ePublishing
ΕΘΝΙΚΟ ΚΕΝΤΡΟ ΤΕΚΜΗΡΙΩΣΗΣ NATIONAL DOCUMENTATION CENTRE

Open Schools Journal for Open Science

Τόμ. 3, Αρ. 7 (2020)

Πλαστικά στο υδάτινο περιβάλλον της Κύπρου: παρακολούθηση και πιθανή στρατηγική βιοδιάσπασης τους

Ιωάννα Καραϊσκάκη, Άννα Μαρία Αγαθοκλέους, Χριστίνα Αριστοδήμου

doi: 10.12681/osj.24344

Copyright © 2020, Ιωάννα Καραϊσκάκη, Άννα Μαρία Αγαθοκλέους, Χριστίνα Αριστοδήμου

Άδεια χρήσης Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0.

Βιβλιογραφική αναφορά:

Καραϊσκάκη Ι., Αγαθοκλέους Ά. Μ., & Αριστοδήμου Χ. (2020). Πλαστικά στο υδάτινο περιβάλλον της Κύπρου: παρακολούθηση και πιθανή στρατηγική βιοδιάσπασης τους. *Open Schools Journal for Open Science*, *3*(7). https://doi.org/10.12681/osj.24344

Open Schools Journal
for Open Science

Πλαστικά στο υδάτινο περιβάλλον της Κύπρου: παρακολούθηση και πιθανή στρατηγική βιοδιάσπασης τους

Καραϊσκάκη Ιωάννα[1], Αγαθοκλέους Άννα Μαρία[1], Αριστοδήμου Χριστίνα[2]

[1] Λύκειο Αποστόλων Πέτρου και Παύλου, Λεμεσός, Κύπρος,

[2] Καθηγήτρια Φυσικής Λύκειο Αποστόλων Πέτρου και Παύλου, Λεμεσός, Κύπρος

Περίληψη

Στο κατώφλι του εικοστού πρώτου αιώνα η παραγωγή πλαστικών έχει αυξηθεί ραγδαία, με περισσότερο από 240 τόνους πλαστικών να παράγονται ετησίως. Σύμφωνα με έρευνα που πραγματοποιήθηκε σε ωκεανούς σε ολόκληρο το κόσμο, τουλάχιστον 5.25 τρισεκατομμύρια σωματίδια πλαστικών υπολογίστηκε πως βρέθηκαν στο υδάτινο περιβάλλον.

Ο όρος μικροπλαστικά χαρακτηρίζει μικρά πλαστικά σωματίδια διαμέτρου μικρότερης από 5mm, τα οποία προέρχονται είτε από την διάσπαση μεγαλύτερων κομματιών πλαστικών με τη βοήθεια της ηλιακής ακτινοβολίας ή βρίσκονται έτοιμα σε κάποια προϊόντα.

Αυτά έχουν καταστροφικές συνέπειες στο οικοσύστημα και στην τροφική αλυσίδα πολλών οργανισμών. Αυτό επαληθεύεται, αφού κατανάλωση πλαστικών έχει σημειωθεί σε εύρος θαλάσσιων οργανισμών. Με την κατανάλωση πλαστικών συνεπάγονται πολλές επιπτώσεις για τους οργανισμούς, όπως εισβολή τοξικών ουσιών και χημικών. Το προαναφερόμενο γεγονός δεν επηρεάζει μόνο την θαλάσσια τροφική αλυσίδα αλλά υπάρχει δυνατότητα να έχει επιπτώσεις και στον ανθρώπινο οργανισμό μέσω της τροφικής αλυσίδας.

