



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΕΝΖΥΜΩΝ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗ ΠΛΑΣΤΙΚΩΝ

ENZYME DEVELOPMENT FOR THE DEGRADATION OF PLASTICS

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ ΦΟΙΤΗΤΗ: ΜΥΡΤΩ ΜΕΝΕΓΗ

ΑΜ: 2819116

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΓΟΥΛΑΣ ΘΕΟΔΩΡΟΣ

ΚΑΡΔΙΤΣΑ 2024

Περίληψη

Τα τελευταία 150 χρόνια, έχουν αναπτυχθεί πλαστικά πολυμερή με διαφορετικές ιδιότητες για να αντικαταστήσουν υλικά όπως το ξύλο, το γυαλί και τα μέταλλα σε διάφορες εφαρμογές. Αν και η ανθεκτικότητά τους και η αντοχή τους τα καθιστούν επιθυμητά για καθημερινή χρήση, οι επιπτώσεις τους στη βιωσιμότητα του πλανήτη είναι ανησυχητικές. Τα πλαστικά είναι μη βιοδιασπώμενα, και αυτό έχει οδηγήσει σε εκθετική αύξηση των πλαστικών αποβλήτων, αναγνωρίζοντάς τα ως παγκόσμια περιβαλλοντική απειλή. Οι επιπτώσεις των πλαστικών αποβλήτων στη ζωή στη γη είναι πολλαπλές, συμπεριλαμβανομένης της συσσώρευσής τους σε χώρους υγειονομικής ταφής, της διαρροής τους στο έδαφος, και της εκπομπής αερίων θερμοκηπίου. Ειδικά σε μικροπλαστική μορφή, παρεμβαίνουν στη χημική αλληλεπίδραση θαλάσσιων οργανισμών, προκαλώντας τοξικότητα και απορροφώντας ρύπους. Οι υπάρχουσες μέθοδοι διαχείρισης αποβλήτων είναι δαπανηρές και μη βιώσιμες, επομένως η εστίαση έχει μετατοπιστεί στη δυνατότητα των βιολογικών συστημάτων να αποικοδομήσουν τα πλαστικά. Μικροοργανισμοί όπως έντομα, βακτήρια και μύκητες έχουν αποδειχθεί ότι αποικοδομούν τα πολυμερή, μετατρέποντάς τα σε φιλικές προς το περιβάλλον ενώσεις άνθρακα. Η παρακάτω διπλωματική εργασία αναδεικνύει τους πολύπλευρους ρόλους των μικροοργανισμών και των ενζύμων τους σε αυτή τη διαδικασία, αναθεωρώντας την κατανόησή μας για τον τρόπο δράσης τους και τους ενζυματικούς μηχανισμούς που χρησιμοποιούν, καθώς και τις μελλοντικές προοπτικές που μπορούν να αναδειχθούν μέσα από την περαιτέρω έρευνά τους.

Abstract

Over the past 150 years, plastic polymers with different properties have been developed to replace materials such as wood, glass and metals in various applications. Although their durability and strength make them desirable for everyday use, their impact on the sustainability of the planet is worrying. Plastics are non-biodegradable, and this has led to an exponential increase in plastic waste, recognizing it as a global environmental threat. The effects of plastic waste on life on earth are manifold, including its accumulation in landfills, its leaching into the soil, and the emission of greenhouse gases. Especially in microplastic form, they interfere with the chemical interaction of marine organisms, causing toxicity and absorbing pollutants. Existing waste management methods are expensive and unsustainable, so the focus has shifted to the ability of biological systems to degrade plastics. Microorganisms such as insects, bacteria and fungi have been shown to degrade polymers, turning them into environmentally friendly carbon compounds. The following thesis highlights the multifaceted roles of microorganisms and their enzymes in this process, revising our understanding of their mode of action and enzymatic mechanisms, as well as the future perspectives that can emerge from their further research.

Περιεχόμενα

Περίληψη.....	2
Absract	3
1. Εισαγωγή	5
2. Τύποι πλαστικών, ιδιότητες και εφαρμογές	6
3. Μικροβιακή αποικοδόμηση συνθετικών πλαστικών	10
3.1 Ακτινομύκητες	11
3.2 Φύκια	12
3.3 Βακτήρια.....	14
3.4 Μύκητες.....	16
3.5 Ακραιόφιλα	19
3.6 Μικροβιώματα σαν πιθανή πηγή μικροοργανισμών για διάσπαση πλαστικών.....	23
4. Ένζυμα που εμπλέκονται στην πλαστική βιοαποικοδόμηση.....	24
4.1 Ένζυμα αποικοδόμησης πολυαιθυλενίου (PE)	24
4.2 Ένζυμα αποικοδόμησης πολυουρεθάνης (PU).....	25
4.3 Τα τερεφθαλικά ένζυμα αποικοδόμησης του πολυαιθυλενίου (PET)	26
4.4 Ένζυμα αποικοδόμησης πολυστυρενίου (PS)	27
4.5 Ένζυμα αποικοδόμησης νάιλον (PA).....	27
5. Μικροβιακοί μηχανισμοί αποικοδόμησης πλαστικών	28
5.1 Βιοφθορά	29
5.2 Βιοθραυσματισμός	30
5.3 Αφομοίωση	31
5.4 Μετατροπή σε ανόργανες ενώσεις.....	31
6. Παράγοντες που επηρεάζουν τη μικροβιακή βιοαποικοδόμηση των πλαστικών	32
6.1 Χαρακτηριστικά πολυμερών	33
6.2 Περιβαλλοντικοί παράγοντες.....	33
6.3 Χημικά αντιδραστήρια και πρόσθετα	34
7. Ανάπτυξη νέων ενζύμων για τη βιοαποικοδόμηση PET.....	35
7.1 Ανακάλυψη νέων ενζύμων	36
7.2 Ανάπτυξη ενζύμων με μεθόδους Μοριακής Βιολογίας	37
7.3 Ανάπτυξη ενζύμων με τη βοήθεια της Βιοπληροφορικής.....	39
8. Συμπέρασμα και μελλοντικές προοπτικές	41
Βιβλιογραφία	42

Εισαγωγή

Τις τελευταίες δεκαετίες, η πολυάριθμη χρήση των πλαστικών έχει φέρει επανάσταση σε διάφορες βιομηχανίες, από τη συσκευασία και τις κατασκευές μέχρι την υγειονομική περίθαλψη και τα ηλεκτρονικά είδη. Ωστόσο, η εκθετική αύξηση της παραγωγής πλαστικών έχει δημιουργήσει ένα σημαντικό περιβαλλοντικό δίλημμα: την πλαστική ρύπανση. Τα πλαστικά, λόγω της αντοχής τους και της αντοχής τους στην υποβάθμιση, παραμένουν στο περιβάλλον για εκατοντάδες, αν όχι χιλιάδες χρόνια. Ως αποτέλεσμα, συσσωρεύονται σε ωκεανούς, ποτάμια και χωματερές, θέτοντας σοβαρές απειλές για τα οικοσυστήματα, την άγρια ζωή και την ανθρώπινη υγεία.

Ορισμένα πλαστικά διασπώνται με την πάροδο του χρόνου, δεν βιοδιασπώνται όμως με τον ίδιο τρόπο όπως τα οργανικά υλικά. Αντίθετα, κατακερματίζονται σε μικρότερα κομμάτια γνωστά ως μικροπλαστικά, τα οποία διεισδύουν όλο και περισσότερο στα οικοσυστήματα και εισέρχονται στην τροφική αλυσίδα. Επιπλέον, οι συμβατικές διαδικασίες αποδόμησης πλαστικών, όπως η φωτοαποικοδόμηση και ο θραυματισμός, απελευθερώνουν επιβλαβείς χημικές ουσίες και αέρια θερμοκηπίου, συμβάλλοντας περαιτέρω στην υποβάθμιση του περιβάλλοντος και στην κλιματική αλλαγή. Μια σημαντική πρόκληση για την αντιμετώπιση του προβλήματος της αποδόμησης των πλαστικών έγκειται στους διαφορετικούς τύπους πλαστικών και στις ποικίλες διεργασίες αποδόμησής τους. Τα πλαστικά περιλαμβάνουν ένα ευρύ φάσμα υλικών, από πολυαιθυλένιο και πολυπροπυλένιο έως πολυστυρένιο και χλωριούχο πολυβινύλιο, το καθένα με τη μοναδική του χημική σύνθεση και φυσικές ιδιότητες. Κατά συνέπεια, οι μηχανισμοί και τα ποσοστά αποδόμησης διαφέρουν σημαντικά μεταξύ των διαφορετικών τύπων πλαστικών, καθιστώντας δύσκολη την ανάπτυξη καθολικών λύσεων. Επιπλέον, περιβαλλοντικοί παράγοντες όπως η θερμοκρασία, η υγρασία και η έκθεση στην υπεριώδη ακτινοβολία μπορούν να επηρεάσουν τη διαδικασία αποδόμησης, περιπλέκοντας περαιτέρω τις προσπάθειες πρόβλεψης και διαχείρισης της αποδόμησης των πλαστικών σε φυσικά περιβάλλοντα.

Καθώς ο κόσμος παλεύει με τις συνέπειες της πλαστικής ρύπανσης, υπάρχει μια αυξανόμενη επείγουσα ανάγκη να αντιμετωπιστεί το ζήτημα της υποβάθμισης των πλαστικών. Η εύρεση βιώσιμων λύσεων για την ενίσχυση της υποβάθμισης των πλαστικών χωρίς να διακυβεύονται οι ευεργετικές τους ιδιότητες είναι πρωταρχικής σημασίας. Επιστήμονες, μηχανικοί και βιομηχανίες διερευνούν διάφορες προσεγγίσεις, συμπεριλαμβανομένων των βιοαποδομήσιμων πλαστικών, τεχνολογιών ανακύκλωσης και στρατηγικών διαχείρισης απορριμμάτων, για να μετριάσουν τις περιβαλλοντικές επιπτώσεις των πλαστικών και να προωθήσουν μια κυκλική οικονομία.

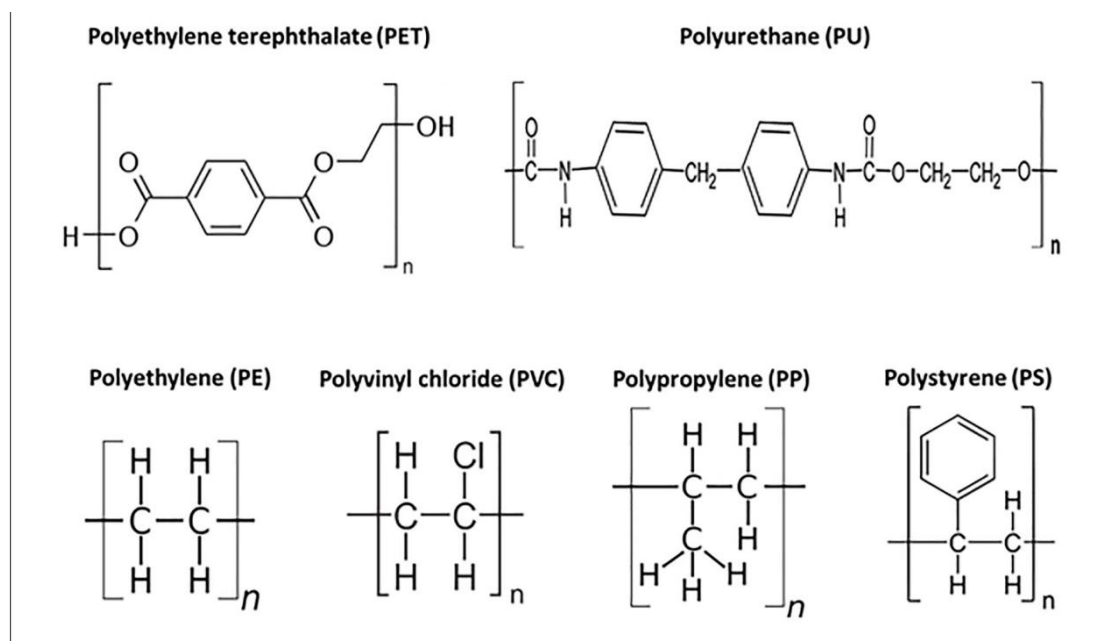
Σε αυτό το πρόβλημα έρχονται να δώσουν λύση οι επιστήμονες, μελετώντας και προσπαθώντας να βρουν μικροοργανισμούς, βακτήρια, μύκητες, αλλά και μικροβιώματα, οι οποίοι μπορούν να μας δώσουν ένζυμα που να αυξάνουν την ταχύτητα βιοαποικοδόμησης των πλαστικών.

2. Τύποι πλαστικών, ιδιότητες και εφαρμογές

Η εποχή των πλαστικών ξεκίνησε το 1869, όταν ο John Hyatt ανακάλυψε το κυτταρινοειδές, το πρώτο πλαστικό πολυμερές, με τη χρήση νιτρικής κυτταρίνης και καμφοράς υπό ήπιες συνθήκες θερμοκρασίας και πίεσης, καθώς αναζητούσε αντικαταστάτη για το ελεφαντόδοντο. Από τότε, η ανάπτυξη αυτού του υλικού οδήγησε στη δημιουργία διαφορετικών πλαστικών πολυμερών, ενισχύοντας την επιστήμη των υλικών και ξεπερνώντας τα όρια των παραδοσιακών υλικών όπως το ξύλο, το γυαλί, το μαλλί και το βαμβάκι. Το μέγεθος της παγκόσμιας αγοράς πλαστικών ανήλθε σε 568,9 δισεκατομμύρια δολάρια ΗΠΑ το 2019, με αναμενόμενη αύξηση σε σύνθετο ετήσιο ρυθμό ανάπτυξης (CAGR) 3,2% από το 2020 έως το 2027. (Amobonye et al., 2021)

Τα πλαστικά αποτελούνται από μια μεγάλη ποικιλία πολυμερών ουσιών μακράς αλυσίδας, που προέρχονται από διάφορες πηγές όπως ο άνθρακας, το πετρέλαιο και το φυσικό αέριο, με ποικίλες εφαρμογές στην καθημερινή ζωή και τη βιομηχανία. Η σύνθεσή τους περιλαμβάνει κυρίως δύο μονοπάτια αντίδρασης. Η πιο συνηθισμένη μέθοδος περιλαμβάνει τον πολυμερισμό προσθήκης διπλών δεσμών άνθρακα στην αρχική ολεφίνη, δημιουργώντας έτσι νέους δεσμούς C-C και τις πολυμερείς αλυσίδες του άνθρακα. Η άλλη διαδικασία είναι μια αντίδραση συμπύκνωσης μεταξύ ενός καρβοξυλικού οξέος και μιας ομάδας αλκοόλης/αμίνης για να σχηματίσουν είτε ένα πολυαμίδιο είτε έναν πολυεστέρα. Αυτή η δεύτερη αντίδραση αποτελεί τη βάση για την παραγωγή πολυουρεθάνης, η οποία παράγεται από τη συμπύκνωση μορίων ισοκυανικού και πολυόλης. (Amobonye et al., 2021)

Τα συνθετικά πλαστικά συνήθως χωρίζονται σε δύο κύριες κατηγορίες, τα θερμοπλαστικά και τα θερμοσκληρυνόμενα, με βάση τις θερμικές τους ιδιότητες. Τα θερμοπλαστικά είναι πλαστικά πολυμερή που διατηρούν τη χημική τους σύνθεση κατά την ανάθερμανση και επομένως μπορούν να διαμορφωθούν μετά την τήξη. Αυτά περιλαμβάνουν το ακρυλονιτρίλιο βουταδιένιο στυρόλιο (ABS), το πολυαμίδιο, το πολυαιθυλένιο (PE), το πολυϊμίδιο (PI), το μεθακρυλικό πολυμεθύλιο (PMMA), το πολυπροπυλένιο (PP), το πολυστυρένιο (PS), το πολυτετραφθοροαιθυλένιο (PFE), το πολυβινυλοχλωρίδιο (PVC) και το χλωριούχο πολυβινυλιδένιο (PVDC). Η σκληρότητα και η ανθεκτικότητα των θερμοπλαστικών οφείλεται στην ανθεκτική ραχοκοκαλιά τους, η οποία αντέχει στην υποβάθμιση και την υδρολυτική διάσπαση. Αντίθετα, τα θερμοσκληρυνόμενα δεν μπορούν να τροποποιηθούν με τήξη, καθώς οι χημικές αλλαγές που προκύπτουν από τη θερμότητα είναι μη αναστρέψιμες. Επιπλέον, η ραχοκοκαλιά των θερμοσκληρυνόμενων είναι ετεροατομική και εξαιρετικά διασυνδεδεμένη, καθιστώντας τα πιο ευάλωτα στην υδρολυτική διάσπαση. Κοινά θερμοσκληρυνόμενα υλικά περιλαμβάνουν ακρυλικές ρητίνες, εποξειδικές ρητίνες, πολυεστέρες, τερεφθαλικό πολυαιθυλένιο (PET), πολυουρεθάνες (PU), ρητίνες σιλικόνης και βινυλίου. (Danso et al., 2019)



Εικόνα 1: Δομές μεγάλων εμπορικών συνθετικών πολυμερών (Mohanan et al., 2020)

Πολυμερές	Πυκνότητα (g/L)	Κρυσταλλότητα (%)	Χρόνος Ζωής (χρόνια)
PET	1.35	0.50	450
LDPE	0.91-0.93	50	10-600
HDPE	0.94-0.97	70	>600
PS	1.03-1.09	0	50-80
PP	0.90-0.91	50	10-600
PVC	1.35-1.45	0	50-150

Πίνακας 1: Επιλεγμένες ιδιότητες κύριων συνθετικών θερμοπλαστικών πολυμερών (Mohanan et al., 2020)

Τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα πλαστικά είναι τα PE, PET, τερεφθαλικό πολυβουτυλένιο (PBT), νάιλον, PP, PS, PVC και πολυουρεθάνη (PUR), με τα PE και PP να αντιπροσωπεύουν περισσότερο από το 50% της συνολικής παραγωγής.

Από τη δεκαετία του 1950, τα συνθετικά πλαστικά, συμπεριλαμβανομένου του τερεφθαλικού πολυαιθυλενίου (PET), του πολυαιθυλενίου (PE), της πολυουρεθάνης (PU), του πολυστυρολίου (PS), του πολυπροπυλενίου (PP) και του πολυβινυλοχλωριδίου (PVC) έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως και σε μεγάλο βαθμό σε συσκευασίες και οικοδομικά υλικά, καταναλωτικά αγαθά, ρούχα, ηλεκτρικά μέρη, γεωργικές μεμβράνες εδαφοκάλυψης λόγω της ανθεκτικότητας, της αδράνειας και του χαμηλού κόστους τους. Τα πλαστικά είναι υλικά με

μια ευρεία γκάμα ιδιοτήτων, οι οποίες ποικίλλουν ανάλογα με τον τύπο του πλαστικού και τη δομή του. Ορισμένες από τις κύριες ιδιότητες των πλαστικών περιλαμβάνουν:

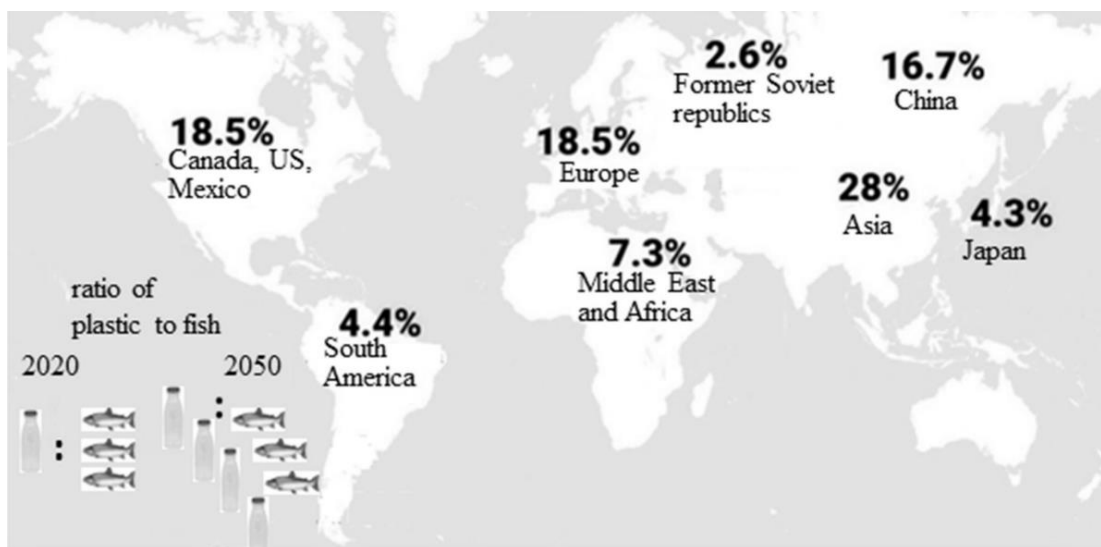
- Ελαστικότητα και ευελιξία: Τα πλαστικά μπορούν να είναι εύκαμπτα και να επιστρέφουν στο αρχικό τους σχήμα μετά από παραμόρφωση.
- Ανθεκτικότητα: Ορισμένα πλαστικά είναι ανθεκτικά σε κρούσεις και διάβρωση από τα στοιχεία.
- Θερμικές ιδιότητες: Τα πλαστικά μπορούν να αντέχουν σε ένα ευρύ εύρος θερμοκρασιών, ανάλογα με τον τύπο τους.
- Ηλεκτρική μόνωση: Πολλά πλαστικά είναι καλοί μονωτές του ηλεκτρικού ρεύματος και μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε ηλεκτρικές εφαρμογές.
- Χημική αντοχή: Ορισμένα πλαστικά μπορούν να αντέχουν σε διάφορες χημικές ουσίες και διαλύματα χωρίς να υποστούν αλλοίωση.
- Ανακυκλώσιμα: Πολλά πλαστικά είναι ανακυκλώσιμα, επιτρέποντας την επαναχρησιμοποίησή τους και τη μείωση των απορριμμάτων. (Mohan et al., 2020)

