυτταρομετρία ροής (Κυτταρόμετρο CytoFLEX)

Η κυτταρομετρία ροής είναι μία τεχνική που επιτρέπει τη μελέτη κυτταρικών πληθυσμών μέσω ανάλυσης της σκέδασης του φωτός από τα κύτταρα καθώς και της εκπομπής φθορισμού από αυτά. Τα κύτταρα, που βρίσκονται σε διάλυμα, διέρχονται μοναδιαία από μία δέσμη λέιζερ, το οποίο σκεδάζεται σε διαμορφώσεις χαρακτηριστικές των κυττάρων και του περιεχομένου τους. Τα κύτταρα χρωματίζονται με φθορίζουσες χρωστικές, έτσι ώστε το φως που απορροφάται στη συνέχεια εκπέμπεται σε διαφορετικές συχνότητες. Γύρω από τη δέσμη του φωτός που διαπερνάει τη ροή του υγρού υπάρχουν ένας ανιχνευτής σε ευθυγράμμιση με τη δέσμη φωτός, κάποιοι άλλοι κάθετοι σε αυτήν και ένας ή περισσότεροι ανιχνευτές φθορισμού. Ο φθορισμός μπορεί να είναι ενδογενής ή να προέρχεται από εξωγενείς ενώσεις με τις οποίες μαρκάρονται οι κυτταρικοί πληθυσμοί. Κάθε αιωρούμενο σωματίδιο που περνά διαμέσου της δέσμης σκεδάζει το φως προς κάποια κατεύθυνση και παράλληλα τα φθορίζοντα χημικά που βρίσκονται στο σωματίδιο ή

επί της επιφάνειάς του μπορούν να διεγερθούν και να εκπέμπουν φως άλλου μήκους κύματος από αυτό της πηγής. Ο συνδυασμός σκεδασμένου και φθορίζοντος φωτός παραλαμβάνεται από τους ανιχνευτές και μετά αφού το αναλύσουν δίνουν στοιχεία σχετικά με τη φυσική και χημική δομή κάθε μεμονωμένου σωματιδίου. Υπάρχουν διάφοροι τρόποι ανάλυσης των δεδομένων όπως το ιστόγραμμα, το δυσδιάστατο γράφημα, η τρισδιάστατη γραφική παράσταση και το contour plot. Η εμπρόσθια σκέδαση "FSC" (Forward Scattering) σχετίζεται με τον όγκο του κυττάρου και η πλάγια σκέδαση "SSC"



Εικόνα 3.6 Κυτταρόμετρο CytoFLEX (<https://www.beckman.com/flow-cytometry/research-flow-cytometers/cytoflex>)

(Side Scattering) εξαρτάται από την εσωτερική πολυπλοκότητα του σωματιδίου όπως το σχήμα του πυρήνα ή τον αριθμό κυτταροπλασματικών σωματιδίων (Μπουρνάκας 2021).

Στο εργαστήριο του Πολυτεχνείου χρησιμοποιείται το κυτταρόμετρο CytoFLEX της Beckman Coulter Life Sciences. Αποτελείται από τρία στοιχεία : τα δοχεία ρευστών (Fluid Containers) που είναι το σημείο που εισέρχεται η θήκη των ρευστών και των υγρών απόβλητων, το κυτταρόμετρο (Cytometer) που παράγει και συλλέγει τα σήματα και το λογισμικό ανάλυσης δεδομένων κυτταρομετρίας (Beckman Coulter 2017).

Πειραματική Διαδικασία

Η μέτρηση των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε στα erpendorf με τη γλουταραλδεΐδη (glutaraldehyde) που είχαν προετοιμαστεί κατά την διάρκεια κάθε δειγματοληψίας και φυλάσσονταν στην κατάψυξη. Αρχικά, τα δείγματα περάστηκαν από φίλτρο 5 μm με σύριγγα, ώστε να απομακρυνθούν υπολείμματα εδάφους. Στην συνέχεια, έγινε αραιώση 1:2 του δείγματος με αποστειρωμένο H_2O . Τα αραιωμένα δείγματα τοποθετήθηκαν σε tubes που έγινε η προσθήκη 5 μL χρωστικής SYBR-green. Τα δείγματα επωάστηκαν στο σκοτάδι για 20 λεπτά πριν την μέτρηση.

3.2.10 Μέτρηση pH του εδάφους

Για την μέτρηση του εδαφικού pH τοποθετήθηκε για ξήρανση μια ποσότητα εδάφους, σε φούρνο στους 50 $^{\circ}\text{C}$ για 48 ώρες. Αφού το δείγμα έρθει σε θερμοκρασία δωματίου, ζυγίστηκαν 30g εδάφους σε γυάλινο δοχείο και αναδεύτηκαν για μισή ώρα. Τα δείγματα αποσύρθηκαν από το τάρακτρο και έμειναν σε ηρεμία μέχρι να καθιζάνει το έδαφος. Στην συνέχεια το pH μετρήθηκε με πεχάμετρο.

3.2.11 Μέτρηση ολικού οργανικού άνθρακα (TOC)

Η μέτρηση του διαλυμένου οργανικού άνθρακα έγινε με το “Multi N/C 2100S” της Analytik Jena το οποίο είναι ένα μηχάνημα μέτρησης του ολικού οργανικού άνθρακα (TOC) . Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο “Υδρογεωχημικής Μηχανικής και Αποκατάστασης Εδαφών”, όπου έγιναν αναλύσεις για 12 δείγματα εδάφους ελιάς και ντομάτας.



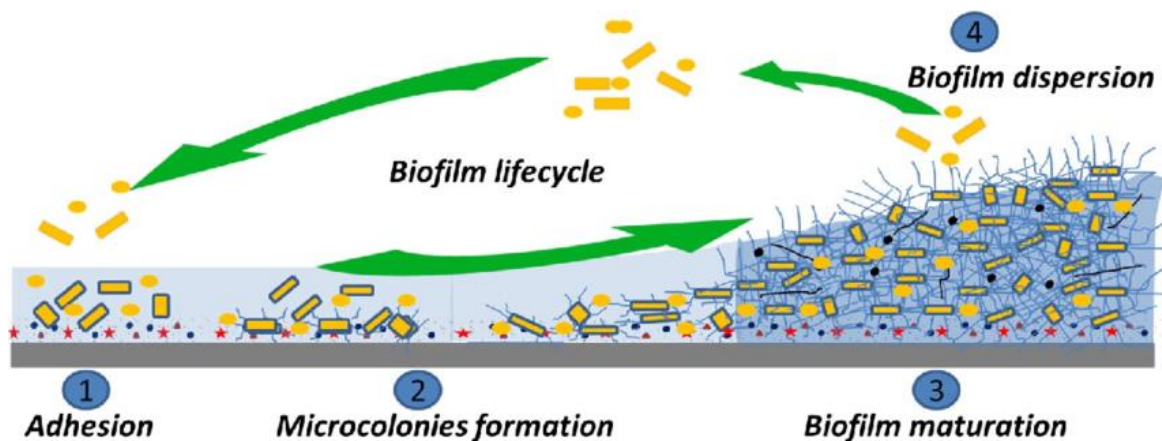
Εικόνα 3.7 Multi N/C 2100S (Series n.d.)

4 Αποτελέσματα και Συζήτηση

4.1 Βιοφίλμ

Ένας από τους κυριότερους τρόπους βιοαποδόμησης των πολυμερών, είναι η αποδόμηση από τους μικροοργανισμούς. Οι μικροοργανισμοί δρουν στην επιφάνεια του πολυμερούς σχηματίζοντας πάνω της μία μεμβράνη, το βιοφίλμ (Walczak et al. 2015). Η ανάπτυξη του βιοφίλμ έχει 3 βασικά στάδια:

- i. Προσκόλληση στην επιφάνεια
- ii. Ανάπτυξη-Ωρίμανση
- iii. Διασπορά



Εικόνα 4.1 Στάδια Ανάπτυξης του βιοφίλμ σε αβιοτική επιφάνεια (Abdallah et al. 2014)

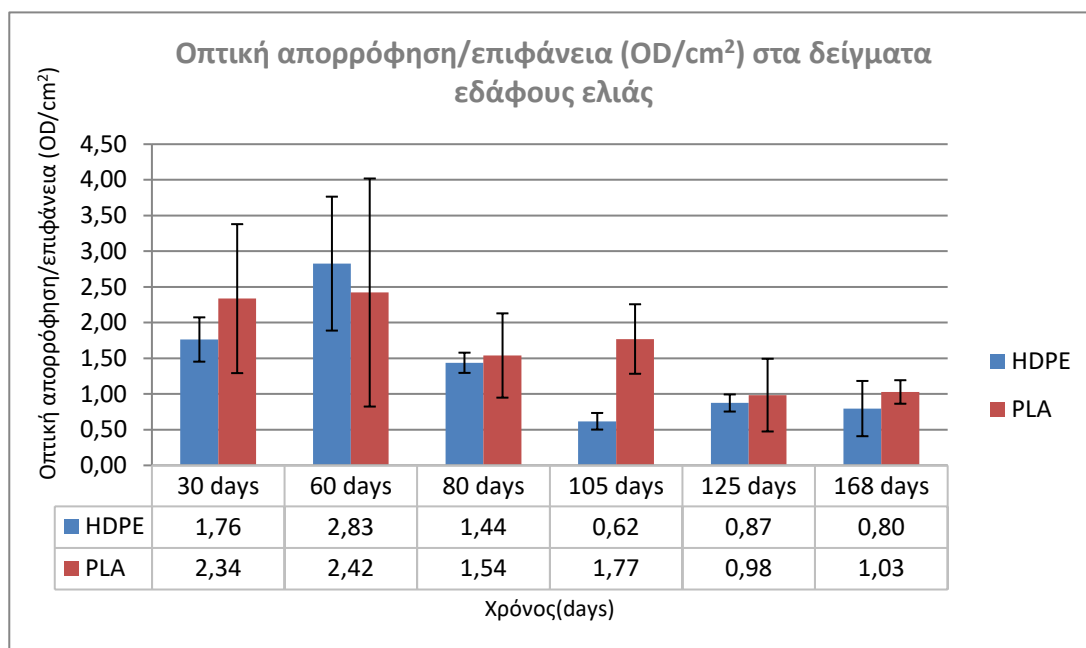
Κατά το πρώτο στάδιο τα βακτήρια προσκολλώνται αμετάκλητα στην επιφάνεια με συγκεκριμένες αλληλεπιδράσεις. Μετά τη διαδικασία προσκόλλησης, σχηματίζεται το βιοφίλμ, δηλαδή τα βακτήρια πολλαπλασιάζονται γρήγορα, ο αριθμός των κυττάρων αυξάνεται και αναπτύσσονται δομές που ονομάζονται μικροαποικίες. Οι μικροαποικίες παράγουν εξωπολυσακχαρίτες οι οποίοι εκκρίνονται από τα ίδια τα βακτήρια, συμβάλλοντας στην ενίσχυση της προσκόλλησης στην επιφάνεια. Η ωρίμανση του βιοφίλμ επιτρέπει τη μεταφορά θρεπτικών ουσιών και μεταβολικών αποβλήτων, την οξυγόνωση, την επικοινωνία μεταξύ των διαφορετικών υποπληθυσμών βακτηρίων εντός του βιοφίλμ και τον συγχρονισμό της συμπεριφοράς τους. Επιπλέον, τα ώριμα βιοφίλμ μπορούν να παρέχουν πρόσθετη προστασία στα βακτήρια από περιβαλλοντικούς στρεσογόνους παράγοντες, όπως η έλλειψη υγρασίας, οι ακτίνες UV, απολυμαντικοί παράγοντες καθώς και τα αντιβιοτικά (Nakanishi et al. 2021). Η τελευταία φάση του κύκλου ζωής του βιοφίλμ είναι η διασπορά, κατά την οποία τα βακτήρια μπορούν να μολύνουν άλλες επιφάνειες και στη συνέχεια να επαναλάβουν τον κύκλο ζωής τους. Η διασπορά του βιοφίλμ είναι το αποτέλεσμα πολλών περιβαλλοντικών γεγονότων, όπως μεταβολές στη διαθεσιμότητα θρεπτικών ουσιών, εξάντληση οξυγόνου (Abdallah et al. 2014).

4.1.1 Ποσοτικός προσδιορισμός ανάπτυξης του βιοφίλμ

Η ανάπτυξη των βιοφίλμ παρακολουθήθηκε μετρώντας φασματοφωτομετρικά στα 595 nm την οπτική τους πυκνότητα (Optical Density, OD) μέσω της διαδικασίας sample staining with crystal violet (χρώση με κρυσταλλικό ιώδες). Η διαδικασία πραγματοποιήθηκε σε

τμήμα του φιλμ μεγέθους περίπου 2cm που βρίσκονταν σε βάθος 0-5cm μέσα στο έδαφος.

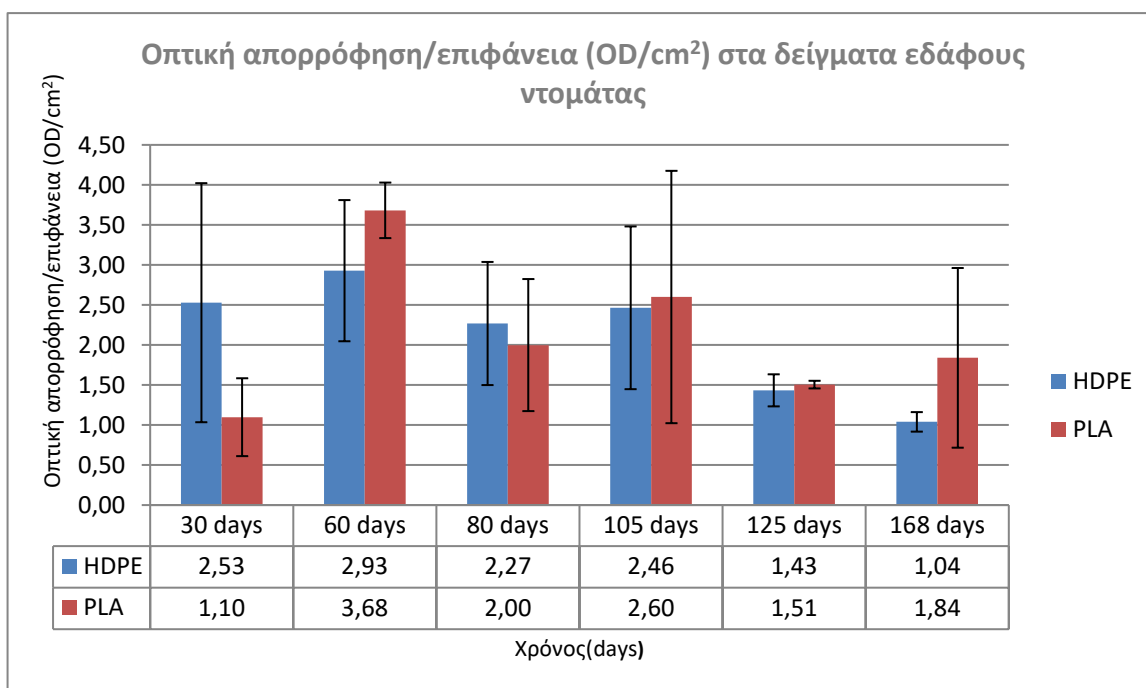
- ο Δείγματα HDPE και PLA σε έδαφος ελιάς



Διάγραμμα 4.1 Εκτίμηση του βιοφίλμ στα HDPE και PLA φιλμς για το έδαφος ελιάς

Στην πρώτη δειγματοληψία, παρατηρείται ότι η τιμή της έκτασης του βιοφίλμ για το δείγμα PLA (2,34 OD/cm²) είναι υψηλότερη από αυτή του δείγματος HDPE (1,76 OD/cm²). Στην δεύτερη δειγματοληψία η τιμή για το δείγμα PLA έχει παραμείνει σχεδόν σταθερή, σε αντίθεση με του δείγματος HDPE που έχει αυξηθεί σε 2,83 OD/cm². Κατά την τρίτη μέτρηση οι τιμές και των δύο ειδών φιλμ είναι χαμηλότερες σε σχέση με τις προηγούμενες μετρήσεις. Στην τέταρτη μέτρηση που πραγματοποιήθηκε κατά τον τρίτο μήνα του πειράματος, η τιμή για το δείγμα HDPE συνεχίζει την πτωτική πορεία, ενώ για το δείγμα PLA σημειώνει μικρή αύξηση σε σχέση με την προηγούμενη μέτρηση. Τον επόμενο μήνα παρουσιάζονται παρόμοιες τιμές και για τα δύο είδη πολυμερούς, ενώ παρατηρείται πτώση στην τιμή του βιοφίλμ για το PLA και μικρή αύξηση για το δείγμα HDPE. Στην τελευταία δειγματοληψία οι τιμές δεν έχουν μεγάλη απόκλιση από αυτές της προηγούμενης δειγματοληψίας, με το βιοφίλμ να είναι 0,80 OD/cm² για τα δείγματα HDPE και 1,03 OD/cm² για τα δείγματα PLA. Οι μετρήσεις δεν υποδεικνύουν κάποιο μοτίβο ανάπτυξης του βιοφίλμ στα δείγματα των δύο πολυμερών, αλλά παρά τις αυξομειώσεις στις τιμές της απορρόφησης η μικροβιακή κοινότητα επιβιώνει και αναπτύσσεται.

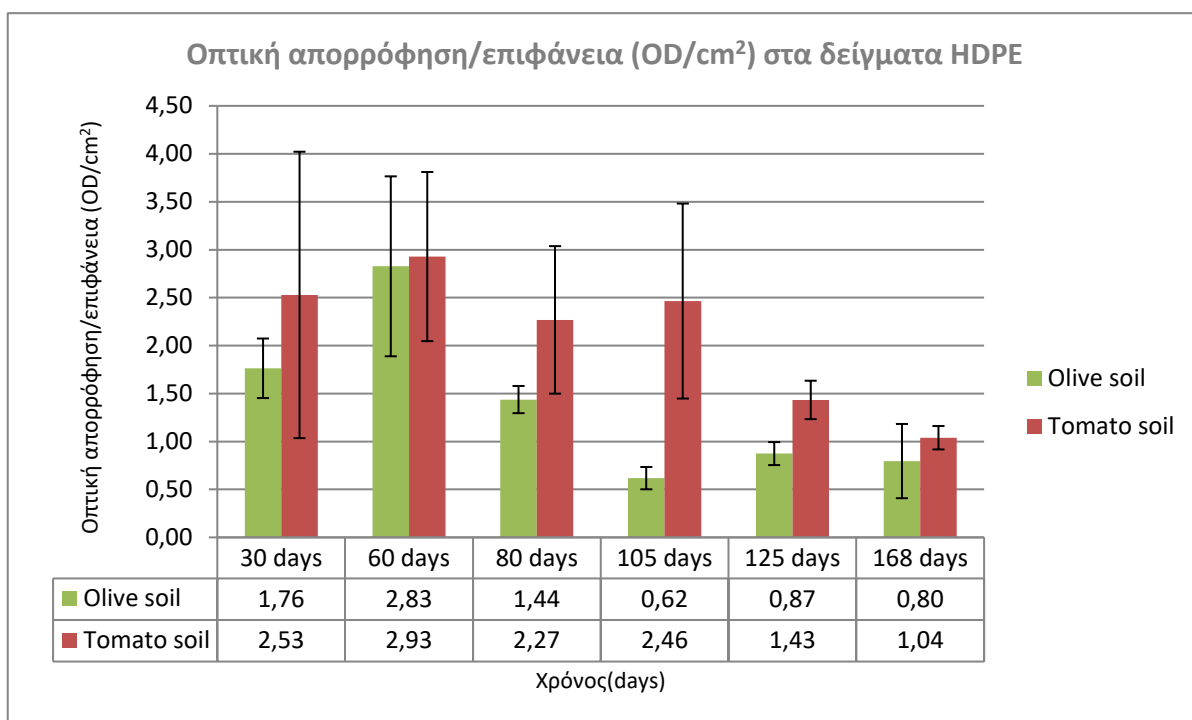
ο Δείγματα HDPE και PLA σε έδαφος ντομάτας



Διάγραμμα 4.2 Μέτρηση οπτικής απορρόφησης για δείγματα HDPE και PLA για το έδαφος ντομάτας

Στην πρώτη δειγματοληψία η τιμή του βιοφίλμ για τα δείγματα HDPE είναι 2,53 OD/cm², ενώ για τα δείγματα PLA 1,10 OD/cm². Στην δεύτερη δειγματοληψία υπάρχει αύξηση των τιμών και για τα δύο δείγματα με την τιμή για τα δείγματα του PLA (3,68 OD/cm²) να είναι μεγαλύτερη από την τιμή απορρόφησης για τα δείγματα HDPE (2,93 OD/cm²). Στον τρίτο μήνα παρατηρείται σημαντική πτώση των τιμών για τα φιλμ PLA με την τιμή να διαμορφώνεται στην 2,00 OD/cm². Πτώση υπάρχει και για τα φιλμ πολυαιθυλενίου με την τιμή 2,27 OD/cm² όμως να είναι μεγαλύτερη από αυτή για τα φιλμ PLA. Στην τέταρτη μέτρηση οι τιμές δεν παρουσιάζουν μεγάλες αυξομειώσεις για τα δείγματα HDPE με την τιμή να έχει αυξηθεί στη 2,46 OD/cm², ενώ μικρή αύξηση παρουσιάζεται και στα δείγματα πολυγαλακτικού οξέος με την τιμή να είναι 2,60 OD/cm². Τον πέμπτο μήνα υπάρχει μείωση της τιμής της έκτασης του βιοφίλμ για τα δείγματα HDPE και για τα δείγματα PLA με τις τιμές να είναι 1,43 OD/cm² και 1,51 OD/cm² αντίστοιχα. Στην τελευταία μέτρηση, υπάρχει περαιτέρω μείωση της τιμής για τα δείγματα πολυαιθυλενίου με την τιμή να διαμορφώνεται στο 1,04 OD/cm², τιμή μικρότερη από αυτή των δειγμάτων πολυγαλακτικού οξέος που είναι 1,84 OD/cm².