Σκοπός της εργασίας μας είναι να διερευνήσουμε και να εισηγηθούμε μια στρατηγική για την αντιμετώπιση των μικροπλαστικών στο θαλάσσιο περιβάλλον. Για την επίτευξη του στόχου μας θέσαμε τα εξής ερευνητικά ερωτήματα:

1. Υπάρχουν μικροπλαστικά στη θαλάσσια περιοχή της Λεμεσού;
2. Μπορούμε να βρούμε μια αποτελεσματική λύση για την αντιμετώπιση και μείωση των πλαστικών στο υδάτινο περιβάλλον;

Λέξεις κλειδιά

Μικροπλαστικά, Μικροοργανισμοί

1 Αναγνώριση προβλήματος στη θαλάσσια περιοχή Λεμεσού

1.2 Επιλογή θαλάσσιων περιοχών

Αρχίσαμε την έρευνα μας με την διερεύνηση της ύπαρξης μικροπλαστικών στο θαλάσσιο περιβάλλον της πόλης μας. Επιλέξαμε τρις διαφορετικές περιοχές ανάλογα με την ανθρώπινη δραστηριότητα της κάθε μιας. Η πρωτή περιοχή ήταν η Μελάντα, θαλάσσια περιοχή που δεν έχει ανθρώπινη δραστηριότητα. Η δεύτερη περιοχή ήταν του Αγίου Ραφαήλ, πολυσύχναστο τουριστικό θέρετρο, με πολλά απόβλητα κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού. Τελευταία περιοχή που επιλέξαμε ήταν το Καρνάγιο, βιομηχανική περιοχή της Λεμεσού.

Χάρτης 1: Περιοχές που επιλέχθηκαν

1.2 Αποτελέσματα

Δείγματα μαζεύτηκαν σε μπουκάλες 3 λίτρων από κάθε περιοχή από τρία διαφορετικά βάθη της θάλασσας. Συγκεκριμένα, από 0cm, αργότερα από 50cm και τέλος από 100cm. Εννέα δείγματα μαζεύτηκαν τελικά από κάθε θαλάσσια περιοχή. Τα δείγματα αυτά υπέστησαν διήθηση χρησιμοποιώντας 110 mm διηθητικό χαρτί (Whatman ®), χωνί και κωνική φιάλη (Hidalgo-Ruz, 2012). Μετέπειτα, με μικροσκοπική παρατήρηση και μελέτη των διηθητικών χαρτιών των δειγμάτων, με τη βοηθεια του light μικροσκοπίου (Microscope Ken-α-vision, Hidalgo-Ruz, 2012) , μικροπλαστικά εντοπίστηκαν στα δείγματα του Καρναγίου.

Γραφική Παράσταση 1

Συμφωνα με μελέτη (Delilah Lithner, 2011) τα πιο συχνα πλαστικά συνθέτονται από Polypropylene (PP), Polyethylene terephthalate (PET), Polyethylene (PE) και Νάιλον. Οι παρατηρήσεις μας διαπίστωσαν ότι το polypropylene (PP) (αριθμός 18) και polyethylene terephthalate (PET) (αριθμός 17) είναι τα πιο συχνά μικροπλαστικά στην υδάτινη περιοχή της πόλης μας (γραφική παράσταση 1)

2 Προτεινόμενη λύση

Προφανές είναι το γεγονός ότι τα μικροπλαστικά μολύνουν το υδάτινο οικοσύστημα της πόλης μας και όπως αναφέραμε αυτά μπορούν να προκαλέσουν σοβαρά περιβαλλοντικά προβλήματα. Μέσα από μελέτη βιβλιογραφίας καταλήξαμε στο ότι η βιοαποικοδόμηση πλαστικών με την βοήθεια μικροοργανισμών και ενζύμων φαινόταν η πιο αποτελεσματική λύση. (Y. Tokiwa et al., 2009).

Δύο από αυτούς τους μικροοργανισμούς είναι ο *Pseudomonas putida* και ο *Phanerochaete chrysosporium* ,αφού θεωρούνται φιλικοί προς το περιβάλλον (Singh Ved Pal et al., 2013).

Για να ελέγξουμε την ικανότητα τους να μειώσουν την μάζα των μικροπλαστικών ακολουθήσαμε την εξής διαδικασία.