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται τα κύρια πολυμερή πλαστικά και μερικές από τις ιδιότητές τους ως προς την θερμοκρασία της κρυσταλλικής τήξης (T_m), την θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης (T_g) και το ποσοστό κρυσταλλότητας (X_c):

<i>Τύποι Πλαστικών</i>	<i>T_m ($^{\circ}C$)</i>	<i>T_g ($^{\circ}C$)</i>	<i>X_c (%)</i>
<i>Νάιλον</i>	220-280	160-220	20-35
<i>Πολυαιθυλένιο (PE)</i>	160-300	-120	45-90
<i>Τερεφθαλικό πολυαιθυλένιο (PET)</i>	260	80	40-60
<i>Πολυαμίδιο</i>	200-400	300-400	47.21
<i>Πολυπροπυλένιο (PP)</i>	130	-10-18	40-60
<i>Πολυστυρένιο (PS)</i>	240	63-112	Χαμηλό
<i>Πολ्यουρεθάνη (PU)</i>	-55-100	-75-50	Χαμηλό

Πίνακας 2: Ιδιότητες μερικών πλαστικών πολυμερών (Amobonye et al., 2021)

Σύμφωνα με τα πιο πρόσφατα στοιχεία από την έκθεση της *Plastics Europe*, η καθημερινή χρήση πλαστικού έχει εκθετικά αυξηθεί, φτάνοντας περίπου τα 350 εκατομμύρια τόνους το 2019. Ωστόσο, το 2020 καταγράφηκε ξαφνική πτώση της τάσης αύξησης κατά 8,5% λόγω της πανδημίας COVID-19. Σύμφωνα με την Εικόνα 2 οι παραγωγοί πλαστικών είναι κατανεμημένοι παγκοσμίως, με τη μεγαλύτερη συνεισφορά να προέρχεται από την Ασία, την Ευρώπη και τη Βόρεια Αμερική. Τα πιο διαδεδομένα πολυμερή υλικά που χρησιμοποιούνται ευρέως περιλαμβάνουν το πολυαιθυλένιο (PE), το πολυπροπυλένιο (PP), το πολυστυρένιο (PS), το πολυβινυλοχλωρίδιο (PVC), την πολυουρεθάνη (PUR), το πολύ (τερεφθαλικό αιθυλένιο) (PET), το πολύ (τερεφθαλικό βουτυλένιο) (PBT), και τα νάιλον. Αυτή τη στιγμή, περισσότερες από 5.300 ποικιλίες παράγονται για εμπορική χρήση, με μια πληθώρα χημικών προσθέτων όπως πλαστικοποιητές, χρωστικές ουσίες, σταθεροποιητές, επιφανειοδραστικές ουσίες και ανόργανους φορείς. Τα πλαστικά είναι αναπόσπαστο μέρος πολλών βιομηχανιών όπως οι βιομηχανίες τροφίμων και συσκευασίας, των φαρμάκων, της γεωργίας, των καλλυντικών, των απορρυπαντικών και των χημικών ουσιών, μεταξύ άλλων. Επιπλέον, τα συνθετικά πλαστικά έχουν κατακτήσει σημαντική θέση στον τομέα της συσκευασίας, ως εναλλακτικά υλικά συσκευασίας που βασίζονται σε κυτταρίνη, αντιπροσωπεύοντας περίπου το 40% της παραγωγής πλαστικών στην Ευρώπη. (Atanasova et al., 2021)



Εικόνα 2: Παγκόσμια διανομή παραγωγών πλαστικών (Atanasova et al., 2021)

Οι χρήσεις των πλαστικών είναι πολλαπλές και ποικίλες, καθώς αυτά τα υλικά έχουν ευρεία εφαρμογή σε πολλούς τομείς της καθημερινής ζωής και της βιομηχανίας. Μερικές από τις κύριες χρήσεις των πλαστικών περιλαμβάνουν:

1. **Συσκευασία:** Τα πλαστικά χρησιμοποιούνται ευρέως για την κατασκευή συσκευασιών για τρόφιμα, ποτά, φαρμακευτικά προϊόντα και άλλα είδη κατανάλωσης, λόγω της αντοχής τους, της ανακυκλωσιμότητάς τους και της δυνατότητας διαμόρφωσης σε διάφορα σχήματα και μεγέθη.

2. Βιομηχανία: Τα πλαστικά χρησιμοποιούνται σε μεγάλη κλίμακα στη βιομηχανία για την κατασκευή ανταλλακτικών αυτοκινήτων, εξοπλισμού ηλεκτρονικών συσκευών, σωλήνων, καλωδίων, εργαλείων και πολλών άλλων εφαρμογών λόγω της ανθεκτικότητάς τους, του χαμηλού κόστους και της εύκολης επεξεργασίας τους.
3. Υγειονομική περίθαλψη: Πλαστικά υλικά χρησιμοποιούνται στην υγειονομική περίθαλψη για την κατασκευή ιατρικών εξοπλισμών και συσκευασίας φαρμάκων λόγω της αντοχής τους στις διάφορες συνθήκες συντήρησης και χρήσης.
4. Κατασκευές: Πλαστικά υλικά χρησιμοποιούνται στην κατασκευή κτιρίων, γεφυρών, δρόμων, σωληνώσεων, συσκευών και άλλων κατασκευαστικών έργων λόγω της ανθεκτικότητάς τους και της ελαφρότητάς τους.
5. Αυτοκινητοβιομηχανία: Τα πλαστικά υλικά χρησιμοποιούνται ευρέως στην κατασκευή αυτοκινήτων για την παραγωγή εξαρτημάτων εσωτερικής και εξωτερικής χρήσης, καθώς και για τη μείωση του βάρους και τη βελτίωση της κατανάλωσης καυσίμου.

Αυτές είναι μόνο μερικές από τις πολλές χρήσεις των πλαστικών στην καθημερινή ζωή και τη βιομηχανία, και η λίστα συνεχώς επεκτείνεται με την ανάπτυξη νέων υλικών και τεχνολογιών.

3. Μικροβιακή αποικοδόμηση συνθετικών πλαστικών

Η μόλυνση από πλαστικά αποτελεί έναν από τους σοβαρότερους περιβαλλοντικούς προβληματισμούς των τελευταίων δεκαετιών. Τα πλαστικά απορρίμματα έχουν μετατραπεί σε μια παγκόσμια επιδημία, καθώς καταλήγουν σε πολλά μέρη του πλανήτη, συμπεριλαμβανομένων των ωκεανών, των εδαφών, αλλά και του αέρα που αναπνέουμε. Με το 20-30% των αστικών στερεών αποβλήτων να αποτελείται από πλαστικά, η φύση κινδυνεύει σοβαρά. Μόνο το 10% αυτών ανακυκλώνεται, ενώ το υπόλοιπο καταλήγει σε χώρους υγειονομικής ταφής ή διαφεύγει εντελώς από τα συστήματα συλλογής.

Η ανάπτυξη αυτής της πλαστικής ρύπανσης οφείλεται σε πολλούς παράγοντες, συμπεριλαμβανομένης της παράνομης απόρριψης και της ανεπαρκούς ανακύκλωσης. Επιπλέον, η κακή διαχείριση και μεταφορά των αποβλήτων συμβάλλει στη συσσώρευσή τους στο περιβάλλον. Αυτή η μόλυνση έχει επιζήμιες επιπτώσεις σε οικοσυστήματα, εδάφη, αλλά και στην υγεία των ανθρώπων και των ζώων.

Οι συνέπειες της πλαστικής μόλυνσης είναι ιδιαίτερα επιζήμιες για το περιβάλλον και τα οικοσυστήματα. Τα πλαστικά απόβλητα διασπώνται σε μικρότερα κομμάτια, γνωστά ως μικροπλαστικά, τα οποία μπορούν να εισχωρήσουν στην τροφική αλυσίδα και να προκαλέσουν ζημιές στα θαλάσσια είδη και τα άγρια ζώα. Επιπλέον, η αποσύνθεση των πλαστικών υλικών είναι μία αργή και δύσκολη διαδικασία, με τη μεγάλη πλειονότητα των πλαστικών αντικειμένων να παραμένουν στο περιβάλλον για πολλές δεκαετίες, εάν όχι αιώνες, καταστρέφοντας το φυσικό περιβάλλον και τη βιοποικιλότητα.

Η αυξανόμενη κοινωνική ευαισθητοποίηση έχει οδηγήσει σε μεγαλύτερες προσπάθειες για ανακύκλωση, αλλά η παραγωγή πλαστικών συνεχίζεται ανεξέλεγκτα. Παρόλο που η ανακύκλωση αυξήθηκε κατά 92% από το 2006, εξακολουθεί να είναι ανεπαρκής για την αντιμετώπιση του προβλήματος, καθώς η παραγωγή πλαστικών συνεχίζεται να αυξάνεται σε ετήσια βάση.

Για να αντιμετωπιστεί αυτή η πρόκληση, είναι αναγκαίο να ληφθούν αποτελεσματικά μέτρα για τη μείωση της κατανάλωσης πλαστικών, την προώθηση της ανακύκλωσης και την ανάπτυξη βιώσιμων εναλλακτικών υλικών. Έτσι μπορεί να επιτευχθεί η προστασία του περιβάλλοντος και η διασφάλιση ενός βιώσιμου μέλλοντος για τις επόμενες γενιές.

Οι ερευνητές έχουν ανακαλύψει ότι τα μικρόβια παίζουν σημαντικό ρόλο στην πρόληψη της συσσώρευσης διάφορων οργανικών και ανόργανων ενώσεων στο περιβάλλον και ως εκ τούτου είναι σημαντικό να κατανοήσουμε τους ρόλους τους στη μετατροπή ξενοβιοτικών ενώσεων όπως τα πλαστικά πολυμερή. Η αποικοδόμηση των συνθετικών πλαστικών συνδέεται κυρίως με τη δραστηριότητα διαφορετικών μικροβιακών κοινοτήτων. Αυτές οι κοινότητες έχουν αναγνωριστεί ως πιθανοί αποικοδομητές των ξενοβιοτικών λόγω της ικανότητάς τους να προσαρμόζονται και να χρησιμοποιούν αυτές τις χημικές ουσίες ως πηγές ανάπτυξης και ενέργειας. Έχουν μελετηθεί πρόσφατα διάφοροι ακτινομύκητες, φύκια, βακτήρια, μύκητες, εξτρεμόφιλα, καθώς και μικροβιώματα, τα οποία χρησιμοποιούν τα ενζυματικά τους συστήματα για να αποικοδομήσουν τα πολυμερή σε ενδιάμεσα προϊόντα τα οποία μπορούν να καταναλωθούν και να μεταβολιστούν για τις ενεργειακές τους ανάγκες. (Alshehrei, F., 2017)

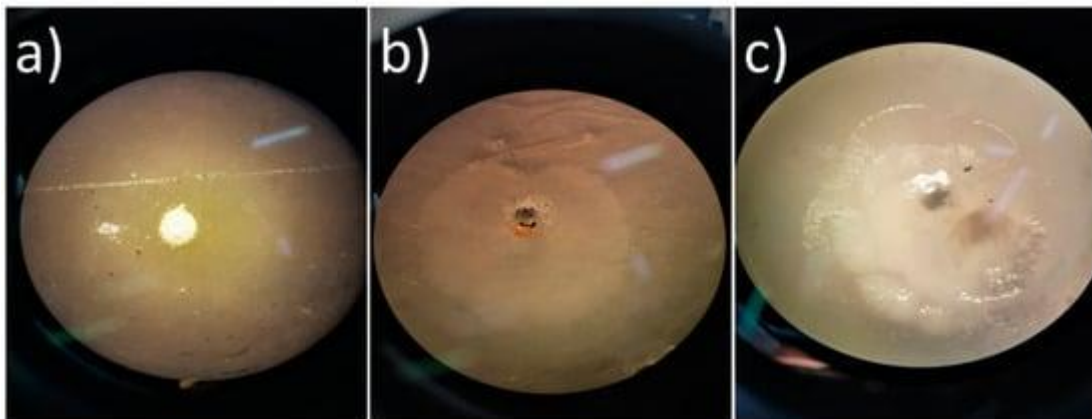
3.1 Ακτινομύκητες

Οι ακτινομύκητες είναι προκαρυωτικοί οργανισμοί που ταξινομούνται ως Gram-θετικά βακτήρια που ανήκουν στην τάξη των ακτινομυκήτων και βρίσκονται είτε χερσαία είτε υδρόβια στη φύση⁽⁴⁾. Παίζουν σημαντικό ρόλο στη διατήρηση της μορφολογίας του εδάφους καθώς παράγουν ένζυμα που αποικοδομούν τη λιγνίνη, τη χιτίνη και άλλα οργανικά υλικά. Αν και αρχικά αναγνωρίστηκαν ως μικροοργανισμοί εδάφους, τώρα αναγνωρίζεται ότι οι θαλάσσιοι ακτινομύκητες είναι επίσης σημαντικοί. Συγκεκριμένα, οι θαλάσσιοι ακτινομύκητες έχουν αποδειχθεί ότι διαθέτουν νέους δευτερογενείς μεταβολίτες που προσθέτουν μια νέα διάσταση στα μικροβιακά φυσικά προϊόντα που έχουν ανακαλυφθεί μέσα στους ακτινομύκητες του εδάφους. (Koul et al., 2022)

Οι ακτινομύκητες, λόγω της ικανότητας τους να σχηματίζουν μια ποικίλη ομάδα νηματοειδών βακτηρίων στο έδαφος, στους φυτικούς ιστούς και τα θαλάσσια περιβάλλοντα, έχουν πολυάριθμες βιοτεχνολογικές εφαρμογές όπως στη βιοαποκατάσταση, την ιατρική και τις βιομηχανίες τροφίμων. Οι ακτινομύκητες όπως *Streptomyces groups*, *Rhodococcus ruber*, *Actinomadura spp.* και τα θερμόφιλα είδη *Thermoactinomyces* έχουν απομονωθεί από το περιβάλλον λόγω ότι έχει αποδειχθεί ότι διαθέτουν σημαντικές πλαστικές βιοαποικοδομητικές δυνατότητες. Η ικανότητα τους να βιοαποικοδομούν οφείλεται στην παραγωγή υδρολυτικών ενζύμων και βιοδραστικών μεταβολιτών τα οποία τους επιτρέπουν να

αναπτύσσονται σε διαφορετικά πλαστικά πολυμερή και να αποικοδομούν τις ενώσεις μεγάλου μοριακού βάρους σε μικρότερες. Επιπλέον έχουν την ικανότητα να προσκολλούνται στις επιφάνειες των πλαστικών πολυμερών καθώς μπορούν να παράγουν εξωκυτταρικά πολυμερή όπως δεξτράνη, γλυκογόνο, λεβάν και πολυσακχαρίτες πλούσιους σε N-ακετυλογλυκοζαμίνη. Λόγω του ότι μορφολογικά οι ακτινομύκητες μοιάζουν με τα βακτήρια είναι ικανά να σχηματίζουν βιοφίλματα οποία βοηθούν στον ακτινομυκητικό αποικισμό των πλαστικών. (Gilan I. et al., 2013)

Μέχρι τώρα έχει βρεθεί ότι ο *Streptomyces scabies*, που απομονώθηκε από πατάτα, μπορεί να αποικοδομήσει PET καθώς και άλλα πολυμερή όπως p – νιτροφαινυλεστέρων και της σουβερίνης χρησιμοποιώντας ένα ένζυμο εστεράσης. Επίσης PE και ντίζελ μπορούν να αποικοδομηθούν από ένα μικροοργανισμό, τον ενδοφυτικό ακτινομύκητα *Nocardopsis sp.*, που απομονώθηκε από τον ιβίσκο (Jabloune R. et al, 2020). Επιπλέον έχουν πραγματοποιηθεί τεστ με τη χρήση δοκιμασιών γαλακτοματοποιημένων μέσων από πλαστικά για να αξιολογηθεί το δυναμικό αποικοδόμησης πλαστικών από ακτινομύκητες στο οποίο βρέθηκε ότι από τα τριάντα έξι στελέχη ακτινομυκήτων που εξετάστηκαν, δεκατέσσερα έδειξαν την ικανότητα να αναπτύσσονται σε πλαστικά γαλακτοματοποιημένα μέσα (PVDF, PS και PLA) μετά από δύο εβδομάδες επώασης. Τα τρία στελέχη ακτινομυκήτων με μεγαλύτερη δυνατότητα αποδόμησης πλαστικών αναγνωρίστηκαν με το σχηματισμό ενός φωτοστέφανου διαυγούς ζώνης: *Streptomyces gougerotti*, *Micromonospora matsumotoense* και *Nocardopsis prasina*. (Oliveira et al., 2022) Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται και στην παρακάτω εικόνα (Εικόνα 3):



Εικόνα 3:Βιοαποικοδόμηση πλαστικών από ακτινομύκητες θαλάσσιας προέλευσης: α) *Streptomyces gougerotti* β) *Micromonospora matsumotoense* γ) *Nocardopsisprasina* (Oliveira et al., 2022)

3.2 Φύκια

Τα φύκια αποτελούν μέλη μιας ομάδας κυρίως υδρόβιων φωτοσυνθετικών οργανισμών και κυμαίνονται σε μέγεθος από το μικροσκοπικό μαστίγιο *Micromonas* έως γιγαντιαία φύκια που φτάνουν τα 60 μέτρα σε μήκος. Τα φύκια παρέχουν μεγάλο μέρος του οξυγόνου της γης,

χρησιμεύουν ως βάση τροφής για σχεδόν όλη την υδρόβια ζωή και παρέχουν τρόφιμα και βιομηχανικά προϊόντα, συμπεριλαμβανομένων των προϊόντων πετρελαίου. Οι φωτοσυνθετικές χρωστικές τους είναι πιο ποικίλες από αυτές των φυτών και τα κύτταρά τους έχουν χαρακτηριστικά που δεν βρίσκονται μεταξύ φυτών και ζώων. Η ταξινόμηση των φυκών αλλάζει συνεχώς ραγδαία επειδή ανακαλύπτονται νέες ταξινομικές πληροφορίες. Τα φύκια είχαν προηγουμένως ταξινομηθεί σε τρεις μεγάλες ομάδες, τα κόκκινα, καφέ και πράσινα φύκια, με βάση τα μόρια χρωστικής στους χλωροπλάστες τους. Πολλές περισσότερες από τρεις ομάδες αναγνωρίζονται τώρα, καθεμία από τις οποίες μοιράζεται ένα κοινό τύπων χρωστικών. Τα φύκια δεν συνδέονται στενά μεταξύ τους με εξελικτική έννοια. Συγκεκριμένες ομάδες μπορούν να διακριθούν από τα πρωτόζωα και τους μύκητες μόνο από την παρουσία χλωροπλάστων και από την ικανότητά τους να πραγματοποιούν φωτοσύνθεση. Αυτές οι συγκεκριμένες ομάδες έχουν έτσι στενότερη εξελικτική σχέση με τα πρωτόζωα ή τους μύκητες από ότι με άλλα φύκια. Τα φύκια είναι κοινά σε "γλοιώδεις" βράχους, σε ρέματα και ως πράσινες γυαλάδες σε πισίνες και λίμνες. Η χρήση φυκών είναι ίσως τόσο παλιά όσο και η ανθρωπότητα, ενώ πολλά είδη τρώγονται από τις παράκτιες κοινωνίες. (Raven et al., 2014)

Τα φύκια, ιδιαίτερα τα μικροφύκη, μπορούν να αποικοδομήσουν τα πλαστικά υλικά μέσω των συστημάτων τοξινών ή των ενζύμων που συντίθενται από τα ίδια τα μικροφύκη, ενώ χρησιμοποιούν τα πλαστικά πολυμερή ως πηγές άνθρακα. Σε σύγκριση με τα βακτηριακά συστήματα που μπορούν να θεωρηθούν βιολογικοί ρύποι λόγω ενδοτοξινών και απαίτησης πλούσιας πηγής άνθρακα για ανάπτυξη, τα μικροφύκη είναι ένας πιθανός υποψήφιος, δεδομένου ότι δεν περιέχουν ενδοτοξίνες και δεν απαιτούνται πηγές οργανικού άνθρακα υπό φωτοαυτότροφες συνθήκες. Τα φύκια είναι γνωστό ότι αποικίζουν σε τεχνητά υποστρώματα όπως οι επιφάνειες πολυαιθυλενίου στα λύματα και αυτά τα αποικιστικά φύκια βρέθηκαν να είναι λιγότερο επικίνδυνα και μη τοξικά. Η πρόσφυση των φυκών στην επιφάνεια θα ξεκινήσει τη βιοαποικοδόμηση και η παραγωγή λιγνινολυτικών και εξωπολυσακχαριτικών ενζύμων είναι που συνιστά το κλειδί για την βιοαποικοδόμηση των πλαστικών. Τα ένζυμα φυκών που υπάρχουν στα υγρά μέσα αλληλεπιδρούν με τα μακρομόρια που υπάρχουν στην πλαστική επιφάνεια και προκαλούν τη βιοαποικοδόμηση.

