

# Mikroplastika u okolišu

---

Ružaj, Lucija

Undergraduate thesis / Završni rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:149:534169>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-01**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE  
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Lucija Ružaj

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, rujan 2019.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE  
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Lucija Ružaj

MIKROPLASTIKA U OKOLIŠU

ZAVRŠNI RAD

**Mentor: doc. dr. sc. Dajana Kučić Grgić**

**Članovi ispitnog povjerenstva:**

- 1. doc. dr. sc. Dajana Kučić Grgić**
- 2. dr. sc. Lidija Furač, viši predavač**
- 3. dr. sc. Matija Cvetnić**

Zagreb, rujan 2019.

## ZAHVALA

*Zahvaljujem se svojoj mentorici, doc. dr. sc. Dajani Kučić Grgić na pomoći, pristupačnosti, strpljenju te savjetima tijekom izrade ovog završnog rada.*

*Posebno se zahvaljujem svojoj obitelji na podršci i razumijevanju koje su mi pružili tijekom studiranja.*

*Hvala prijateljima i prijateljicama, posebno Sari i Mateji koje su znatno olakšale i uljepšale ove studentske dane.*

# SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. OPĆI DIO.....	2
2.1. Vrste mikroplastike.....	2
2.2. Mikroplastika u okolišu.....	5
2.2.1. Mikroplastika u morima.....	5
2.2.2. Mikroplastika u tlu.....	8
2.2.3. Mikroplastika u površinskim vodama.....	9
2.3. Postupci određivanja mikroplastike u okolišu.....	10
2.3.1. FTIR.....	11
2.3.2. Raman spektroskopija.....	13
2.3.3. SEM.....	14
2.3.4. HPLC ( <i>High Performance Liquid Chromatography</i> ).....	15
2.3.5. GC/MS ( <i>Gas chromatography/Mass spectrometry</i> ).....	15
3. PREGLEDNI DIO.....	17
3.1. Utjecaj mikroplastike na različite organizme- ekotoksikološka ispitivanja.....	17
3.2. Toksičnost.....	20
3.2.1. Morski organizmi.....	20
3.2.2. Mikroalge.....	21
3.2.3. <i>Danio rerio</i> (Zebrafish).....	25
3.2.4. <i>Daphnia magna</i> .....	28
3.2.5. In vivo test.....	30
3.3. Uklanjanje mikroplastike iz vodenog medija.....	32
3.3.1. Fizikalno-kemijski postupci.....	32
3.3.2. Biorazgradnja mikroplastike u vodi.....	35
4. ZAKLJUČAK.....	42
5. LITERATURA.....	43
6. ŽIVOTOPIS.....	54

## SAŽETAK

Mikroplastika je danas široko raširena u brojnim ekološkim sustavima. Detektirana je na najvećim dubinama, kao i na površini slanih i slatkih voda te u raznim vrstama tla u svijetu. Mikroplastika predstavlja veliki problem u okolišu zbog svojih karakteristika poput izuzetne čvrstoće i izdržljivosti, dugotrajnosti, otpornosti na vanjske uvjete i biorazgradnju. Mikroplastika se može okarakterizirati primjenom različitih metoda poput FTIR-a, Raman spektroskopije, SEM, HPLC i GC-a. Osim poteškoća koje zadaje prilikom uklanjanja, njeno zadržavanje u prirodi predstavlja veliku prijetnju biljnom i životinjskom svijetu. Brojna istraživanja su pokazala da najveći utjecaj ima na životinje koje se hrane filtriranjem vode i na životinje koje zamjenjuju mikroplastiku za plijen, a problem se širi i na druge organizme putem hranidbenog lanca te na taj način šteti cijelom ekosustavu. Uočen je niz problema koje mikroplastika uzrokuje, od smanjenja brzine rasta i kretanja, smanjenje obavljanja fotosinteze, fizičkih deformacija, unošenje toksičnih elemenata, do smanjenja plodnosti i promjena u metaboličkim ciklusima. Shodno navedenom, mikroplastiku je potrebno ukloniti iz okoliša. Kod nekih bakterija i gljiva zabilježena je mogućnost biorazgradnje te je djelomična razgradnja moguća i uz djelovanje UV i Gamma zraka i pomoću topline. Neupitno je da mikroplastika predstavlja znamenitu prijetnju okolišu, a samim time i za čovjeka te je od velike važnosti osvijestiti problem mikroplastike kod veće populacije ljudi kako bi se podigla svijest o korištenju plastike i njenih negativnih utjecaja. U ovom radu dati će se pregledni dio vezan uz vrstu mikroplastike, prisutnosti mikroplastike u pojedinim ekosustavima, metodama karakterizacije mikroplastike, ekotoksikološkim istraživanjima te o postupcima uklanjanja mikroplastike iz okoliša.