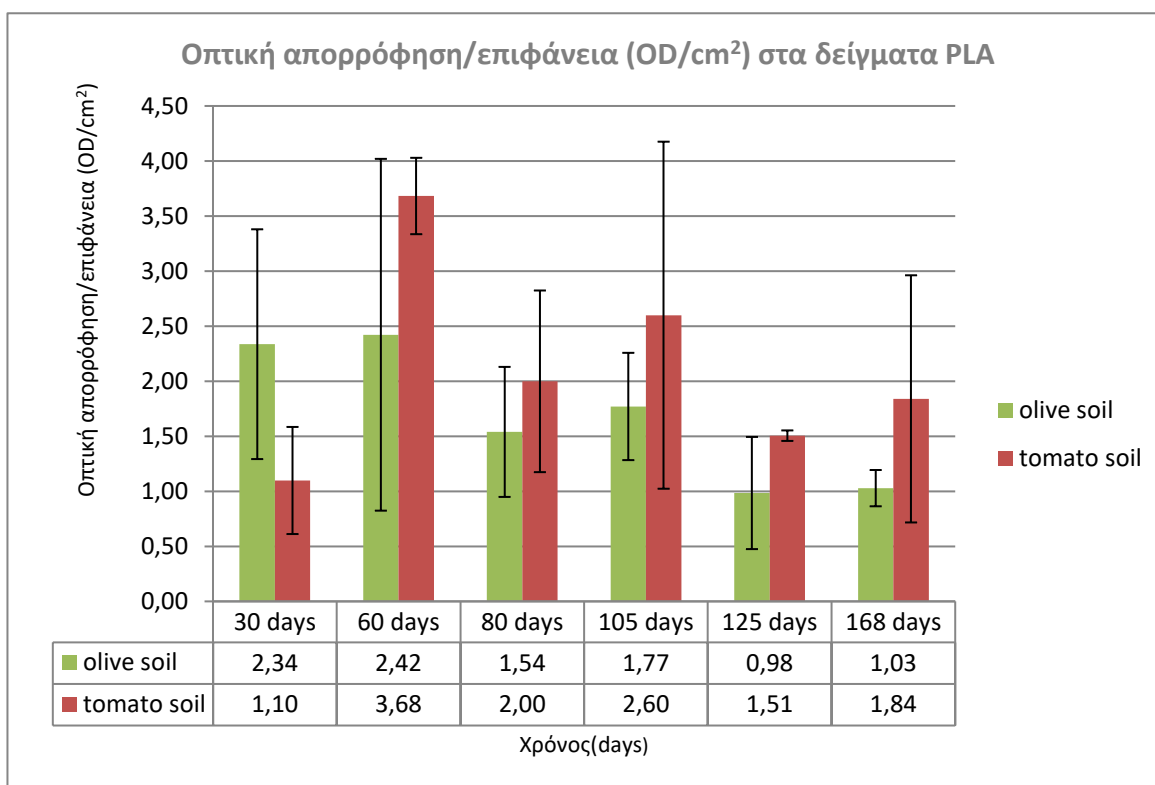
ο Δείγματα HDPE σε έδαφος ελιάς και ντομάτας



Διάγραμμα 4.3 Μέτρηση οπτικής απορρόφησης για δείγματα HDPE για το έδαφος ελιάς και ντομάτας

Στην δειγματοληψία των 30 ημερών, τα δείγματα του εδάφους ντομάτας έχουν τιμή 2,53 OD/cm² ενώ του εδάφους ελιάς 1,76 OD/cm². Στην επόμενη δειγματοληψία υπάρχει αύξηση στα δείγματα και από τα δύο εδάφη με την τιμή του βιοφίλμ για το έδαφος ελιάς να είναι 2,83 OD/cm² και ελαφρώς μεγαλύτερη για το έδαφος ντομάτας στα 2,93 OD/cm². Στην τρίτη μέτρηση υπάρχει πτώση των τιμών και για τα δύο εδάφη με τιμές 1,44 OD/cm² για το έδαφος ελιάς και 2,27 OD/cm² για το έδαφος ντομάτας. Στην μέτρηση των 105 ημερών, παρουσιάζεται διαφοροποίηση μεταξύ των τιμών στα δύο εδάφη, καθώς στο έδαφος ντομάτας υπάρχει μια μικρή αύξηση της τιμής στο 2,46 OD/cm², ενώ η τιμή του δείγματος από το έδαφος ελιάς έχει μεγάλη πτώση στο 0,62 OD/cm², τιμή υπερδιπλάσια από αυτή της προηγούμενης μέτρησης. Κατά την πέμπτη δειγματοληψία η τιμή του δείγματος HDPE από το έδαφος ελιάς εμφανίζει μικρή αύξηση στο 0,87 OD/cm² σε αντίθεση με την τιμή του δείγματος από το έδαφος ντομάτας που είναι 1,43 OD/cm². Τον τελευταίο μήνα του πειράματος υπάρχει πτωτική τάση στις τιμές των δειγμάτων και από τα δύο εδάφη. Μικρότερη πτώση σημειώνουν τα δείγματα από το έδαφος ελιάς με την τιμή να διαμορφώνεται στο 0,80 OD/cm², ενώ τα δείγματα του εδάφους ελιάς έδωσαν τιμή απορρόφησης ίση με 1,04 OD/cm². Αξίζει να σημειωθεί ότι παρόλο που δεν υπάρχει κάποιο μοτίβο στις τιμές, οι τιμές για τα δείγματα πολυαιθυλενίου από το έδαφος ντομάτας είναι σε όλες τις δειγματοληψίες υψηλότερες από αυτές των δειγμάτων του εδάφους ελιάς.

- Δείγματα PLA σε έδαφος ελιάς και ντομάτας



Διάγραμμα 4.4 Μέτρηση οπτικής απορρόφησης για δείγματα PLA για το έδαφος ελιάς και ντομάτας

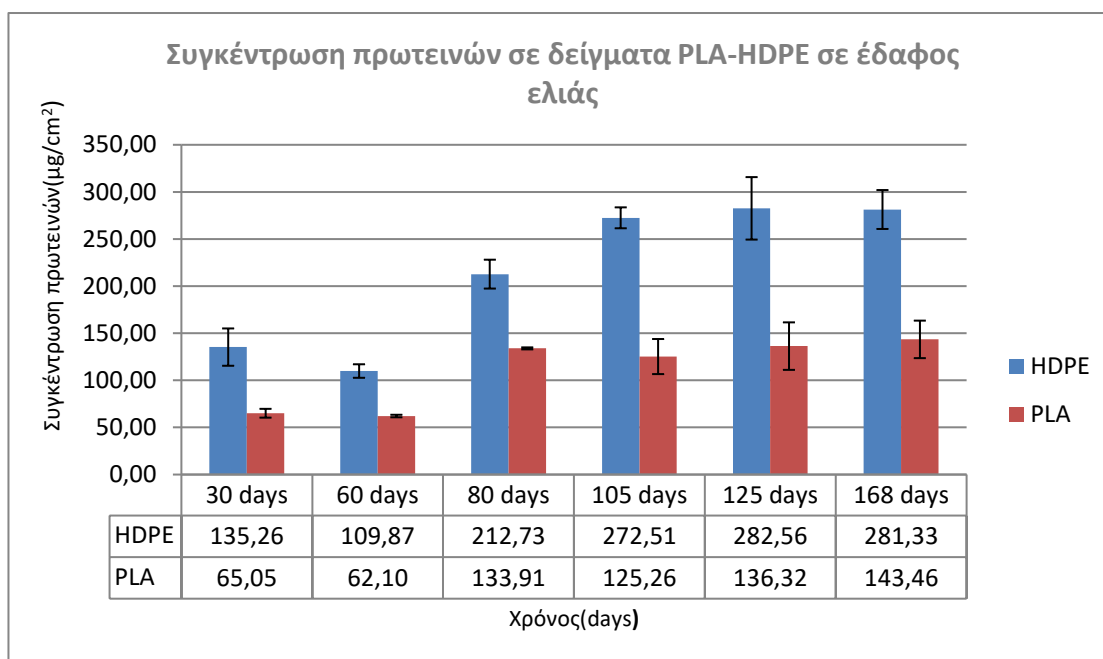
Στην πρώτη δειγματοληψία τα δείγματα του εδάφους ελιάς έχουν υψηλότερη τιμή έκτασης του βιοφίλμ σε σχέση με τα δείγματα εδάφους ντομάτας με την τιμή των πρώτων να είναι 2,34 OD/cm² ενώ των δεύτερων 1,10 OD/cm². Κατά την δεύτερη δειγματοληψία υπάρχει μικρή αύξηση στα δείγματα εδάφους ελιάς με τιμή 2,42 OD/cm². Το βιοφίλμ στα δείγματα από το έδαφος ντομάτας σημειώνει πολύ μεγάλη αύξηση με τιμή 3,68 OD/cm² τριπλάσια δηλαδή από αυτή της προηγούμενης μέτρησης. Στην τρίτη μέτρηση υπάρχει πτώση των τιμών και για τα δύο εδάφη με τιμές 1,54 OD/cm² για το έδαφος ελιάς και 2,00 OD/cm² για το έδαφος ντομάτας. Στις 105 ημέρες του πειράματος υπάρχει αυξητική τάση για τα δείγματα και των δύο εδαφών με τις τιμές να διαμορφώνονται ως 1,77 OD/cm² για το έδαφος ελιάς και 2,60 OD/cm² για το έδαφος ντομάτας. Στην επόμενη μέτρηση μπορεί να παρατηρηθεί πτώση στη τιμή των δειγμάτων και των δύο εδαφών. Στην έκτη δειγματοληψία παρατηρούνται μικρές αυξήσεις των τιμών σε σχέση με την προηγούμενη δειγματοληψία, η τιμή για τα δείγματα του εδάφους ελιάς είναι 1,03 OD/cm² και του εδάφους ντομάτας 1,84 OD/cm². Όπως και στην περίπτωση του HDPE και για τα δείγματα PLA παρατηρούνται μεγαλύτερες τιμές βιοφίλμ στα δείγματα από το έδαφος ντομάτας, με εξαίρεση την πρώτη δειγματοληψία.

4.1.2 Προσδιορισμός Εξωκυτταρικών πολυμερικών ουσιών

Ολικές Πρωτεΐνες

Οι πρωτεΐνες είναι πολύπλοκες, πολυδιάστατες ουσίες και αποτελούν ένα από τα βασικότερα δομικά συστατικά των κυττάρων. Συναντώνται σε όλους τους ζωντανούς οργανισμούς και έχουν μεγάλη θρεπτική αξία, ενώ ταυτόχρονα συμμετέχουν σε μια πληθώρα διαδικασιών του οργανισμού όπως, η αναπαραγωγή, η θρέψη, κ.α. Είναι οργανικά μακρομόρια με μοριακό βάρος από 10.000 μέχρι πάνω από 1 εκατομμύριο, και αποτελούνται από αμινοξέα ενωμένα μεταξύ τους μέσω πεπτιδικών δεσμών οι οποίοι σχηματίζονται από την ένωση της καρβοξυλομάδας ενός αμινοξέος με την αμινομάδα του επόμενου με ταυτόχρονη αποβολή ενός μορίου νερού. Η ακολουθία των αμινοξέων καθορίζεται από ένα γονίδιο και κωδικοποιείται κατά τον γενετικό κώδικα DNA. Έτσι, πρωτεΐνες που έχουν παρόμοια λειτουργία έχουν και παρόμοια σύνθεση και αλληλουχία αμινοξέων. Επιπλέον, οι πρωτεΐνες περιέχονται στα EPS και διαδραματίζουν μεγάλο ρόλο ως δομικές, ενζυμικές πρωτεΐνες.

- ο Δείγματα HDPE-PLA σε έδαφος ελιάς

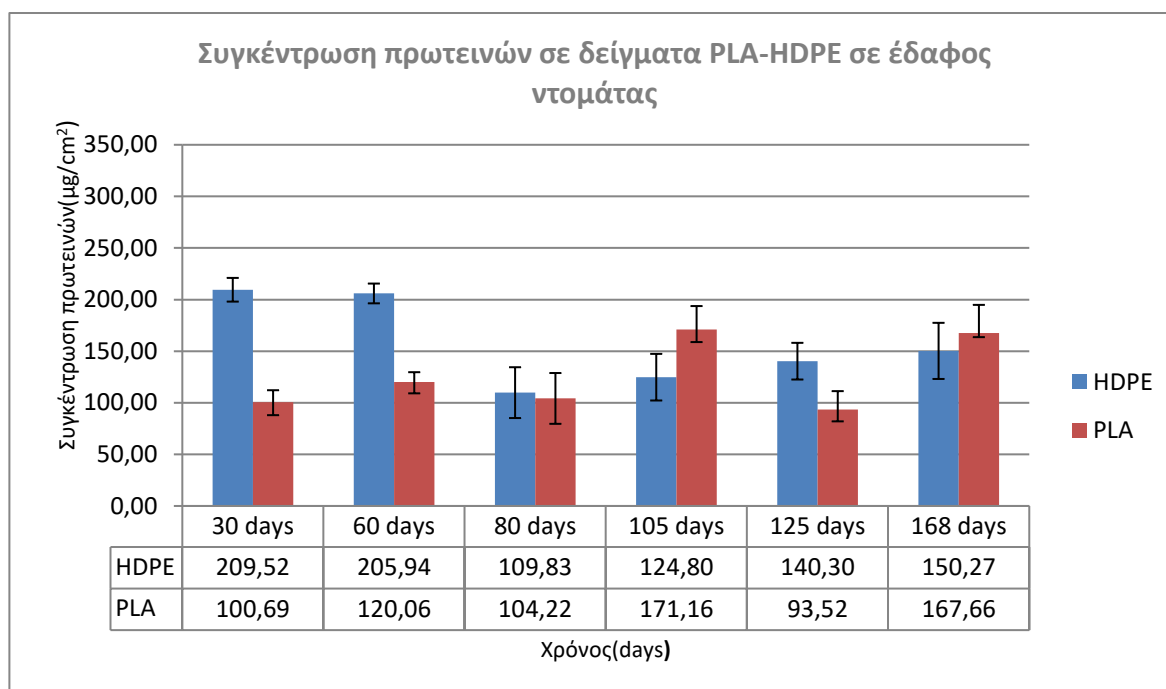


Διάγραμμα 4.5 Συγκέντρωση πρωτεϊνών σε δείγματα PLA-HDPE στο έδαφος ελιάς

Η πρώτη δειγματοληψία δείχνει μεγαλύτερη τιμή συγκέντρωσης πρωτεϊνών για τα δείγματα HDPE, με την τιμή να είναι 135,6 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, σε σχέση με τα δείγματα PLA που έχουν τιμή 65,05 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. Στις 60 ημέρες υπάρχει μείωση στις τιμές των δειγμάτων HDPE αλλά και στις τιμές των δειγμάτων PLA. Από την τρίτη μέτρηση και έπειτα παρατηρείται μια αυξητική τάση στην τιμή της συγκέντρωσης για τα δείγματα HDPE, καθώς οι τιμές αυξάνονται μέχρι την πέμπτη δειγματοληψία όπου παρουσιάζεται η μέγιστη τιμή συγκέντρωσης 282,56 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. Στην έκτη και τελευταία μέτρηση η τιμή για τα δείγματα είναι σχετικά σταθερή με μία μικρή πτώση στο 281,33 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. Στα δείγματα PLA από την τρίτη δειγματοληψία και έπειτα οι τιμές της συγκέντρωσης είναι σχετικά σταθερές. Όπως και στα δείγματα HDPE η μέγιστη τιμή 136,32 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ είναι κατά την πέμπτη δειγματοληψία και αυξάνεται λίγο μέχρι την τελευταία μέτρηση που έχει τιμή 143,46

μg/cm². Σε όλη την διάρκεια διεξαγωγής του πειράματος οι τιμές συγκέντρωσης πρωτεϊνών στα δείγματα HDPE είναι υψηλότερες από αυτές του PLA.

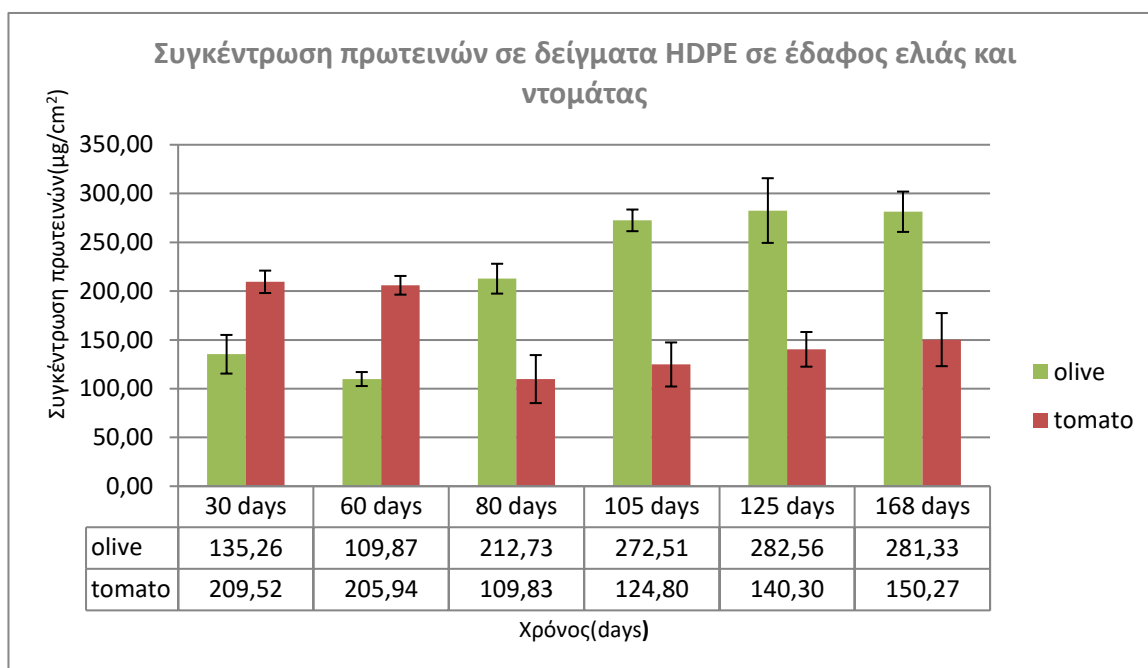
- ο Δείγματα HDPE-PLA σε έδαφος ντομάτας



Διάγραμμα 4.6 Συγκέντρωση πρωτεϊνών σε δείγματα PLA-HDPE στο έδαφος ντομάτας

Κατά την πρώτη και δεύτερη δειγματοληψία παρατηρείται σχετικά σταθερή συγκέντρωση πρωτεϊνών στα δείγματα HDPE με τις τιμές να είναι 209,52 μg/cm² για την πρώτη μέτρηση και 205,94 μg/cm² για την δεύτερη. Στα δείγματα PLA παρουσιάζεται μια μικρή αύξηση στην συγκέντρωση των πρωτεϊνών από την πρώτη έως την δεύτερη δειγματοληψία με τιμές 100,69 μg/cm² στην πρώτη και 120,06 μg/cm² στη δεύτερη. Στην τρίτη δειγματοληψία υπάρχει πτώση της τιμής συγκέντρωσης και για τα δύο είδη δειγμάτων με την συγκέντρωση για τα δείγματα HDPE να είναι 109,83 μg/cm² και για τα δείγματα PLA 104,22 μg/cm². Στις 105 ημέρες οι τιμές της συγκέντρωσης είναι αυξημένες σε σχέση με την προηγούμενη δειγματοληψία. Τα δείγματα HDPE στις τελευταίες τρεις δειγματοληψίες έχουν αυξητική τάση με την τιμή στην τελευταία δειγματοληψία να είναι 150,27 μg/cm². Στα δείγματα PLA δεν υπάρχει κάποιο μοτίβο καθώς στην δειγματοληψία των 104 ημερών η συγκέντρωση των πρωτεϊνών είναι η μέγιστη στο 171,16 μg/cm², με την τιμή να πέφτει στην επόμενη μέτρηση στο 140,30 μg/cm² και να καταλήγει στην τελευταία δειγματοληψία να είναι 167,66 μg/cm².