Τα φύκια, συμπεριλαμβανομένων των ειδών *Anabaena*, *Chlorella*, *Spirogyra*, *Nostoc*, *Oscillatoria* και *Spirulina*, έχει αποδειχθεί ότι αποικίζουν διαφορετικές πλαστικές επιφάνειες ακόμη και σε χερσαία επιφάνειες, αλλά δεν υπάρχουν στοιχεία που να δείχνουν ότι μεταβολίζουν τα πολυμερή. Έρευνες όμως έδειξαν ότι το μπλε-πράσινο φύκι (*Cyanobacterium*), *Anabaena spiroides*, έδειξε το υψηλότερο ποσοστό αποικοδόμησης LDPE (8,18%) ακολουθούμενο από το διάτομο *Navicula pupula* (4,44%) και το πράσινο φύκι *Scenedesmus dimorphus* (3,74%). Επίσης διάφορες μελέτες έδειξαν ότι τα μη τοξικά κυανοβακτήρια γλυκού νερού (*Phormidium lucidum* και *Oscillatoria subbrevis*) που είναι άμεσα διαθέσιμα, ταχέως αναπτυσσόμενα και εύκολα απομονώσιμα, είναι ικανά να αποικίσουν την επιφάνεια PE και να βιοαποικοδομήσουν αποτελεσματικά το LDPE χωρίς προεπεξεργασία ή προοξειδωτικά πρόσθετα. Τέλος μία πρόσφατη μελέτη ανέδειξε το *Phaeodactylum tricornutum* ως τον καλύτερο γενετικό ξενιστή για την βιοαποικοδόμηση του PET με βάση τις συνθήκες ανάπτυξής του, το οποίο επιτεύχθηκε εκφράζοντας το γονίδιο για

το ένζυμο PETase από τον μικροοργανισμό *Ideonella sakaiensis* στο φωτοσυνθετικό διάτομο. (Moog, D. et al., 2019)

Τα μικροφύκη συμβάλλουν στη βιοαποικοδόμηση των πλαστικών αποβλήτων με τα ένζυμα που παράγουν, τα οποία αποδυναμώνουν τους χημικούς δεσμούς των πλαστικών πολυμερών. Η προσπάθεια χρήσης μικροφυκών για τη μετατροπή αυτών των πλαστικών σε μεταβολίτες όπως το διοξείδιο του άνθρακα, το νερό και η νέα βιομάζα παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον. Ωστόσο, ο τομέας αυτός είναι σχετικά νέος και απαιτούνται περισσότερες μελέτες καθώς δεν έχει ακόμη ερευνηθεί πώς τα μικροφύκη αποικοδομούν τα μικροπλαστικά. Ένα άλλο σοβαρό ζήτημα είναι ότι τα μικροφύκη που περιέχουν υδρογονάνθρακες, πρωτεΐνες, λιπίδια και άλλες ενώσεις υψηλής προστιθέμενης αξίας χρησιμοποιούνται κυρίως για τρόφιμα και πρέπει να είναι απαλλαγμένα από ρύπους, συμπεριλαμβανομένων των μικροπλαστικών. Είναι σημαντικό να διερευνηθούν οι επιπτώσεις των μικροπλαστικών στην υγεία των υδρόβιων οργανισμών και του ανθρώπου.

Τα φύκια είναι ένας πολλά υποσχόμενος υποψήφιος για τη σύνθεση πολυμερών για βιώσιμη παραγωγή βιοπλαστικών και άλλων παραπροϊόντων μέσω της έννοιας του βιοδιωλιστηρίου. Η σύνθεση βιοπλαστικών καταναλωτικής ποιότητας με βάση τα μονομερή ή πολυμερή που προέρχονται από υπολείμματα αποβλήτων φυκών είναι επίσης εφικτή, επιλύοντας τα προβλήματα διάθεσης αποβλήτων. Αυτή η κυκλική οικονομία ενισχύει την οικολογική αποδοτικότητα των διαδικασιών παραγωγής βιοπλαστικών και την παραγωγή άλλων υποπροϊόντων, όπως καύσιμα, τρόφιμα, φαρμακευτικά προϊόντα και καλλυντικά που μπορούν να εφαρμοστούν σε διάφορους τομείς.

3.3 Βακτήρια

Τα βακτήρια είναι μονοκύτταροι, προκαρυωτικοί οργανισμοί, που σημαίνει ότι δεν έχουν κυτταρικό πυρήνα και άλλα συνδεδεμένα με μεμβράνη οργανίδια όπως αυτά που βρίσκονται στα ευκαρυωτικά κύτταρα. Τα βακτήρια είναι από τους πιο άφθονους οργανισμούς στη Γη και μπορούν να βρεθούν σχεδόν σε κάθε περιβάλλον, συμπεριλαμβανομένου του εδάφους, του νερού, του αέρα, ακόμη και μέσα σε άλλους οργανισμούς ως συμβιωτικά ή παθογόνα. Αυτοί οι μικροοργανισμοί παρουσιάζουν ένα ευρύ φάσμα σχημάτων, συμπεριλαμβανομένων των σφαιρών (κόκκοι), των ράβδων (βάκιλλοι) και των σπειρών (σπιρίλα). Μπορούν να ταξινομηθούν με βάση το σχήμα, τη διάταξη, τα μεταβολικά τους χαρακτηριστικά και άλλες βιοχημικές ιδιότητες. Τα βακτήρια παίζουν ουσιαστικούς ρόλους σε διάφορα οικοσυστήματα, όπως ο κύκλος των θρεπτικών συστατικών, η αποσύνθεση και οι συμβιωτικές σχέσεις με τα φυτά και τα ζώα. Ορισμένα βακτήρια είναι ωφέλιμα για τον άνθρωπο, συμμετέχοντας σε διαδικασίες όπως η πέψη και παράγοντας απαραίτητες βιταμίνες. Ωστόσο, ορισμένα βακτήρια μπορούν επίσης να προκαλέσουν ασθένειες σε ανθρώπους, ζώα και φυτά, οδηγώντας σε λοιμώξεις και ασθένειες. Τα τελευταία χρόνια, τα βακτήρια έχουν συγκεντρώσει σημαντική προσοχή στη βιοτεχνολογία και την έρευνα λόγω της ικανότητάς τους να παράγουν ένζυμα, αντιβιοτικά και άλλες πολύτιμες ενώσεις, καθώς και τις πιθανές

εφαρμογές τους σε τομείς όπως η βιοαποκατάσταση και η γενετική μηχανική. (Gan, Z. et al., 2019)

Τα βακτήρια όπως και άλλοι μικροοργανισμοί μπορούν να απελευθερώνουν άνθρακα και άλλα θρεπτικά συστατικά από διαφορετικά πολύπλοκα πολυμερή τόσο φυσικής όσο και σύνθετης προέλευσης. Μελέτες έχουν δείξει ότι η ικανότητα των βακτηρίων να αποικοδομούν το πλαστικό βασίζεται στη φυσική τους ικανότητα να αποικοδομούν λιπαρά οξέα μακράς αλυσίδας, επομένως, δεν είναι απροσδόκητο ότι η *Pseudomonas* είναι το πιο σημαντικό και μελετημένο βακτηριακό γένος όσον αφορά την αποδόμηση του πλαστικού πολυμερούς. Ακόμα μελέτες έχουν δείξει ότι ο σχηματισμός βιοφίλμ από τα βακτήρια μπορεί να βοηθήσει στην προσκόλληση των αποικιών και έτσι να βοηθηθεί η βακτηριακή αποικοδόμηση των πλαστικών.

Οι καθαρές καλλιέργειες βακτηρίων που απομονώνονται από τα περισσότερα περιβάλλοντα δείχνουν ότι τα βακτήρια έχουν ποικιλομορφία και λειτουργικότητα. Μέσω της ταυτοποίησης ενός μεγάλου όγκου δεδομένων, τα είδη που ανήκουν σε διάφορα βακτηριακά φύλα, συμπεριλαμβανομένων των πρωτεοβακτηρίων, των *Firmicutes* και των ακτινοβακτηρίων, είναι σε θέση να αποικοδομήσουν τα πλαστικά. Τα περισσότερα πιθανά βακτήρια που μπορούν να βιοδιασπάσουν τα πλαστικά απομονώθηκαν από μολυσμένες τοποθεσίες, όπως οι χώροι υγειονομικής ταφής. Με βάση την εγγενή ικανότητα των βακτηρίων να διασπούν λιπαρά οξέα μακράς αλυσίδας, είναι δυνατή η πλαστική αποδόμηση. Τα βακτηριακά είδη από τα γένη *Pseudomonas*, *Escherichia* και *Bacillus* παρουσιάζουν τεράστιες δυνατότητες για την υποβάθμιση των πλαστικών, ειδικά για τα ανθεκτικά πολυμερή, όπως τα PE, PET, PS. Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι βακτηριακά στελέχη, όπως *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus megaterium*, *Rhodococcus ruber* και άλλα μπορεί να διασπάσουν τα θερμοπλαστικά PE και PET. Επίσης βακτήρια διαφορετικών κατηγοριών, συμπεριλαμβανομένων των *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Micrococcus*, έχουν επίσης αποδειχθεί ότι αποικοδομούν διάφορα θερμοσκληρυνόμενα πλαστικά, κυρίως την πολυουρεθάνη (PU).

Η πλαστική βιοαποικοδόμηση, όπως έχει αναφερθεί, εξαρτάται και από εξωτερικούς παράγοντες, όπως η προσθήκη ειδικών προσθέτων, για παράδειγμα τα νανοσωματίδια ευαισθητοποιημένα με χρωστική ουσία τροφίμων και άμυλο, έχει βρεθεί ότι βελτιώνει το ρυθμό αποικοδόμησης του PE από ορισμένα βακτήρια όπως *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia seminalis* και *Stenotrophomonas pavanii*. Τέλος οι διαδικασίες προεπεξεργασίας των πλαστικών όπως η προσθήκη ανιονικών επιφανειοδραστικών ουσιών, η θερμική επεξεργασία και η προεπεξεργασία με UV έχουν αποδειχθεί πρόσφατα ότι αυξάνουν σημαντικά τον ρυθμό βακτηριακής αποικοδόμησης διαφόρων πλαστικών πολυμερών. (Cai et al., 2023)

3.4 Μύκητες

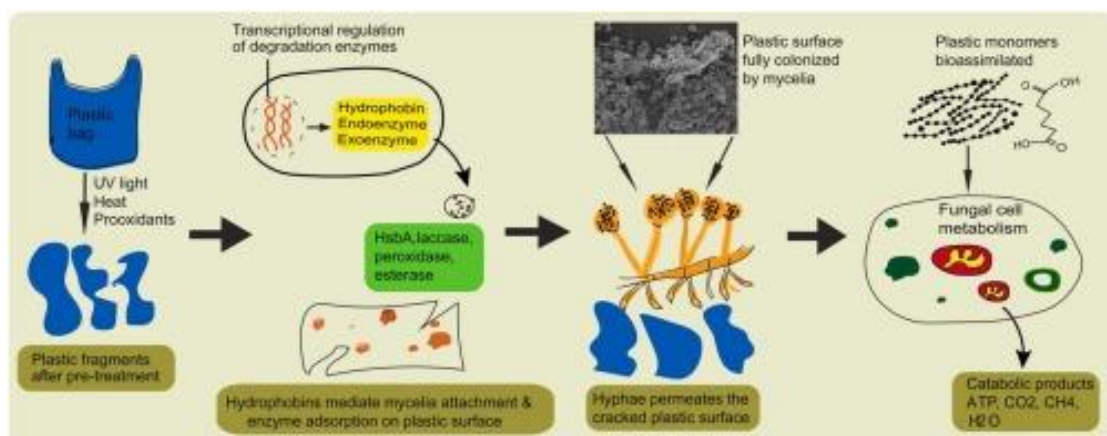
Υπάρχουν περισσότερα από 80.000 γνωστά είδη οργανισμών που ανήκουν στο βασίλειο των Μυκήτων, συμπεριλαμβανομένων ζυμομυκήτων, σκουριές, θρυμματίδια, μούχλα, μανιτάρια και ωίδιο. Αν και παλαιότερα ταξινομούνταν ως φυτά, οι μύκητες

στερούνται χλωροφύλλης και των οργανωμένων φυτικών δομών των στελεχών, των ριζών και των φύλλων. Το thallus, ή σώμα, ενός τυπικού μύκητα αποτελείται από ένα μυκήλιο μέσω του οποίου ρέει το κυτταρόπλασμα. Το μυκήλιο γενικά αναπαράγεται σχηματίζοντας σπόρια, είτε άμεσα είτε σε ειδικά καρποφόρα σώματα που αποτελούν το ορατό μέρος ενός μύκητα. Το έδαφος παρέχει ένα ιδανικό βιότοπο για πολλά είδη, αν και οι μύκητες μπορούν επίσης να ζήσουν στον αέρα και το νερό και σε φυτά και ζώα. Οι μύκητες βρίσκονται σε όλες τις περιοχές του κόσμου που έχουν επαρκή υγρασία για να τους επιτρέψουν να αναπτυχθούν. Ελλείψει χλωροφύλλης, οι μύκητες δεν είναι σε θέση να πραγματοποιήσουν φωτοσύνθεση και πρέπει να αποκτήσουν θρεπτικά συστατικά εκκρίνοντας ένζυμα στην επιφάνεια στην οποία αναπτύσσονται. Αυτά τα ένζυμα χωνεύουν οργανική ύλη, σχηματίζοντας διαλύματα θρεπτικών ουσιών που μπορούν να απορροφηθούν μέσω του μυκηλίου. Η αποσύνθεση της οργανικής ύλης από μύκητες έχει ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση άνθρακα, οξυγόνου, αζώτου και φωσφόρου στο έδαφος ή την ατμόσφαιρα. Απαραίτητοι σε πολλές τροφικές και βιομηχανικές διεργασίες, οι μύκητες χρησιμοποιούνται στην παραγωγή ενζύμων, οργανικών οξέων, βιταμινών και αντιβιοτικών. Οι μύκητες μπορούν επίσης να καταστρέψουν τις καλλιέργειες, να προκαλέσουν ασθένειες στους ανθρώπους (π.χ. καντιντίαση και τριχοφυτία) και να καταστρέψουν τα ρούχα και τα τρόφιμα με ωίδιο και σήψη. Οι παρασιτικοί μύκητες εισβάλλουν στους ζωντανούς οργανισμούς, προκαλώντας συχνά ασθένειες και θάνατο, ενώ άλλοι μύκητες δημιουργούν συμβιωτικές σχέσεις με φύκια (σχηματίζοντας λειχήνες), φυτά (σχηματίζοντας μυκόρριζες), και ορισμένα έντομα. (Kumar Chaurasia et al., 2021)

Οι μύκητες, παράλληλα με τα βακτήρια, διαδραματίζουν κορυφαίους ρόλους στη διατήρηση των βιογεωχημικών κύκλων και της ανανεώσιμης πηγής θρεπτικών συστατικών στο περιβάλλον. Η ικανότητα διαφορετικών ειδών μυκήτων να αποικοδομούν διαφορετικά πλαστικά πολυμερή έχει καταγραφεί, καθώς οι μύκητες μπορούν να χρησιμοποιήσουν αυτά τα συνθετικά υλικά ως πηγή άνθρακα ή ενέργειας. Σε αυτή την έννοια, διάφορα μυκητιακά στελέχη, που καλύπτουν ευρείες οικολογικές κατηγορίες και μορφές, έχουν αποδειχθεί ότι αποικοδομούν πλαστικά υλικά. Πρόσφατες έρευνες έχουν εστιάσει το ενδιαφέρον τους στο γένος *Aspergillus* ως την πλέον σημαντική ομάδα μυκήτων που εμπλέκεται στη βιοαποικοδόμηση συνθετικών πλαστικών. Συγκεκριμένα, τα *A. clavatus*, *A. fumigatus* και *A. niger* ανήκουν στα είδη *Aspergillus* και έχουν εντοπιστεί σε διάφορα οικοσυστήματα στερεάς επιφάνειας. Έχει αποδειχθεί ότι αυτά τα είδη μπορούν να υποβαθμίσουν τα πολυαιθυλένια (PE), τα πολυουρεθάνια (PU) και τα πολυπροπυλένια (PP). Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι οι ενδοφυτικοί μύκητες που ανιχνεύθηκαν σε διαφορετικά φυτά δείχνουν τη δυνατότητα να διασπούν την πολυουρεθάνη σε διαφορετικά επίπεδα, είτε υπό συνθήκες στερεής κατάστασης είτε υπό συνθήκες βυθισμένης ζύμωσης. Άλλα είδη μυκήτων με σημαντική ικανότητα αποικοδόμησης των πλαστικών περιλαμβάνουν το *Fusarium solani*, το *Alternaria solani*, το *Spicaria spp.*, το *Geomyces pannorum*, το *Phoma sp.*, το *Penicillium spp.*, και πολλά άλλα. Επιπλέον, αντίθετα με τις περισσότερες μελέτες που έχουν εστιαστεί στις ικανότητες των καθαρών καλλιεργειών, έχει δείχθει ότι πολλές μυκητιακές κοινότητες συνεργάζονται για την αποικοδόμηση διαφόρων τύπων πλαστικών, όπως η πολυουρεθάνη και το πολυαιθυλένιο. Ακόμα, είδη μυκήτων όπως *Fusarium falciforme*, *Purpureocillum*

lilacinum, *Zellerion maritimum*, *Psychotria flavida*, *Humboldtia brunonis*, *Paecilomyces lilacinum* και *Lasiodiplodiatheo bromaea* αναφέρθηκαν ότι παράγουν ένζυμα οξειδοαναγωγάσης που επιτρέπουν τον αποπολυμερισμό πολυολεφινών κυρίως PE, PS, PP και PVC. (Amobonye et al., 2021)

Η διαδικασία βιοαποικοδόμησης των συνθετικών πλαστικών από μύκητες θεωρείται αποτέλεσμα μεταβολικής εξέλιξης μετά από μακροχρόνια έκθεση των μυκήτων σε ξενοβιοτικά πολυμερή, τα οποία απελευθερώνονται στο περιβάλλον λόγω ανθρωπίνων δραστηριοτήτων. Κατά την έκθεσή τους σε υψηλή επιλεκτική πίεση, οι μικροοργανισμοί παρουσιάζουν γρήγορη εξέλιξη της ευελιξίας και της ικανότητάς τους να ανταλλάσσουν γενετικό υλικό αποτελεσματικά, καθώς και να συνδυάζουν και να προσαρμόζουν κατάλληλα τις επιθυμητές καταβολικές οδούς. Με βάση τη μαζική παραγωγή και απόρριψη πλαστικών από τη δεκαετία του 1950, μελέτες υποστηρίζουν ότι τα μικροβιακά ένζυμα, τα οποία φυσικά αποικοδομούν οργανικά υποστρώματα, έχουν εξελιχθεί και προσαρμοστεί σε νέες στρατηγικές για να αντιμετωπίσουν τα πλαστικά. Οι μηχανισμοί οξείδωσης ενζύμων που χρησιμοποιούνται από μύκητες στην αποικοδόμηση πλαστικών ενδέχεται να συνδέονται στενά με αυτούς που εμπλέκονται στον καταβολισμό της λιγνίνης. Σχετικές μελέτες αναφέρουν τη χρήση λακκάσης και υπεροξειδάσης για την διάσπαση του υδρόφοβου πλαστικού μέσω οξειδοαναγωγικής αντίδρασης, παρόμοια με τη διαδικασία υδρόλυσης της λιγνίνης. Παράλληλα, μυκητιακά είδη όπως το *Phanerochaete chrysosporium*, το *Penicillium simplicissimum*, το *Trichoderma harzianum*, καθώς και το *Pleurotus ostreatus*, το *Trametes versicolor* και το *Penicillium chrysogenum*, παράγουν ένζυμα οξείδωσης τα οποία μπορούν να προκαλέσουν τη διάσπαση και την αποχρωμάτωση των συνθετικών πολυμερών. Οι περισσότερες έρευνες σχετικά με τη βιοαποικοδόμηση πλαστικών έχουν επισημάνει τη χρήση εξωκυτταρικών ενζύμων εστεράσης ως αποτελεσματικών βιοδιαλυτών που επιτρέπουν στους μύκητες να διασπούν πλαστικά με βάση τους πολυεστέρες. Τα εν λόγω ένζυμα είναι κοινά σε πολλά είδη μυκήτων και έχει αποδειχθεί ότι συμβάλλουν στην αποσύνδεση και διάσπαση των εστερικών δεσμών που περιέχονται σε διάφορα υποστρώματα πολυμερών, δημιουργώντας πολικά μόρια με βάση τα οξέα και τις αλκοόλες. Οι εστεράσες, όπως η cutinase και η λιπάση, αποτελούν παραδείγματα ενζύμων που συμμετέχουν στην αποικοδόμηση πολυεστέρων πλαστικών, όπως τα PU, PET, PES, PBS, PCL, PES, PLA, BHET, καθώς και σε άλλα συνθετικά υλικά όπως τα λιπάσματα και τα φυτοφάρμακα.



Οι μύκητες έχουν παρατηρηθεί ότι αποτελούν καλούς μικροοργανισμούς για πλαστική βιοαποικοδόμηση λόγω της δυνατότητας τους να διασπούν μεγάλα πολυμερή σε μικρότερα εξαιτίας των ενζύμων που συνθέτουν. Η διανομή και η ικανότητα διείσδυσης των μυκητιακών κοινοτήτων έχει επίσης παρατηρηθεί ως ένας σημαντικός παράγοντας στην αρχική τους εγκατάσταση πριν από την διαδικασία του αποπολυμερισμού, καθώς και στην ικανότητά τους να εκκρίνουν υδρόφοβες ουσίες για ενίσχυση της πρόσφυσής τους σε υδρόφοβα υποστρώματα. Η ενίσχυση της βιοαποικοδόμησης των πλαστικών από μύκητες έχει αποδειχθεί μέσω προεπεξεργασίας των διαφόρων υποστρωμάτων, η οποία περιλαμβάνει διάφορους παράγοντες όπως η φωτοεπεξεργασία και η θερμοκρασία, η προεπεξεργασία με οξύ και διάφορα πρόσθετα. Η οξείδωση των πλαστικών πολυμερών από υπεριώδες φως ή θερμοχημικούς παράγοντες δημιουργεί λειτουργικές ομάδες καρβονυλίου και εστέρα που χρησιμεύουν ως θέσεις στόχοι για μυκητιακή υπεροξειδάση, οξειδάση, υδρολάση, cutinase και λιπάση. Οι υδρολάσες, κυρίως εστεράση, cutinase, λιπάση και πρωτεάση μπορούν να υδρολύσουν το πλαστικό πολυμερές σε απλούστερα μόρια άνθρακα που μπορούν να απορροφηθούν στο κύτταρο μυκήτων για μεταβολισμό. Ακόμα ορισμένοι νηματώδεις μύκητες διαθέτουν αξιοσημείωτα ένζυμα οξειδοαναγωγής που μπορούν φυσικά να οξειδώσουν τις στενά συνδεδεμένες αλυσίδες πολυολεφίνης C-C χωρίς καμία προεπεξεργασία, για να δημιουργήσουν υδρόφιλες λειτουργικές ομάδες που μπορούν στη συνέχεια να διασπαστούν από ένζυμα υδρολάσης. (Sánchez C., 2020)

3.5 Ακραιόφιλα

Ακραιόφιλος, είναι ένας οργανισμός που είναι ανεκτικός σε περιβαλλοντικά άκρα και που έχει εξελιχθεί για να αναπτυχθεί βέλτιστα κάτω από μία ή περισσότερες από αυτές τις ακραίες συνθήκες. Οι ακραιόφιλοι οργανισμοί κυρίως ανήκουν στην κατηγορία των προκαρυωτικών (αρχαία και βακτήρια), με λίγα ευκαρυωτικά παραδείγματα. Ο όρος "ακραιόφιλοι" αναφέρεται στις περιβαλλοντικές συνθήκες στις οποίες αυτοί οι οργανισμοί αναπτύσσονται βέλτιστα. Κάποιες κατηγορίες ακραιόφιλων περιλαμβάνουν: (Atanasova et al., 2021)

- Οξεόφιλοι: Αναπτύσσονται βέλτιστα σε pH από 1 έως 5.
- Αλκαλόφιλοι: Αναπτύσσονται βέλτιστα σε pH άνω των 9.
- Αλόφιλοι: Αναπτύσσονται βέλτιστα σε περιβάλλοντα με υψηλές συγκεντρώσεις αλατιού.
- Θερμόφιλοι: Αναπτύσσονται βέλτιστα σε θερμοκρασίες μεταξύ 60 και 80°C.
- Υπερθερμόφιλοι: Αναπτύσσονται βέλτιστα σε θερμοκρασίες άνω των 80°C.
- Ψυχρόφιλοι: Αναπτύσσονται βέλτιστα σε θερμοκρασίες γύρω στους 15°C ή χαμηλότερες, με μέγιστη ανεκτική θερμοκρασία 20°C και ελάχιστη ανάπτυξη στους 0°C.