*Ključne riječi:* Mikroplastika; Karakterizacija mikroplastike; Ekotoksikološka ispitivanja; Biorazgradnja mikroplastike

## ABSTRACT

Nowadays, microplastic is widely spread in numerous ecosystems. It can be found in the deepest depths, on the surface of freshwaters and seas and in variety of soils also. Due to its exceptional strength, durability and resistance to external conditions and biodegradation, microplastic presents a major threat to environment. FTIR, Raman spectroscopy, SEM, HPLS and GS can be used for its characterisation. Besides the difficult removal, microplastic represents a great risk for flora and wildlife if exposed long enough. Numerous studies showed that the biggest influence microplastics has on animals who use filtration as feeding method and the ones who mistakenly replace particles of microplastic for prey. This problem also affects other ecosystems by food chain. Microplastic causes a wide range of problems such as lower growth rate and movement, lower photosynthesis ability, physical deformation, increasing concentration of toxic elements, fertility problems and changes in metabolic cycles. Consequently, it is necessary to remove particles of microplastic from environment. Some bacteria and fungi have the ability to biodegrade these particles and with the help of UV and Gamma rays there is a possibility of degradation to a certain degree. Microplastic is dangerous for environment and for the humans also and it is of great importance to raise awareness in order to improve the use of plastics and increase knowledge of possible negative effects it can cause. In this study there are observed different types of microplastics, presence in various ecosystems, characterisation methods, ecotoxicologic studies and the ways of elimination of microplastic from environment.

*Keywords:* Microplastics; Characterization of microplastics; Ecotoxicology tests; Biodegradation of microplastics

## 1. UVOD

Mikroplastiku čine plastične čestice manje od 5 mm [1]. Godine 2004. Richard Thompson je prvi upotrijebio naziv „mikroplastika“. U posljednjih 50 godina, proizvedeno je 9.1 biliona tona plastike u svijetu sa godišnjim rastom od 8,7 %, a zbog masovne proizvodnje i izdržljivosti predstavlja veliku prijetnju okolišu [2]. Glavni izvori mikroplastike u okolišu dijele se na primarne i sekundarne. Primarna mikroplastika u izvornom obliku dolazi u okoliš, primjerice, iz pilinga za lice, sintetičkih vlakana iz odjeće, zubnih pasta i kozmetike, dok sekundarna plastika nastaje raspadanjem većih komada plastike djelovanjem UV zračenja, slane vode te biotičkih i abiotičkih čimbenika [2]. Prilikom provođenja raznih istraživanja dokazano je da se veća količina mikroplastike nalazi u područjima guste naseljenosti, pa je tako velika koncentracija zabilježena na području Sredozemnog mora, Sjevernog mora, Azije te na obali Brazila [3]. 18 % mikroplastike koja se nalazi u morima proizlazi iz ribarske industrije, a velik doprinos daje i akvakultura [4]. Polietilen (PE), polipropilen (PP), polietilen tereftalat (PET), polistiren (PS), poliamid (najlon), polivinil klorid (PVC) vrste su mikroplastike koje zbog svoje raznovrsne upotrebe imaju najveću vjerojatnost da završe u okolišu. Nadalje, kako bi se bolje razumio negativan utjecaj koji mikroplastika ima na okoliš, provedena su brojna toksikološka istraživanja na organizmima u različitim prirodnim staništima. Istraživanja uključuju ispitivanja toksičnosti na velikim morskim organizmima poput kita ulješure [5] u čijem su probavnom sustavu pronađene razne vrste mikroplastike sve do sitnog zooplanktona kopepodnog račića [6]. Brojne posljedice ima i na plavu dagnju *Mytilus edulis* koja se vrlo često konzumira u prehrani čovjeka. Kod *Danio rerio* primjećeno je da mikroplastika ima najveći utjecaj na jetru, crijeva i škrge [7], dok je kod *Daphnie magne* najviše utjecala na sposobnost kretanja [8] i akumulaciju štetnih elemenata poput nikla. Uklanjanje mikroplastike najučinkovitije je kombinacijom fizikalno-kemijskih i bioloških procesa. Fotooksidacija pomoću UV zraka, zračenje elektronskim snopom i Gamma zrakama, kemijska razgradnja i utjecaj vanjskih uvjeta (toplina, površinska oštećenja) ubrajaju se u fizikalno-kemijske procese, a biorazgradnja moguća je uz bakterije (*Bacillus subtilis*, *Rhodococcus ruber*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptomyces aburaviensis*), gljive (*Zalerion maritimum*, *Penicillium simplicissimum*, *Aspergillus niger*). Usprkos tome što je kod navedenih organizama uočena sposobnost biorazgradnje koja se može povećati umješavanjem biorazgradivih polimera, enzimi koji sudjeluju u razgradnji i njihovi mehanizmi još uvijek nisu poznati.