2.1 Ανάπτυξη μικροοργανισμών

Προμηθευτήκαμε τους μικροοργανισμούς από το Τεχνολογικό Πανεπιστήμιο Κύπρου και αναπτύχθηκαν σύμφωνα με το προτόκολλο που μας δώθηκε σε τρυβλίο. Δύο είδη πλαστικών,ο PP και ο PET μεταφέρθηκαν στους μικροοργανισμούς.

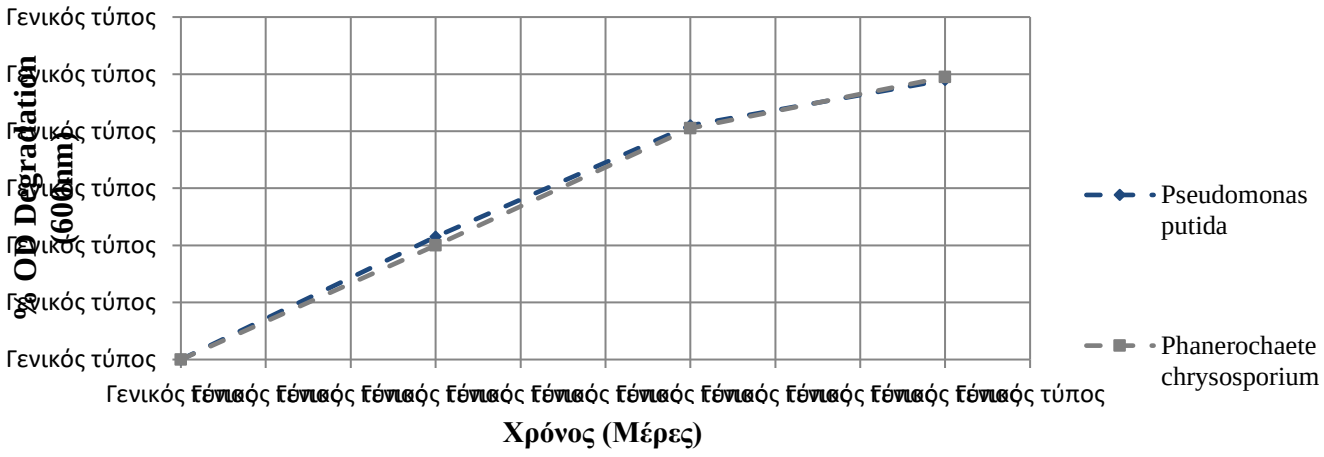
2.2 Διερεύνηση ανάπτυξης μικροοργανισμών με τη βοήθεια φασματοφωτόμετρο

Χρησιμοποιώντας φασματοφωτόμετρο διαπιστώσαμε, σε σταθερά χρονικά διαστήματα, τη συγκέντρωση των μικροοργανισμών σε διαλύματα, με βάση την απορρόφηση του φωτός. Χρησιμοποιήθηκε συγκεκριμένο μήκος κύματος. Έτσι, ελέγξαμε αν οι μικροοργανισμοί ήταν ακόμα ζωντανοί σε χρονικά διαστήματα 30, 60 και 90 ημερών.

Η απορρόφηση του φωτός (A) και η συγκέντρωση των μικροοργανισμών (C /g/L) δίνεται με την ακόλουθη εξίσωση (law of Lambert-Beer):

$$A= abC$$

όπου *a* είναι σταθερός αριθμός που εκφράζει την απορροφητικότητα και *b* η απόσταση που διαγράφτηκε.



Γραφική Παράσταση 2

Από τα αποτελέσματα φάνηκε πως η οπτική πυκνότητα και των δύο μικροοργανισμών μειώθηκε. Αυτό μπορεί να οφείλεται στο ότι κάποιοι από αυτούς τους μικροοργανισμούς δεν μπορούν να επιβιώσουν στο περιβάλλον που τους αναπτύξαμε, με το πλαστικό δηλαδή ως την

μόνη πηγή τροφής. Επίσης οι μικροοργανισμοί μπορεί να είχαν έλλειψη απαραίτητων θρεπτικών ουσιών, όπως οξυγόνο, νάτριο και φώσφορο. Πρέπει επίσης να επισημανθεί, ότι πολλοί από τους οργανισμούς πιθανόν να μην έχουν την δυνατότητα βιοδιάσπασης του πλαστικού.