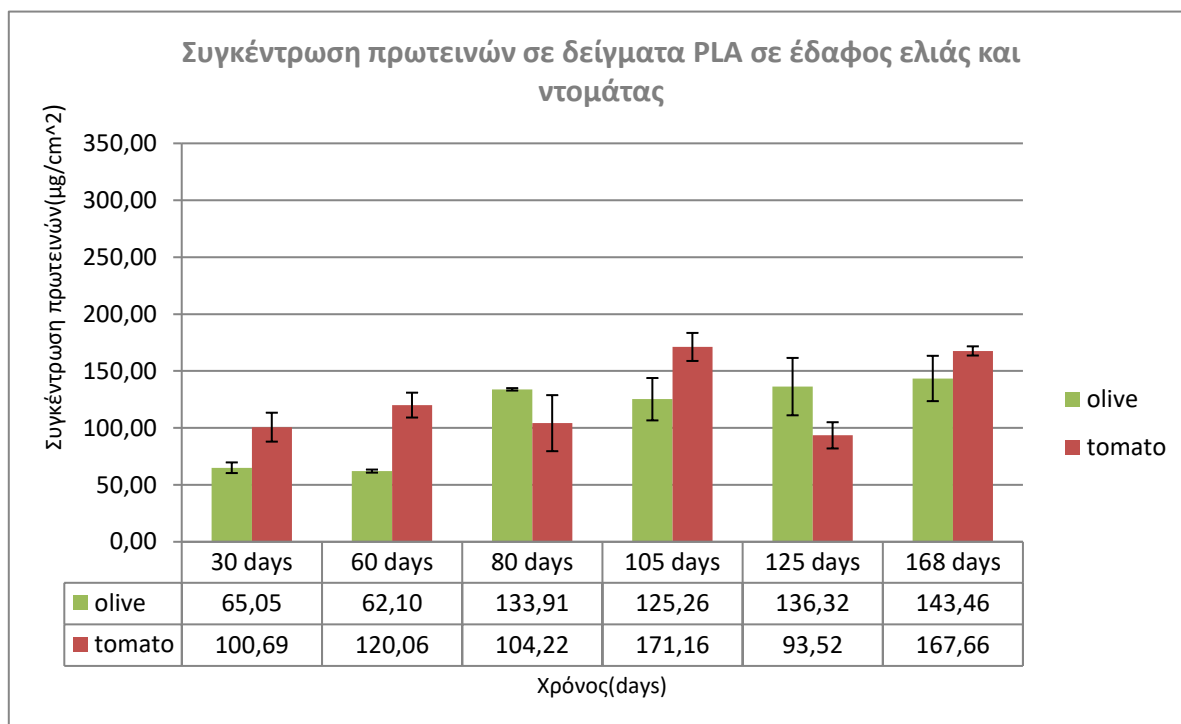
ο Δείγματα HDPE στο έδαφος ελιάς και ντομάτας



Διάγραμμα 4.7 Συγκέντρωση πρωτεϊνών σε δείγματα HDPE στο έδαφος ελιάς και ντομάτας

Η τιμή της συγκέντρωσης για τα δείγματα HDPE στο έδαφος ελιάς στην πρώτη δειγματοληψία είναι $135,26 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ και παρουσιάζει μικρή πτώση στην επόμενη δειγματοληψία με την τιμή να είναι $109,87 \mu\text{g}/\text{cm}^2$. Στις επόμενες μετρήσεις η τιμή της συγκέντρωσης των πρωτεϊνών αυξάνεται με την μέγιστη τιμή $282,56 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ να παρουσιάζεται στις 125 ημέρες και να παραμένει σχεδόν σταθερή και στην τελευταία δειγματοληψία με τιμή $281,33 \mu\text{g}/\text{cm}^2$. Τα δείγματα εδάφους ντομάτας παρουσιάζουν μεγαλύτερες τιμές συγκέντρωσης από τα δείγματα εδάφους ελιάς στις πρώτες δειγματοληψίες με την τιμή να είναι $209,52 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ στην πρώτη μέτρηση και $205,94 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ στην δεύτερη. Στην μέτρηση των 80 ημερών η τιμή έχει πτώση και διαμορφώνεται στα $109,83 \mu\text{g}/\text{cm}^2$. Στις επόμενες δειγματοληψίες η συγκέντρωση αυξάνεται από την μία δειγματοληψία στην άλλη με τιμή στην ολοκλήρωση του πειράματος να είναι $150,27 \mu\text{g}/\text{cm}^2$. Φαίνεται ότι υπάρχει διαφορετική απόκριση στη συγκέντρωση των πρωτεϊνών του βιοφιλμ που επωάστηκε σε 2 διαφορετικούς τύπους εδαφών. Στο HDPE που προστέθηκε στο έδαφος καλλιέργειας ελιάς η συγκέντρωση των πρωτεϊνών αυξάνεται κατά τη διάρκεια του πειράματος ενώ σε αυτό που προστέθηκε σε έδαφος με ντομάτες ήταν σταθερή μέχρι τις πρώτες 60 μέρες και μετά εμφάνισε χαμηλότερες τιμές.

ο Δείγματα PLA στο έδαφος ελιάς και ντομάτας



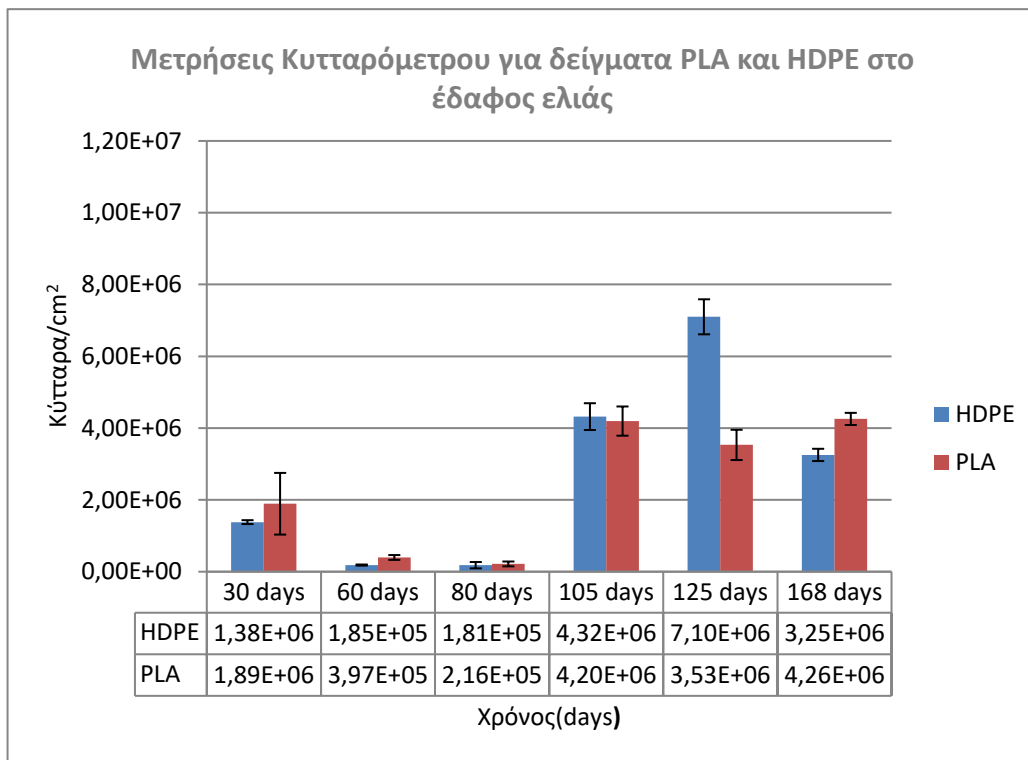
Διάγραμμα 4.8 Συγκέντρωση πρωτεϊνών σε δείγματα PLA στο έδαφος ελιάς και ντομάτας

Τα δείγματα PLA από το έδαφος ελιάς, τους δύο πρώτους μήνες του πειράματος είχαν σχετικά σταθερή τιμή συγκέντρωσης, με την συγκέντρωση των πρωτεϊνών να είναι 65,05 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ στις 30 ημέρες και 62,10 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ στις 60 ημέρες. Στην επόμενη δειγματοληψία, η τιμή της συγκέντρωσης είναι αυξημένη στα 133,91 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$, ενώ στην δειγματοληψία που ακολουθεί, σε αυτή των 105 ημερών δηλαδή, η συγκέντρωση παρουσιάζει μικρή πτώση με την τιμή να είναι 125,26 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. Στις δύο τελευταίες δειγματοληψίες η συγκέντρωση αυξάνεται, με την μέγιστη τιμή συγκέντρωσης 143,46 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ να εμφανίζεται στην τελευταία δειγματοληψία των 168 ημερών. Τα δείγματα εδάφους ντομάτας από την άλλη εμφανίζουν αρκετές εναλλαγές στην τιμή συγκέντρωσης των πρωτεϊνών κατά την διάρκεια του πειράματος. Στην δειγματοληψία των 30 ημερών η συγκέντρωση είναι 100,69 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ με την τιμή να αυξάνεται σε 120,06 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ στην επόμενη δειγματοληψία. Η τιμή της συγκέντρωσης συνεχίζει να παρουσιάζει αυξομειώσεις και στις επόμενες μετρήσεις, με την μέγιστη τιμή 171,16 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ να είναι στην τέταρτη δειγματοληψία και την μικρότερη τιμή 93,52 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ να είναι στην πέμπτη. Στην έκτη και τελευταία δειγματοληψία η συγκέντρωση είναι και πάλι αυξημένη με τιμή 167,66 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. Παρατηρείται ένα διαφορετικό μοτίβο στη συγκέντρωση των πρωτεϊνών του βιοφιλμ ανάλογα με τον τύπο του εδάφους. Οι πρωτεΐνες των φιλμ από το έδαφος της ελιάς παρουσίασαν περίπου την ίδια συγκέντρωση τις πρώτες 60 μέρες ωστόσο η συγκέντρωση αυξήθηκε και παρέμεινε περίπου σε αυτά τα επίπεδα μέχρι το τέλος του πειράματος. Η συγκέντρωση των πρωτεϊνών στα PLA καλαμάκια που προστέθηκαν στο έδαφος καλλιέργειας τομάτας εμφάνισε ένα μοτίβο αυξομείωσης κάθε μήνα.

4.1.3 Μέτρηση κυττάρων

Η μελέτη των κυτταρικών πληθυσμών στα δείγματα μας πραγματοποιήθηκε μέσω του κυτταρόμετρου CytoFLEX.

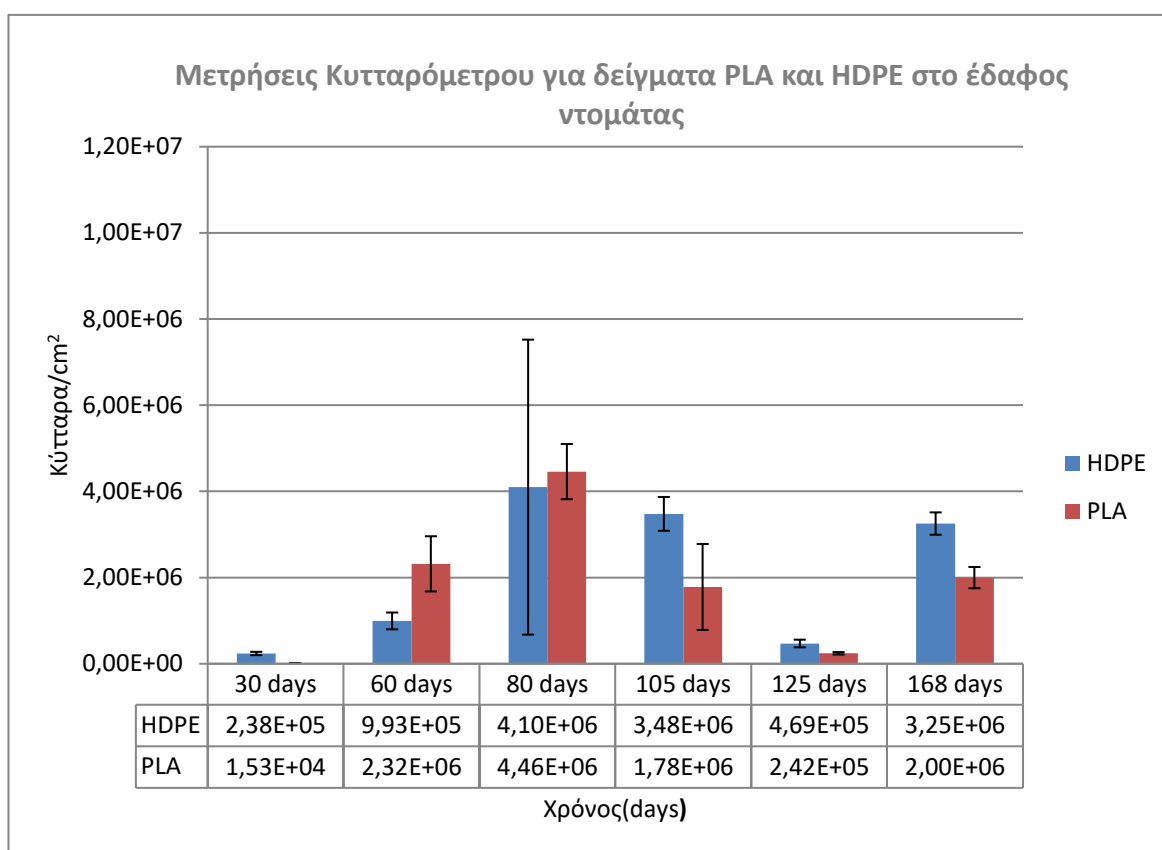
- Δείγματα HDPE και PLA στο έδαφος ελιάς



Διάγραμμα 4.9 Συγκέντρωση κυττάρων στα δείγματα HDPE και PLA στο έδαφος ελιάς

Τους τρεις πρώτους μήνες του πειράματος ο αριθμός των κυττάρων ήταν πολύ χαμηλός και για τα δείγματα HDPE και για τα δείγματα PLA, με τον αριθμό κυττάρων να είναι ο μικρότερος και για τα δύο είδη δειγμάτων στην μέτρηση των 80 ημερών. Στην συνέχεια του πειράματος υπάρχει αύξηση του αριθμού κυττάρων με $4 \cdot 10^6$ κύτταρα/cm² για τα δείγματα HDPE και $4 \cdot 10^6$ κύτταρα/cm² για τα δείγματα PLA. Στην πέμπτη δειγματοληψία υπάρχει αύξηση του αριθμού κυττάρων για τα δείγματα HDPE και παρουσιάζεται η μέγιστη τιμή με $7 \cdot 10^6$ κύτταρα/cm², ενώ αντίθετα πτώση του αριθμού κυττάρων υπάρχει στα δείγματα PLA. Στην τελευταία μέτρηση στις 168 ημέρες, η τιμή για τα δείγματα PLA $4 \cdot 10^6$ κύτταρα/cm² είναι η μεγαλύτερη στην διάρκεια του πειράματος, ενώ για τα δείγματα HDPE ο αριθμός κυττάρων διαμορφώνεται στα $3 \cdot 10^6$ κύτταρα/cm².

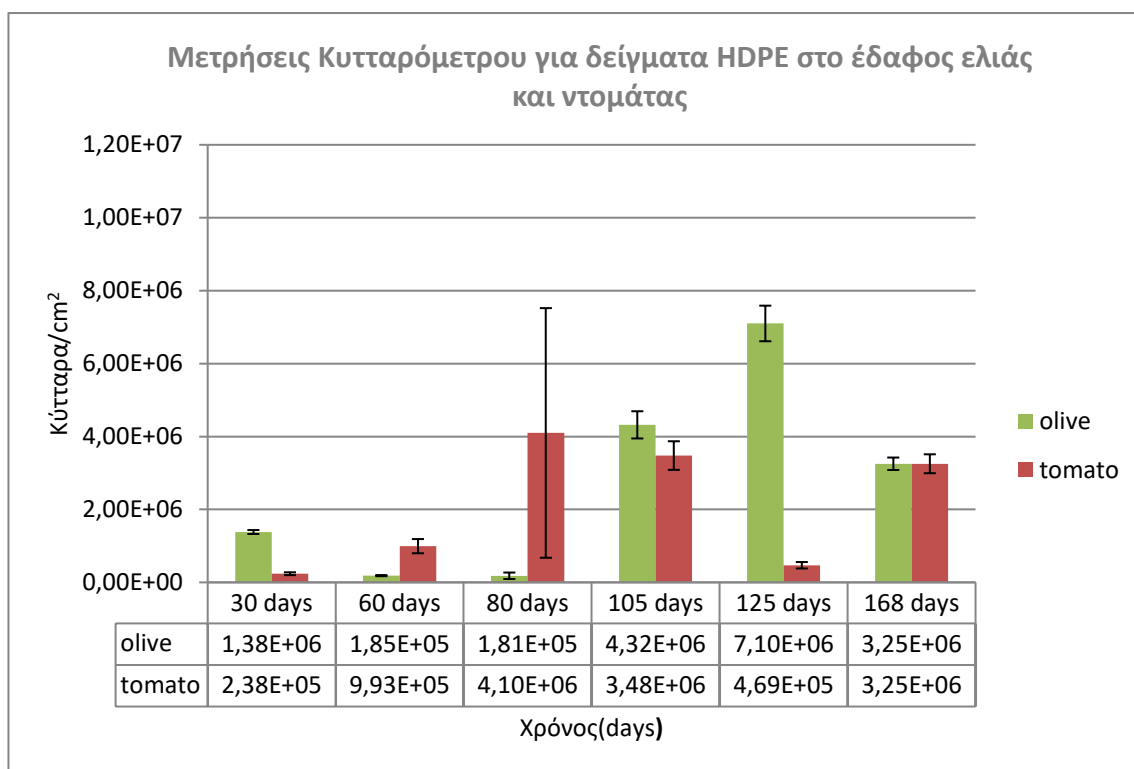
ο Δείγματα HDPE και PLA στο έδαφος ντομάτας



Διάγραμμα 4.10 Συγκέντρωση κυττάρων στα δείγματα HDPE και PLA στο έδαφος ντομάτας

Παρόμοια με τα δείγματα του εδάφους ελιάς και στο έδαφος ντομάτας δεν υπάρχει κάποιο μοτίβο των κυτταρικών πληθυσμών. Για τα δείγματα HDPE, παρατηρούνται πολύ χαμηλές τιμές για τις δειγματοληψίες των 30, 60 και 125 ημερών. Η μέγιστη τιμή είναι στις 80 ημέρες με $4 \cdot 10^6$ κύτταρα/cm². Στην τελευταία δειγματοληψία ο κυτταρικός πληθυσμός ανέρχεται σε $3 \cdot 10^6$ κύτταρα/cm². Στα δείγματα PLA χαμηλή συγκέντρωση των κυττάρων υπάρχει στις μετρήσεις των 30 και 125 ημερών. Μέγιστη τιμή για τα δείγματα PLA είναι επίσης οι 80 ημέρες με τιμή $4 \cdot 10^6$ κύτταρα/cm². Στην τελευταία δειγματοληψία η τιμή είναι πεσμένη στα $2 \cdot 10^6$ κύτταρα/cm².