- Πιεσόφιλοι ή Βαρόφιλοι: Αναπτύσσονται βέλτιστα σε υψηλές υδροστατικές πιέσεις.
- Ολιγοτροφικοί: Αναπτύσσονται σε διατροφικά περιορισμένα περιβάλλοντα.
- Ενδολιθικοί: Αναπτύσσονται εντός βράχου ή εντός πόρων ορυκτών κόκκων.
- Ξηρόφιλοι: Αναπτύσσονται σε ξηρές συνθήκες με χαμηλή διαθεσιμότητα νερού.

Ορισμένοι ακραιόφιλοι προσαρμόζονται σε πολλαπλές ακραίες πιέσεις, καλύπτοντας την κατηγορία των πολυακραιόφιλων. Κοινά παραδείγματα περιλαμβάνουν τους θερμοαλκαλόφιλους και τους αλοθερμόφιλους.

Τα ακραιόφιλα παρουσιάζουν έντονο βιοτεχνολογικό ενδιαφέρον, καθώς παράγουν ακρόφιλα ένζυμα (extremozymes), τα οποία ορίζονται ως ένζυμα που λειτουργούν υπό ακραίες συνθήκες. Τα ακραζένζυμα αποτελούν πολύτιμα εργαλεία σε διαδικασίες βιομηχανικής παραγωγής και ερευνητικές εφαρμογές λόγω της ικανότητάς τους να διατηρούνται ενεργά υπό τις απαιτητικές συνθήκες (όπως υψηλή θερμοκρασία, πίεση και pH) που συνήθως χρησιμοποιούνται σε αυτές τις διαδικασίες. (Atanasova et al., 2021)

Είναι ευρέως γνωστό ότι οι ακραιόφιλοι μικροοργανισμοί αποτελούν εξαιρετικούς παραγωγούς μιας ποικιλίας δυνητικά χρήσιμων υδρολυτικών ενζύμων. Η αναζήτηση νέων πλαστικών ενεργών ενζύμων και μικροοργανισμών έχει οδηγήσει σε αυξημένο ενδιαφέρον για σχετικά ακραιόφιλα ένζυμα. Αυτό οφείλεται στις αλλαγές που παρατηρούνται στις ιδιότητες των πολυμερών υπό ακραίες συνθήκες, όπως υψηλές ή χαμηλές θερμοκρασίες, αλλαγές στο pH, υψηλή αλατότητα, υψηλή πίεση, χαμηλή περιεκτικότητα σε νερό και θρεπτικά συστατικά, καθώς και υψηλή ακτινοβολία. Τα πιο γνωστά ακραιόφιλα σήμερα είναι είτε ευκαρυωτικά είτε προκαρυωτικά, είτε ευβακτήρια είτε αρχαία. Οι ακραιόφιλοι ευκαρυώτες είναι επίσης γνωστοί. Ωστόσο, τα όρια της ακραιοφιλίας τους είναι συνήθως σημαντικά χαμηλότερα και, συνεπώς, έχουν λιγότερες δυνατότητες από τα ακραιόφιλα προκαρυωτικά να επηρεάσουν τις ιδιότητες των πλαστικών.

Θερμόφιλα: Η χρήση θερμόφιλων οργανισμών για την αποικοδόμηση πλαστικών σε βιολογικές διαδικασίες σε μολυσμένους θερμικούς οικότυπους μπορεί να έχει δυνητικά οφέλη λόγω της βελτιωμένης βιοδιαθεσιμότητας και διαλυτότητας του υποστρώματος. Αυτό οφείλεται στις αλλαγές που συμβαίνουν στις φυσικές και οπτικές ιδιότητες των πολυμερών σε υψηλές θερμοκρασίες. Πρόσθετα πλεονεκτήματα των θερμόφιλων διεργασιών βιοαποικοδόμησης περιλαμβάνουν υψηλότερα ποσοστά ενζυμικής δραστηριότητας λόγω της μειωμένης αντοχής του πολυμερούς, ενισχυμένους ρυθμούς διάχυσης οργανικών ενώσεων, μειωμένο ιξώδες των υγρών καλλιέργειας και μειωμένο κίνδυνο μικροβιακής μόλυνσης. Αρκετοί θερμόφιλοι οργανισμοί έχουν επιδείξει υψηλό δυναμικό για αποικοδόμηση πολυμερών λόγω της ικανότητάς τους να αναπτύσσονται και να παράγουν πολλά ένζυμα σε ασυνήθιστες συνθήκες. (Atanasova et al., 2021)

<i>Τύπος Αποικοδομητικού Πλαστικού</i>	<i>Πολυμερές</i>	<i>Μικροοργανισμός</i>	<i>Πηγή</i>	<i>Θερμοκρασία για Πλαστική ή Αποικοδόμηση</i>	<i>Αποτελεσματικότητα Αποικοδόμησης</i>
<i>Μη- Βιοαποικοδομήσιμο</i>	Πολυαιθυλένιο	Brevi bacillus borstelensis στέλεχος 707	Χώμα	50°C	11% μετά από 30 μέρες
		Bacillus sp. BCBT21	Κομπόστα	55 °C	44% μείωση στο μοριακό βάρος του πολυμερούς σε 30 μέρες
	Τερεφθαλικό πολυαιθυλένιο	Clostridium thermocellum		60 °C	60% μετά από 14 μέρες
		Thermobifidafuska		55 °C	~50% μείωση στο μοριακό βάρος του πολυμερούς σε 3 εβδομάδες
	Νάilon	Geobacillus thermocatenulatus	Χώμα	60 °C	Οπτική πυκνότητα ~1.8 μετά από 7 μέρες ανάπτυξης στο νάilon 6
		Anoxybacillus upiensis		65 °C	Μείωση στο νάilon 12 και στο νάilon 66 στο μοριακό βάρος από ~40,000 σε ~15,000 σε 20 μέρες
<i>Βιοαποικοδομήσιμο</i>	Πολυκαπρολακτόνη	Streptomyces thermoviolaceus	Χώμα	45 °C	100% (0,1% ως υπόστρωμα) για 6h
		Streptomyces thermonitrificans PDS-1 +	Κομπόστα	50 °C	70% (κομπόστα ως υπόστρωμα)

Bacillus licheniformis HA1	τα	για 48h
----------------------------------	----	---------

Πίνακας 3: Πλαστική αποικοδόμηση από θερμοφιλα βακτήρια (Atanasova et al., 2021)

Αλκαλόφιλοι: Το pH αποτελεί έναν σημαντικό παράγοντα που μπορεί να επηρεάσει τη διαλυτότητα και το μαλάκωμα των πλαστικών. Ωστόσο, η ικανότητα αποικοδόμησης συνθετικών πολυμερών από οξύφιλα βακτήρια έχει ερευνηθεί ελάχιστα. Επιπλέον, το όξινο pH μπορεί να μειώσει τη διάρκεια ζωής ορισμένων πλαστικών προϊόντων που χρησιμοποιούνται σε διαδικασίες λεύκανσης σε χαμηλό pH. Για παράδειγμα, το πολυαιθυλένιο χαμηλής πυκνότητας (LDPE) αποικοδομήθηκε από βακτηριακά στελέχη που απομονώθηκαν από δείγματα υπεραλκαλικού νερού (pH 11). Συγκεκριμένα τα βακτηριακά στελέχη ήταν τα *Bacillus krulwichiae*, *B. pseudofirmus*, *Prolinoborus fasciculus*, και ένα μη ταξινομημένο *Bacillus sp.* Οι καθαρές καλλιέργειες των απομονωμένων στελεχών μείωσαν το βάρος του πολυμερούς έως και 9,9%, 8,3%, 5,1% και 6,3% αντίστοιχα μετά από 90 ημέρες ανάπτυξης χωρίς καμία προεπεξεργασία του LDPE. Σύμφωνα με τις διαθέσιμες πληροφορίες, οι περισσότεροι αναγνωρισμένοι αλκαλόφιλοι πλαστικοί αποικοδομητές είναι υποχρεωτικά αλκαλόφιλα είδη της οικογένειας *Bacillaceae*, μια τάση που μοιράζονται με τα γνωστά θερμοφιλα ευβακτήρια που αποικοδομούν τα πλαστικά.

Αλόφιλοι: Υπάρχουν αυξανόμενα στοιχεία που υποδεικνύουν τη δυνατότητα βιοαποικοδόμησης των πλαστικών σε θαλάσσια και άλλα φυσικά αλατούχα περιβάλλοντα, όπως τα αλμυρά έλη, καθώς και σε βιομηχανικά λύματα πλούσια σε αλάτι. Οι περισσότεροι από τους χαρακτηρισμένους αλόφιλους μικροοργανισμούς έχουν βρεθεί να είναι μέτριοι ή μόνο ελαφρώς ακραιόφιλοι, με τα είδη του γένους *Erythrobacter* να κυριαρχούν. Προτάθηκε ότι η σχετικά μεγάλη παρουσία ειδών κυανοβακτηρίων σε πλαστικά υπολείμματα δεν οφείλεται μόνο στον ρόλο τους στο σχηματισμό βιοφίλμ, αλλά πιθανώς και σε κάποια δραστηριότητα προς τα πλαστικά υπολείμματα. Συγκεκριμένα, αναγνωρισμένα στελέχη ανήκαν κυρίως σε δύο γένη, *Calothrix sp.* και *Pleurocapsa*, τα οποία είναι γνωστά αλόφιλα και συχνά απομονώνονται από θαλάσσια περιβάλλοντα. Η ανάλυση των ταξινομικών μονάδων OTUs (Operational Taxonomic Units) των ειδών που προέρχονται από πλαστικά υπολείμματα επιβεβαίωσε επίσης ότι τα είδη του γένους *Erythrobacter* κυριαρχούσαν (43%) μεταξύ των ανιχνευθέντων υδρογονανθρακικών βακτηρίων και ότι δύο άλλα μέτρια αλόφιλα γένη, *Hyphomonas* και *Phorimidium*, ήταν παρόντα σε σημαντικά υψηλότερα επίπεδα σε σύγκριση με δείγματα που προέρχονται από νερό και οργανικά σωματίδια.

Τύπος Αποικοδο	Πολυμερέ ς	Μικροοργα νισμός	Πηγή	Φυσικ οχημι	Αποτελεσματι κότητα
-------------------	---------------	---------------------	------	----------------	------------------------

**μητικούΠ
λατικού**

**κές
Παρά
μετροι
του
περιβ
άλλον
τος**

**Αποικοδόμησ
ης**

Μη- Βιοαποικοδ ομήσιμα	Πολυαιθυλέ νιο (72,2%) + PP (18,0%) και PS (2,8%)	Cyanobacteria (Calothrix, Pleurocapsa, Phormidium), Erythrobacter	Δυτική Μεσόγειο Θάλασσα	3,87% αλατότ ητα	Μη διαθέσιμα στοιχεία
	Πολυστυρέ νιο	Erythrobacter	Μαύρη Θάλασσα	1,86% αλατότ ητα	Μη διαθέσιμα στοιχεία
	Πολυουρεθ άνη	Κοινότητα	Βαλτική Θάλασσα	10°C, pH 8.0, 1.86% αλατότ ητα	19% απώλεια βάρους για PU- A, 4% απώλεια βάρους για PU-B μετά από 12 μήνες
Βιοαποικοδ ομήσιμα	Πολυκαπρο λακτόνη	Shewanella, Moritella, Psychrobacte r, Pseudomonas	Ιαπωνικές Τέφροι	Βάθος 5000- 7000 μ., 4 °C	Μη διαθέσιμα στοιχεία

Πίνακας 4: Πλαστική αποικοδόμηση από ψυχρόφιλα και αλόφιλα βακτήρια (Atanasova et al., 2021)

Ψυχρόφιλα: Περίπου το 70% της επιφάνειας της Γης καλύπτεται από θαλάσσιο νερό, το 90% του οποίου διατηρεί σταθερή θερμοκρασία περίπου στους 5°C ανεξαρτήτως γεωγραφικού πλάτους. Ως αποτέλεσμα, ένα σημαντικό ποσοστό της επιφάνειας της Γης παρέχει κατάλληλο περιβάλλον για την ανάπτυξη των ψυχρόφιλων οργανισμών. Συχνά, οι θαλάσσιοι μικροοργανισμοί εκδηλώνουν πολλαπλές ακραιότητες, όπως την ψυχρο-αλόφιλη, την ψυχρο-πιεζοφιλική ή την ψυχρο-αλκαλόφιλη. Τα περισσότερα από τα βακτήρια που αποικοδομούνται πλαστικό και εντοπίζονται σε ψυχρά περιβάλλοντα ανήκουν στα γένη *Shewanella*, *Moritella* και *Psychrobacter*, που ανήκουν στην κατηγορία *Gammaproteo bacteria*. Στον Πίνακα 4 παρουσιάζονται ορισμένα παραδείγματα ψυχρόφιλων θαλάσσιων αποικοδομητών. Παρόλο που έχει προταθεί ότι τέτοιοι μικροοργανισμοί συμβάλλουν στην υποβάθμιση των πλαστικών στα θαλάσσια οικοσυστήματα, επί του παρόντος υπάρχει ελλιπής γνώση για την κατανόηση της επίδρασής τους στη μικροβιακή ζωή, τη λειτουργία και τη δομή της κοινότητας σε αυτά τα περιβάλλοντα. Ωστόσο, αναγνωρίζεται ότι η προσκόλληση στις επιφάνειες και η ανάπτυξη μέσα στα προκύπτοντα βιοφίλμ αποτελούν σημαντική προσαρμογή επιβίωσης των βακτηρίων υπό τις συνθήκες του ψυχρού θαλάσσιου περιβάλλοντος. Σύμφωνα με το Πρόγραμμα των

Ηνωμένων Εθνών για το Περιβάλλον (UNEP), η φυσική υποβάθμιση των πλαστικών στα επιφανειακά ύδατα συνήθως συμβαίνει με υψηλότερο ρυθμό σε σχέση με τα ύδατα του βυθού, λόγω της μειωμένης διείσδυσης του ηλιακού φωτός (UV) και των ψυχρότερων θερμοκρασιών σε βάθος. Επιπλέον, πρέπει να ληφθεί υπόψη η μείωση της αντοχής των πλαστικών λόγω της αυξημένης υδροστατικής πίεσης στα νερά του βάθους. Δεκατρία στελέχη που αποικοδομούν το PCL απομονώθηκαν από βαθιά νερά σε βάθος 300-600 μέτρων. Μεταξύ των απομονωμένων, οκτώ ανήκαν στο γένος *Moritella*, τρία στο γένος *Shewanella*, ένα στο γένος *Psychrobacter* και ένα στο γένος *Pseudomonas*. (Atanasova et al., 2021)

Εν κατακλείδι, η χρήση ακραιόφιλων μικροοργανισμών και των ενζύμων τους αναδεικνύεται ως ένας πολλά υποσχόμενος τρόπος αντιμετώπισης αυτής της πολύ σοβαρής κοινωνικής ανησυχίας. Οι ακραίες συνθήκες συμβάλλουν στην αποικοδόμηση του πλαστικού από τα ακραιόφιλα με υψηλότερο ρυθμό παραγωγής ενζύμων, με αποτέλεσμα το μαλάκωμα των πλαστικών και τη διαταραχή της μηχανικής ακεραιότητάς τους. Η βιοαποικοδόμηση από ακραιόφιλα υπό μοναδικές περιβαλλοντικές συνθήκες ή σε εγκαταστάσεις επεξεργασίας αποβλήτων ανοίγει το δρόμο για τη μείωση των απορριπτόμενων πλαστικών αποβλήτων. Παρόλο που οι ακραιόφιλοι μικροοργανισμοί και τα ένζυμα τους παρουσιάζουν μεγάλο δυνατότητα για βιομηχανικές εφαρμογές, η βιομηχανική τους εφαρμογή παραμένει περιορισμένη. Αυτό οφείλεται σε ποικίλους τεχνικούς περιορισμούς, όπως η δυσκολία καλλιέργειας τους σε βιομηχανική κλίμακα, η χαμηλή παραγωγικότητα και απόδοση βιομάζας τους, η μειωμένη ειδική δραστηριότητα των ενζύμων τους λόγω της ακαμψίας του μορίου του θερμοφίλου ενζύμου, καθώς και η ευαισθησία της σύνθεσης και της δραστηριότητας των ενζύμων στην αναστολή του υποστρώματος ή του προϊόντος.

3.6 Τα μικροβιώματα σαν πιθανή πηγή μικροοργανισμών για διάσπαση πλαστικών

Το μικροβίωμα είναι η κοινότητα μικροοργανισμών (όπως μύκητες, βακτήρια και ιοί) που υπάρχει σε ένα συγκεκριμένο περιβάλλον. Οι μικροοργανισμοί είναι ιδανική λύση για το πρόβλημα της ρύπανσης από τα πλαστικά καθώς παράγουν ένζυμα που τους επιτρέπουν να χρησιμοποιήσουν τα πλαστικά ως ενέργεια για την επιβίωσή τους. Πρόσφατες μελέτες έχουν αναδείξει κάποια έντομα σαν πιθανούς υποκινητές της πλαστικής βιοαποικοδόμησης. Συγκεκριμένα, υπήρχαν ενδείξεις ότι το έντομο *Tenebrio molitor* L. (mealworms) κατάφερε να καταναλώσει φελιζόλ. Οι προνύμφες κατάφεραν να επιβιώσουν για περισσότερο από ένα μήνα τρέφοντας με φελιζόλ. Κατά τη διάρκεια μιας περιόδου 16 ημερών, περίπου το 50% του φελιζόλ που κατανάλωσαν μετατράπηκε σε διοξείδιο του άνθρακα (CO₂), με το υπόλειμμα του φελιζόλ να βρίσκεται στα κόπρανά τους. Μια από τις πρώτες αναφορές σχετικά με τα έντομα που μπορούν να χωνεύουν πλαστικά προήλθε από τις κάμπιες. Επίσης, το 2017, μια ισπανική ομάδα ερευνητών ανέφερε την ταχεία βιοαποικοδόμηση του πολυαιθυλενίου (PE) από τις προνύμφες του σκώρου κεριού (*Galleria mellonella*). Περαιτέρω έρευνα από μια ερευνητική ομάδα με έδρα στην Κίνα και τις Ηνωμένες Πολιτείες προσδιόρισε το στέλεχος YP1 του *Bacillus* sp. ως το βακτήριο που αποικοδομεί το πολυαιθυλένιο και είναι υπεύθυνο

για την αποικοδόμηση της πολυαιθυλενίου (PE) σε ινδικούς αλευροσκώληκες. Μια σχετική μελέτη από την ίδια ομάδα εντόπισε βακτήρια που συνδέονται με τα γένη *Citrobacter* και *Kosakonia* ως κύριους αποικοδομητές για το PE και το PS στα έντερα του *Tenebrio molitor*. Επομένως, η διαδικασία της λείανσης μεγαλύτερων πλαστικών κομματιών σε μικρότερα μέρη μπορεί να προσφέρει μια λύση για τη βιοαποικοδόμηση των πλαστικών από μικροοργανισμούς. Η αύξηση της επιφάνειας μπορεί να διευκολύνει την προσκόλληση των μικροοργανισμών στις επιφάνειες του πλαστικού, επιτρέποντας τους να ξεκινήσουν τη διαδικασία της βιοαποικοδόμησης. (Rajendran et al., 2015)