2.3 Μέτρηση pH

Για την μέτρηση του pH χρησιμοποιήθηκε πεχάμετρο στα διαστήματα 0, 30, 60 και 90 ημέρες. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως το pH παρέμεινε ουδέτερο όπως ήταν και στην αρχή του πειράματος μας. Αυτό παρουσιάζει πως το pH δεν επηρεάζει την ανάπτυξη των μικροοργανισμών.

Μικροοργανισμοί	**Χρόνος (Μέρες)**			
	0	30	60	90
Pseudomonas putida	7.0	7.5	7.5 – 8.0	7.5 – 8.0
Phanerochaete chrysosporium	7.0	7.0	7.0 – 7.5	7. – 7.5

Πίνακας 1: αποτελέσματα pH

2.4 Μέτρηση Μάζας

Για το πείραμα δύο είδη πλαστικών χρησιμοποιήθηκαν, το PET και PP, για να μελετηθεί αν αυτοί οι μικροοργανισμοί μπορούν να βιοαποικοδομίσουν τα πλαστικά. Η μάζα κάθε πλαστικού μετρήθηκε στις 0 και 90 μέρες χρησιμοποιώντας ζυγαριά ακριβείας. Αργότερα το ποσοστό της μάζας που μειώθηκε υπολογίστηκε.

Υπολογίστηκε ότι οι μικροοργανισμοί έχουν περιορισμένη ικανότητα βιοδιάσπασης πλαστικών κάτω από τις συνθήκες που εξετάσαμε. Επιπρόσθετα, παρατηρήθηκε ότι ο *Pseudomonas putida* ήταν πιο αποτελεσματικός στην βιοδιάσπαση του PET ενώ ο *Phanerochaete chrysosporium* ήταν

πιο αποτελεσματικός στη βιοδιάσπαση του PP πλαστικού.

Αν και τα ποσοστά μείωσης μάζας του πλαστικού φαίνονται πολύ μικρά, σύμφωνα με βιβλιογραφία η βιοδιάσπαση αρχίζει μετά τους τρις μήνες (J. P. Harrison et al., 2011) έκθεσης των πλαστικών στους μικροοργανισμούς, έτσι τα αποτελέσματα μας είναι λογικά. Θεωρούμε λοιπόν, ότι με το τέλος της εργασίας μας στις 90 ημέρες, η βιοδιάσπαση των πλαστικών βρίσκεται στην αρχική της φάση.

Πλαστικό	0 Μέρες	90 Μέρες	Μείωση Μάζας %
PP μάζα	0.0594g	0.0572g	3.7
PET μάζα	0.1641g	0.1601g	2.4

Πίνακας 2: Μείωση της μάζας με χρήση *Pseudomonas putida*

Πλαστικό	0 Μέρες	90 Μέρες	Μείωση Μάζας %
PP μάζα	0.0546g	0.0529g	1.8
PET μάζα	0.0605g	0.0585g	2.3

Πίνακας 3: Μείωση της μάζας με χρήση *Phanerochaete chrysosporium*

2.5 DNA Extraction

Το DNA Extraction είναι η αφαίρεση του δεσοξυριβοζικού οξέος από τα κύτταρα στα οποία βρίσκεται.

Για να πραγματοποιηθεί η διαδικασία τα δείγματα τοποθετήθηκαν στο Laminar Flow Cabinet (Flow Fast V Machine) για 15 λεπτά, έτσι ώστε να απομονωθούν τα δείγματα από παθογόνους οργανισμούς που μπορεί να υπάρχουν στην ατμόσφαιρα. Τσιμπίδες χρησιμοποιήθηκαν αργότερα για να αφαιρεθούν τα πλαστικά (Polypropylene και Polyethylene terephthalate) από τα δείγματα με τους οργανισμούς. Τα πλαστικά αυτά, μετέπειτα, ξύστηκαν ελαφρά και προσεχτικά για να αφαιρεθούν τυχόν μικροοργανισμοί που παρέμειναν κολλημένοι στην επιφάνεια των μικροοργανισμών.