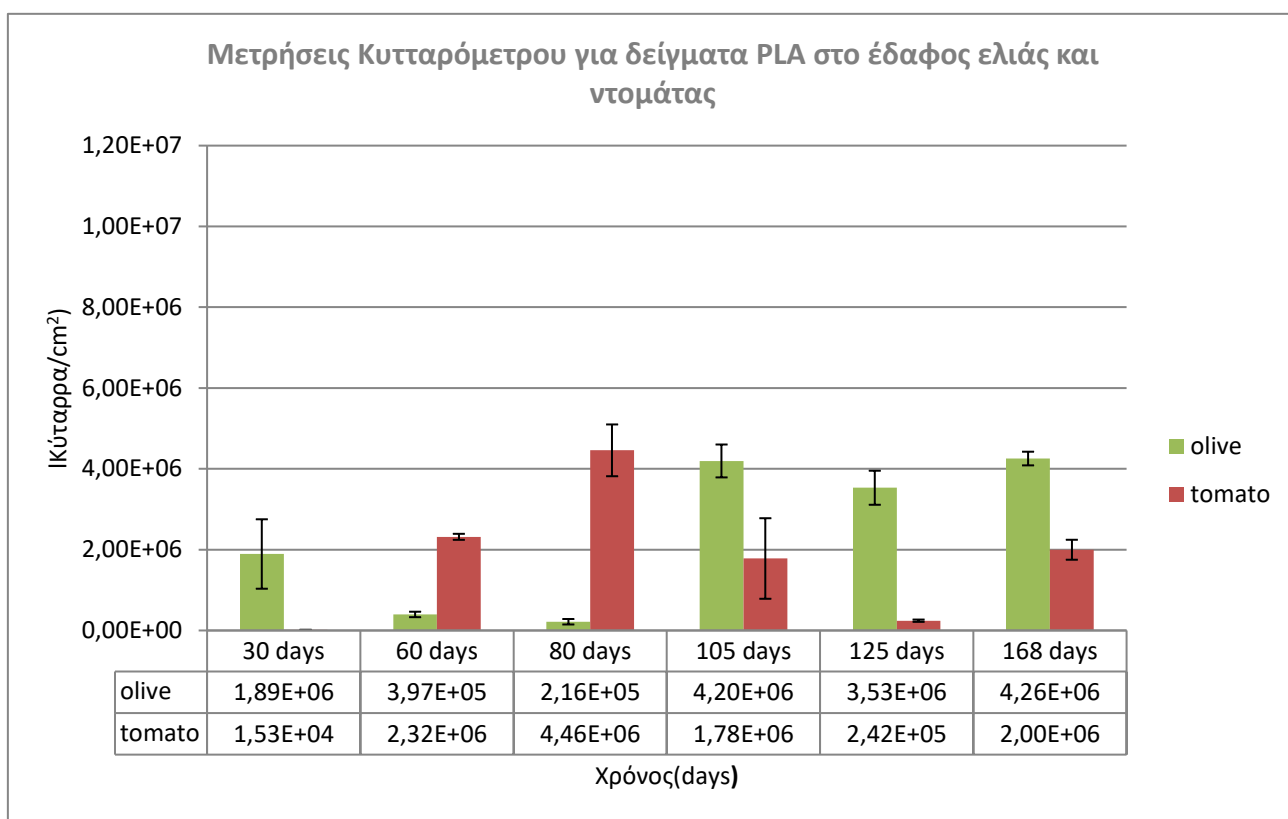
- Δείγματα HDPE σε έδαφος ελιάς και ντομάτας



Διάγραμμα 4.11 Συγκέντρωση κυττάρων στα δείγματα HDPE στο έδαφος ελιάς και ντομάτας

Από το διάγραμμα 4.11 μπορεί να διαπιστωθεί ο μικρός αριθμός συγκέντρωσης κυττάρων και στα δύο είδη εδάφους για τις δειγματοληψίες των 30 και των 60 ημερών. Από την τέταρτη έως την έκτη δειγματοληψία υπάρχει αυξητική τάση στις τιμές για τα δείγματα από το έδαφος ελιάς, χωρίς να υπάρχει όμως ένα σταθερό μοτίβο ανάπτυξης των κυτταρικών πληθυσμών. Η μέγιστη τιμή $7,10 \cdot 10^6$ κύτταρα/cm² για τα δείγματα εδάφους ελιάς εντοπίζεται στην δειγματοληψία των 125 ημερών. Για τα δείγματα εδάφους ντομάτας η μέγιστη τιμή $4,10 \cdot 10^6$ κύτταρα/cm² είναι στην μέτρηση των 80 ημερών, με την τιμή να μένει σχετικά σταθερή και στην μέτρηση των 105 ημερών, αλλά να πέφτει ραγδαία στις 125 ημέρες. Στην τελευταία δειγματοληψία, επικρατεί εξισορρόπηση των τιμών και για τα δείγματα εδάφους ντομάτας και για τα δείγματα εδάφους ελιάς, καθώς έχουν την ίδια τιμή $3 \cdot 10^6$ κύτταρα/cm². Γενικώς παρατηρούνται διακυμάνσεις που αγγίζουν τη μία τάξη μεγέθους μεταξύ των δειγματοληψιών. Ωστόσο οι υψηλότερες τιμές συγκέντρωσης κυττάρων του βιοφίλμ εντοπίζονται μετά τις 105 ημέρες, που συμφωνεί και με τη συγκέντρωση των πρωτεϊνών του βιοφίλμ.

- Δείγματα PLA σε έδαφος ελιάς και ντομάτας



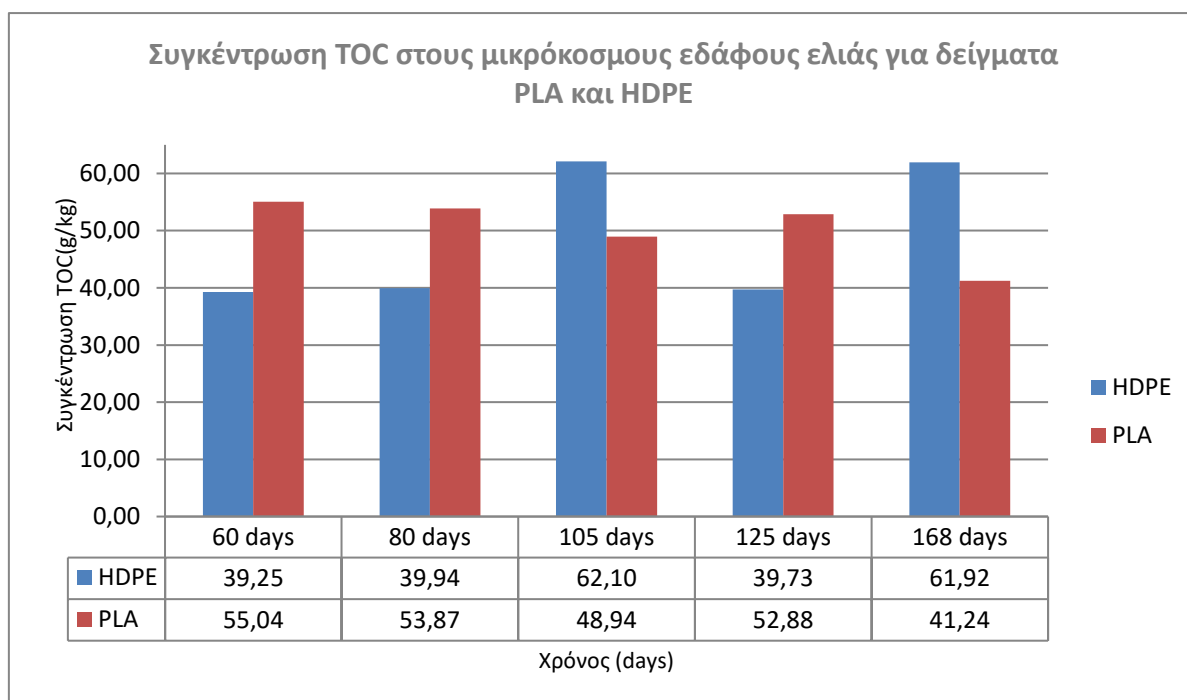
Διάγραμμα 4.12 Συγκέντρωση κυττάρων στα δείγματα PLA στο έδαφος ελιάς και ντομάτας

Για τα δείγματα PLA, παρατηρούνται χαμηλές τιμές κυτταρικών πληθυσμών στις 30 και στις 125 ημέρες για τα δείγματα από το έδαφος ντομάτας, ενώ για το έδαφος ελιάς οι μικρότερες τιμές εντοπίζονται στις 60 και 80 ημέρες. Τα δείγματα εδάφους ντομάτας παρουσιάζουν μία αύξηση από την δεύτερη μέχρι την τρίτη δειγματοληψία, όπου και είναι η μέγιστη τιμή συγκέντρωσης κυττάρων της διάρκειας του πειράματος $4 \cdot 10^6$ κύτταρα/cm². Στις μετρήσεις που ακολουθούν τους επόμενους μήνες του πειράματος, στα δείγματα ντομάτας υπάρχει πτώση του αριθμού κυττάρων, με την τελευταία δειγματοληψία να έχει τιμή $2 \cdot 10^6$ κύτταρα/cm². Αντίθετα, στα δείγματα εδάφους ελιάς παρατηρούνται λιγότερες εναλλαγές του αριθμού κυττάρων στις τελευταίες τρεις δειγματοληψίες, με την μέγιστη τιμή $4 \cdot 10^6$ κύτταρα/cm² να είναι στην δειγματοληψία των 168 ημερών.

4.2 Ολικός οργανικός άνθρακας TOC

Ο συνολικός οργανικός άνθρακας (TOC) είναι ο άνθρακας που αποθηκεύεται στην οργανική ύλη του εδάφους (SOM). Ο οργανικός άνθρακας εισέρχεται στο έδαφος μέσω της αποσύνθεσης φυτικών και ζωικών υπολειμμάτων, εκκρίσεων ριζών, ζωντανών και νεκρών μικροοργανισμών και χλωρίδας του εδάφους. Το SOM είναι το οργανικό κλάσμα του εδάφους εκτός από μη αποσυντεθειμένα φυτικά και ζωικά υπολείμματα. Ο οργανικός άνθρακας του εδάφους είναι η κύρια πηγή ενέργειας για τους μικροοργανισμούς του εδάφους. Ο άνθρακας είναι ένα από τα πιο σημαντικά συστατικά του εδάφους λόγω της ικανότητάς του να επηρεάζει την ανάπτυξη των φυτών τόσο ως πηγή ενέργειας όσο και ως έναυσμα για τη διαθεσιμότητα θρεπτικών ουσιών. Επιπλέον, είναι η κύρια πηγή ενέργειας και θρεπτικών συστατικών για τους μικροοργανισμούς του εδάφους (USDA-NRCR 2009). Οι επιπτώσεις των πολυμερών στον ολικό άνθρακα του εδάφους δεν έχουν μελετηθεί σε μεγάλο βαθμό. Σε ορισμένες μελέτες δεν υπάρχουν πολλές ενδείξεις για την συμβολή των πλαστικών ή των βιοπλαστικών στον συνολικό οργανικό άνθρακα (Hu et al. 2019; Li et al. 2014).

- ο Δείγματα HDPE και PLA σε έδαφος ελιάς

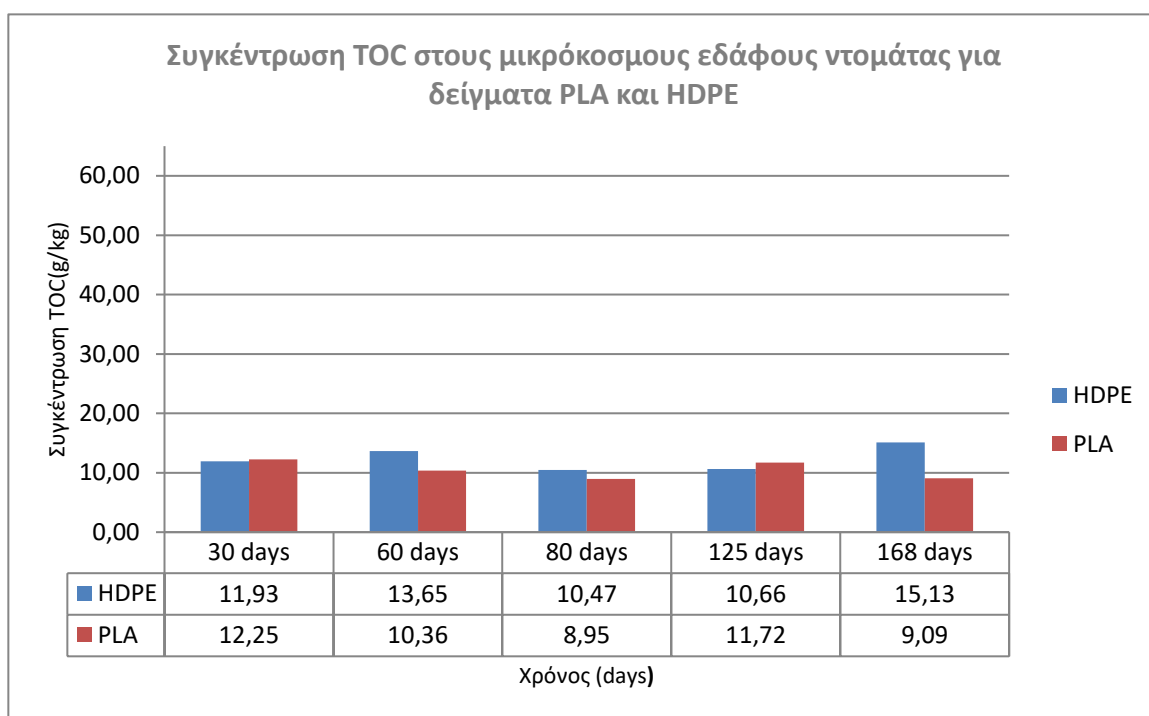


Διάγραμμα 4.13 Συγκέντρωση TOC στους μικρόκοσμους εδάφους ελιάς για τα δείγματα HDPE και PLA

Από το διάγραμμα 4.13 παρατηρείται ένα μοτίβο σταθερότητας για τα δείγματα HDPE και PLA, καθώς δεν υπάρχουν πολλές διακυμάνσεις και οι τιμές είναι σχετικά σταθερές από την μία δειγματοληψία στην επομένη. Στα δείγματα PLA η τιμή στην πρώτη δειγματοληψία είναι 55,04 g/kg, τιμή που είναι σταθερή εκτός από την δειγματοληψία των 105 και των 168 ημερών όπου η συγκέντρωση TOC πέφτει σημαντικά. Στα δείγματα HDPE η μέτρηση του TOC για την πρώτη δειγματοληψία είναι 39,25, τιμή που όπως στα δείγματα PLA είναι σχεδόν σταθερή στην διάρκεια του πειράματος. Στις δειγματοληψίες των 105 και 168 ημερών παρατηρείται αύξηση της συγκέντρωσης του TOC για τα δείγματα HDPE.

Σημείωση: Υπολείπονται οι μετρήσεις των 30 ημερών για τα δείγματα HDPE και PLA.

ο Δείγματα HDPE και PLA σε έδαφος ντομάτας

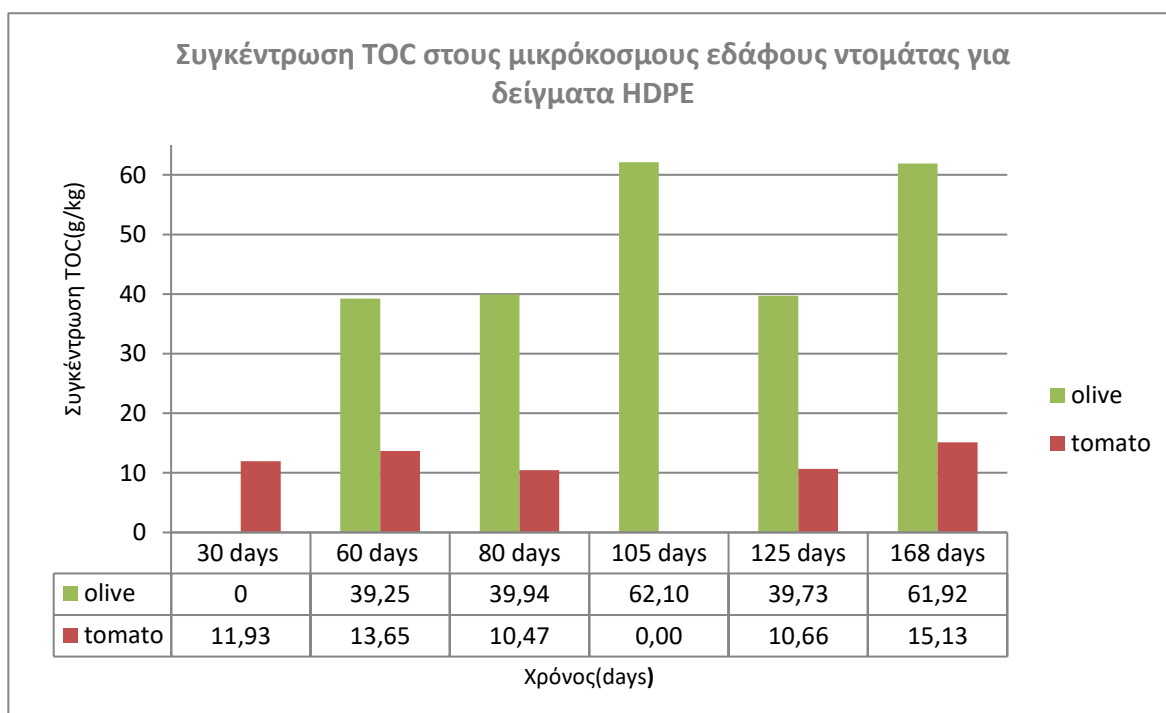


Διάγραμμα 4.14 Συγκέντρωση TOC στους μικρόκοσμους εδάφους ντομάτας για τα δείγματα HDPE και PLA

Στα δείγματα του εδάφους ντομάτας παρατηρούνται μικρές διακυμάνσεις των τιμών της συγκέντρωσης και για τα δείγματα HDPE και για τα δείγματα PLA. Επιπλέον, οι τιμές των δειγμάτων HDPE και PLA είναι αρκετά κοντά και δεν εμφανίζουν μεγάλες αποκλίσεις. Η μεγαλύτερη απόκλιση εντοπίζεται στην δειγματοληψία των 168 ημερών όπου η συγκέντρωση για τα δείγματα HDPE είναι 15,13g/kg και η συγκέντρωση για τα δείγματα PLA είναι 9,09 g/kg.

Σημείωση: Υπολείπονται οι μετρήσεις των 105 ημερών για τα δείγματα HDPE και PLA.