4. Ένζυμα που εμπλέκονται στην πλαστική βιοαποικοδόμηση

Γενικά τα ένζυμα που εμπλέκονται στην πλαστική βιοαποικοδόμηση χωρίζονται σε δύο κατηγορίες, τα εξωκυτταρικά και ενδοκυτταρικά ένζυμα. Τα εξωκυτταρικά ένζυμα έχουν μελετηθεί περισσότερο καθώς παρουσιάζουν μία ευρεία κλίμακα δραστηριότητας. Εμπλέκονται κυρίως στον αποπολυμερισμό των μεγάλων αλυσίδων άνθρακα των πλαστικών σε μικρότερα κομμάτια, δηλαδή σε ένα μείγμα ολιγομερών, διμερών και μερικές φορές, μονομερών. Τα εξωκυτταρικά ένζυμα που εμπλέκονται στη βιοαποικοδόμηση των πλαστικών ενεργούν στη διεπαφή μεταξύ της στερεής και της υγρής φάσης. Αυτά τα ένζυμα μπορούν να αντιδρούν με τα μακρομόρια που βρίσκονται στην επιφάνεια του πλαστικού, εκεί όπου γίνεται η επεξεργασία και ο αποπολυμερισμός του πλαστικού υλικού. Αυτές οι αντιδράσεις μπορούν να διαδραματίσουν σημαντικό ρόλο στη διάσπαση και αποικοδόμηση των πλαστικών. Υπήρξαν επίσης διαφορετικά σχήματα ταξινόμησης για αυτά τα ένζυμα όπως ανάλογα με το πολυμερές στο οποίο δρουν, δηλαδή πολυαιθυλένιο, πολυουρεθάνη, τερεφθαλικό πολυαιθυλένιο, πολυστυρένιο και νάιλον. (Amobonye et al., 2021)

4.1 Ένζυμα αποικοδόμησης πολυαιθυλενίου (PE)

Το πολυαιθυλένιο (PE) είναι ένα πολυμερές υλικό που αποτελείται από μακρές αλυσίδες αιθυλενίου. Υπάρχουν δύο κύριες μορφές του, το πολυαιθυλένιο υψηλής πυκνότητας (HDPE) και το πολυαιθυλένιο χαμηλής πυκνότητας (LDPE). Το PE παράγεται με χημικό πολυμερισμό του αιθανίου και είναι εξαιρετικά μεταβλητό, καθώς οι πλευρικές αλυσίδες μπορούν να προσαρμοστούν ανάλογα με τη διαδικασία κατασκευής. Το πολυαιθυλένιο (PE) χρησιμοποιείται ευρέως στη βιομηχανία συσκευασίας ως ένα από τα κυριότερα υλικά συσκευασίας. Παγκοσμίως, παράγονται περισσότεροι από 100 εκατομμύρια τόνοι PE ετησίως. Μελέτες έχουν δείξει ότι ένας μεγάλος αριθμός βακτηρίων βοηθά στον βιοπολυμερισμό των πλαστικών. Μεταξύ αυτών ήταν Gram-αρνητικά είδη που συνδέονται με τα γένη *Pseudomonas*, *Ralstonia*, και *Stenotrophomonas* αλλά και πολλά Gram-θετικά βακτήρια όπως για παράδειγμα *Rhodococcus*, *Staphylococcus*, *Streptomyces*, *Bacillus*, και άλλα. Επιπλέον, αναφέρθηκαν και μερικά γένη μυκήτων που σχετίζονται με υποτιθέμενη αποικοδόμηση του πολυαιθυλενίου. Αυτά περιελάμβαναν *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium*, και άλλα. Βιοκαταλύτες που αποικοδομούν πολυαιθυλένιο έχουν εντοπιστεί σε διάφορες πηγές, συμπεριλαμβανομένων ακτινομυκητικών, βακτηριακών και μυκητιακών

πηγών. Αυτοί οι βιοκαταλύτες περιλαμβάνουν υδροξυλάσες, λακκάσες, υπεροξειδάσες και αναγωγάσες. Παραδείγματα περιλαμβάνουν την υδροξυλάση αλκανίου που εντοπίζεται σε μύκητες όπως το *Phanerochaete chrysosporium* και το *Trametes versicolor*, καθώς και την υδροξυλάση αλκανίου που παράγεται από το *Pseudomonas sp. E4*. Επιπλέον, η ρουμπρεδοξίνη και η αναγωγή ρουμπρεδοξίνης σε συνδυασμό με την υδροξυλάση αλκανίου που βρέθηκε στο *Pseudomonas aeruginosa*, είναι υπεύθυνες για την αποικοδόμηση του χαμηλού μοριακού βάρους πολυαιθυλενίου. Ακόμα, μερικές μελέτες συνέδεσαν τα μικρόβια που αποικοδομούν το πολυαιθυλένιο με το πολύπλοκο μικροβίωμα του εντέρου των ασπόνδυλων. Τέλος, άλλοι βιοκαταλύτες όπως οι λακκάσες από ακτινομύκητες και μύκητες όπως το *Aspergillus flavus* και το *Pleurotus ostreatus*, έχουν επίσης ανιχνευθεί να συμβάλλουν στην υποβάθμιση του πολυαιθυλενίου. (Jakubowicz, I., 2003)

4.2 Ένζυμα αποικοδόμησης πολυουρεθάνης (PU)

Τα πολυουρεθάνια (PU) μπορούν να παραχθούν χρησιμοποιώντας διάφορες πολυαιθερικές ή πολυεστερικές πολυόλες. HPU αποτελεί ένα πολυμερές των οργανικών μονάδων που συνδέονται με καρβαμίδικά άλατα. Επιπλέον η ενσωμάτωση αρωματικών δακτυλίων στη δομή επηρεάζει τις φυσικές και χημικές ιδιότητες του πολυμερούς. HPU είναι ευρέως χρησιμοποιούμενο στην παραγωγή αφρών, μονωτικών υλικών, υφασμάτων επικαλύψεων και χρωμάτων για προστασία από τη διάβρωση. Καταγράφεται ότι παράγονται πάνω από 27 εκατομμύρια τόνοι PU ετησίως, καταλαμβάνοντας έτσι την πέμπτη θέση ανάμεσα στα πιο συχνά παραγόμενα συνθετικά πολυμερή. Η βιοαποικοδόμησης πολυουρεθάνης (PU) έχει επιτευχθεί είτε από βακτήρια είτε από μύκητες. Διάφορα ένζυμα, συμπεριλαμβανομένων των κατινινασών, εστερασών, λιπασών, λακκασών, περοξειδασών, πρωτεασών και ουρεασών από βακτηριακές και μυκητιακές πηγές, έχουν αποδειχθεί ότι διαθέτουν ικανότητες αποικοδόμησης πολυουρεθάνης. Τα ένζυμα αποδείχθηκε ότι είναι υπεύθυνα για το μεταβολισμό διαφόρων ενδιάμεσων PU και περιελάμβαναν διαφορετικές διοξυγενάσες, αποκαρβοξυλάσες, αφυδρογονάσες, τρανσφεράσες, λιγάσες, υδρολάσες, ισομεράσες και υπεροξειδάσες. Σχετικά με τα βακτήρια που έχουν τη δυνατότητα να αποικοδομήσουν την πολυουρεθάνη, οι Gram- αρνητικοί *Beta proteobacteria* από το γένος *Pseudomonas* έχουν συνδεθεί συχνότερα με την διαδικασία. Ένα από τα πρώτα ένζυμα που αναγνωρίστηκε ως ενεργό στην αποικοδόμηση της PU ήταν η λιπάση PueB από την *Pseudomonas chlororaphis*. Ακόμα, μελέτες έδειξαν ότι ο μικροοργανισμός *Pseudomonas putida* υποβαθμίζει τη PU σε σχετικά υψηλά ποσοστά. Το βακτήριο χρειάστηκε 4 ημέρες για να αναπτυχθεί και να καταναλώσει τη προστιθέμενη κολλοειδής PU. Ένα άλλο παράδειγμα προέρχεται από το *Comamonas acidovorans* TB-35. Αυτό το στέλεχος παράγει ένα PU-δραστικό ένζυμο που είναι μια εστεράση και το οποίο ονομάστηκε PudA. Το PudA παρουσιάζει έναν υδρόφοβο τομέα δέσμευσης επιφάνειας PU και έναν ξεχωριστό καταλυτικό τομέα, ο οποίος θεωρείται απαραίτητος για την υποβάθμιση του PU. Επιπλέον, υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις ότι ορισμένα απομονωμένα στελέχη *B. subtilis* και *Alicyclophilus sp.* είναι σε θέση να αποικοδομήσουν τη PU. (Danso et al., 2019)

Παρά τη σταθερή αύξηση του αριθμού των ενεργών βακτηρίων που μπορούν να αποικοδομήσουν πολυουρεθάνη (PU), έχει αναφερθεί ότι και μύκητες μπορούν να εκτελέσουν αυτήν τη διαδικασία. Συγκεκριμένα, εντοπίστηκε μια μεταλλο-υδρολάση 21-kDa από τη μικροσπορά *Pestalotiopsis* ως το ένζυμο που συμβάλλει στην αποικοδόμηση της PU. Πρόσθετες μελέτες έχουν προσδιορίσει τα *Fusarium solani*, *Candida ethanolica* και *Candida rugosa* ως βακτήρια που μπορούν να αποικοδομήσουν PU. Ενώ για το *C. rugosa*, ένα λιπασικό ένζυμο έχει αναγνωριστεί ως το κύριο ένζυμο που εμπλέκεται στον μεταβολισμό της PU, δεν έχουν ακόμη εντοπιστεί ένζυμα για το *C. ethanolica* και το *F. solani*. Άλλοι μύκητες που έχουν αναφερθεί περιλαμβάνουν τα είδη του συμπλέγματος *Cladosporium cladosporioides*, συμπεριλαμβανομένων των *Cladosporium pseudocladosporioides*, *Cladosporium tenuissimum*, *Cladosporium asperulatum* και *Cladosporium montecillanum*. Επιπλέον, τρία άλλα είδη ταυτοποιήθηκαν ως *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium chrysogenum* και *Aspergillus flavus*. Στην περίπτωση του *A. flavus*, έχει βρεθεί ότι οι εκκρινόμενες εστεράσες είναι υπεύθυνες για την αποικοδόμηση. Αξίζει να σημειωθεί ότι τα προαναφερθέντα ενεργά ένζυμα και οργανισμοί δρούσαν όλα στην εστεροσυνδεδεμένη πολυουρεθάνη. Θεωρείται ότι η καρβονυλική ομάδα που υπάρχει στην εστεροσυνδεδεμένη PU τα καθιστά πιο ευάλωτα στην υδρόλυση που προκαλείται από ενζυματικές δραστηριότητες, σε αντίθεση με την αιθεροσυνδεδεμένη PU. (Magnin, A. et al., 2019)

4.3 Τερεφθαλικά ένζυμα αποικοδόμησης του πολυαιθυλενίου (PET)

Το τερεφθαλικό πολυαιθυλένιο (PET) χρησιμοποιείται κυρίως για την παραγωγή φιαλών PET, φύλλου PET και ινών στην κλωστοϋφαντουργία. Το PET αποτελεί ένα πολικό, γραμμικό πολυμερές με επαναλαμβανόμενες μονάδες από αρωματικό τερεφθαλικό οξύ και αιθυλενογλυκόλη. Το μονομερές PET είναι γνωστό και ως τερεφθαλικός δις(2-υδροξυαιθυλεστεράς) (BHET). Το PET είναι θερμοπλάστης και εν μέρει κρυσταλλικό. Η ετήσια παραγωγή PET υπερβαίνει τα 30 εκατομμύρια τόνους από το 2017. Μέχρι στιγμής, μόνο λίγα βακτήρια και μύκητες έχουν περιγραφεί για τη μερική αποικοδόμηση του PET σε ολιγομερή ή μονομερή. Παρατηρείται ότι το χαρακτηριστικό για την υποβάθμιση του PET φαίνεται να περιορίζεται σε λίγα βακτηριακά γένη και τα περισσότερα απομονωμένα βακτηριακά στελέχη με δυνατότητα υποβάθμισης του PET ανήκουν στη Gram -θετική ομάδα *Actinobacteria*. Από την πρώτη περιγραφή της ενζυματικής υδρόλυσης πολυμερών PET με τη χρήση υδρολασών *Thermobifida fusca*, πολλά άλλα ένζυμα συμπεριλαμβανομένων των κατινασών, εστερασών, λιπάσων και καρβοξυλεστεράσεων, έχουν αποδειχθεί ότι διαθέτουν ικανότητα αποικοδόμησης του PET. Ίσως ένα από τα πιο μελετημένα πλαστικά αποικοδομητικά ένζυμα είναι η PETase, μια αρωματική πολυεστεράση, που προέρχεται από το *Ideonella sakaiensis* 201-F6 και διαθέτει βασική πτυχή υδρολάσης α/β. Επίσης αναφέρεται ότι το βακτήριο *I. sakaiensis* χρησιμοποιεί το PET σαν πηγή ενέργειας και άνθρακα. Παρά το γεγονός ότι τα ένζυμα του *I. sakaiensis* είναι τα πιο καλά μελετημένα μοντέλα, άλλα ένζυμα και οργανισμοί έχουν αναγνωριστεί ως ισχυροί αποικοδομητές του PET. Επί του παρόντος, τέσσερα ένζυμα από είδη *Thermobifida*, ένα από *Saccharomonospora* και ένα από το γένος *Thermomonospora* είναι γνωστό ότι δρουν στο PET. Αυτά τα ακτινοβακτηριακά ένζυμα είναι συχνά εξαρτώμενα από το Ca^{2+} , ειδικά όσον αφορά τη θερμική τους σταθερότητα.

Συνοπτικά, οι PETασες αντιπροσωπεύουν την καλύτερα διερευνημένη και μελετημένη κατηγορία ενζύμων σε σχέση με την υδρόλυση συνθετικών πολυμερών. (Austin, H.P. et al., 2018)

4.4 Ένζυμα αποικοδόμησης πολυστυρενίου (PS)

Το πολυμερές πολυστυρολίου (PS), που περιλαμβάνει πολύ (1-φαινυλαιθενίου) μονομερή, αποτελεί ένα δημοφιλές συνθετικό πολυμερές στις βιομηχανίες συσκευασίας, καθώς και σε πολλές καθημερινές εφαρμογές όπως θήκες CD, πλαστικά μαχαιροπίρουνα, και πιάτα Petri. Το 2016 παρήχθησαν περίπου 14 εκατομμύρια τόνοι αυτού του πολυμερούς. Δυστυχώς, δεν υπάρχει κανένα ένζυμο γνωστό σήμερα που να μπορεί να αποικοδομήσει το πολυμερές υψηλού μοριακού βάρους. Αρκετά βακτήρια έχουν αναφερθεί ότι σχηματίζουν βιοφίλμ σε μεμβράνες και σωματίδια πολυστυρενίου, επιδρώντας έτσι στην αποικοδόμηση του πολυμερούς. Σε πολλές μελέτες, έχει παρατηρηθεί κυρίως η απώλεια βάρους, ωστόσο δεν έχουν συνδεθεί ένζυμα με την διαδικασία αποπολυμερισμού. Παρότι δεν έχει επιβεβαιωθεί ότι κάποιο βακτήριο αποικοδομεί το πολυμερές πολυστυρένιο, γνωρίζουμε ότι υπάρχει ένας μεγαλύτερος αριθμός βακτηριακών γενών που είναι ικανά να μεταβολίζουν το μονομερές στυρένιο ως μοναδική πηγή άνθρακα. Η αποικοδόμηση του στυρενίου στα βακτήρια έχει μελετηθεί στα *Pseudomonas*, *Xanthobacter*, *Rhodococcus*, *Corynebacterium*, και άλλα. Άλλα ένζυμα που συμμετέχουν στο μεταβολισμό του στυρενίου, το μονομερές του πολυστυρενίου, περιλαμβάνουν τα εξής: μονοοξυγενάση στυρολίου, ισομεράση οξειδίου στυρολίου, αφυδρογονάση φαινυλακεταλδεϋδης και λιγάση φαινυλακετυλίου συνένζυμου A. Ακόμα έχει βρεθεί ότι μια εξωκυτταρική εστεράση από το *Lentinus tigrinus* μπορεί να διασπά το PS. Επιπλέον, ορισμένες πολυμεράσες, οι οποίες προέρχονται από είδη *Bacillus* και *Pseudomonas*, έχουν επίσης παρατηρηθεί ότι είναι υπεύθυνες για την αποικοδόμηση του PS. (Ho B.T. et al., 2018)

4.5 Ένζυμα αποικοδόμησης νάιλον (PA)

Νάιλον ή αλλιώς πολυαμίδιο είναι ένα πολυμερές επαναλαμβανόμενων μονάδων αλειφατικών, ημιαρωματικών ή αρωματικών μορίων που συνδέονται μέσω αμιδίων δεσμών. Τα συνθετικά πολυαμίδια χρησιμοποιούνται κυρίως σε κλωστοϋφαντουργικά προϊόντα, στην αυτοκινητοβιομηχανία, χαλιά και αθλητικά είδη. Μέχρι τώρα δεν έχει αναφερθεί κάποιος γνωστός μικροοργανισμός που να μπορεί να αποικοδομήσει πλήρως το πολυμερές υψηλού μοριακού βάρους. Ωστόσο, έχουν διεξαχθεί αρκετές μελέτες για βακτήρια που μπορούν να δράσουν είτε σε γραμμικά είτε σε κυκλικά oligομερή νάιλον, με μικρά μήκη αλυσίδας. Σε μία από τις αυτές τις μελέτες, διάφορα βακτήρια περιγράφηκαν να αναπτύσσονται σε διάφορα oligομερή που προέρχονται από την παραγωγή νάιλον. Το στέλεχος *KI72* του είδους *Flavobacterium sp.* αρχικά περιγράφηκε ως ένα από τα πρώτα βακτήρια που αναπτύσσονται σε μείγματα oligομερών νάιλον. Αργότερα, αυτό το στέλεχος μετονομάστηκε σε *Achromobacter guttatus KI72* και στη συνέχεια πρόσφατα ονομάστηκε *Arthrobacter sp.* στέλεχος *KI72*. Το *Arthrobacter* που αποικοδομεί το oligομερές του νάιλον φέρει στο

γονιδιώμά του διάφορα ένζυμα, όπως υδρολάσες και αμινοτρανσφεράσες, που συμμετέχουν στην αρχική αποικοδόμηση των ολιγομερών και στην επόμενη μεταβολή τους. Για την αρχική υδρόλυση των κυκλικών και γραμμικών 6-αμινοεξανικών ολιγομερών του νάιλον, τρία κύρια ένζυμα είναι απαραίτητα. Το πρώτο είναι μια κυκλική-διμερής υδρολάση (NylA), το δεύτερο είναι μια διμερής υδρολάση (NylB), ενώ το τρίτο είναι μια ενδο-τύπου ολιγομερής υδρολάση (NylC). Μόλις υδρολυθούν τα ολιγομερή, τα μονομερή μεταβολίζονται από διαφορετική αμινοτρανσφεράση. Επιπλέον, μελέτες έχουν δείξει ότι ο *Pseudomonas aeruginosa* και το εξελιγμένο στέλεχος του PAOI είναι σε θέση να μετατρέψει το ολιγομερές του νάιλον. (Negoro, S., 2000)

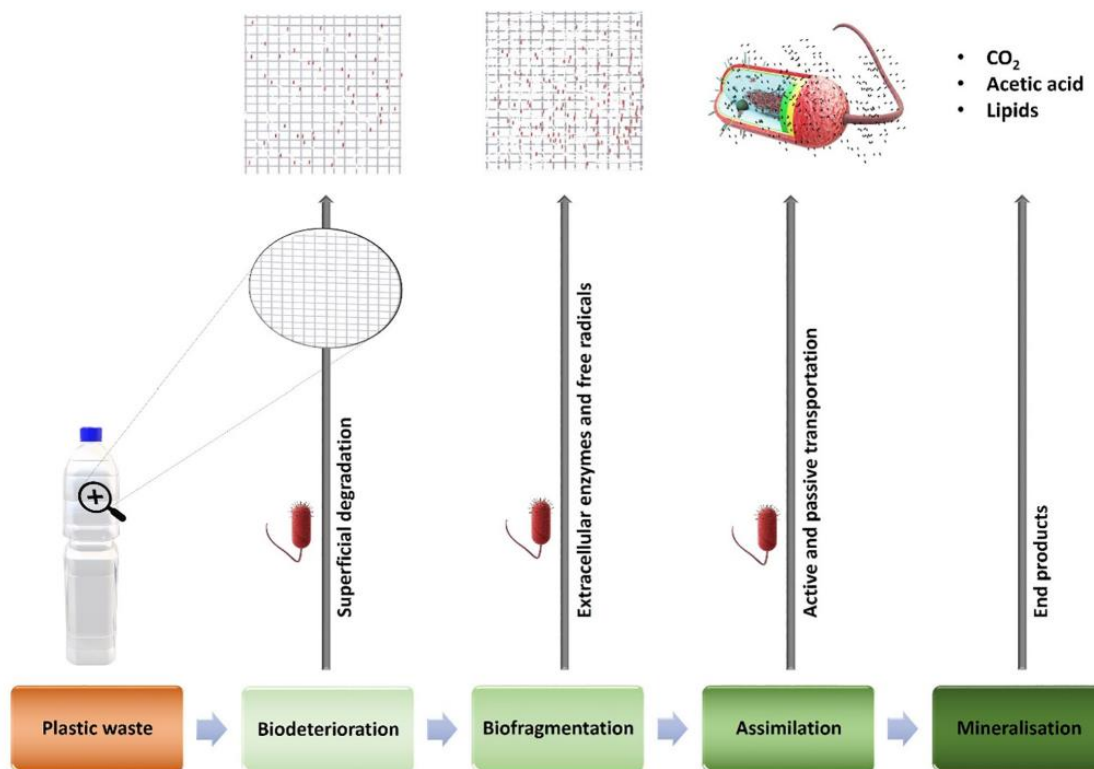
Πιο πρόσφατα, διάφορα θαλάσσια βακτήρια αναφέρθηκαν ότι δρουν στο νάιλον με βάση τη μείωση του βάρους του. Συγκεκριμένα, τα θαλάσσια βακτήρια που μπορούν να αποικοδομήσουν τα πλαστικά ήταν τα *Bacillus cereus*, *Bacillus sphaericus*, *Vibrio furnissii* και *Brevundimonas vesicularis*. Το μόνο ένζυμο που έχει μέχρι στιγμής αναφερθεί ότι δρα σε ίνες νάιλον υψηλού μοριακού βάρους ταξινομήθηκε ως υπεροξειδάση εξαρτώμενη από μαγγάνιο και προήλθε από μύκητα λευκής σήψης. (Yasuhira et al., 2007)

5. Μικροβιακοί μηχανισμοί αποικοδόμησης πλαστικών

Η αερόβια βιοδιάσπαση των πλαστικών από τα βακτήρια συμβαίνει σε τέσσερα στάδια (Εικόνα 6):

1. Βιοφθορά: Στο πρώτο στάδιο, τα οξειδωτικά ένζυμα που απελευθερώνονται από μικροοργανισμούς ή προκαλούνται από εξωτερικούς παράγοντες όπως η έκθεση στο ηλιακό φως (υπεριώδης), προκαλούν τη δημιουργία καρβονυλικών ομάδων, με την επόμενη οξείδωση να μειώνει τον αριθμό των καρβονυλικών ομάδων και να παράγει καρβοξυλικά οξέα.
2. Βιοθραυματισμός: Στο δεύτερο στάδιο, πραγματοποιείται υδρόλυση ή/και θρυμματισμός των αλυσίδων πολυμερούς άνθρακα, απελευθερώνοντας ενδιάμεσα προϊόντα με την μεσολάβηση ενζύμων που εκκρίνονται από μικροοργανισμούς.
3. Αφομοίωση: Στο τρίτο στάδιο, τα μικρά θραύσματα υδρογονανθράκων που απελευθερώνονται από τον βιοθραυματισμό απορροφώνται και μεταβολίζονται από βακτήρια ή μύκητες.
4. Μετατροπή σε ανόργανες ενώσεις: Στο τέταρτο στάδιο, γίνεται η μεταφορά των προϊόντων υδρόλυσης εντός του κυτταρικού τοιχώματος και η ενδοκυτταρική μετατροπή προϊόντων υδρόλυσης σε μικροβιακή βιομάζα με την απελευθέρωση διοξειδίου του άνθρακα και νερού που αποκρίνεται από το κύτταρο.