Αργότερα, ακολουθήσαμε το πρωτόκολλο για το DNA Extraction, για να απομονώσουμε το DNA από τους μικροοργανισμούς. Για την πραγματοποίηση του πιο πάνω, χρειάστηκε φυγοκέντριση δύο φορές.

Η ένδειξη ng / ul για *Phanerochaetec chrysosporium* και *Pseudomonas putida* δείχνει την παρουσία βιομάζας και έτσι την ανάπτυξη των μικροοργανισμών.

Σύμφωνα με το προτοκολο η συγκέντρωση του DNA στα δείγματα πρέπει να είναι μεγαλύτερη από 10ng / ul για να θεωρηθεί αξιόπιστη. Πράγματι, η συγκέντρωση DNA σε κάποια από τα δείγματα είναι σε αυτό το επίπεδο, γεγονός που δείχνει ότι υπήρξε ανάπτυξη μικροοργανισμών στα δείγματα πλαστικών.

Πρέπει συγκεκριμένα να σημειωθεί ότι ο *Phanerochaete chrysosporium* έδειξε μεγάλη συγκέντρωση, 24.63 ng/ul όταν τοποθετήθηκε με το πλαστικό PET, ενώ ο *Pseudomonas putida*, έδειξε μεγάλη συγκέντρωση, 19.14 ng/ul όταν τοποθετήθηκε με το πλαστικό PP.

Incubation Growth Medium Plastic	**Sample ID**	**DNA concentration ng/ul**	**[1]DNA Purity Absorbance Ratio 260/280**	**[2]DNA Purity Absorbance Ratio 260/230**
GPY*** PP*	*Phanerochaete chrysosporium*	4.01	0.8	-0.78
GPY PET**	*Phanerochaete chrysosporium*	24.63	0.72	-0.72

PY PP	*Pseudomonas putida*	9.14	0.68	-0.72
PY PET	*Pseudomonas putida*	8.5	0.84	-0.74
GPY	*Phanerochaete chrysosporium*	21.56	0.7	-0.73
PY	*Pseudomonas putida*	36.34	0.62	-0.7

Note * Polypropylene

** Polyethylene terephthalate

***Glucose-Peptone-Yeast

**** Peptone Yeast

[1]DNA Purity Absorbance Ratio 260/280 υπολογίστηκε με διαίρεση του 0.79

[2]DNA Purity Absorbance Ratio 260/230 υπολογίστηκε με διαίρεση του 0.95

Πίνακας 7: Αξιολόγηση ύπαρξης συγκέντρωσης DNA του *Phanerochaete chrysosporium* και *Pseudomonas putida* χρησιμοποιώντας NanoDrop 1000 spectrophotometer.

3 Συμπεράσματα

Μέσα από τη μελέτη μας καταφέραμε επιτυχώς να απαντήσουμε τα ερευνητικά ερωτήματα τα οποία θέσαμε αρχικά, καταλήγοντας λοιπόν στα πιο κάτω συμπεράσματα:

1. Υπάρχουν μικροπλαστικά στις θαλάσσιες περιοχές της πόλης μας.
2. Η μάζα των πλαστικών μπορεί να μειωθεί αισθητά με τη χρήση μικροοργανισμών όπως ο *Phanerochaete chrysosporium* και *Pseudomonas putida,* αφού έχουν την δυνατότητα βιοδιάσπασης των πλαστικών. Μέσα από τις πειραματικές μας μελέτες αποδείξαμε μείωση μάζας των πλαστικών εώς και 3.7% και ανάπτυξη-πολλαπλασιασμός των δύο αυτών μικροοργανισμών.