ο Δείγματα HDPE στο έδαφος ελιάς και ντομάτας

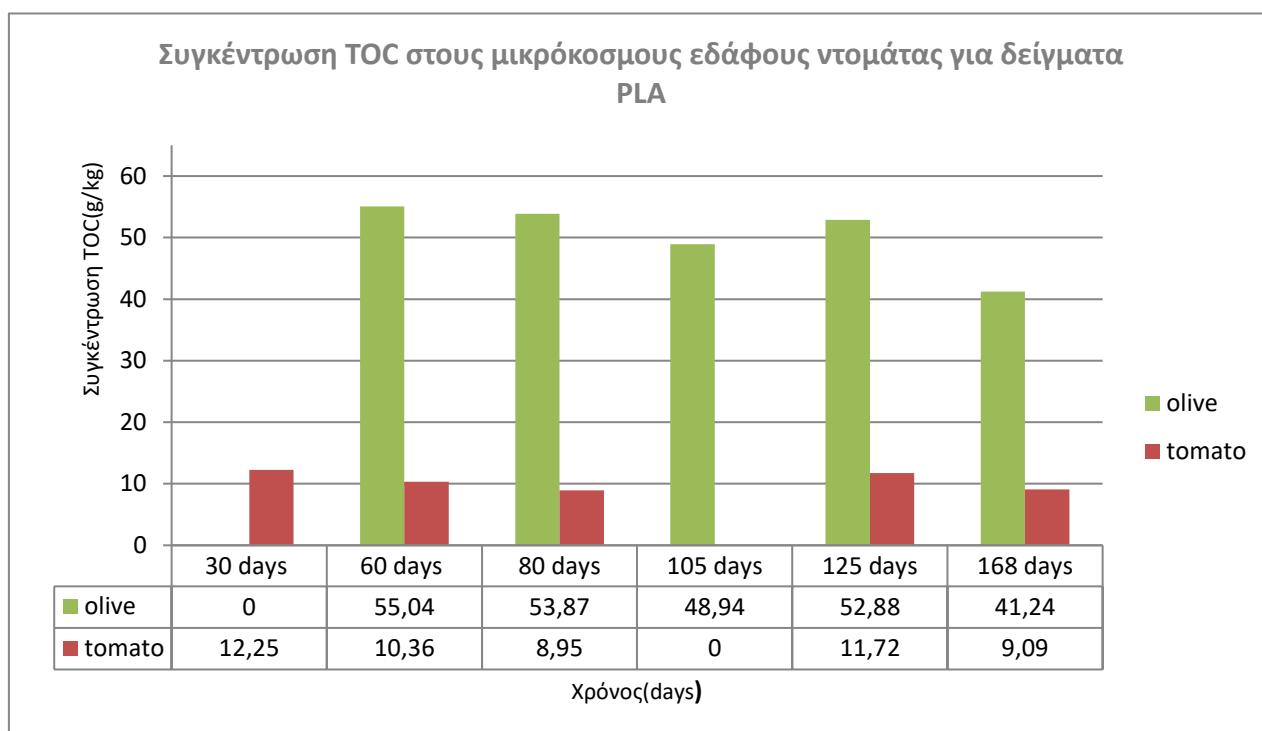


Διάγραμμα 4.15 Συγκέντρωση TOC στους μικρόκοσμους εδάφους ελιάς και ντομάτας για τα δείγματα HDPE

Η συγκέντρωση του TOC για τα δείγματα HDPE, έχει μεγάλη απόκλιση στο έδαφος ελιάς από το έδαφος ντομάτας. Παρατηρούνται πολύ μεγαλύτερες τιμές στο έδαφος ελιάς καθ'όλη τη διάρκεια του πειράματος, με την μεγαλύτερη απόκλιση να είναι στην τελευταία δειγματοληψία, όπου η συγκέντρωση για τα δείγματα εδάφους ελιάς είναι 61,92 g/kg, ενώ για το έδαφος ντομάτας 15,13 g/kg.

**Σημείωση: Υπολείπονται οι μετρήσεις των 30 και 105 ημερών για τα δείγματα εδάφους ντομάτας.*

ο Δείγματα PLA στο έδαφος ελιάς και ντομάτας



Διάγραμμα 4.16 Συγκέντρωση TOC στους μικρόκοσμους εδάφους ελιάς και ντομάτας για τα δείγματα PLA

Παρόμοια με τα δείγματα HDPE, και στα δείγματα PLA παρατηρούνται σημαντικά υψηλότερες τιμές συγκέντρωσης στα δείγματα εδάφους ελιάς από τα δείγματα εδάφους ντομάτας. Οι τιμές παρουσιάζουν σταθερότητα και για τα δύο είδη εδάφους, με εξαίρεση την δειγματοληψία των 168 ημερών για τα δείγματα εδάφους ελιάς, όπου η τιμή της συγκέντρωσης παρουσιάζει σημαντική πτώση σε σχέση με τις προηγούμενες δειγματοληψίες.

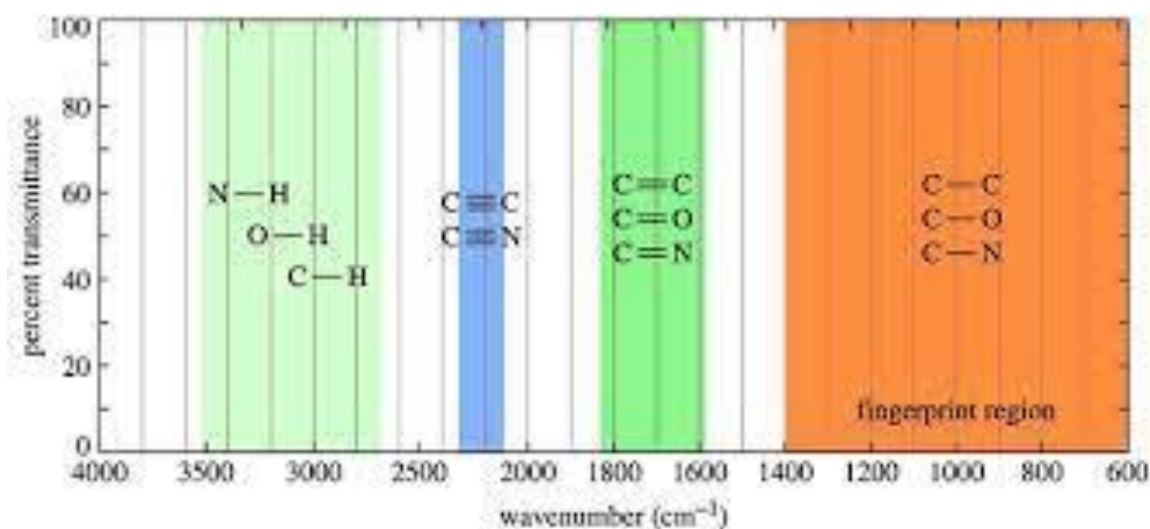
**Σημείωση: Υπολείπονται οι μετρήσεις των 30 ημερών για τα δείγματα εδάφους ελιάς και των 105 ημερών για τα δείγματα ντομάτας.*

4.3 Φασματοσκοπία Υπέρυθρου με την τεχνική της Αποσβένουσας Ολικής Ανάκλασης (Attenuated Total Reflection, ATR)

Στο παρόν πείραμα, η φασματοσκοπία ATR χρησιμοποιήθηκε ώστε να μπορεί να γίνει ανίχνευση των οξειδώσεων της επιφάνειας του πολυαιθυλενίου και του πολυγαλακτικού οξέος, να παρατηρηθούν οι αλλαγές στις συγκεντρώσεις των χαρακτηριστικών ομάδων που αντιστοιχούν σε συγκεκριμένους κυματοαριθμούς και να εντοπιστούν τυχόν καινούργιες χαρακτηριστικές ομάδες κατά την διάρκεια του πειράματος.

Το φάσμα απορρόφησης υπερύθρου αποτελεί θεμελιώδη ιδιότητα κάθε μορίου και χρησιμεύει ως δακτυλικό αποτύπωμα της ένωσης και της διαμόρφωσης των χαρακτηριστικών ομάδων της. Στην εικόνα παρακάτω, παρουσιάζονται οι περιοχές των χαρακτηριστικών ομάδων.

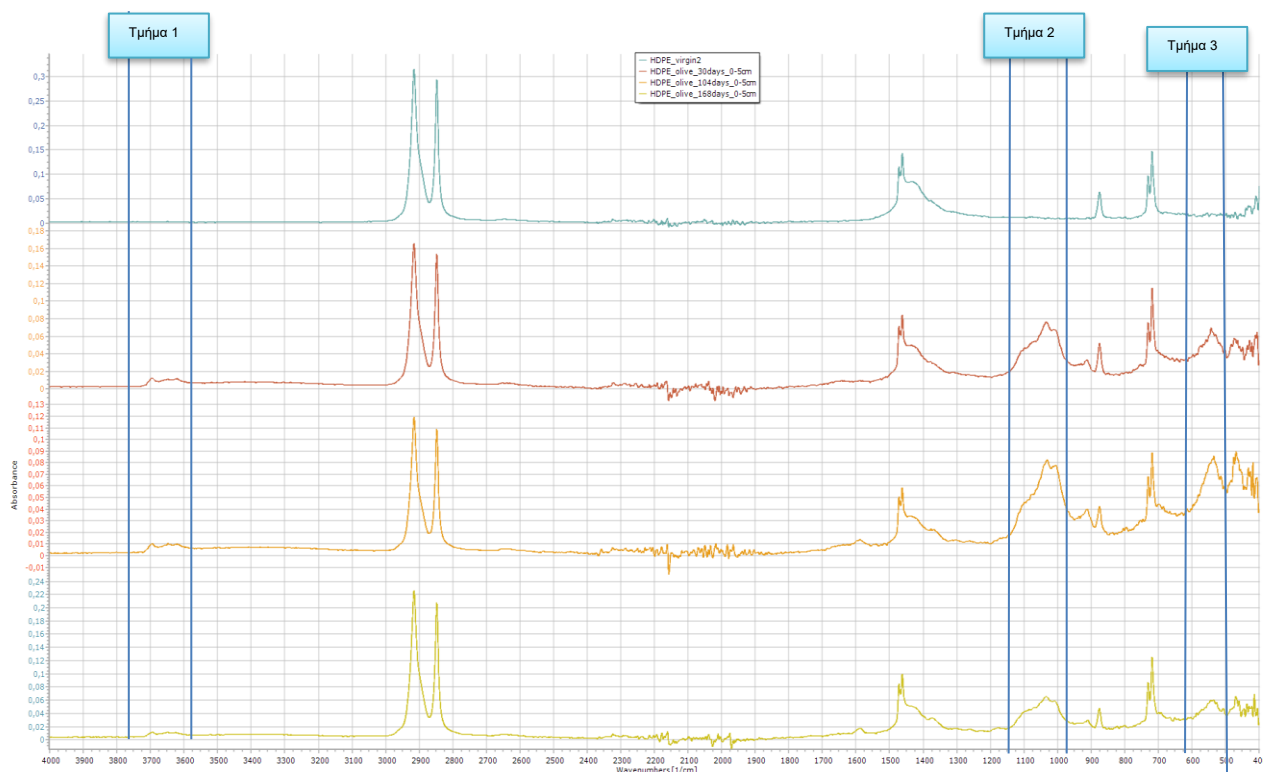
Επομένως, οι χαρακτηριστικές ομάδες είναι οι εξής:



Εικόνα 4.2 Περιοχές εμφάνισης των χαρακτηριστικών ομάδων το IR φάσμα (Wade, Jr. 2003)

- 4000-2500 cm^{-1} : Δονήσεις τάσης δεσμού (επιμήκυνση - συμπίεση) O-H, N-H, C-H
- 2500-2000 cm^{-1} : Δονήσεις τάσης $\text{-C}\equiv\text{C-}$, $\text{R-C}\equiv\text{N}$ (τριπλός δεσμός)
- 2000-1500 cm^{-1} : Δονήσεις τάσης -C=C- , -C=O , C=N (διπλός δεσμός)
- 1500-400 cm^{-1} : Περιοχή δακτυλικού αποτυπώματος

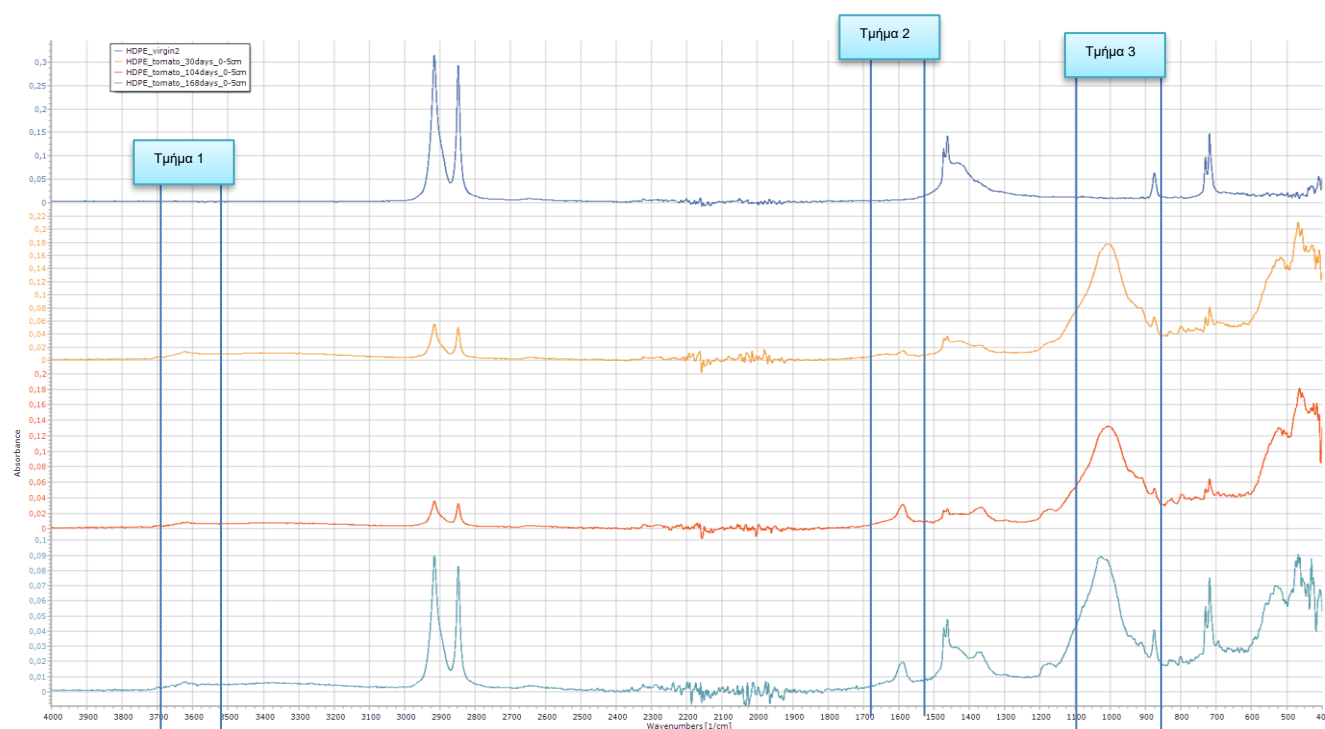
Δείγματα HDPE σε έδαφος ελιάς



Διάγραμμα 4.17 Φασματοσκοπία δειγμάτων HDPE σε έδαφος ελιάς

Αρχικά, το παρθένο HDPE που χρησιμοποιήθηκε για την διεξαγωγή του πειράματος εμφανίζει τις χαρακτηριστικές κορυφές του κοντά στα 2.920 cm^{-1} και στα 2.850 cm^{-1} οι οποίες είναι οι τιμές απορρόφησης για τον συμμετρικό δεσμό C-H. Στα 1.470 cm^{-1} εμφανίζεται μια διπλή κορυφή. Τέλος, περίπου στα 720 cm^{-1} , υπάρχει κορυφή που οφείλεται στην ύπαρξη απλού δεσμού C-C. Το πείραμα αφορά φιλμ που είναι κάτω από την επιφάνεια του εδάφους, επομένως οι μεταβολές που παρατηρούνται, οφείλονται στην μικροβιακή δράση. Στα δείγματα εδάφους ελιάς οι αλλαγές εντοπίζονται από την πρώτη δειγματοληψία μέχρι και την τελευταία. Στο τμήμα 1 του διαγράμματος 4.17 παρατηρούνται αλλαγές στην περιοχή των υδροξυλικών ομάδων (R-OH) στα 3.700 cm^{-1} . Μια νέα κορυφή εμφανίζεται στο τμήμα 2 στην περιοχή $1.000\text{--}1.100\text{ cm}^{-1}$, που είναι η περιοχή του δεσμού C-O. Τέλος μια κορυφή εμφανίζεται και στο τμήμα $500\text{--}600\text{ cm}^{-1}$.

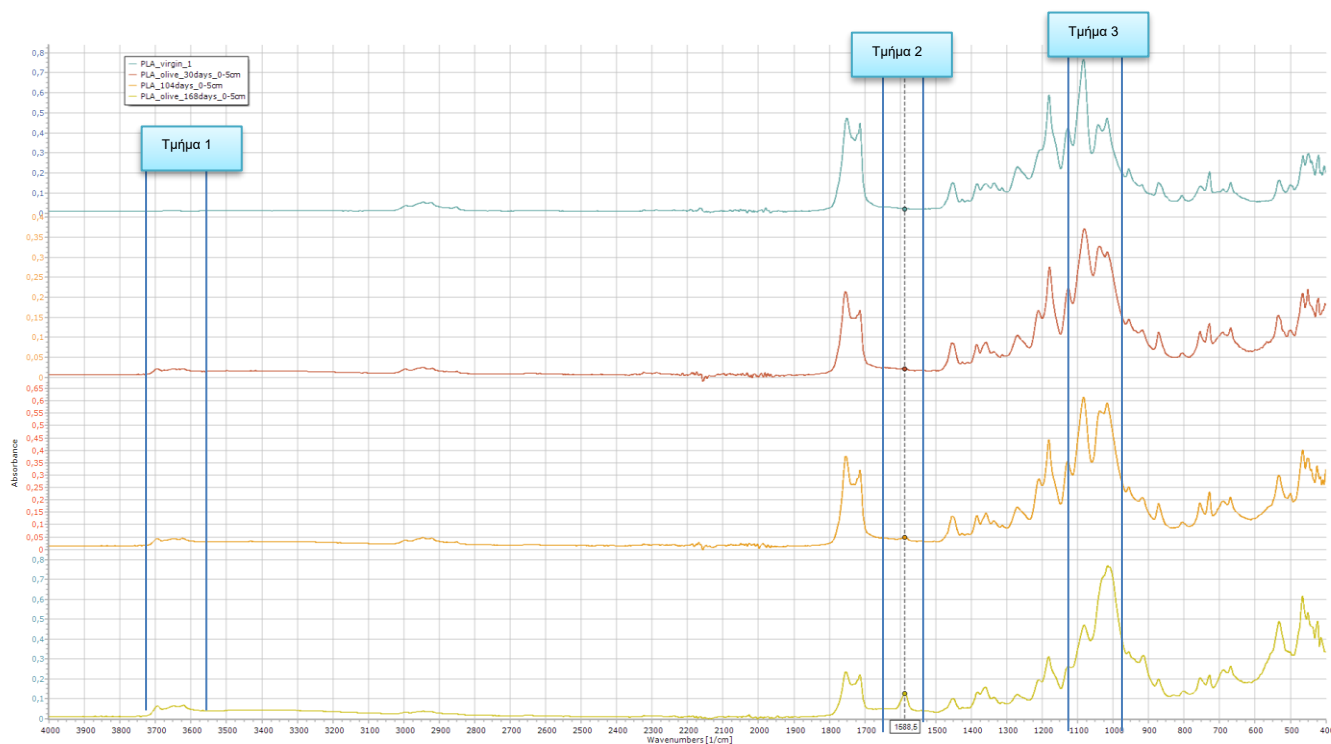
Δείγματα HDPE σε έδαφος ντομάτας



Διάγραμμα 4.18 Φασματοσκοπία δειγμάτων HDPE σε έδαφος ντομάτας

Στα δείγματα HDPE εδάφους ντομάτας παρατηρήθηκαν οι ίδιες αλλαγές που υπήρχαν και στα δείγματα εδάφους ελιάς, στις περιοχές των υδροξυλικών ομάδων (R-OH) στα $3.600\text{--}3.700\text{ cm}^{-1}$ και στην περιοχή $1.000\text{--}1.100\text{ cm}^{-1}$, που είναι η περιοχή των C-O. Στο έδαφος ντομάτας, εμφανίστηκε επιπλέον μια κορυφή στα 1.600 cm^{-1} , όπου υποδεικνύει διπλό δεσμό άνθρακα (C=C).