Οι μικροοργανισμοί διασπούν διαφορετικές ενώσεις σε απλούστερες μορφές μέσω βιοχημικού μετασχηματισμού. Η βιοαποικοδόμηση των πλαστικών πολυμερών μπορεί να παρατηρηθεί μέσω μεταβολής των φυσικών ιδιοτήτων των πολυμερών όπως για παράδειγμα τη μοριακή μείωση βάρους, την απώλεια μηχανικής αντοχής και την αλλαγή στις ιδιότητες της πλαστικής επιφάνειας. (Amobonye et al., 2021)



Εικόνα 5: Τα στάδια της πλαστικής βιοαποικοδόμησης (Amobonye et al., 2021)

5.1 Βιοφθορά

Η διαδικασία της βιοφθοράς αποτελεί το πρώτο στάδιο της βιοδιάσπασης και ξεκινά από την προσκόλληση και τον αποικισμό μικροοργανισμών στην επιφάνεια του πολυμερούς υλικού. Ο βασικός στόχος αυτών των μικροοργανισμών είναι η μείωση της αντοχής και της ανθεκτικότητας των πλαστικών υλικών. Η βιοφθορά προκαλείται από τις χημικές και φυσικές δράσεις των μικροοργανισμών, καθώς και άλλων βιολογικών παραγόντων. Αυτές οι δράσεις έχουν ως αποτέλεσμα την επιφανειακή αποδόμηση του πλαστικού πολυμερούς και την τροποποίηση των χημικών, μηχανικών και φυσικών ιδιοτήτων των πολυμερών. Οι αλλαγές που παρατηρούνται στα πολυμερή κατά τη διάρκεια της βιοαποικοδόμησης ενισχύονται επίσης από την παρατεταμένη έκθεσή τους σε εξωτερικές συνθήκες, όπως το φως, η θερμοκρασία και οι χημικές ουσίες στο περιβάλλον. Η εισαγωγή υδρόφιλων λειτουργικών ομάδων σε πλαστικές επιφάνειες είναι συχνά απαραίτητη για την προώθηση της προσκόλλησης των μικροοργανισμών. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι τα πλαστικά είναι φυσικά υδρόφοβα, δηλαδή απωθούν το νερό, ενώ οι μικροοργανισμοί είναι συχνά υδρόφιλοι και χρειάζονται υδρόφιλες επιφάνειες για να προσκολληθούν. Έτσι, η εισαγωγή υδρόφιλων λειτουργικών ομάδων στις πλαστικές επιφάνειες επιτρέπει την αυξημένη αλληλεπίδραση με τους μικροοργανισμούς και την καλύτερη προσκόλλησή τους. Επιπλέον, ο σχηματισμός βιοφίλμ είναι κρίσιμος για την αύξηση της αλληλεπίδρασης μεταξύ της πολυμερούς επιφάνειας και των βακτηρίων, ιδίως για πλαστικά με υψηλότερη επιφανειακή υδροφοβία, όπως το πολυαιθυλένιο. Τα βακτήρια που σχηματίζουν βιοφίλμ, όπως το *Pseudomonas*, έχουν παρατηρηθεί να προσκολλώνται πιο έντονα και να αποικοδομούν το πολυαιθυλένιο

χαμηλής πυκνότητας σε σύγκριση με άλλα βακτήρια, πιθανότητα λόγω της βιοφιλικής τους φύσης και της ικανότητάς τους να δημιουργούν βιοφίλμ. (Nauendorf, A. et al., 2016)

Τα μυκητιακά κύτταρα, αντίθετα, είναι εξειδικευμένα να αναπτύσσονται σε ποικίλες επιφάνειες που βρίσκονται στο περιβάλλον, και έχει αποδειχθεί ότι προσκολλώνται σε πλαστικές επιφάνειες πολυμερών μέσω των δομικών τους χαρακτηριστικών. Κατά την προσκόλληση και την επακόλουθη ανάπτυξή τους στις πλαστικές επιφάνειες, παρατηρείται τοπική διόγκωση, με αποτέλεσμα τη σημαντική μείωση των μηχανικών ιδιοτήτων του πολυμερούς. Με την προσκόλληση των μυκητιακών κυττάρων στην επιφάνεια του πλαστικού, αυτά συνεχίζουν να αναπτύσσονται χρησιμοποιώντας το πολυμερές ως μοναδική πηγή άνθρακα. Μελέτες έχουν δείξει ότι η προσκόλληση και η αρχική ανάπτυξη των μυκήτων μπορεί να ενισχυθεί από την παρουσία πρόσθετων συστατικών στα πολυμερή, όπως πλαστικοποιητές που είναι πιο προσβάσιμοι και ευκολότερα μεταβολίσιμοι από τα μυκητιακά κύτταρα.

Τέλος, έχει παρατηρηθεί ότι οι εξωπολυσακχαρίτες έχουν σημαντικό ρόλο κατά τη διάρκεια της προσκόλλησης και της βιοφθοράς των πλαστικών πολυμερών, προωθώντας την ισχυρότερη πρόσφυση. Αυτά τα εξωκυτταρικά πολυμερή επίσης λειτουργούν ως επιφανειοδραστικές ουσίες, διευκολύνοντας τις ανταλλαγές μεταξύ υδρόφιλων και υδρόφοβων φάσεων, προκειμένου να ευνοηθεί ο ρυθμός διείσδυσης των μικροβιακών ειδών. (Anjana, K. et al., 2020)

5.2 Βιοθραυματισμός

Ο βιοθραυματισμός είναι το επόμενο στάδιο το οποίο περιλαμβάνει τον αποπολυμερισμό βιοαλλοιωμένων πλαστικών πολυμερών σε μικρότερες μονάδες, με τη δράση εξωκυτταρικών ενζύμων και ελεύθερων ριζών που παράγονται από τους μικροοργανισμούς. Η διαδικασία αυτή περιλαμβάνει δύο κύριες αντιδράσεις: τη μείωση του μοριακού βάρους του πολυμερούς και την οξειδωση των μορίων χαμηλότερου βάρους. Αυτές οι αντιδράσεις είναι απαραίτητες για να διευκολυνθεί η επακόλουθη δράση των μικροβιακών ενζυματικών συστημάτων, τα οποία συνήθως είναι ικανά να επιτεθούν σε ενώσεις χαμηλότερου μοριακού βάρους. Αυτά τα ένζυμα κυρίως καταλύουν την υδρολυτική διάσπαση των πολυμερών, καθώς οι γλυκοσιδικοί, εστερικοί και πεπτιδικοί δεσμοί μέσα στα πλαστικά υποβάλλονται σε υδρολυτική πυρηνόφιλη επίθεση στον καρβονυλικό άνθρακα. Αυτές οι υδρολυτικές αντιδράσεις συμβαίνουν μέσω δύο διαφορετικών τρόπων επίθεσης: των εξω- και των ενδο-επιθέσεων, που οδηγούν σε διάφορα προϊόντα. Ενώ το πρώτο οδηγεί σε συστατικά ολιγομερή ή μονομερή, όπως η αιθυλενογλυκόλη και το τереφθαλικό οξύ, τα οποία το μικρόβιο μπορεί εύκολα να αφομοιώσει στο κύτταρο, τα προϊόντα των ενδο-επιθέσεων πρέπει να υποστούν περαιτέρω αποικοδόμηση πριν μπορέσουν να αφομοιωθούν από τους μικροοργανισμούς. Τέλος, θεωρείται ότι διαφορετικές ανόργανες και οργανικές ενώσεις που απελευθερώνονται από τους μικροοργανισμούς μπορούν επίσης να επηρεάσουν τη διευκόλυνση της διαδικασίας βιοθραυματισμού. Διάφορες ανόργανες ενώσεις, όπως η αμμωνία, το υδροθείο, τα νιτρώδη θειοθειικά άλατα, καθώς και οργανικά οξέα όπως το κιτρικό, φουμαρικό, γλυκονικό, γλουταρικό, γλυοξαλικό, οξαλικό οξύ κ.λπ., έχουν παρατηρηθεί να απομακρύνουν κατιόντα

από την επιφάνεια του πολυμερούς, σχηματίζοντας σταθερά σύμπλοκα που μπορούν να προκαλέσουν επιφανειακή διάβρωση και θραυματισμό. (Restrepo-Flórez, J.-M. et al., 2014)

5.3 Αφομοίωση

Το επόμενο βήμα της αποικοδόμησης είναι η αφομοίωση. Κατά την αφομοίωση οι ενώσεις χαμηλότερου μοριακού βάρους που παράγονται κατά τη διάρκεια του βιοθραυματισμού μεταφέρονται στο κυτταρόπλασμα του μικροοργανισμού κατά το στάδιο της αφομοίωσης. Αυτή η μεταφορά έχει αποδειχθεί ότι μπορεί να γίνει είτε παθητικά είτε ενεργητικά (Shahnawaz, M. et al., 2019) . Για παράδειγμα, το οκταδεκάνιο, ένα προϊόν αποικοδόμησης πλαστικών πολυμερών, έχει παρατηρηθεί να απορροφάται από την *Pseudomonas sp. DG17* με διαφορετικούς τρόπους ανάλογα με τη συγκέντρωση του. Σε υψηλές συγκεντρώσεις, απορροφάται μέσω συστημάτων παθητικής μεταφοράς, ενώ σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις, η αφομοίωσή του συμβαίνει μέσω ενεργειακά εξαρτώμενης ενεργού μεταφοράς. Ακόμα, διάφορα συστήματα μεταφοράς μεμβρανών έχουν αποδειχθεί ότι διευκολύνουν τη μετακίνηση αυτών των ουσιών στο κυτταρόπλασμα για περαιτέρω επεξεργασία. Ένας συγκεκριμένος μεταφορέας έχει παρατηρηθεί να είναι υπεύθυνος για την εσωτερική μεταφορά του τερεφθαλικού οξέος, ενός υδρολυτικού προϊόντος του τερεφθαλικού πολυαιθυλενίου (PET), στο *Comamonas spp.* Επίσης, έχει δειχθεί ότι οι πορίνες διαθέτουν την ικανότητα να μεταφέρουν την πολυαιθυλενογλυκόλη, ένα πλαστικό αποικοδομητικό προϊόν, στο κυτταρόπλασμα για περαιτέρω βιομετατροπή. (Amobonye et al., 2021)

5.4 Μετατροπή σε ανόργανες ενώσεις

Το τελευταίο βήμα της βιοαποικοδόμησης είναι η μετατροπή σε ανόργανες ενώσεις. Μετά την αφομοίωση και μόλις αυτά τα πλαστικά παράγωγα μεταφερθούν επιτυχώς στα κύτταρα, υποβάλλονται σε σειρά ενζυματικών αντιδράσεων που οδηγούν στην πλήρη αποικοδόμησή τους σε οξειδωμένους μεταβολίτες, συμπεριλαμβανομένων CO₂, N₂, CH₄ και H₂O. Το στάδιο ανοργανοποίησης μπορεί να είναι είτε αερόβιο είτε αναερόβιο, αλλά και στις δύο περιπτώσεις, απαιτεί τις δραστηριότητες διαφόρων ενζύμων που περιλαμβάνουν εστεράσες, λιπάσες, κιτανάσες, υπεροξειδάσες και λακκάσες. Η πλήρης ανοργανοποίηση των πλαστικών πολυμερών έχει αποδειχθεί με τεχνικές όπως η ισοτοπική ανίχνευση και ο ποσοτικός προσδιορισμός του CO₂. Εναλλακτικά, τα ενδιάμεσα προϊόντα μπορούν να διοχετευθούν σε διαφορετικές χημικές οδούς. Για παράδειγμα, η αποικοδόμηση του πολυαιθυλενίου έχει προταθεί να προχωρήσει μέσω του σχηματισμού οξικού οξέος, το οποίο μπορεί να εισέλθει στον κύκλο Krebs μέσω του σχηματισμού ακετυλο-CoA ή να διοχετευθεί στη δημιουργία λιπιδίων. Ακόμα, μελέτες έδειξαν ότι το στυρένιο, το μονομερές του πολυστυρενίου, οξειδώνεται σε φαινυλοξικό, το οποίο στη συνέχεια εισάγεται στον κύκλο του Krebs ως φαινυλοακετύλιο συνένζυμο Α για πλήρη μεταβολισμό. Τέλος ένα ακόμα παράδειγμα είναι ότι σύμφωνα με μελέτες για το *I. sakaiensis* αποκαλύφθηκε επίσης ότι το εσωτερικευμένο τερεφθαλικό οξύ μεταβολίζεται από την 1,2-διοξυγενάση TPA (TPADO) και την 1,2-διυδροξυ-3,5-κυκλοεξαδιενο-1,4-δικαρβοξυλική αφυδρογονάση (DCDDH) για την παραγωγή

πρωτοκατεχοϊκού οξέος (PCA) ως τελικό μόριο. Το PCA διέρχεται από μια σειρά ενζυματικών αντιδράσεων, συμπεριλαμβανομένης της PCA 3,4 διοξυγενάσης και της αφυδρογονάσης, για να σχηματίσει 2-πυρόνη-4,6-δικαρβοξυλικό οξύ. Αυτό το ενδιάμεσο προϊόν διοχετεύεται στον κύκλο του Krebs ως πυροσταφυλικό και οξαλοξικό οξύ, πριν από την τελική ανοργανοποίηση σε CO₂ και H₂O. (Alshehrei, F., 2017)

6. Παράγοντες που επηρεάζουν τη μικροβιακή βιοαποικοδόμηση των πλαστικών

Η μικροβιακή αποσύνθεση των πλαστικών είναι μια σχετικά σταδιακή διαδικασία που επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες, και απαιτούνται κατάλληλες συνθήκες προκειμένου να επιτευχθεί ένα μέγιστο αποτέλεσμα αποικοδόμησης. Κοινοί παράγοντες που επηρεάζουν την ταχύτητα της βιοαποικοδόμησης περιλαμβάνουν τον τύπο του πολυμερούς, τα είδη των μικροοργανισμών, τη θερμοκρασία, το pH, την υγρασία, τα επίπεδα οξυγόνου και διοξειδίου του άνθρακα, καθώς και εάν το πλαστικό έχει υποστεί προεπεξεργασία με υπεριώδη ακτινοβολία (UV) και προοξειδωτικά (Εικόνα 7).



Εικόνα 6: Παράγοντες που επηρεάζουν την πλαστική βιοαποικοδόμηση (Mohan et al., 2020)

6.1 Χαρακτηριστικά πολυμερών

Οι φυσικές ιδιότητες του πλαστικού πολυμερούς, όπως η κρυσταλλικότητα και η μορφολογία, μαζί με τη χημική δομή του πολυμερούς, επηρεάζουν σε μεγάλο βαθμό το ρυθμό της βιοαποικοδόμησης από τους μικροοργανισμούς. Η πολυμερής δομή των πλαστικών ποικίλλει, μερικά αποτελούνται από δεσμούς άνθρακα που συνδέονται με λειτουργικές ομάδες υδρολύσιμου εστέρα, ενώ άλλα αποτελούνται αποκλειστικά από δεσμούς άνθρακα χωρίς λειτουργικές ομάδες και είναι δύσκολο να αποικοδομηθούν. Τα πλαστικά PE, PP και PS είναι τα κλασικά παραδείγματα μη πολικών κρυσταλλικών πολυμερών που αποτελούνται από κορεσμένες αλυσίδες CH₂ και είναι γνωστό ότι είναι δύσκολα βιοαποικοδομήσιμα. Αντίθετα, τα πλαστικά με βάση τον πολυεστέρα συνήθως περιέχουν διπλούς δεσμούς άνθρακα και πολικές λειτουργικές ομάδες που μπορούν να αποικοδομηθούν ευκολότερα από τους μικροοργανισμούς. Επομένως, τα πλαστικά πολυμερή με υψηλότερο ποσοστό πλευρικών αλυσίδων και αυξημένη διακλάδωση έχουν συχνά λιγότερη δυσκολία για μικροβιακή αποικοδόμηση. Αυτό συμβαίνει επειδή το μη κρυσταλλικό τμήμα των πολυμερών είναι πιο ευαίσθητο στην ενζυματική αποδόμηση. Αυτό το τμήμα είναι πιο προσβάσιμο σε σχέση με το κρυσταλλικό τμήμα, καθιστώντας το πιο ευάλωτο στη δράση των μικροβιακών ενζύμων. Επομένως, υπάρχει μια αντίστροφη σχέση μεταξύ της κρυσταλλικότητας και του ρυθμού αποδόμησης. Η μείωση του ρυθμού μικροβιακής αποδόμησης με την αύξηση του μοριακού βάρους έχει επίσης αποδειχθεί, καθώς τα πολυμερή υλικά πρέπει να διασπαστούν και να μεταφερθούν μέσω της κυτταρικής μεμβράνης πριν μπορέσουν να μεταβληθούν από τα μικροβιακά ένζυμα. Έτσι, μικρότερες μονάδες πολυμερών, όπως μονομερή, διμερή και олиγομερή, μπορούν να αποικοδομηθούν πιο εύκολα και να μεταβληθούν σε ανόργανα προϊόντα. Αυτό έχει επιβεβαιωθεί από μελέτες που δείχνουν τη δράση της λιπάσης *Rhizopusdelemar* σε αυτήν τη διαδικασία. Επιπλέον, η θερμοκρασία τήξης του πολυμερούς (T_m) επηρεάζει έντονα το ρυθμό μικροβιακής αποικοδόμησης του. Έχει ανακαλυφθεί ότι υπάρχει αντίστροφη σχέση μεταξύ του T_m και του ρυθμού βιοαποικοδόμησης. Ακόμα, η υδροφιλία του υλικού ενισχύει την αρχική μικροβιακή αποικία των πλαστικών πολυμερών. Η δραστηριότητα των εξωκυτταρικών ενζύμων πιθανόν να αναστέλλεται σε υλικά με υψηλότερη υδροφοβία. Οι υδρόφιλες επιφάνειες, λόγω της αυξημένης διαβρεξιμότητάς τους, έχουν υψηλότερες επιφανειακές ενέργειες και προκαλούν χαμηλότερες γωνίες επαφής με το νερό. Αυτό προωθεί τη μικροβιακή προσκόλληση στην επιφάνεια του πολυμερούς και επιταχύνει τον ρυθμό αποικοδόμησης. Τέλος, η παρουσία και η δημιουργία πολικών λειτουργικών ομάδων σε πλαστικά πολυμερή λόγω περιβαλλοντικών παραγόντων διάβρωσης, όπως η έκθεση στην υπεριώδη ακτινοβολία (UV), έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της γωνίας επαφής με το νερό και, ως εκ τούτου, την αύξηση της υδροφιλίας και την επιτάχυνση του ρυθμού αποικοδόμησης. (Mohan et al., 2020)

6.2 Περιβαλλοντικοί παράγοντες

Τα χαρακτηριστικά κάθε περιβάλλοντος επηρεάζουν σημαντικά τον ρυθμό μικροβιακής δράσης. Οι συνθήκες όπως το φως, η θερμοκρασία, η υγρασία, το pH και η βιολογική δραστηριότητα έχουν διαπιστωθεί πως επηρεάζουν τη διάσπαση των δεσμών. Ο ρυθμός μικροβιακής δράσης θα ποικίλλει ανάλογα με το εάν βρισκόμαστε σε ξηρό περιβάλλον, υγρό