4 Περιορισμοί

Παρά το γεγονός της ομαλής διεξαγωγής της έρευνας μας συναντήσαμε κάποιες δυσκολίες και περιορισμούς. Σημαντικότερος περιορισμός για εμάς ήταν το σύντομο χρονικό διάστημα που είχαμε για διεξαγωγή της έρευνας. Η έρευνα μας κράτησε 90 μέρες, πράγμα που οδήγησε σε μικρό ποσοστό μείωσης της μάζας των πλαστικών, αφού όπως αναφέρθηκε πιο πάνω η βιοδιάσπαση αρχίζει μετά τους 3 μήνες και έτσι η βιοδιάσπαση στη μελέτη μας ήταν ακόμη σε αρχικό στάδιο. Ακόμη, πρέπει να αναφερθεί ότι οι δύο μικροοργανισμοί που μελετήσαμε και αναπτύξαμε είναι οργανισμοί του γλυκού νερού. Δεν μπορούν, συμπερασματικά να χρησιμοποιηθούν στην μείωση των πλαστικών στο αλμυρό νερό.

5 Προεκτάσεις και Προοπτικές

Όραμα μας είναι η περεταίρω μελέτη των ιδιοτήτων και της αποτελεσματικότητας αυτών των οργανισμών, έτσι ώστε να πετύχουμε την εδραίωση ενός πλάνου που αφορά την ανάπτυξη και ενσωμάτωση τους σε μεγάλο φάσμα σε υδάτινες περιοχές. Αναμφίβολα, περισσότερα πειράματα με τους οργανισμούς *Phanerochaete chrysosporium* και *Pseudomonas putida* είναι αναγκαία για καλύτερη κατανόηση των οργανισμών και της λειτουργικότητας τους. Η εγκατάσταση των μικροοργανισμών σε υδάτινα περιβάλλοντα όπου υπάρχουν πλαστικά και

μικροοπλαστικά και θα μειώνουν αποτελεσματικά τη μάζα τους θα ήταν το ιδανικό αποτέλεσμα της μελέτης μας.

Βιβλιογραφία

[1] A Lusher et al., 2015, Marine anthropogenic litter

[2] Andrés Cózara, Fidel Echevarríaa, J. Ignacio González-Gordilloa, Xabier Irigoien, Bárbara Úbedaa, Santiago Hernández-León, Álvaro T. Palma, Sandra Navarro, Juan García-de-Lomasa, Andrea Ruiz, María L. Fernández-de-Puelles, and Carlos M. Duarte et al.,' 2014, *PNAS*, vol. 111, no. 28, 10239–10244

[3] Anthony L. Andrady et al., 2011, Microplastics in the marine environment, *Marine Pollution Bulletin,* vol. 62, 1596–1605

[4] Athanasios Valavanidis et al., 2014, Microplastics In The Marine Environment: Ubiquitous And Persistent Pollution Problem In The World Oceans Threatening Marine Biota. National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece

[5] Browne MA, Dissanayake A, Galloway TS, Lowe DM, Thompson RC et al., 2008 Ingested microscopic plastic translocates to the circulatory system of the mussel, Mytilus edulis (L). *Environ Science Technology*, vol. 42, issue:13, 5026-31.

[6] Jesse P. Harrison, Melanie Sapp, A. Mark Osborn et al., 2011, Interactions Between Microorganisms And Marine Microplastics: A Call For Research, *Marine Technology Society Journal*, Vol. 45, Number 2

[7] Juliana A. Ivar do Sul, Monica F. Costa et al., 2013, The present and future of microplastic pollution in the marine environment, *Environmental Pollution*,

Krueger MC, Harms H, Schlosser D et al., 2015, Prospects for microbiological solutions to environmental pollution with plastics, *Applied Microbiology and Biotechnology,* vol.99, issue: 21, 8857-74

[8] Nika Lovšin, Marilyne Pflieger et al., 2015, The International Summer School "Plastic Marine Litter, University of Nova Gorica, Slovenia