Δείγματα PLA σε έδαφος ελιάς



Διάγραμμα 4.19 Φασματοσκοπία δειγμάτων PLA σε έδαφος ελιάς

Στο παρθένο PLA, εντοπίζονται κορυφές στις περιοχές 3.000 cm^{-1} , 1750 cm^{-1} , $1300\text{-}1400\text{ cm}^{-1}$, 1000 cm^{-1} όπου είναι οι περιοχές για τα αλκένια, οι καρβονυλικές ομάδες, οι μεθυλομάδες και οι αλκοόλες (C-O) αντίστοιχα (Chieng et al. 2014). Ξεκινώντας από τα 4000 cm^{-1} προς τα 600 cm^{-1} παρατηρούμε μια μικρή καμπύλη να σχηματίζεται στην περιοχή $3.600\text{-}3.700\text{ cm}^{-1}$ όπου αντιστοιχούν οι υδροξυλικές ομάδες (-OH) και μια κορυφή που σχηματίζεται όμως στην τελευταία δειγματοληψία στην περιοχή των αλκενίων στα 1600 cm^{-1} . Επιπλέον, στην περιοχή $1000\text{-}1100\text{ cm}^{-1}$ μπορεί να παρατηρηθεί αλλαγή στις κορυφές που υπήρχαν στο παρθένο δείγμα PLA. Οι ίδιες αλλαγές που παρατηρήθηκαν για τα δείγματα εδάφους ελιάς παρατηρήθηκαν και στα δείγματα εδάφους ντομάτας με τη διαφορά ότι αυτές οι αλλαγές εμφανίστηκαν πιο γρήγορα.

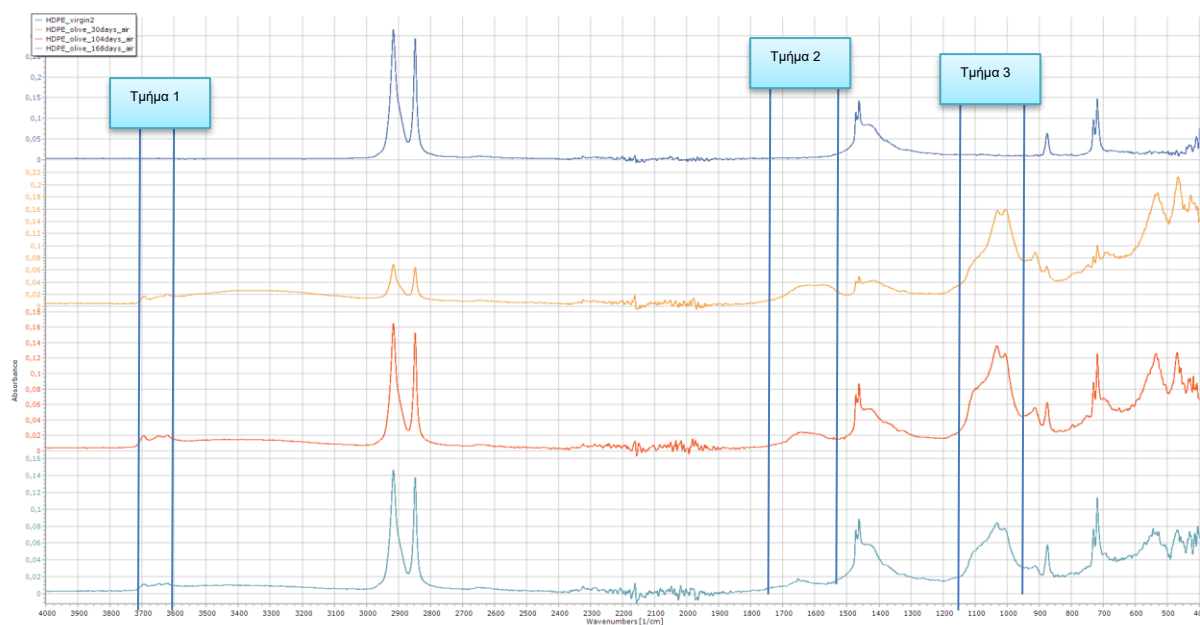
Δείγματα PLA σε έδαφος ντομάτας



Διάγραμμα 4.20 Φασματοσκοπία δειγμάτων PLA σε έδαφος ντομάτας

Επιπλέον, πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις και για τα μέρη των φιλμ που βρίσκονταν εκτός του εδάφους, καθώς και τα μέρη του φιλμ που ήταν θαμμένα σε μεγαλύτερο βάθος στο έδαφος στα 5-15 cm. Τα αποτελέσματα παρατίθενται στη συνέχεια.

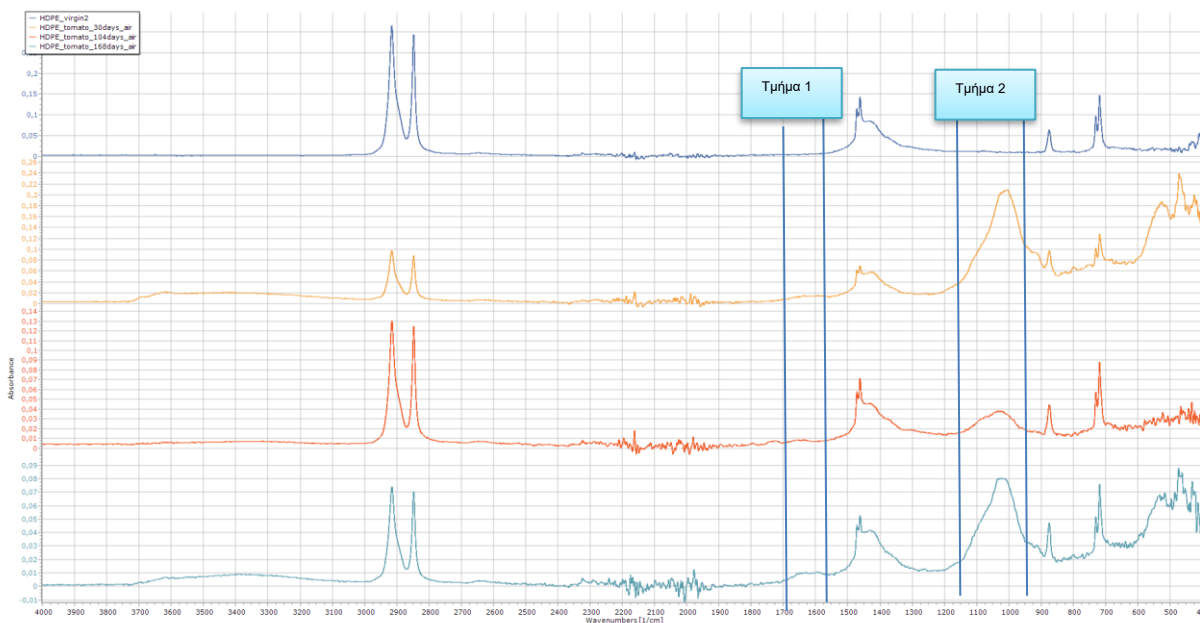
Δείγματα HDPE εκτός εδάφους από τους μικροκόσμους εδάφους ελιάς.



Διάγραμμα 4.21 Φασματοσκοπία δειγμάτων HDPE που βρίσκονται εκτός του εδάφους από μικροκόσμο εδάφους ελιάς.

Στα δείγματα HDPE που βρίσκονταν εκτός του εδάφους ελιάς εντοπίζονται που υποδεικνύουν μεταβολές οι οποίες οφείλονται κατά κύριο λόγο στην ηλιακή ακτινοβολία. Οι περιοχές στις οποίες εντοπίζονται είναι στα $3700-3600\text{ cm}^{-1}$, δηλαδή στην περιοχή των υδροξυλικών ομάδων (R-OH), στα $1700-1600\text{ cm}^{-1}$ την περιοχή C=C και στα $1100\text{ με }1000\text{ cm}^{-1}$ C-O. Και στα τρία τμήματα παρατηρείται η δημιουργία κορυφής, με εντονότερη αυτή του τμήματος 3. Οι αλλαγές είναι εμφανείς από τη πρώτη δειγματοληψία, με τις μεταβολές στο τμήμα 1 να γίνονται εντονότερες με το πέρασμα του χρόνου.

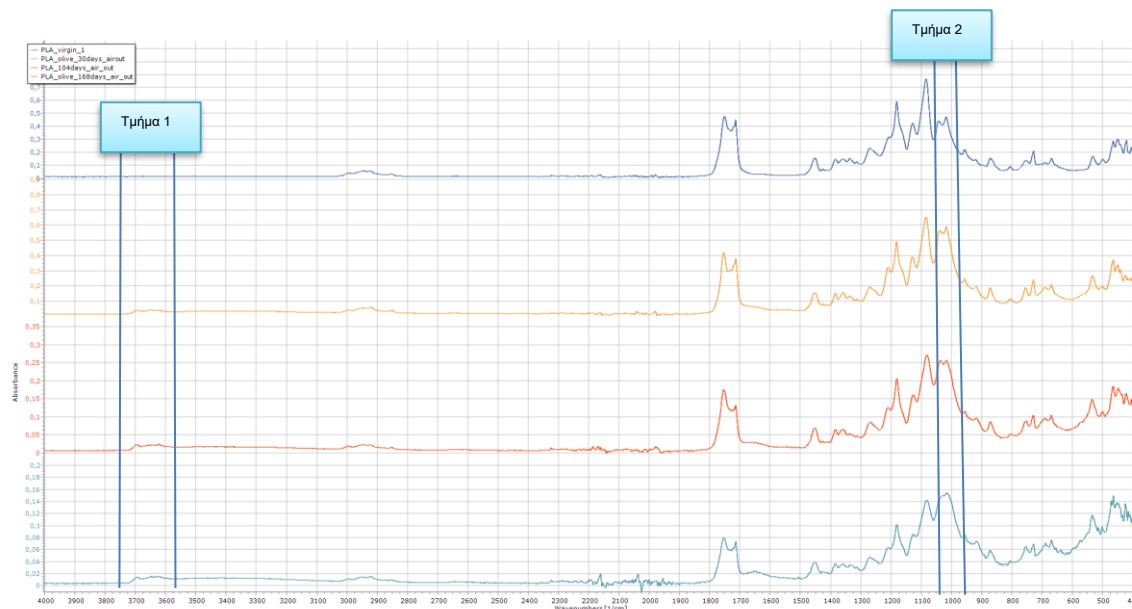
Δείγματα HDPE εκτός εδάφους από τους μικροκόσμους εδάφους τομάτας.



Διάγραμμα 4.22 Φασματοσκοπία δειγμάτων HDPE που βρίσκονται εκτός του εδάφους από μικροκόσμο εδάφους τομάτας

Στα δείγματα HDPE του εδάφους ντομάτας παρατηρούνται παρόμοιες αλλαγές με αυτές του εδάφους ελιάς με την εμφάνιση κορυφών στα $1700\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$ την περιοχή $\text{C}=\text{C}$ και στα $1100\text{ με }1000\text{ cm}^{-1}$ $\text{C}-\text{O}$. Στο τμήμα 1 οι αλλαγές είναι ανεπαίσθητες κατά τη πρώτη δειγματοληψία και γίνονται έντονες στη τελευταία δηλαδή μετά από 168 μέρες. Στο τμήμα 2 η κορυφή εμφανίζεται από τις 30 ημέρες σηματοδοτώντας αλλαγές από νωρίς στη συγκεκριμένη περιοχή.

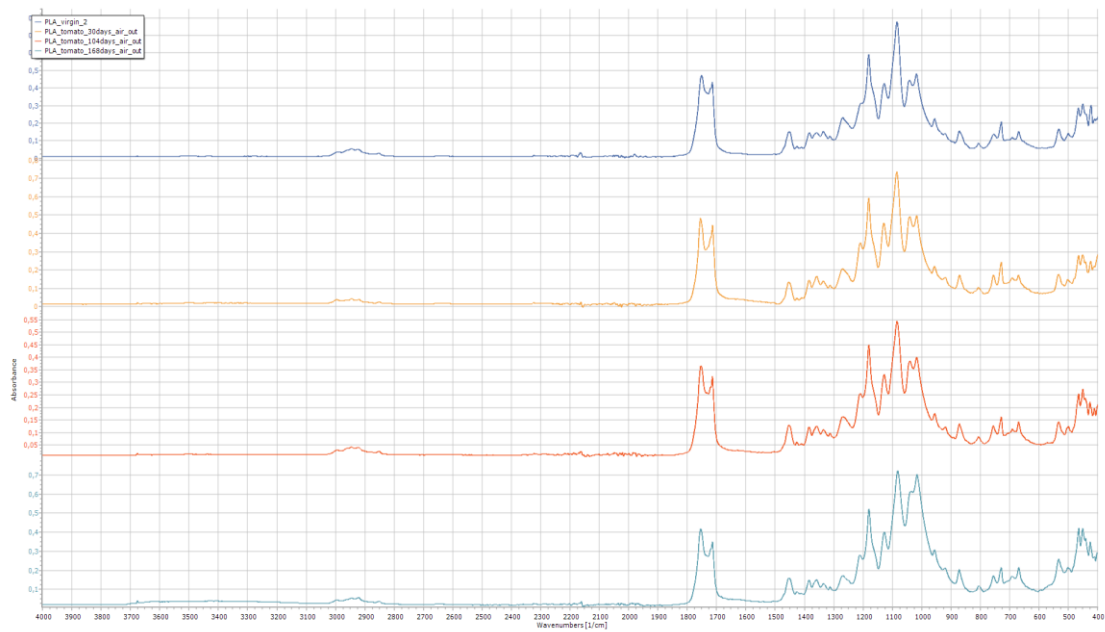
Δείγματα PLA εκτός εδάφους από τους μικροκόσμους εδάφους ελιάς.



Διάγραμμα 4.23 Φασματοσκοπία δειγμάτων PLA που βρίσκονται εκτός του εδάφους από μικροκόσμο εδάφους ελιάς

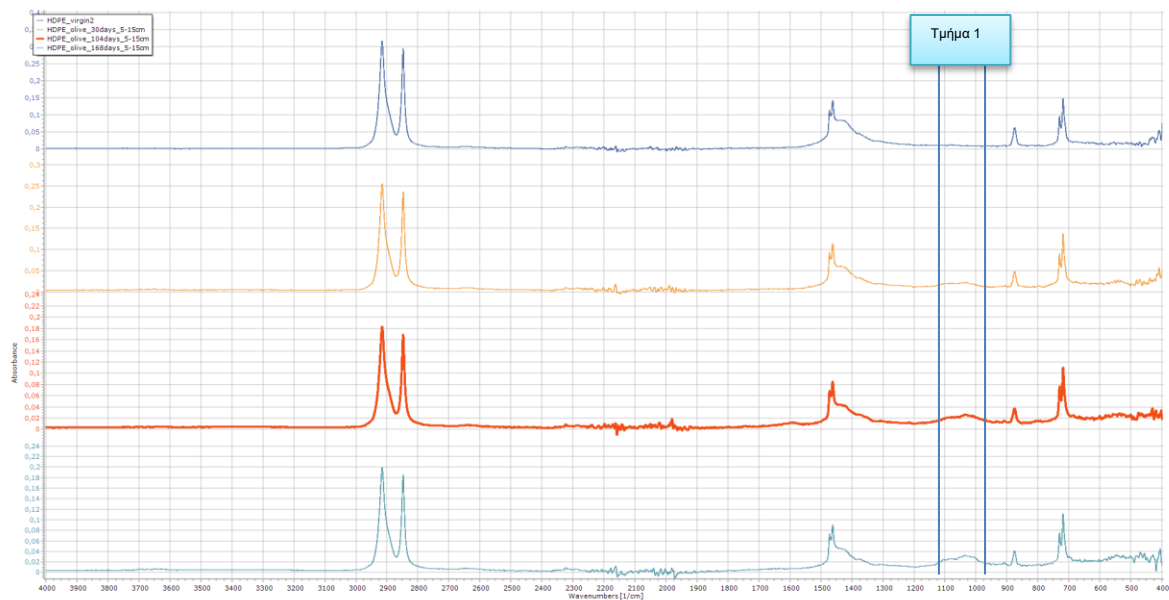
Στα τμήματα PLA που βρίσκονταν εκτός του εδάφους δεν παρατηρούνται μεγάλες αλλαγές, όπως στα δείγματα HDPE. Είναι ένα αποτέλεσμα το οποίο υποδεικνύει την φύση του πλαστικού, το οποίο είναι βιοαποδομήσιμο. Παρατηρείται μία αλλαγή στην περιοχή $3.600\text{-}3.700\text{ cm}^{-1}$ όπου αντιστοιχούν οι υδροξυλικές ομάδες ($-\text{OH}$) και ενώ στην περιοχή των 1000 cm^{-1} μπορεί να παρατηρηθεί μικρή αλλαγή στις κορυφές που υπήρχαν στο παρθένο δείγμα PLA. Οι αλλαγές αυτές είναι εμφανής κυρίως κατά τη τελευταία δειγματοληψία. Οι ίδιες αλλαγές στην περιοχή των 1000 cm^{-1} παρουσιάζονται και στα δείγματα του εδάφους ντομάτας.

Δείγματα PLA εκτός εδάφους από τους μικροκόσμους εδάφους τομάτας.



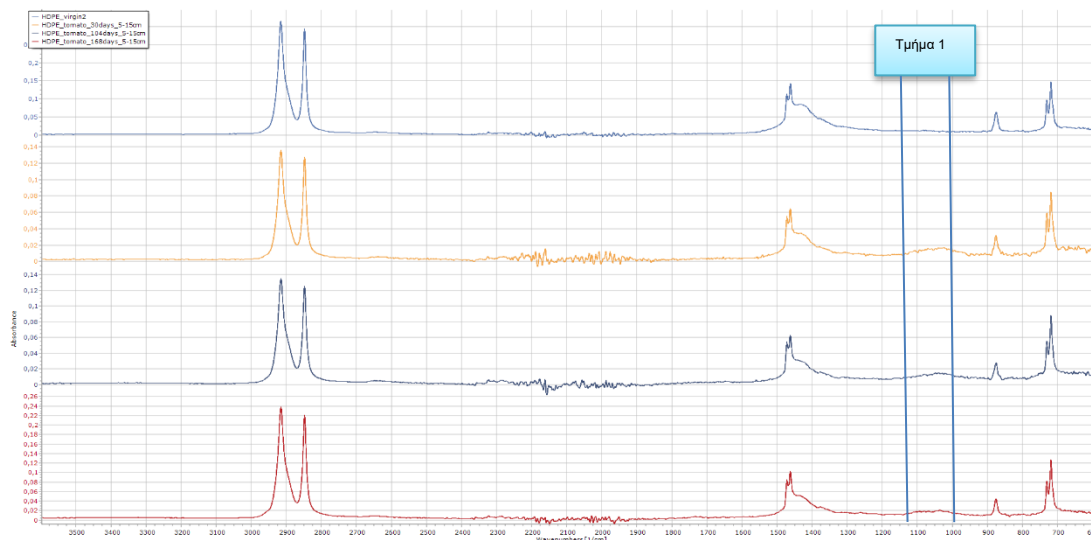
Διάγραμμα 4.24 Φασματοσκοπία δειγμάτων PLA που βρίσκονται εκτός του εδάφους από μικροκόσμο εδάφους τομάτας.

Δείγματα HDPE σε έδαφος ελιάς βάθος 5-15 cm.



Διάγραμμα 4.25 Φασματοσκοπία δειγμάτων HDPE από έδαφος ελιάς σε βάθος 5-15 cm.