αέρα, χώρο υγειονομικής ταφής, κομπόστα, θαλάσσιο περιβάλλον και άλλα. Η μικροβιακή ανάπτυξη επηρεάζεται σημαντικά από παράγοντες όπως η θερμοκρασία και το pH του περιβάλλοντος (A. Muthukumar et al., 2015). Η βέλτιστη θερμοκρασία και pH είναι απαραίτητες για την αυξημένη ενζυματική δραστηριότητα. Επιπλέον, η κατάλληλη περιεκτικότητα υγρασίας και τα επίπεδα οξυγόνου επηρεάζουν επίσης σημαντικά την ανάπτυξη των μικροοργανισμών, την ενζυμική δραστηριότητα και τον ρυθμό αποικοδόμησης των πολυμερών. Η παρουσία υγρασίας στο περιβάλλον ενισχύει τη διαλυτότητα των πλαστικών πολυμερών και αυξάνει τον ρυθμό υδρόλυσης τους. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη σμίκρυνση των πλαστικών πολυμερών και την αύξηση των θέσεων μικροβιακής δράσης στις πολυμερείς αλυσίδες, οδηγώντας έτσι σε ενισχυμένη βιοαποικοδόμηση. Μελέτες πάνω σε αυτό το θέμα έδειξαν ότι η αποικοδόμηση των πλαστικών του θαλάσσιου περιβάλλοντος είναι σημαντικά υψηλότερη από ότι στην ξηρά, αν όλοι οι άλλοι παράγοντες παραμένουν σταθεροί. Ακόμα, έχει αποδειχθεί ότι η θερμική υποβάθμιση των πλαστικών επιταχύνεται σε υψηλές θερμοκρασίες. Στους χώρους υγειονομικής ταφής, όπου οι θερμοκρασίες μπορεί να φτάσουν τους 100°C, οι υψηλές θερμοκρασίες επιταχύνουν τους ρυθμούς αποδόμησης των πλαστικών, υπό την προϋπόθεση ότι υπάρχει επαρκής υγρασία και οξυγόνο. Αυτό διευκολύνει την πρόσβαση στις πλαστικές αλυσίδες μέσω θερμικών-οξειδωτικών διασπάσεων και υδρολυτικών διαδρόμων. Η αύξηση της κινητικής ενέργειας των ατόμων προκαλεί διαταραχή στην πολυμερή δομή και οδηγεί σε μοριακή διάσπαση των συστατικών της μακράς αλυσίδας. Επιπλέον, προηγούμενη έκθεση πλαστικών πολυμερών σε ισχυρούς οξειδωτικούς παράγοντες όπως η υπεριώδης ακτινοβολία, συμπυκνωμένο HNO₃, θερμότητα και όζον (O₃) πριν από την πραγματοποίηση της αποικοδόμησης αποδείχθηκε ότι ενισχύει σημαντικά το ρυθμό της διαδικασίας της βιοαποικοδόμησης. Τέλος, η θερμική αποικοδόμηση επηρεάζει πολλές φυσικές ιδιότητες των πολυμερών, όπως το μοριακό τους βάρος, την ολκιμότητα, την ευθραυστότητα και το αρχικό χρώμα. Μετά την επίδραση άλλων περιβαλλοντικών παραγόντων, όπως η υγρασία και ο οξυγόνο, η διάσπαση των δεσμών C-C και C-H ξεκινά τη διαδικασία αποικοδόμησης των πολυμερών μέσω μιας σειράς αντιδράσεων που περιλαμβάνουν τη δημιουργία ελεύθερων ριζών. (M. Fernandes et al., 2020)

6.3 Χημικά αντιδραστήρια και πρόσθετα

Τα πλαστικά πρόσθετα είναι υλικά που προστίθενται κατά τη διάρκεια της διαδικασίας κατασκευής που παρέχουν τη βέλτιστη απόδοση του υλικού όταν προσθέτονται και χρησιμοποιούνται. Τα πλαστικά πρόσθετα μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν για την τροποποίηση των χαρακτηριστικών του πολυμερούς για να προσδοθεί μια ορισμένη ιδιότητα από το πλαστικό για συγκεκριμένο σκοπό. Όταν χρησιμοποιούνται σωστά, τα πλαστικά πρόσθετα μπορούν να αυξήσουν τη μακροζωία των πλαστικών και να τα κάνουν καθαρότερα και ευκολότερα στην επεξεργασία. Ένα πλαστικό πρόσθετο μπορεί να είναι υγρό, σκόνη ή και τα δύο ταυτόχρονα. Κατά τη διάρκεια της διαδικασίας πλαστικής σύνθεσης, τα πρόσθετα, τα οποία είναι χημικές ουσίες που βοηθούν στην τροποποίηση του πλαστικού, συνδυάζονται με βασικό, ακατέργαστο πλαστικό υλικό για την επίτευξη απαιτήσεων χρώματος, ιδιοτήτων και απόδοσης. Τα πλαστικά πρόσθετα βοηθούν στην προστασία των πολυμερών κατά τη λειτουργική χρήση από πολλά από τα στοιχεία που βλέπουμε καθημερινά, προστατεύοντας

από ακραίες καιρικές συνθήκες και έκθεση από υπεριώδες φως ή νερό. Τα πρόσθετα μπορούν επίσης να παρέχουν προστατευτικά χαρακτηριστικά. Αυτό περιλαμβάνει χαρακτηριστικά όπως η επιβράδυνση φλόγας, η οποία είναι χρήσιμη με εφαρμογές πολυμερών που χρησιμοποιούνται σε αεροσκάφη, σκάφη αναψυχής, ηλεκτρικά, δίκτυα και κουτιά διακλάδωσης. (Danso et al., 2019)

Η παρουσία χημικών αντιδραστηρίων στις πολυμερείς δομές (πρόσθετα) ή στο περιβάλλον μπορεί να επηρεάσει τη βιοαποικοδομητική διαδικασία, ενεργοποιώντας, αναστέλλοντας ή καταργώντας τις λειτουργικές ομάδες, καθώς και την υδροφιλία ή την υδροφοβία των υλικών. Ενώ άλλα πρόσθετα χρησιμεύουν ως αναστολείς της μικροβιακής αποδόμησης, ένα αξιοσημείωτο παράδειγμα είναι ο δилаυρικός διβουτυλοκαρσιτερος. Αυτό το πλαστικό πρόσθετο, που προστίθεται στην πολυουρεθάνη (PU), έχει εξαιρετικά τοξικές ιδιότητες και έχει αντιμικροβιακές δράσεις, μειώνοντας έτσι τη μικροβιακή δράση στο πολυμερές. Επιπλέον, η παρουσία μιας εναλλακτικής και απλούστερης πηγής άνθρακα στο περιβάλλον έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζει τη μικροβιακή δράση στα πλαστικά. Αυτή η επίδραση ασκείται μέσω της καταστολής του καταβολίτη, όπως παρατηρήθηκε όταν η αποικοδόμηση ενός παραγώγου πολυαιθυλενίου από το στέλεχος *Pseudomonas* αυξήθηκε κατά 80% κατά την απομάκρυνση της γλυκόζης από το μέσο. (Fotopoulou et al., 2017)

Από την άλλη πλευρά, η βιοαποικοδόμηση ενισχύθηκε με την προσθήκη βιοδιασπώμενων προσθέτων όπως το άμυλο και το παλμιτικό οξύ, τα οποία λειτούργησαν ως πηγές θρεπτικών συστατικών για τα μικρόβια. Επιπλέον, οξειδωτικοί παράγοντες όπως το υδροχλωρικό οξύ, το υπεροξείδιο του υδρογόνου, το θειικό οξύ και το νιτρικό οξύ έχουν επίσης αποδειχθεί ότι οξειδώνουν τις πολυμερείς επιφάνειες με την προσθήκη ριζών της ομάδας -OH, ενισχύοντας έτσι τη βιοαποικοδόμηση. Επίσης, η προσθήκη επιφανειοδραστικών ουσιών όπως το Tween 80 και το δωδεκυλοθειικό νάτριο έχει επίσης παρατηρηθεί να προάγει τη μικροβιακή αποικοδόμηση προκαλώντας αύξηση της υδροφιλικότητας των επιφανειών του πολυμερούς. Η σημαντική αύξηση του ρυθμού ανοργανοποίησης και της δέσμευσης του άνθρακα που παρατηρήθηκε κατά τη βιοδιάσπαση του πολυαιθυλενίου αποδόθηκε στην εισαγωγή προσθέτων που προκάλεσαν ουσιαστικά την οξείδωση του πολυμερούς. (Jayaprakash, V et al., 2018)

7. Ανάπτυξη νέων ενζύμων για τη βιοαποικοδόμηση PET

Παρά τα πολλά οφέλη των συνθετικών πολυμερών (πλαστικών), η ανεπαρκής διαχείρισή τους στο τέλος του κύκλου ζωής τους αποτελεί παγκόσμια απειλή για το περιβάλλον, επηρεάζοντας τα οικοσυστήματα παγκοσμίως και αποτελώντας σοβαρή προειδοποίηση για την υγεία. Το τереφθαλικό πολυαιθυλένιο (PET) είναι ένα από τα σημαντικότερα πολυμερή όσον αφορά τον όγκο και αντιπροσωπεύει το 18% της παγκόσμιας παραγωγής πλαστικού. Οι τρέχουσες στρατηγικές θερμομηχανικής ανακύκλωσης PET έχουν σημαντικά μειονεκτήματα, όπως η περιορισμένη προμήθεια αποβλήτων και η μείωση των μηχανικών ιδιοτήτων τους κατά τη διαδικασία εξώθησης. Κατά συνέπεια, απαιτούνται επείγοντως πιο βιώσιμες λύσεις που να συνάδουν με μια κυκλική οικονομία. Το πολυ (τερεφθαλικό αιθυλένιο) (PET) είναι

ένα συνθετικό πολυμερές που αποτελείται από τερεφθαλικό οξύ (TPA) και αιθυλενογλυκόλη (EG), τα οποία προέρχονται από μη ανανεώσιμες πηγές βασισμένες στο πετρέλαιο. Είναι το τρίτο πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο πλαστικό εμπόρευμα παγκοσμίως. Το PET έχει σχεδιαστεί κυρίως για εφαρμογές συσκευασίας τροφίμων και ποτών μίας χρήσης, καθώς και για την παραγωγή υφασμάτων. Για παράδειγμα, οι ΗΠΑ, είναι η δεύτερη μεγαλύτερη αγορά συσκευασίας PET με 20,5% του παγκόσμιου μεριδίου, όπου το 2020 έφτασε στην παραγωγή 22 εκατομμυρίων τόνων αξίας 44 δισεκατομμυρίων δολαρίων και προβλέπεται να έχει σύνθετο ετήσιο ρυθμό ανάπτυξης (CAGR) 3,7% και ώθηση της ζήτησης σε 27 εκατομμύρια τόνους έως το 2025. Το PET ακολουθεί ένα κλασικό γραμμικό μοντέλο οικονομίας "take-make-waste". Ωστόσο, οι χώροι υγειονομικής ταφής ή η αποτέφρωση δεν αποτελούν πλέον βιώσιμες επιλογές για την επεξεργασία του PET στο τέλος του κύκλου ζωής τους σε μια κυκλική οικονομία. Επομένως, η φιλική προς το περιβάλλον ανακύκλωση PET για ανάκτηση υλικών είναι απαραίτητη για τη μείωση των εκπομπών αερίων του θερμοκηπίου (GHG) και της πλαστικής ρύπανσης.

Πριν από σχεδόν 20 χρόνια, η πρώτη υδρολάση, μια cutinase, αποδείχθηκε ότι αποπολυμερίζει το PET. Από τότε, πολλές άλλες υδρολάσες έχουν απομονωθεί και ενισχυθεί μέσω της γενετικής μηχανικής για να βρεθεί το ένζυμο που έχει την καλύτερη δυνατότητα να πολυμερίζει το PET. (Ren Wei et al., 2022)

7.1 Ανακάλυψη νέων ενζύμων

Τα ένζυμα υδρόλυσης PET ανήκουν στην κατηγορία των ενζύμων υδρόλυσης καρβοξυλικού εστέρα, όπως οι cutinases, λιπάσες και εστεράσες, τα οποία παράγονται από μικροοργανισμούς όπως βακτήρια και μύκητες. Οι ερευνητές έχουν αναπτύξει υψηλής απόδοσης μεθόδους διαλογής βασισμένες σε καλλιέργειες για τον εντοπισμό μικροβίων που αποικοδομούν το πλαστικό. Αυτοί οι μικροοργανισμοί πρώτα εμπλουτίζονται και απομονώνονται υπό κατάλληλες συνθήκες καλλιέργειας και στη συνέχεια χρησιμοποιούνται μοριακές ή υπολογιστικές προσεγγίσεις για τον εντοπισμό ισχυρών ενζύμων υδρόλυσης PET. Οι πολυ-ομικές αναλύσεις, συμπεριλαμβανομένης της γονιδιωματικής, πρωτεϊνωματικής, μεταγραφομικής και μεταβολομικής, αυτών των μικροβίων, επιτρέπουν την ταυτοποίηση νέων ενζύμων υδρόλυσης PET. Ένα κύριο μειονέκτημα των συμβατικών μεθόδων που εξαρτώνται από την καλλιέργεια είναι ότι δεν είναι όλοι οι μικροοργανισμοί καλλιεργήσιμοι ή απαιτούν μοναδικές συνθήκες καλλιέργειας, καθιστώντας δύσκολη την εύρεση ισχυρών ενζύμων που αποικοδομούν το πλαστικό μέσω αυτής της προσέγγισης. (Sandhya K Jayasekara et al., 2023)

Εκτός από τη μεταγονιδιωματική προσέγγιση, οι ερευνητές χρησιμοποιούν μια πρωτεομική προσέγγιση για να ανακαλύψουν ένζυμα υδρόλυσης PET. Γενικά, ο αποπολυμερισμός PET συμβαίνει εξωκυτταρικά, χρησιμοποιώντας ένζυμα που εκκρίνονται από μικροοργανισμούς. Ως εκ τούτου, το εξωπρωτέωμα είναι ο κύριος στόχος για τον εντοπισμό πιθανών ενζύμων που αποικοδομούν το πλαστικό. Οι ερευνητές χρησιμοποιούν κυρίως συγκριτική πρωτεομική, η οποία βασίζεται στη διαφορική επαγωγή μικροβίων για να εκφράσουν πλαστικά ένζυμα υδρόλυσης όταν παρουσιάζονται με πλαστική επιφάνεια. Αν και αυτή η προσέγγιση μπορεί

να ανιχνεύσει άμεσα και να ποσοτικοποιήσει την έκφραση πρωτεϊνών, πρωτεομικές μελέτες έχουν διεξαχθεί μόνο σε καθαρές καλλιέργειες και όχι σε πολύπλοκα περιβαλλοντικά δείγματα. Αυτό αποκαλύπτει την πολύπλοκη φύση της υψηλής ποιότητας εκχύλισης πρωτεϊνών και την έλλειψη βιοπληροφορικής ανάλυσης υψηλής απόδοσης για την μεταπρωτεομική. (Sandhya K Jayasekara et al., 2023)

Η χαμηλή καταλυτική απόδοση των φυσικών ενζύμων που αποικοδομούν το πλαστικό αποτελεί βασική τεχνική πρόκληση για την επίτευξη μιας εφικτής τεχνολογικής βιοκαταλυτικής ανακύκλωσης του PET. Πρέπει να αναπτυχθεί ένα ενζυμικό σύστημα με υψηλότερη απόδοση μετατροπής, βελτιωμένη σταθερότητα(θερμική και χημική), εκτεταμένο χρόνο ζωής και δυνατότητα επαναχρησιμοποίησης με διατήρηση των λειτουργικών του ιδιοτήτων. Η χρήση αποτελεσματικών μεθόδων γενετικής μηχανικής των ενζύμων υδρόλυσης είναι απαραίτητη για την εφαρμογή σε βιομηχανική κλιμάκωση της τεχνολογίας αποπολυμερισμού PET βασιζόμενης στη βιοκαταλυτική.

Η βιολογική κατάλυση έχει αναδειχθεί ως μια πιθανά ελκυστική εναλλακτική λύση στις παραδοσιακές μεθόδους ανακύκλωσης πλαστικών. Τα ένζυμα έχουν αναδειχθεί ως ιδιαίτερα ικανοί καταλύτες με ασυναγώνιστες ιδιότητες που μπορούν να επιταχύνουν χημικές διεργασίες. Με αυτήν την προσέγγιση, τα μεικτά ρεύματα αποβλήτων μπορούν να αποικοδομηθούν επιλεκτικά από ένζυμα χωρίς την ανάγκη χειρωνακτικής διαλογής, με τα προϊόντα αποδόμησης να επεξεργάζονται περαιτέρω από ένζυμα για την παραγωγή χημικών πρώτων υλών και προϊόντων υψηλότερης αξίας. Αυτός ο τρόπος ανακύκλωσης πλαστικών προσφέρει πολλά πλεονεκτήματα, συμπεριλαμβανομένου του χαμηλού κόστους και των χαμηλών εκπομπών διοξειδίου του άνθρακα.⁽³⁴⁾

Για να είναι εφικτή η ενζυματική ανακύκλωση PET, απαιτείται η ανακάλυψη και η κατασκευή κατάλληλων βιοκαταλυτών που μπορούν να προσαρμοστούν στις απαιτήσεις των εφαρμογών. Ωστόσο, ενώ οι μικροοργανισμοί είναι καλοί στην αποδόμηση βιολογικών πολυμερών, όπως πρωτεΐνες, DNA και υδατάνθρακες, συνήθως δεν είναι καλά προσαρμοσμένοι για τον αποπολυμερισμό ανθρωπογενών πολυμερών. Ωστόσο, ορισμένες cutinases έχουν αποδειχθεί ότι έχουν την ικανότητα να αποσυνθέσουν PET. Παρόλα αυτά, τα ένζυμα αυτά εμφανίζουν συνήθως κακή δραστηριότητα ως προς τα υλικά PET που περιέχουν χαρακτηριστικά που συναντώνται συνήθως στα απόβλητα, καθιστώντας απαραίτητη την προεπεξεργασία των υποστρωμάτων PET για να είναι αποτελεσματικές οι ενζυματικές δράσεις.

7.2 Ανάπτυξη ενζύμων με μεθόδους Μοριακής Βιολογίας

Παρά τα υποσχόμενα αποτελέσματα που έχουν επιτευχθεί σε παγκόσμιο επίπεδο με τη χρήση διάφορων μεθόδων πρωτεϊνικής μηχανικής για την ενίσχυση υδρολασών που αποπολυμερίζουν το PET, εξακολουθεί να είναι δύσκολο να συγκριθεί η απόδοσή τους και να εφαρμοστούν σε μεγάλη κλίμακα λόγω έλλειψης ομοιογένειας μεταξύ των πειραματικών πρωτοκόλλων που χρησιμοποιούνται. Αυτό οφείλεται σε πολλούς παράγοντες, όπως οι διαφορές στις συνθήκες πειραματισμού, οι διαφορετικές πηγές ενζύμων και οι διαφορετικές

μεθόδοι αξιολόγησης της απόδοσης. Απαιτείται συνεπώς περαιτέρω έρευνα και ανάπτυξη για την ανάπτυξη κοινών πρωτοκόλλων αξιολόγησης και την ανάπτυξη βέλτιστων πρακτικών για την εφαρμογή των ενζύμων σε μεγάλη κλίμακα. (Nurul Fatin Syamimi Khairul Anuar et al., 2023)

Το 2020, η cutinase από κομπόστα φύλλων (LCC¹²) εξελίχθηκε σε μια τετραπλή παραλλαγή, γνωστή ως LCC^{ICCG}, προκειμένου να προσαρμοστεί στις ανάγκες της βιομηχανίας. Μελέτες απέδειξαν ότι τα μονομερή που παράγονται με ενζυματική υδρόλυση υπό συνθήκες που σχετίζονται με τη βιομηχανία μπορούν να καθαριστούν και να επαναχρησιμοποιηθούν για την παραγωγή παρθένου PET, ανοίγοντας τον δρόμο για τη βιομηχανική ανάπτυξη της τεχνολογίας αποπολυμερισμού PET βασισμένης σε ένζυμα. Πρόσφατα, το FAST-PETase και το HotPETase, δύο μηχανικές παραλλαγές του IsPETase από το βακτήριο *Ideonella sakaiensis*, αναφέρθηκαν ότι εμφανίζουν καλύτερη επίδοση στην υδρόλυση του PET σε σύγκριση με το LCC^{ICCG}. Συγκεκριμένα, το ένζυμο IsPETase διαθέτει μοναδικές καταλυτικές ιδιότητες που το καθιστούν ελκυστικό ως υποψήφιο για τη βιοκατάλυση του PET. Ωστόσο, ένα από τα μειονεκτήματά του είναι η χαμηλή του θερμοσταθερότητα, που σημαίνει ότι το ένζυμο αποδίδει καλύτερα σε χαμηλές θερμοκρασίες, πολύ κάτω από τη θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης (Tg) του PET. Αυτό περιορίζει την ικανότητά του να λειτουργεί σε θερμοκρασίες που απαιτούνται για την αποδόμηση του PET, θέτοντας υπό αμφισβήτηση τους ρυθμούς αποδόμησης του πολυμερούς. Αυτή η πρόκληση μπορεί να αντιμετωπιστεί με τη βελτιστοποίηση της θερμοανθεκτικότητας του ενζύμου ή τη χρήση συνδυασμού ενζύμων που λειτουργούν σε διαφορετικές θερμοκρασίες. Τέλος, το PESH^{1L92F/Q94Y}, μια διπλή παραλλαγή δερματάσης που προέρχεται από μεταγονιδίωμα, επίσης αναδείχθηκε ως πολλά υποσχόμενος υποψήφιος για την ανάπτυξη νέων μεθόδων ανακύκλωσης PET με βάση τα ένζυμα. (Elizabeth L. Bell et al., 2022)

Πιο συγκεκριμένα, η PETase που παράγεται από το βακτήριο *Ideonella sakaiensis* 201-F6 έχει κερδίσει μεγάλη προσοχή λόγω της έντονης δραστηριότητάς της στον αποπολυμερισμό του PET σε ήπιες θερμοκρασίες. Η PETase αυτή δείχνει αύξηση της δραστηριότητας υδρόλυσης PET κατά 5-120 φορές σε σύγκριση με άλλα ένζυμα υδρόλυσης PET που λειτουργούν σε μέτριες θερμοκρασίες. Η PETase έχει περίπου 51% ομοιότητα αμινοξέων με τη cutinase που προέρχεται από το *Thermobifida fusca*. Επιπλέον, διαθέτει δύο δισουλφιδικούς δεσμούς, ένα χαρακτηριστικό που την καθιστά πιο σταθερή σε σύγκριση με άλλα ομόλογα ένζυμα. Αντίθετα, η cutinase από κομπόστα φύλλων και κλαδιών (LCC), η οποία ανακαλύφθηκε το 2012, έχει αναγνωριστεί για το υψηλό της δυναμικό ως βιοκαταλυτικό παράγοντα για την αποικοδόμηση του PET σε βιομηχανική κλίμακα, καθώς λειτουργεί σε σχετικά υψηλές θερμοκρασίες τήξης, περίπου 65°C. Το LCC και το ένζυμο IsPETase χρησιμοποιούν παρόμοιο μηχανισμό υδρόλυσης PET. Αυτά τα δύο ένζυμα είναι δομικά παρόμοια και έχουν περίπου 49,5% παρόμοια ταυτότητα, συμπεριλαμβανομένης της ίδιας καταλυτικής τριάδας που αποτελείται από σερίνη, ιστιδίνη και ασπαρτικό οξύ. (Grégory Arnal et al., 2023)