[9] Marcus Eriksen, Laurent C. M. Lebreton, Henry S. Carson, Martin Thiel,Mark Anthony Browne, Phillip Crump, Stewart J. Niven, Emma Teuten, Andrew Tonkin, Tamara Galloway and Richard Thompson et al., 2011, Accumulation of Microplastic on Shorelines Woldwide, *Environmetal Sciences and Technology* , vol.45, 9175–9179

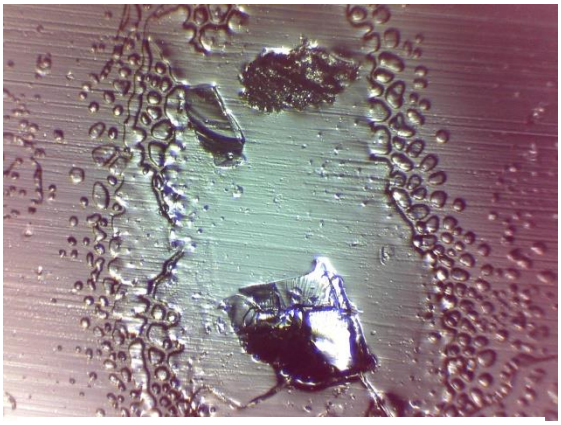
[10] Singh Ved Pal, Kumar Rajesh, Singh Ishwar and Srivastava Shikha et al., 2013, Microsome Technology As A Potential Bioremediation Option For Health And Environmental Protection, *Journal of Environmental Research And Development* ,vol. 8.

[11] Mark Anthony Browne, Phillip Crump Stewart J. Niven, Emma Teuten, Andrew Tonkin, Tamara Galloway, and Richard Thompson et al., 2011, Accumulation of Microplastic on Shorelines Woldwide: Sources and Sinks, *Environmental Science Technology,* vol.45, 9175–9179

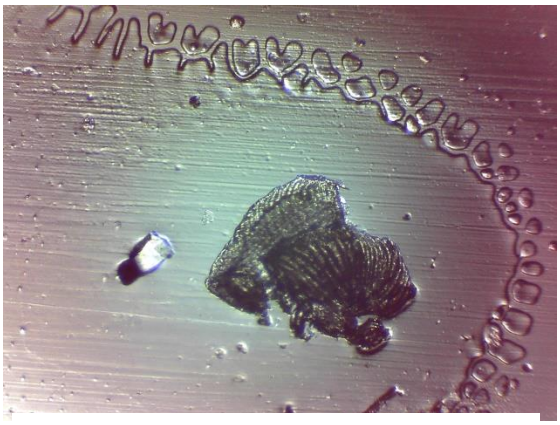
[12] Stephanie L. Wright, Richard C. Thompson, Tamara S. Galloway et al., 2013, The physical impacts of microplastics on marine organisms: A review, *Environmental Pollution*, vol.178, 483–492

www.thermonicolet.com

Παράρτημα

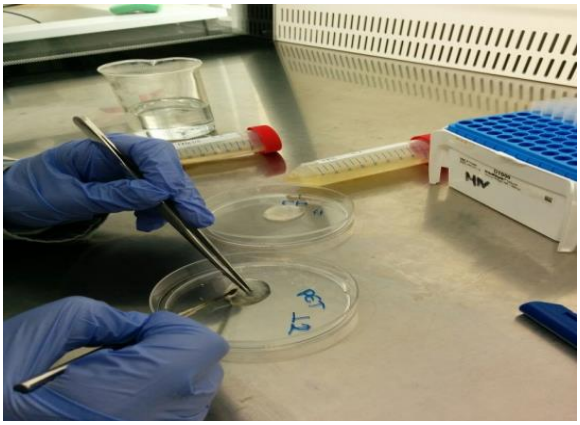


Δείγμα Μικροπλαστικών



Δείγμα Μικροπλαστικών

Μικροσκόπιο Ken-α-vision



Καθαρισμός πλαστικών από το τρυβλίο πριν το DNA Extraction