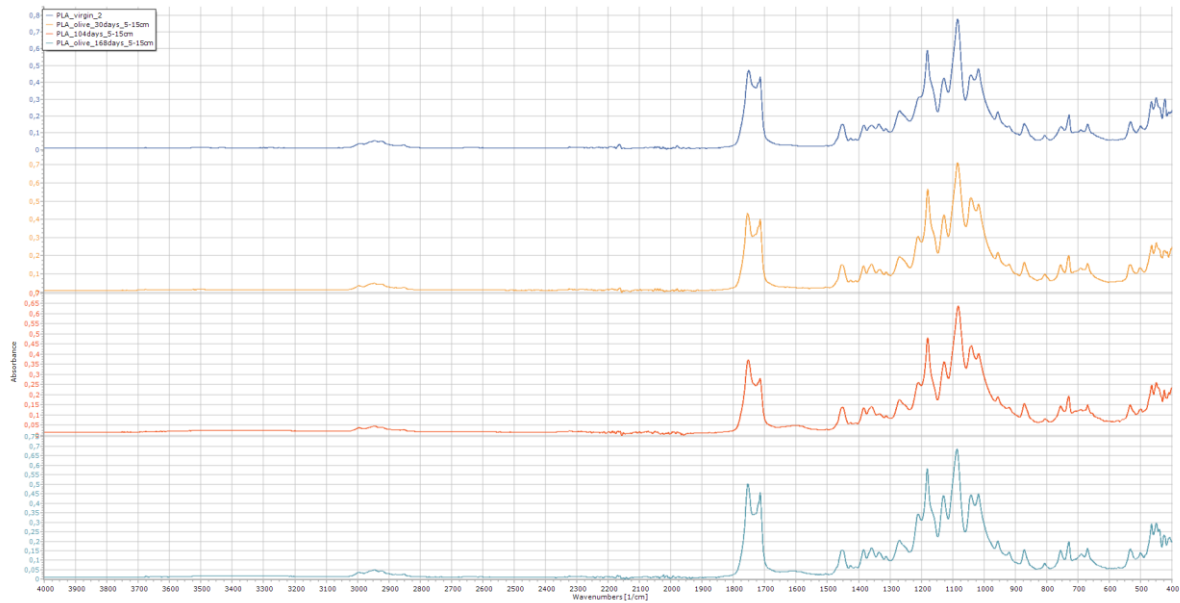
Δείγματα HDPE σε έδαφος τομάτας 5-15 cm.



Διάγραμμα 4.26 Φασματοσκοπία δειγμάτων HDPE από έδαφος τομάτας σε βάθος 5-15 cm.

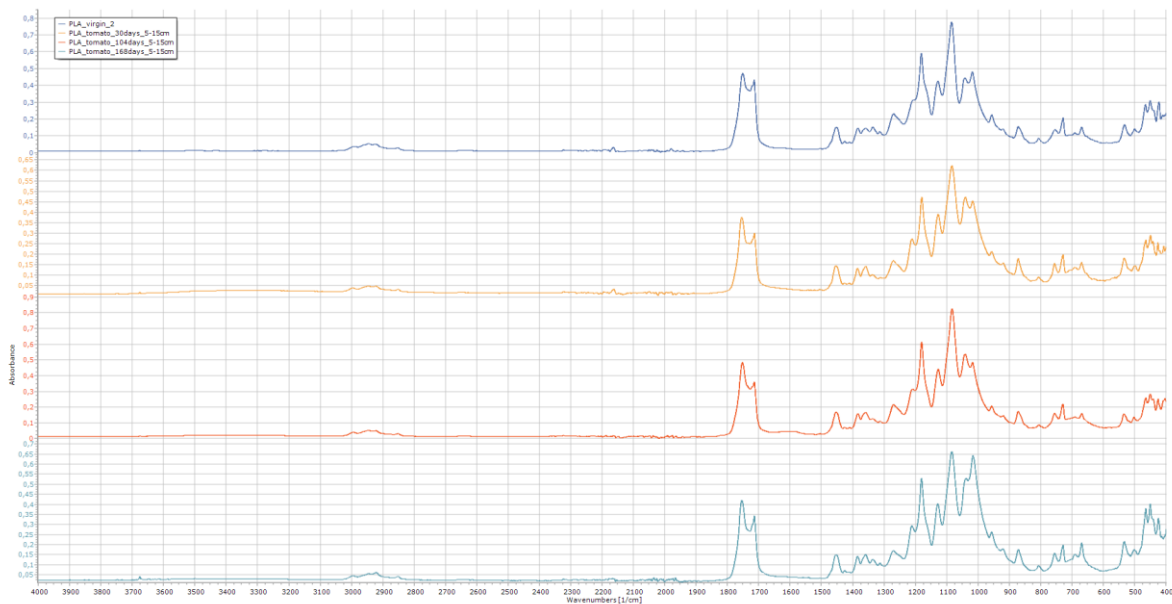
Για τα δείγματα του HDPE που βρίσκονται σε βάθος 5-15 cm εντοπίζονται οι ίδιες αλλαγές και στο έδαφος ελιάς και στο έδαφος ντομάτας. Η κυριότερη αλλαγή είναι στην περιοχή των 1100 με 1000 cm^{-1} C-O, όπου έχει σχηματιστεί μία νέα κορυφή. Η κορυφή ξεκινά να σχηματίζεται από τη πρώτη δειγματοληψία. Σε σχέση με το τμήμα που βρίσκονταν στα 0-5 cm, παρατηρούνται λιγότερες αλλαγές, γεγονός που μπορεί να οφείλεται στη μειωμένη μικροβιακή δραστηριότητα.

Δείγματα PLA σε έδαφος ελιάς βάθος 5-15 cm.



Διάγραμμα 4.27 Φασματοσκοπία δειγμάτων PLA από έδαφος ελιάς σε βάθος 5-15 cm.

Δείγματα PLA σε έδαφος τομάτας βάθος 5-15 cm.



Διάγραμμα 4.28 Φασματοσκοπία δειγμάτων PLA από έδαφος τομάτας σε βάθος 5-15 cm.

Στα δείγματα PLA που βρίσκονται σε βάθος 5-15 cm δεν υπάρχουν εμφανής αλλαγές σε κανένα από τα δύο είδη εδάφους.

5 Συμπεράσματα

Στη παρούσα διπλωματική εργασία διερευνάται η ικανότητα των μικροοργανισμών του εδάφους από δύο είδη αγροκαλλιιεργειών, να βιοαποδομήσουν φιλμ από πολυαιθυλένιο υψηλής πυκνότητας και φιλμ πολυγαλακτικού οξέος. Τα συμπεράσματα από την ανάλυση των αποτελεσμάτων είναι τα εξής:

Βιοφίλμ

Από τα αποτελέσματα των μετρήσεων που έγιναν στο βιοφίλμ, μπορεί να διαπιστωθεί ότι υπήρξε ανάπτυξη των μικροοργανισμών παρουσία HDPE και το PLA φιλμ στο έδαφος. Η μέτρηση της έκτασης του βιοφίλμ δεν έδωσε κάποια συγκεκριμένα αποτελέσματα, καθώς δεν υπάρχει κάποιο μοτίβο ανάπτυξης ούτε στα δείγματα HDPE ούτε στα δείγματα PLA. Στην μέτρηση της συγκέντρωσης των πρωτεϊνών, παρατηρούνται διαφορετικά αποτελέσματα στα δείγματα εδάφους ελιάς και ντομάτας. Στα δείγματα εδάφους ελιάς υπάρχει σταδιακή αύξηση της συγκέντρωσης των πρωτεϊνών στα δείγματα HDPE από την πρώτη μέχρι την τελευταία δειγματοληψία. Επιπλέον, η συγκέντρωση των πρωτεϊνών στα δείγματα HDPE είναι μεγαλύτερη από αυτή στα δείγματα PLA. Στα δείγματα εδάφους ντομάτας δεν υπάρχει κάποιο μοτίβο σχετικά με τις τιμές της συγκέντρωσης. Το κυτταρόμετρο έδειξε ότι υπήρχαν χαμηλές τιμές κυττάρων και για τα δύο είδη πολυμερών, με τις τιμές να αυξομειώνονται αγγίζοντας τη μία τάξη μεγέθους στην διάρκεια του πειράματος, γεγονός που συμφωνεί και με τη συγκέντρωση των πρωτεϊνών του βιοφίλμ, επιβεβαιώνοντας το μοτίβο.

ATR-FTIR

Για τα δείγματα HDPE σε βάθος 0-5 cm, οι χαρακτηριστικές κορυφές παρέμειναν αναλλοίωτες κατά την διάρκεια του πειράματος. Στα δείγματα παρουσιάστηκαν νέες κορυφές στις περιοχές των υδροξυλικών ομάδων (R-OH) στα 3.700 cm^{-1} και στην περιοχή $1.000\text{-}1.100\text{ cm}^{-1}$, που είναι η περιοχή του δεσμού C-O. Στα δείγματα εδάφους ντομάτας εμφανίστηκε μια επιπλέον κορυφή στα 1.600 cm^{-1} , όπου υποδεικνύει διπλό δεσμό άνθρακα (C=C). Στα δείγματα PLA σε βάθος 0-5 cm υπήρχε αλλοίωση στις χαρακτηριστικές κορυφές στην περιοχή $1.000\text{-}1.100\text{ cm}^{-1}$, που είναι η περιοχή του δεσμού C-O και επιπλέον, δημιουργήθηκαν νέες κορυφές στην περιοχή $3.600\text{-}3.700\text{ cm}^{-1}$ όπου αντιστοιχούν οι υδροξυλικές ομάδες (-OH) και στα 1600 cm^{-1} όπου είναι η περιοχή των αλκενίων. Συμπερασματικά, η δράση των μικροοργανισμών επέφερε αλλαγές στην επιφάνεια των φιλμ HDPE και των φιλμ PLA.

Στα δείγματα HDPE που ήταν σε βάθος 5-15 cm εντοπίστηκε αλλαγή στην περιοχή των $1100\text{ με }1000\text{ cm}^{-1}$ C-O, όπου έχει σχηματιστεί μία νέα κορυφή, γεγονός που μπορεί να οφείλεται στη μειωμένη μικροβιακή δραστηριότητα. Η μειωμένη μικροβιακή δραστηριότητα στο βάθος 5-15 cm βεβαιώνεται και από τα φιλμ του PLA όπου δεν παρατηρούνται αλλαγές.

Στα δείγματα που βρίσκονταν εκτός εδάφους και οι παράγοντες αποδόμησης ήταν η ακτινοβολία και τα καιρικά φαινόμενα εντονότερες αλλαγές εντοπίστηκαν στα φιλμ HDPE, όπου στους μικροκόσμους ελιάς εμφανίστηκαν κορυφές στα $1700\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$ την περιοχή C=C και στα $1100\text{ με }1000\text{ cm}^{-1}$ C-O. Στα φιλμ PLA παρατηρείται μία αλλαγή στην περιοχή $3.600\text{-}3.700\text{ cm}^{-1}$ όπου αντιστοιχούν οι υδροξυλικές ομάδες (-OH) και ενώ στην περιοχή των 1000 cm^{-1} μπορεί να παρατηρηθεί μικρή αλλαγή στις κορυφές που υπήρχαν

στο παρθένο δείγμα PLA. Οι αλλαγές αυτές είναι εμφανής κυρίως κατά τη τελευταία δειγματοληψία.

TOC

Οι μετρήσεις TOC που πραγματοποιήθηκαν στο έδαφος ελιάς και ντομάτας, δεν έδωσαν κάποια ξεκάθαρη εικόνα για την διαφυγή του άνθρακα από τα πλαστικά. Στο έδαφος ελιάς οι τιμές συγκέντρωσης του TOC έμειναν σχετικά σταθερές για τα δείγματα PLA και για τα δείγματα HDPE. Στα δείγματα HDPE υπήρχε αύξηση της τιμής στην τρίτη και την τελευταία δειγματοληψία, ενώ στα δείγματα PLA υπήρχε μείωση της συγκέντρωσης στην τελευταία δειγματοληψία. Στα δείγματα εδάφους ντομάτας υπήρχε πάλι σταθερότητα των τιμών συγκέντρωσης και για τα δύο είδη πλαστικού, αλλά οι τιμές ήταν σημαντικά μικρότερες από αυτές του εδάφους ελιάς.

Γενικό Συμπέρασμα

Τα παραπάνω στοιχεία οδηγούν στο συμπέρασμα ότι οι μικροοργανισμοί των δύο αγροκαλλιεργειών μπορούν να αναπτυχθούν στην επιφάνεια του πολυαιθυλενίου υψηλής πυκνότητας και του πολυγαλακτικού οξέος. Οι μετρήσεις του βιοφιλμ έδειξαν κάποιο μοτίβο σταθερής ανάπτυξης, παρόλα αυτά οι διαφορές που εντοπίστηκαν στα δείγματα εδάφους ελιάς και στα δείγματα εδάφους ντομάτας, υποδεικνύουν πόσο σημαντικό είναι το περιβάλλον και οι παράμετροι του για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Αυτό το γεγονός επιβεβαιώνεται και από την πειραματική διαδικασία του ATR-FTIR, όπου για το HDPE υπήρχαν διαφορετικές αλλαγές στο έδαφος ντομάτας από το έδαφος ελιάς, αφού εμφανίστηκε επιπλέον μια κορυφή στα 1.600 cm^{-1} . Η διαφορά στην σύνθεση μεταξύ των εδαφών αποτυπώνεται και στην μέτρηση του TOC, καθώς υπάρχει πολύ μεγάλη απόκλιση των τιμών συγκέντρωσης του εδάφους ελιάς από τις τιμές του εδάφους ντομάτας. Ένα ακόμα συμπέρασμα από αυτό το πείραμα, είναι ότι το βιοπλαστικό PLA, δεν παρουσίασε μεγαλύτερη ανάπτυξη βιοφιλμ από τα δείγματα HDPE, γεγονός που υπογραμμίζει ότι παρόλο που θεωρείται βιοαποδομήσιμο πλαστικό αν δεν υπάρχουν οι κατάλληλες συνθήκες που ευνοούν την αποδόμηση του από μικροοργανισμούς, θα παραμείνει στο έδαφος χωρίς να υποστεί πολλές αλλαγές. Αξίζει να αναφερθεί ότι η βιοαποδόμηση των πλαστικών στο έδαφος είναι μια πολύ αργή διαδικασία και σε χρονικό διάστημα 6 μηνών δεν είναι δυνατή η πλήρης αποδόμηση τους.

Προτάσεις για μελλοντική έρευνα

Η βιοαποδόμηση των πλαστικών, είναι ένα περίπλοκο φαινόμενο, που εξαρτάται από πολλούς παράγοντες. Αρχικά, πρέπει να πραγματοποιηθεί πιο εκτενής έρευνα στη σχέση μεταξύ των εδαφικών παραμέτρων και της ανάπτυξης των μικροβιακών κοινοτήτων. Θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί το πείραμα με άλλα είδη πλαστικού και βιοπλαστικού, καθώς κάθε τύπος πλαστικού έχει διαφορετικές ιδιότητες. Επίσης, το κάθε είδος εδάφους έχει διαφορετικά χαρακτηριστικά που μπορεί να επηρεάσουν τον ρυθμό βιοαποδόμησης των πλαστικών. Υπάρχουν μελέτες αρκετές μελέτες σχετικά με την αποδόμηση των πλαστικών και βιοπλαστικών στο έδαφος με μερικές να δίνουν ενδιαφέρουσες πληροφορίες για την μελλοντική κατεύθυνση των ερευνών:

- ο Σακουλάκια τσαγιού κατασκευασμένα μόνο από κυτταρίνη ή ένα μείγμα κυτταρίνης-PLA απουσίαζαν από δείγματα εδάφους μετά από 3,5 μήνες, χωρίς την δημιουργία θραυσμάτων. Σε αντίθεση με αυτό, τα σακουλάκια τσαγιού από PLA που κυκλοφόρησαν στην αγορά ως πλήρως βιοδιασπώμενα, παρέμειναν εντελώς άθικτα στο έδαφος σε όλα τα χρονικά σημεία (Mateos–Cárdenas 2022).
- ο Οι μικροοργανισμοί παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στη διατήρηση του συστήματος του εδάφους, στη σταθερότητα του εδάφους και την άσκηση λειτουργιών του εδάφους. Ωστόσο, υπάρχουν λίγες μελέτες σχετικά με τον τρόπο με τον οποίο τα βακτήρια και οι μύκητες του εδάφους επηρεάζονται από τα βιοπλαστικά. Στο μέλλον, θα πρέπει να διερευνηθούν οι επιδράσεις των βιοπλαστικών στα βακτήρια και τους μύκητες του εδάφους καθώς και οι συνέργειές τους σε σχέση με συγκεκριμένα φυτά (Fan et al. 2022b).
- ο Τα πλαστικά μπορούν να απελευθερώσουν δυνητικά τοξικές ουσίες στο έδαφος. Στο μέλλον, θα πρέπει να πραγματοποιηθούν περισσότερα εργαστηριακά πειράματα για τη διερεύνηση των διαδικασιών αποδόμησης και προσρόφησης (Fan et al. 2022b).

Συμπερασματικά, μπορεί να διαπιστωθεί ότι τα βιοπλαστικά δεν είναι εντελώς ακίνδυνα όπως διαφημίζονται και δεν μπορούν να είναι πλήρως οικολογική εναλλακτική των συμβατικών πλαστικών.

6 Βιβλιογραφία

- Abdallah, Marwan, Corinne Benoliel, Djamel Drider, Pascal Dhulster, and Nour Eddine Chihib. 2014. "Biofilm Formation and Persistence on Abiotic Surfaces in the Context of Food and Medical Environments." *Archives of Microbiology* 196(7):453–72. doi: 10.1007/s00203-014-0983-1.
- Agarwal, Shivaank, Ravindra Gudi, and Paresh Saxena. 2022. "Image Classification Approaches for Segregation of Plastic Waste Based on Resin Identification Code." *Transactions of the Indian National Academy of Engineering* (February). doi: 10.1007/s41403-022-00324-4.
- Ali, Sameh Samir, Tamer Elsamahy, Eleni Koutra, Michael Kornaros, Mostafa El-Sheekh, Esraa A. Abdelkarim, Daochen Zhu, and Jianzhong Sun. 2021. "Degradation of Conventional Plastic Wastes in the Environment: A Review on Current Status of Knowledge and Future Perspectives of Disposal." *Science of the Total Environment* 771:144719. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.144719.
- Andrady, Anthony L. 1998. "Biodegradation of Plastics: Monitoring What Happens." 32–40. doi: 10.1007/978-94-011-5862-6_5.
- Andrady, Anthony L. 2015. *Plastics and Environmental Sustainability*.
- Andrady, Anthony L. 2017. "The Plastic in Microplastics: A Review." *Marine Pollution Bulletin* 119(1):12–22. doi: 10.1016/j.marpolbul.2017.01.082.
- Anon. n.d. "Φασματοφωτομετρία Και ο Νόμος Των Lambert-Beer Σε Βιολογικά Υλικά." 0(2):1–6.
- Bátori, Veronika, Dan Åkesson, Akram Zamani, Mohammad J. Taherzadeh, and Ilona Sárvári Horváth. 2018. "Anaerobic Degradation of Bioplastics: A Review." *Waste Management* 80:406–13. doi: 10.1016/j.wasman.2018.09.040.
- Beckman Coulter. 2017. "CytoFLEX Flow Cytometer Platform Join the Resolution REVOLUTION Benchtop Cytometry without Compromises."
- Bläsing, Melanie, and Wulf Amelung. 2018. "Plastics in Soil: Analytical Methods and Possible Sources." *Science of the Total Environment* 612:422–35. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.08.086.
- Caillol, Sylvain. 2020. "Special Issue 'Natural Polymers and Biopolymers II.'" *Molecules (Basel, Switzerland)* 26(1):10–12. doi: 10.3390/molecules26010112.
- Campanale, Claudia, Carmine Massarelli, Ilaria Savino, Vito Locaputo, and Vito Felice Uricchio. 2020. "A Detailed Review Study on Potential Effects of Microplastics and Additives of Concern on Human Health." *International Journal of Environmental Research and Public Health* 17(4). doi: 10.3390/ijerph17041212.
- Cao, Dongdong, Xiao Wang, Xianxiang Luo, Guocheng Liu, and Hao Zheng. 2017. "Effects of Polystyrene Microplastics on the Fitness of Earthworms in an Agricultural Soil." *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 61(1):6–10. doi: 10.1088/1755-1315/61/1/012148.
- Cassen, T. 1977. *General Chemistry. 5th Edition*. Vol. 54.
- Chah, Charakho N., Arnab Banerjee, Vinay Kumar Gadi, Sreedeeep Sekharan, and Vimal Katiyar. 2022. "A Systematic Review on Bioplastic-Soil Interaction: Exploring the Effects of Residual Bioplastics on the Soil Geoenvironment." *Science of the Total Environment* 851(July):158311. doi: 10.1016/j.scitotenv.2022.158311.