Επίσης αναφέρθηκε πρόσφατα ότι η αποτελεσματικότητα του IsPETase μπορεί να αυξηθεί έως και 26 % με προ-επώαση φιλμ PET με υδροφοβίνη κατηγορίας I από *Aspergillus oryzae* που ονομάζεται RolA. Θεωρήθηκε ότι το RolA μπορεί να προσκολληθεί στο PET και

να αντιστρέψει τη διαβρεξιμότητα της υδρόφοβης επιφάνειας, έτσι ώστε το IsPETase να μπορεί να σχηματίσει στενότερες επαφές με το υπόστρωμα. Επιπλέον, μια προηγούμενη έκθεση έδειξε επίσης ότι η σύντηξη υδρόφοβων από *Trichoderma harzianum* θα μπορούσε να ενισχύσει την PET-υδρολυτική δραστηριότητα της *Thermobifida fusca* cutinase κατά 16 φορές. Αυτά τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η αύξηση της συχνότητας αλληλεπίδρασης PET-ενζύμου θα μπορούσε να είναι μια χρήσιμη στρατηγική για την ενίσχυση της απόδοσης των υδρολυτικών ενζύμων PET. (Longhai Dai et al., 2021)

7.3 Ανάπτυξη ενζύμων με τη βοήθεια της Βιοπληροφορικής

Οι in-silico πλατφόρμες, που συνδυάζουν τη μοριακή μηχανική και την μηχανική μάθηση, έχουν αναδειχθεί ως καινοτόμα εργαλεία για την ανάπτυξη πιο αποδοτικών και αποτελεσματικών διαδικασιών ανακύκλωσης PET μέσω της εξέτασης νέων μεταλλάξεων στα ένζυμα υδρόλυσης PET. Ο σχεδιασμός ενζύμων υδρόλυσης PET που με την βοήθεια in-silico μεθόδων Βιοπληροφορικής, με κύκλους Design-Build-Test-Learn (DBTL), επιτρέπει τη γρήγορη ανάπτυξη αποτελεσματικών παραλλαγών ενζύμων σε σχέση με τις πιο χρονοβόρες συμβατικές μεθόδους μηχανικής ενζύμων, όπως η τυχαία ή η κατευθυνόμενη εξέλιξη. Η τεχνολογία μεταγονιδιωματικής (Metagenomic) που είναι ανεξάρτητη από τις καλλιέργειες, έχει αναδειχθεί ως ένα ισχυρό εργαλείο για την ανακάλυψη ισχυρών ενζύμων υδρόλυσης PET από το περιβάλλον. Η πρόοδος που έχει επέλθει τόσο στην τεχνολογία αλληλουχίας DNA επόμενης γενιάς (Next Generation Sequencing), στα in-silico εργαλεία βιοπληροφορικής, και στις τεχνολογίες διαλογής μεταγονιδιωματικής βιβλιοθήκης επιτρέπουν την αποτελεσματική εύρεση ελπιδοφόρων ενζύμων που αποικοδομούν το PET μέσω μιας προσέγγισης μεταγονιδιωματικής. Οι μελέτες μεταγονιδιωματικής ανεξάρτητες από καλλιέργειες ακολουθούν δύο προσεγγίσεις:

Έλεγχος αλληλουχίας με βάση την ομολογία: Αυτή η προσέγγιση χρησιμοποιεί in-silico σύγκριση για εύρεση ομόλογων γονιδίων γνωστών πλαστικών αποικοδομητικών ενζύμων. Είναι μια οικονομική και γρήγορη μέθοδος με την οποία έχουν ανακαλυφθεί αρκετά ένζυμα υδρόλυσης PET. (Nurul Fatin Syamimi Khairul Anuar et al., 2023)

Έλεγχος βάσει λειτουργίας: Αυτή η προσέγγιση χρησιμοποιεί δομή και λειτουργία σε άγνωστα ένζυμα με βάση την ομοιότητα της αλληλουχίας τους με γνωστά ένζυμα στις βάσεις δεδομένων. Χρησιμοποιεί διάφορες προσεγγίσεις, όπως το Basic Local Alignment Search Tool (BLAST), τα Hidden Markov Models (HMMs), και μεθόδους βασισμένες σε προφίλ. (Nurul Fatin Syamimi Khairul Anuar et al., 2023)

Παρά τη δημοσιότητα των μεταγονιδιωματικών μεθόδων για την εύρεση δυνητικών πλαστικών ενζύμων που αποικοδομούν, σε αυτή την προσέγγιση υπάρχουν ορισμένα μειονεκτήματα. Αυτά περιλαμβάνουν:

1. την περιορισμένη σύγκριση με τα τρέχοντα γνωστά ένζυμα πλαστικής αποικοδόμησης σε βάσεις δεδομένων.
2. την έλλειψη πιθανών ενζύμων πλαστικής αποικοδόμησης λόγω χαμηλής ομοιότητας αλληλουχίας.
3. και την ανάγκη περαιτέρω μελέτης για την επιβεβαίωση της λειτουργικότητας του ενζύμου.

Η in-silico μηχανική ενζύμων χωρίζεται σε δύο κύριες προσεγγίσεις: ορθολογική και συνδυαστική. Στην ορθολογική μηχανική, τα αμινοξέα που είναι πιο κατάλληλα να υποστούν μεταλλάξεις εντοπίζονται μέσω των αποτελεσμάτων προηγούμενων πειραμάτων ή μέσω ανάλυσης της επιφάνειας δέσμευσης μέσω μοριακής δέσμευσης. Από την άλλη, οι συνδυαστικές προσεγγίσεις περιλαμβάνουν τη δημιουργία και τη διαλογή μεγαλύτερων βιβλιοθηκών ενζύμων για τον εντοπισμό πιθανών παραλλαγών που έχουν συγκεκριμένες ιδιότητες, όπως αυξημένη θερμική σταθερότητα ή ενισχυμένη καταλυτική δραστηριότητα. Τα τελευταία χρόνια, οι αλγόριθμοι μηχανικής μάθησης (ML) έχουν χρησιμοποιηθεί για την αποτελεσματική εξερεύνηση ενός μεγάλου αριθμού ακολουθιών. Παρόλα αυτά, σε πρακτικές προσεγγίσεις ML, χρησιμοποιούνται δομικά στοιχεία για να καθοδηγήσουν τους αλγορίθμους στην αναζήτηση μιας συγκεκριμένης ενζυμικής δραστηριότητας ή για να περιορίσουν τον χώρο των αλληλουχιών. Αφού εντοπιστούν οι πιθανές παραλλαγές, ακολουθεί η μελέτη της κινητικής τους μέσω υπολογιστικής μοντελοποίησης σε διάφορα επίπεδα.

Τέλος, οι ερευνητές εφηύραν ένα νέο και καινοτόμο αλγόριθμο που λειτουργεί με βάση την τεχνητή νοημοσύνη, το GRAPE. Το GRAPE συνδυάζει τα προνόμια των αλγορίθμων για να παρέχει μία βιώσιμη λύση στην ελαχιστοποίηση των πειραματικών δοκιμών αλλά και να μεγιστοποιήσει την εξερεύνηση πιθανών μεταλλάξεων των πρωτεϊνών. Με βάση αυτό το πρόγραμμα οι επιστήμονες κατάφεραν να επανασχεδιάσουν το ένζυμο IsPETase σε ένα νέο, το DuraPETase, το οποίο παρουσίασε θερμοκρασία τήξης αυξημένη κατά 31 °C με καλή απόδοση ως προς το ημικρυσταλλικό PET και πολύ βελτιωμένη μακροπρόθεσμη επιβίωση υπό ήπιες συνθήκες. Βάση μελετών αναμένεται ότι η στρατηγική GRAPE θα βοηθήσει στη βελτίωση της μηχανικής ενζύμων in-silico και θα διευκολύνει την εφαρμογή της σε περιπτώσεις όπου απαιτούνται βελτιωμένα σταθεροποιητικά ένζυμα. (Yinglu Cui et al., 2021)

8. Συμπεράσματα και μελλοντικές προοπτικές

Αυτή η διπλωματική εργασία έχει σκοπό να αναδείξει τη σημασία της αποικοδόμησης των πλαστικών από μικροοργανισμούς, όπως ακτινομύκητες, βακτήρια, μύκητες, φύκια και μικροβιώματα, καθώς και τους μηχανισμούς με τους οποίους λειτουργεί η βιοαποικοδόμηση. Με βάση την τρέχουσα βιβλιογραφία, μπορεί να συναχθεί ότι οι πληροφορίες για διαφορετικά μικρόβια με δυνατότητες αποικοδόμησης πλαστικού έχουν βασιστεί σε καθαρά απομονωμένα στελέχη καλλιέργειας. Αυτό δείχνει ότι δεν έχουν αξιοποιηθεί πλήρως όλες οι διαθέσιμες πηγές που μας παρέχει η φύση, κάτι που φαίνεται στο ότι δεν έχει βρεθεί κανένας οργανισμός ζύμης που να μπορεί να λειτουργήσει ως πλαστικός βιοαποικοδομητής. Η χρήση της μεταγονιδιωματικής, η οποία εξασφαλίζει την εξερεύνηση τόσο των καλλιεργήσιμων όσο και των μη καλλιεργήσιμων μικροβίων, θα ενισχύσει την ταυτοποίηση μικροβίων και βιοκαταλυτών με δυνατότητες πλαστικής βιοαποικοδόμησης. Πιστεύεται επίσης ότι η εφαρμογή διαφορετικών μικροοργανισμών ως σύνολο θα οδηγήσει σε μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα στην πλαστική αποδόμηση λόγω της συνεργασίας μεταξύ των μικροβίων και των ενζύμων τους. Αν και έχουν εντοπιστεί πολλά πλαστικά αποικοδομητικά ένζυμα από διάφορες πηγές, οι βιοχημικές και δομικές ιδιότητές τους δεν έχουν εξεταστεί επαρκώς. Αυτές οι πληροφορίες είναι ουσιαστικές για την καλύτερη κατανόηση των μηχανισμών που συμβάλλουν στη βιοδιάσπαση των ανθεκτικών πλαστικών. Η κατανόηση αυτή είναι κρίσιμη για την τροποποίηση των ενζύμων μέσω της γενετικής μηχανικής, την ανάπτυξη εργοστασιακών μικροβιακών κυττάρων με βελτιωμένη απόδοση αποικοδόμησης και τον σχεδιασμό νέων πλαστικών πολυμερών με βελτιωμένη βιοδιασπασιμότητα. Επιπλέον, είναι σημαντικό να ερευνηθούν οι επιπτώσεις των διαφόρων μεθόδων προεπεξεργασίας και προσθέτων στη μικροβιακή αποδόμηση των συνθετικών πλαστικών, καθώς η σωστή προεπεξεργασία/προσθήκη μπορεί να οδηγήσει σε βελτιωμένα αποτελέσματα. Οι μελέτες παρουσιάζουν πολλές αποκλίσεις όσον αφορά τις μεθόδους αξιολόγησης της απόδοσης της υποβάθμισης, κάτι που υποδεικνύει την ανάγκη για την ανάπτυξη και υιοθέτηση μιας τυποποιημένης ή καθολικής προσέγγισης. Αυτό θα συμβάλει στην εναρμόνιση των δεδομένων και θα επιτρέψει την περαιτέρω πρόοδο σε αυτόν τον τομέα έρευνας. Λαμβάνοντας υπόψη τις απεριόριστες δυνατότητες των μικροβίων και τη συνεχή προσαρμογή τους στο μεταβαλλόμενο περιβάλλον, προβλέπεται ότι πιο λεπτομερείς μελέτες σε αυτόν τον τομέα θα οδηγήσουν σύντομα στην ανάπτυξη βιώσιμων διεργασιών βιοαποικοδόμησης που μπορούν να εφαρμοστούν σε εμπορική κλίμακα.

Βιβλιογραφία

1. Ayodeji Amobonye, Prashant Bhagwat, Suren Singh, Santhosh Pillai, (2021), Plastic biodegradation: Frontline microbes and their enzymes
2. Dominik Danso,a Jennifer Chow,a Wolfgang R. Streita, (2019), Plastics: Environmental and Biotechnological Perspectives on Microbial Degradation
3. Alshehrei, F., (2017). Biodegradation of synthetic and natural plastic by microorganisms. *J. Appl. Environ. Microbiol.* 5, 8–19
4. Anjana, K., Hinduja, M., Sujitha, K., Dharani, G., (2020), Review on plastic wastes in marine environment–biodegradation and biotechnological solutions. *Mar. Pollut. Bull.* 150, 110733
5. Bhupendra Koul , Manpriya Chopra bSupriya Lamba (2022), Chapter 3 - Microorganisms as biocontrol agents for sustainable agriculture, Pages 45-68
6. Gilan, I., Sivan, A., (2013), Effect of proteases on biofilm formation of the plastic-degrading actinomycete *Rhodococcus ruber* C208. *FEMS Microbiol. Lett.* 342, 18–23
7. Jabloun, R., Khalil, M., Moussa, I.E.B., Simao-Beaunoir, A.M., Lerat, S., Brzezinski, R., Beaulieu, C., (2020). Enzymatic degradation of p-Nitrophenyl esters, polyethylene terephthalate, cutin, and suberin by Sub1, a suberinase encoded by the plant pathogen *Streptomyces scabies*. *Microbes Environ.* 35
8. Juliana Oliveira 1,2,Pedro L. Almeida, P. Gaudêncio, (2022), Marine-Derived Actinomycetes: Biodegradation of Plastics and Formation of PHA Bioplastics—A Circular Bioeconomy Approach
9. John A. Raven, Mario Giordano, (2014), *Algae*, Volume 24, Issue 13
10. Moog, D., Schmitt, J., Senger, J., Zarzycki, J., Rexer, K.-H., Linne, U., Erb, T., Maier, U.G., (2019). Using a marine microalga as a chassis for polyethylene terephthalate (PET) degradation. *Microb. Cell Factories* 18
11. Gan, Z., Zhang, H., (2019). PMBD: a comprehensive plastics microbial biodegradation database
12. Zeming Cai, Minqian Li, Ziyang Zhu, Xiaocui Wang, Yuanyin Huang, Tianmu Li, Han Gong, and Muting Yan, (2023), Biological Degradation of Plastics and Microplastics: A Recent Perspective on Associated Mechanisms and Influencing Factors
13. Pankaj Kumar Chaurasia, Shashi Lata Bharati, (2021), Applicability of fungi in agriculture and environmental sustainability, *Microbes in Land Use Change Management*
14. Ayodeji Amobonye, Prashant Bhagwat, Suren Singh, Santhosh Pillai, (2021), Plastic biodegradation: Frontline microbes and their enzymes
15. Sánchez, C., (2020). Fungal potential for the degradation of petroleum-based polymers: an overview of macro-and microplastics biodegradation. *Biotechnol. Adv.* 40, 107501

16. NikolinaAtanasova, StoyankaStoitsova, TsvetelinaPaunova-Krasteva and Margarita Kambourova, (2021), Plastic Degradation by Extremophilic Bacteria
17. Sangeetha Rajendran, Velu Rajesh Kannan, Krishnan Natarajan, NivasDurai, (2015), The Role of Microbes in Plastic Degradation
18. Jakubowicz, I., (2003). Evaluation of degradability of biodegradable polyethylene (PE). *Polym. Degrad. Stab.* 80, 39–43
19. Magnin, A., Pollet, E., Perrin, R., Ullmann, C., Persillon, C., Phalip, V., Avérous, L., (2019). Enzymatic recycling of thermoplastic polyurethanes: synergistic effect of an esterase and an amidase and recovery of building blocks. *WasteManag.* 85, 141–150
20. Austin, H.P., Allen, M.D., Donohoe, B.S., Rorrer, N.A., Kearns, F.L., Silveira, R.L., Pollard, B.C., Dominick, G., Duman, R., El Omari, K., (2018). Characterization and engineering of a plastic-degrading aromatic polyesterase. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 115, E4350–E4357
21. Ho, B.T., Roberts, T.K., Lucas, S., (2018). An overview on biodegradation of polystyrene and modified polystyrene: the microbial approach. *Crit. Rev. Biotechnol.* 38, 308–320
22. Negoro, S., (2000). Biodegradation of nylon oligomers. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 54, 461–466
23. Yasuhira, K., Uedo, Y., Takeo, M., Kato, D.I., Negoro, S., (2007). Genetic organization of nylonoligomer-degrading enzymes from alkalophilic bacterium, *Agromyces* sp. KY5R. *J. Biosci. Bioeng.* 104, 521–524
24. Nauendorf, A., Krause, S., Bigalke, N.K., Gorb, E.V., Gorb, S.N., Haeckel, M., Wahl, M., Treude, T., (2016). Microbial colonization and degradation of polyethylene & biodegradable plastic bags in temperate fine-grained organic-rich marine sediments. *Mar. Pollut. Bull.* 103, 168–178.
25. Anjana, K., Hinduja, M., Sujitha, K., Dharani, G., (2020). Review on plastic wastes in marine environment–biodegradation and biotechnological solutions. *Mar. Pollut. Bull.* 150, 110733
26. Restrepo-Flórez, J.-M., Bassi, A., Thompson, M.R., (2014). Microbial degradation and deterioration of polyethylene—a review. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 88, 83–90
27. Shah Nawaz, M., Sangale, M.K., Ade, A.B., (2019). Analysis of the plastic degradation products. *Bioremediation Technology for Plastic Waste*. Springer, Singapore, pp. 93
28. Alshehrei, F., (2017). Biodegradation of synthetic and natural plastic by microorganisms. *J. Appl. Environ. Microbiol.* 5, 8–19
29. A. Muthukumar, S. Veerappapillai, (2015), Biodegradation of plastics—a brief review, *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, 31, pp. 204-209
30. M. Fernandes, A. Salvador, M.M. Alves, A.A. Vicente, (2020), Factors affecting polyhydroxyalkanoates biodegradation in soil
31. Fotopoulou, K.N., Karapanagioti, H.K., (2017). Degradation of various plastics in the environment. In: Takada, H., Karapanagioti, K.K. (Eds.), *Hazardous Chemicals Associated with Plastics in the Marine Environment*. Springer, Cham, pp. 71–92
32. Jayaprakash, V., Palempalli, U.M.D., (2018). Effect of palmitic acid in the acceleration of polyethylene biodegradation by *Aspergillus oryzae*. *J. PureAppl. Microbiol.* 12, 2259–2269.

33. Ren Wei, Gerlis von Haugwitz, Lara Pfaff, Jan Mican, Christoffel P. S. Badenhorst, Weidong Liu, Gert Weber, Harry P. Austin, David Bednar, Jiri Damborsky, and Uwe T. Bornscheuer, (2022), Mechanism-Based Design of Efficient PET Hydrolases
34. Sandhya K Jayasekara ,Hriday Dhar Joni , Bhagya Jayantha , Lakshika Dissanayake , Christopher Mandrell , Manuka M S Sinharage , Ryan Molitor , Thushari Jayasekara , Poopalasingam Sivakumar , Lahiru N Jayakody, (2023), Trends in in-silico guided engineering of efficient polyethylene terephthalate (PET) hydrolyzing enzymes to enable bio-recycling and upcycling of PET
35. Nurul Fatin Syamimi Khairul Anuar, FahrulHuyop, Ghani Ur-Rehman, Faizuan Abdullah, Yahaya M Normi, Mohd KhalizanSabullah, Roswanira Abdul Wahab, (2023), An Overview into Polyethylene Terephthalate (PET) Hydrolases and Efforts in Tailoring Enzymes for Improved Plastic Degradation
36. Elizabeth L. Bell. , Ross Smithson. , Siobhan Kilbride , Jake Foster. , Florence Hardy. ,Saranarayanan Ramachandran , Aleksander Tedstone , Sarah J. Haigh , Arthur Garforth , Philip J. R. Day , Colin Levy. , Michael P. Shaver& Anthony P. Green, (2022), Directed Evolution of an Efficient and Thermostable PET Depolymerase
37. Grégory Arnal, Julien Anglade, Sabine Gavalda, Vincent Tournier, Nicolas Chabot, Uwe T. Bornscheuer, Gert Weber and Alain Marty, (2023), Assessment of Four Engineered PET Degrading Enzymes Considering Large-Scale Industrial Applications
38. Longhai Dai, Yingying Qu, Jian-Wen Huang, Yumei Hu, Hebing Hu, Siyu Li, Chun-Chi Chen, Rey-Ting Guo, (2021), Enhancing PET hydrolytic enzyme activity by fusion of the cellulose-binding domain of cellobiohydrolase I from *Trichoderma reesei*
39. Nurul Fatin Syamimi Khairul Anuar, Fahrul Huyop , Ghani Ur-Rehman, Faizuan Abdullah, Yahaya M Normi, Mohd Khalizan Sabullah, Roswanira Abdul Wahab, (2023), An Overview into Polyethylene Terephthalate (PET) Hydrolases and Efforts in Tailoring Enzymes for Improved Plastic Degradation
40. Yinglu Cui, Yanchun Chen, Xinyue Liu, Saijun Dong, Yu'e Tian, YuxinQiao, Ruchira Mitra, Jing Han, Chunli Li, Xu Han, Weidong Liu, Quan Chen, Wangqing Wei, Xin Wang, Wenbin Du, Shuangyan Tang, Hua Xiang, Haiyan Liu, Yong Liang, Kendall N. Houk, and Bian Wu, (2021), Computational Redesign of a PETase for Plastic Biodegradation under Ambient Condition by the GRAPE Strategy