- Chieng, Buong Woei, Nor Azowa Ibrahim, Wan Md Zin Wan Yunus, and Mohd Zobir Hussein. 2014. "Poly(Lactic Acid)/Poly(Ethylene Glycol) Polymer Nanocomposites: Effects of Graphene Nanoplatelets." *Polymers* 6(1):93–104. doi: 10.3390/polym6010093.
- Coltro, Leda, Bruno F. Gasparino, and Guilherme De C. Queiroz. 2008. "Reciclagem de Materiais Plásticos: A Importância Da Identificação Correta." *Polimeros* 18(2):119–25. doi: 10.1590/S0104-14282008000200008.
- Drumright, Ray E., Patrick R. Gruber, and David E. Henton. 2000. "Polylactic Acid Technology." *Advanced Materials* 12(23):1841–46. doi: 10.1002/1521-4095(200012)12:23<1841::AID-ADMA1841>3.0.CO;2-E.
- Environment Australia. 2002. "Biodegradable Plastics – Developments and Environmental Impacts." *Water* (03):1–66.
- Fan, Ping, Hong Yu, Beidou Xi, and Wenbing Tan. 2022a. "A Review on the Occurrence and Influence of Biodegradable Microplastics in Soil Ecosystems: Are Biodegradable Plastics Substitute or Threat?" *Environment International* 163(March):107244. doi: 10.1016/j.envint.2022.107244.
- Fan, Ping, Hong Yu, Beidou Xi, and Wenbing Tan. 2022b. "A Review on the Occurrence and Influence of Biodegradable Microplastics in Soil Ecosystems: Are Biodegradable Plastics Substitute or Threat?" *Environment International* 163(January):107244. doi: 10.1016/j.envint.2022.107244.
- Feldman, Dorel. 2008. "Polymer History." *Designed Monomers and Polymers* 11(1):1–15. doi: 10.1163/156855508X292383.
- Flemming, Hans Curt, and Jost Wingender. 2010. "The Biofilm Matrix." *Nature Reviews Microbiology* 8(9):623–33. doi: 10.1038/nrmicro2415.
- Folino, Adele, Aimilia Karageorgiou, Paolo S. Calabrò, and Dimitrios Komilis. 2020. "Biodegradación de Bioplásticos Desechados En Entornos Naturales e Industriales." *Sustainability (Switzerland)* 12(15):1–37.
- Fotopoulou, Kalliopi, and Hrisi K. Karapanagioti. 2017. "Degradation of Various Plastics in the Enviroment." *Handbook of Environmental Chemistry* 5(Part N):1–12. doi: 10.1007/698.
- van Gestel, Cornelis A. M., and Salla Selonen. 2018. "Ecotoxicological Effects of Microplastics in Soil: Comments on the Paper by Zhu et Al. (2018) 'Exposure of Soil Collembolans to Microplastics Perturbs Their Gut Microbiota and Alters Their Isotopic Composition.' *Soil Biology & Biochemistry* 116, 302-310." *Soil Biology and Biochemistry* 124:116–17. doi: 10.1016/j.soilbio.2018.05.032.
- Geyer, Roland, Jenna R. Jambeck, and Kara Lavender Law. 2017. "Production, Use, and Fate of All Plastics Ever Made - Supplementary Information." *Science Advances* 3(7):19–24.
- Ghosh, S., A. Qureshi, and H. J. Purohit. 2019. "Microbial Degradation of Plastics: Biofilms and Degradation Pathways." *Contaminants in Agriculture and Environment: Health Risks and Remediation* (January):184–99. doi: 10.26832/aesa-2019-cae-0153-014.
- Gijsman, Pieter, and Marjolein Diepens. 2009. "Photolysis and Photooxidation in Engineering Plastics." *ACS Symposium Series* 1004:287–306. doi: 10.1021/bk-2009-1004.ch024.

- Gironi, F., Vincenzo Piemonte, and European Bioplastics. 2011. "Bioplastics Market Data 2018. <https://www.European-Bioplastics.Org/New-Market-Data-the-Positive-Trend-for-the-Bioplastics-Industry-Remains-Stable/>." *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization and Environmental Effects* 33(21):1949–59. doi: 10.1080/15567030903436830.
- Hu, Duofei, Maocai Shen, Yaxin Zhang, and Guangming Zeng. 2019. "Micro(Nano)Plastics: An Un-Ignorable Carbon Source?" *Science of the Total Environment* 657:108–10. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.12.046.
- Izdebska, Joanna. 2015. *Aging and Degradation of Printed Materials*. Elsevier Inc.
- Kab, Harald. 2010. *Bioplastics*. Vol. 100.
- Karamanlioglu, Mehlika, Richard Preziosi, and Geoffrey D. Robson. 2017. "Abiotic and Biotic Environmental Degradation of the Bioplastic Polymer Poly(Lactic Acid): A Review." *Polymer Degradation and Stability* 137:122–30. doi: 10.1016/j.polymdegradstab.2017.01.009.
- Khan, Shahid Ali, Sher Bahadar Khan, Latif Ullah Khan, Aliya Farooq, Kalsoom Akhtar, and Abdullah M. Asiri. 2018. "Fourier Transform Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Application in Functional Groups and Nanomaterials Characterization." *Handbook of Materials Characterization* 317–44. doi: 10.1007/978-3-319-92955-2_9.
- Krueger, Martin C., Hauke Harms, and Dietmar Schlosser. 2015. "Prospects for Microbiological Solutions to Environmental Pollution with Plastics." *Applied Microbiology and Biotechnology* 99(21):8857–74. doi: 10.1007/s00253-015-6879-4.
- Kubicek, Christian P. 2015. *Synthetic Biopolymers*.
- Lambert, Guillaume, Andrew Bergman, Qiucen Zhang, David Bortz, and Robert Austin. 2014. "Physics of Biofilms: The Initial Stages of Biofilm Formation and Dynamics." *New Journal of Physics* 16. doi: 10.1088/1367-2630/16/4/045005.
- Laskar, Nirban, and Upendra Kumar. 2019. "Plastics and Microplastics: A Threat to Environment." *Environmental Technology and Innovation* 14:100352. doi: 10.1016/j.eti.2019.100352.
- Li, C., J. Moore-Kucera, J. Lee, A. Corbin, M. Brodhagen, C. Miles, and D. Inglis. 2014. "Effects of Biodegradable Mulch on Soil Quality." *Applied Soil Ecology* 79:59–69. doi: 10.1016/j.apsoil.2014.02.012.
- Li, Ge, Menghui Zhao, Fei Xu, Bo Yang, Xiangyu Li, Xiangxue Meng, Lesheng Teng, Fengying Sun, and Youxin Li. 2020. "Synthesis and Biological Application of Polylactic Acid." *Molecules (Basel, Switzerland)* 25(21). doi: 10.3390/molecules25215023.
- Liao, Jin, and Qiqing Chen. 2021. "Biodegradable Plastics in the Air and Soil Environment: Low Degradation Rate and High Microplastics Formation." *Journal of Hazardous Materials* 418(June):126329. doi: 10.1016/j.jhazmat.2021.126329.
- Lim, Xiao Zhi. 2021. "Microplastics Are Everywhere - but Are They Harmful?" *Nature* 593(7857):22–25. doi: 10.1038/d41586-021-01143-3.
- Lisitsyn, Andrey, Anastasia Semenova, Viktoria Nasonova, Ekaterina Polishchuk, Natalia Revutskaya, Ivan Kozyrev, and Elena Kotenkova. 2021. "Approaches in Animal Proteins and Natural Polysaccharides Application for Food Packaging: Edible Film

- Production and Quality Estimation." *Polymers* 13(10). doi: 10.3390/polym13101592.
- Liwerska-Bizukojs, Ewa. 2021. "Effect of (Bio)Plastics on Soil Environment: A Review." *Science of the Total Environment* 795:148889. doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.148889.
- Lyu, Su Ping, and Darrel Untereker. 2009. "Degradability of Polymers for Implantable Biomedical Devices." *International Journal of Molecular Sciences* 10(9):4033–65. doi: 10.3390/ijms10094033.
- Mann, Guravtar Singh, Lakhwinder Pal Singh, Parmod Kumar, Sunpreet Singh, and Chander Prakash. 2021. "On Briefing the Surface Modifications of Polylactic Acid: A Scope for Betterment of Biomedical Structures." *Journal of Thermoplastic Composite Materials* 34(7):977–1005. doi: 10.1177/0892705719856052.
- Mateos–Cárdenas, Alicia. 2022. "Fate of Petroleum-Based and Plant-Based Teabags Exposed to Environmental Soil Conditions for One Year." *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* 10(September):1–11. doi: 10.3389/fbioe.2022.966685.
- MELVILLE, H. W. 1949. "The Science of Plastics." *Nature* 163(4141):384–85. doi: 10.1038/163384b0.
- Muthukumar, Aruna, and Shanthi Veerappapillai. 2015. "Biodegradation of Plastics – A Brief Review." *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* 31(2):204–9.
- Nakanishi, Erika Yukari, Joahnn H. Palacios, Stéphane Godbout, and Sébastien Fournel. 2021. "Interaction between Biofilm Formation, Surface Material and Cleanability Considering Different Materials Used in Pig Facilities—an Overview." *Sustainability (Switzerland)* 13(11). doi: 10.3390/su13115836.
- Narayan, Ramani. 2017. "Biodegradable and Biobased Plastics: An Overview." 23–34. doi: 10.1007/978-3-662-54130-2_2.
- Park, Soo Jin, and Min Kang Seo. 2011. *Element and Processing*. Vol. 18.
- Pascault, Jean Pierre, and Roberto J. J. Williams. 2013. "Thermosetting Polymers." *Handbook of Polymer Synthesis, Characterization, and Processing* 519–33. doi: 10.1002/9781118480793.ch28.
- Patel, Rajen M. 2016. "Polyethylene." *Multilayer Flexible Packaging: Second Edition* 17–34. doi: 10.1016/B978-0-323-37100-1.00002-8.
- PlasticEurope-Association of Plastics Manufactures. 2020. "Plastics – the Facts 2020." *PlasticEurope* 1–64.
- Polidar, Matthias, Elke Metzsch-Zilligen, and Rudolf Pfaendner. 2022. "Controlled and Accelerated Hydrolysis of Polylactide (PLA) through Pentaerythritol Phosphites with Acid Scavengers." *Polymers* 14(19). doi: 10.3390/polym14194237.
- Proiakakis, C. S., N. J. Mamouzelos, P. A. Tarantili, and A. G. Andreopoulos. 2006. "Swelling and Hydrolytic Degradation of Poly(d,l-Lactic Acid) in Aqueous Solutions." *Polymer Degradation and Stability* 91(3):614–19. doi: 10.1016/j.polymdegradstab.2005.01.060.
- Razza, Francesco, and Francesco Degli Innocenti. 2009. "Membrane Reactors – Part I." *ASIA PACIFIC JOURNAL OF CHEMICAL ENGINEERING* 7(17):743–53. doi: 10.1002/apj.

- Restrepo-Flórez, Juan Manuel, Amarjeet Bassi, and Michael R. Thompson. 2014. "Microbial Degradation and Deterioration of Polyethylene - A Review." *International Biodeterioration and Biodegradation* 88:83–90. doi: 10.1016/j.ibiod.2013.12.014.
- Rodriguez-Seijo, A., J. Lourenço, T. A. P. Rocha-Santos, J. da Costa, A. C. Duarte, H. Vala, and R. Pereira. 2017. "Histopathological and Molecular Effects of Microplastics in Eisenia Andrei Bouché." *Environmental Pollution* 220:495–503. doi: 10.1016/j.envpol.2016.09.092.
- Rudnik, E., and D. Briassoulis. 2011. "Degradation Behaviour of Poly(Lactic Acid) Films and Fibres in Soil under Mediterranean Field Conditions and Laboratory Simulations Testing." *Industrial Crops and Products* 33(3):648–58. doi: 10.1016/j.indcrop.2010.12.031.
- Sajjad, Muhammad, Qing Huang, Sardar Khan, Muhammad Amjad Khan, Yin Liu, Junfeng Wang, Faqin Lian, Qingqing Wang, and Genmao Guo. 2022. "Microplastics in the Soil Environment: A Critical Review." *Environmental Technology and Innovation* 27:102408. doi: 10.1016/j.eti.2022.102408.
- Sankhla, Indu Singh, Ghanshyam Sharma, and Alkesh Tak. 2020. *Fungal Degradation of Bioplastics: An Overview*. Elsevier B.V.
- Series, N. C. n.d. "High-Performance TOC Analyzer Multi N / C ® Series."
- Shah, Aamer Ali, Fariha Hasan, Abdul Hameed, and Safia Ahmed. 2008. "Biological Degradation of Plastics: A Comprehensive Review." *Biotechnology Advances* 26(3):246–65. doi: 10.1016/j.biotechadv.2007.12.005.
- Shams, Mehnaz, Iftaykhairul Alam, and Md Shahriar Mahbub. 2021. "Plastic Pollution During COVID-19: Plastic Waste Directives and Its Long-Term Impact on The Environment." *Environmental Advances* 5:100119. doi: 10.1016/j.envadv.2021.100119.
- Sharma, Manjari. 2021. "Classification of Polymers." *Biodegradable Polymers* 29–49. doi: 10.1201/9781003171591-2.
- Sin, Lee Tin, Abdul Razak Rahmat, and Wan Aizan Wan Abdul Rahman. 2013. *Synthesis and Production of Poly(Lactic Acid)*.
- Singh, Baljit, and Nisha Sharma. 2008. "Mechanistic Implications of Plastic Degradation." *Polymer Degradation and Stability* 93(3):561–84. doi: 10.1016/j.polymdegradstab.2007.11.008.
- Skoog, Douglas, James Holler, and Stanley Crouch. 2007. *Αρχές Ενόργανης Ανάλυσης*.
- Sobhani, Zahra, Logeshwaran Panneerselvam, Cheng Fang, Ravi Naidu, and Mallavarapu Megharaj. 2022. "Chronic and Transgenerational Effects of Polyethylene Microplastics at Environmentally Relevant Concentrations in Earthworms." *Environmental Technology and Innovation* 25:102226. doi: 10.1016/j.eti.2021.102226.
- Suzuki, Shuko, Yoshito Ikada, Shoji Obuchi, and Shinji Ogawa. 2010. "Part V-Applications." *Poly(Lactic Acid)* 443–86.
- Telis, Vânia Regina Nicoletti. 2012. "An Introduction to Biopolymer Applications in Food Engineering." *Biopolymer Engineering in Food Processing* 1–15. doi: 10.1201/b12048.

- Terminologies, Plastic, and Plastic Facts. 2015. "Plastics and Microplastics." (July):5–7.
- Thakur, Sourbh, Jyoti Chaudhary, Bhawna Sharma, Ankit Verma, Sigita Tamulevicius, and Vijay Kumar Thakur. 2018. "Sustainability of Bioplastics: Opportunities and Challenges." *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry* 13:68–75.
- Tokiwa, Yutaka, Buenaventura P. Calabia, Charles U. Ugwu, and Seiichi Aiba. 2009. "Biodegradability of Plastics." *International Journal of Molecular Sciences* 10(9):3722–42. doi: 10.3390/ijms10093722.
- USDA-NRCR. 2009. "Total Organic Carbon. Soil Quality Indicators." *USDA Natural Resources Conservation Service* (C):7.
- Vasile, Cornelia, and M. Pascu. 2005. *Practical Guide to Polyethylene*.
- Verma, Deepak, and Elena Fortunati. 2019. *Biobased and Biodegradable Plastics*. Vol. 4.
- Wade, Jr., L. G. 2003. "(IR) Theory and Interpretation of IR Spectra Presentation for Additional Examples of How Do We Know." *Organic Chemistry* 5th:853–66.
- Walczak, Maciej, Maria Swiontek Brzezinska, Alina Sionkowska, Marta Michalska, Urszula Jankiewicz, and Edyta Deja-Sikora. 2015. "Biofilm Formation on the Surface of Polylactide during Its Biodegradation in Different Environments." *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 136:340–45. doi: 10.1016/j.colsurfb.2015.09.036.
- Welden, Natalie A., and Amy Lusher. 2020. *Microplastics*. Elsevier Inc.
- Yu, Jieru, Samuel Adingo, Xuelu Liu, Xiaodan Li, Jing Sun, and Xiaoning Zhang. 2022. "Micro Plastics in Soil Ecosystem – A Review of Sources, Fate, and Ecological Impact." *Plant, Soil and Environment* 68(1):1–17. doi: 10.17221/242/2021-PSE.
- Zaaba, Nor Fasihah, and Mariatti Jaafar. 2020. "A Review on Degradation Mechanisms of Polylactic Acid: Hydrolytic, Photodegradative, Microbial, and Enzymatic Degradation." *Polymer Engineering and Science* 60(9):2061–75. doi: 10.1002/pen.25511.
- Zerbi, Giuseppe, Germana Gallino, N. Del Fanti, and L. Baini. 1989. "Structural Depth Profiling in Polyethylene Films by Multiple Internal Reflection Infra-Red Spectroscopy." *Polymer* 30(12):2324–27. doi: 10.1016/0032-3861(89)90269-3.
- Zhou, Yujie, Junxiao Wang, Mengmeng Zou, Zhenyi Jia, Shenglu Zhou, and Yan Li. 2020. "Microplastics in Soils: A Review of Methods, Occurrence, Fate, Transport, Ecological and Environmental Risks." *Science of the Total Environment* 748:141368. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.141368.
- Δασενάκης, Γεώργιος. 2019. "Βιοδιασπαση Μικροπλαστικων Απο Ldpe Στο Θαλασσιο Περιβαλλον." *Πολυτεχνείο Κρήτης*.
- Μπουρνάκας, Χρήστος. 2021. "ΚΥΤΤΑΡΟΜΕΤΡΙΑ ΡΟΗΣ : ΑΡΧΕΣ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΗ ΣΥΓΧΡΟΝΗ ΙΑΤΡΙΚΗ."
- Παπαδάκη, Ελισάβετ. 2020. "LDPE , PET ΚΑΙ PP ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΕΚΘΕΣΗ ΣΕ UV ΑΚΤΙΝΟΒΟΛΙΑ." 112.
- Χριστοδούλου, Κωνσταντίνος. 2009. "Αξιοποίηση Δυνατοτήτων Ενός UV-VIS Σε Εργαστήριο Χημείας Και Τεχνολογίας Προϊόντων Πετρελαίου."

Διαδίκτυο

https://www.bpf.co.uk/plastipedia/plastics_history/default.aspx

<https://www.sciencehistory.org/the-history-and-future-of-plastics>

<https://www.thoughtco.com/history-of-plastics-1992322>

<https://www.craftechind.com/resin-identification-codes/>

<https://everydayrecycler.com/plastic-number-7/>

<https://sn.astm.org/?q=features/modernizing-resin-identification-code-ja13.html>

<https://ourworldindata.org/grapher/mean-product-lifetime-plastic>

<https://eclass.upatras.gr/modules/document/file.php/MECH1236/%CF%80%CE%BF%CE%BB%CF%85%CE%BC%CE%B5%CF%81%CE%AE4.pdf>

<https://www.acmeplastics.com/what-is-hdpe>

<https://bioplasticsnews.com/2018/07/05/history-of-bioplastics/>

<https://ourworldindata.org/plastic-pollution>