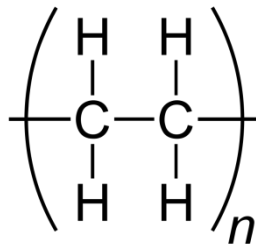


## 2. OPĆI DIO

### 2.1. Vrste mikroplastike

Plastični su proizvodi zbog niskih troškova i jednostavnosti proizvodnje, otpornosti na vodu i različitih karakteristika vrlo rašireni u svim granama industrije. Upravo zbog svoje raznovrsne primjene najveći dio mikoplastike čine polietilen visoke i niske gustoće (HDPE, LDPE), polistiren (PS), polipropilen (PP), poli-amid (najlon), polivinil klorid (PVC), polilaktična kiselina (PLA), poliamid (PA) i polietilen tereftalat (PET) odnosno, glavni sastojci plastičnih proizvoda koji su najčešće namijenjeni jednokratnoj upotrebi, a samim time se i masovno proizvode.

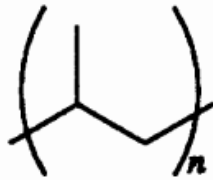
Polietilen je jedan od najraširenijih vrsta polimera te nastaje polimerizacijom etilena, plinovitog ugljikovodika formule  $C_2H_4$  (slika 1.) [9].



**Slika 1.** Ponavljajuća jedinica polietilena [10].

Ovisno o gustoći, koristi za proizvodnju plastičnih vrećica, medicinskih uređaja i neprobojnih prsluka [10]. Polietilen ima nisku temperaturu tališta (od 105 °C do 180 °C) koja ovisi o vrsti, a karakterizira ga visoka kemijska otpornost na slaba oksidacijska i redukcijska sredstva te se otapa u aromatskim ugljikovodicima poput toluena i ksilena ili u trikloreтанu i triklorbenzenу. Klasificira se po gustoći i razgranatosti molekule te mehanička svojstva polietilena znatno ovise o vrsti grananja, kristalnoj strukturi i molekulskoj masi [11].

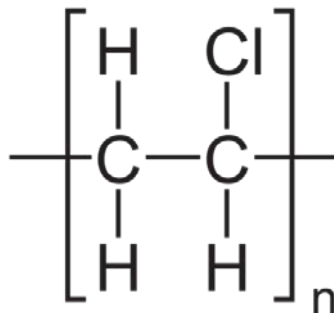
Druga najraširenija vrsta mikroplastike je polipropilen (PP), polimer sličan polietilenu, ali nešto tvrdi i otporniji na toplinu te monomerna jedinica ima formulu  $C_3H_6$  (slika 2.) [12]. Metilna skupina na ugljikovodičnom lancu poboljšava mehanička svojstva, dok ostale karakteristike ovise o molekulskoj masi i raspodjeli metilne skupine u molekuli, odnosno, njezina orijentacija na jednoj strani lanca pridonosi stabilnosti molekule.



**Slika 2.** Ponavljajuća jedinica polipropilena [13].

Polipropilen je često kopolimeriziran sa etilenom zato što je tada čvršći i fleksibilniji. Na sobnoj temperature, otporan je na skoro sva organska otapala, osim na jaka oksidacijska sredstva te zbog toga neoksidirajuće kiseline i baze mogu biti skladištene u posudama od polipropilena. Vrlo je korišten materijal upravo zbog otpornosti na koroziju, raznih fizičkih oštećenja i zaleđivanja, najčešće se koristi u svrhu proizvodnje laboratorijskog posuđa, posuda za hranu, tepiha, užadi i odjeće [14].

Polimer koji je treći u svijetu po proizvodnji je poli(vinil-klorid) (PVC). Nastaje polimerizacijom monomera vinil-klorida (slika 3.) te može biti u krutom ili fleksibilnom obliku.



**Slika 3.** Ponavljajuća jedinica poli(vinil-klorida) [14].

Mehanička svojstva poboljšavaju se rastom molekulske mase, a smanjuju se porastom temperature te temperatura tališta varira u intervalu od 100 °C do 260 °C, zavisno o dodanim aditivima. Karakteriziraju ga dobra izolacijska svojstva, ali zbog polarnosti molekule, ona su nešto manja u odnosu na ne polarne polimere poput polietilena i polipropilena. Budući da je kemijski inertan na kiseline, baze, masti i alkohole, redovito se koristi kod proizvodnje kanalizacionih cijevi [14]. Također, koristi se za izolacijske kablove, vrata i prozore, jednokratne posude za krv i urin.

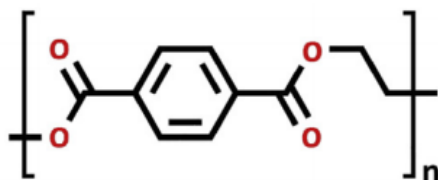
Sljedeća raširena vrsta mikroplastike je polistiren, polimer koji je nastao polimerizacijom monomera stirena (slika 4.). Karakterizira ga dugi ugljikovodični lanac na koji je vezana fenilna skupina, a može biti u krutom ili pjenovitom obliku.



**Slika 4.** Ponavljajuća jedinica polistirena [14].

Van der Waalsove sile između polimernih lanaca omogućuju visok stupanj fleksibilnosti i elastičnosti te se pri temperaturi višoj od 100 °C lako oblikuje i modelira. Nadalje, kemijski je vrlo inertan, odnosno otporan je na kiseline i baze, ali se lako otapa u organskim otapalima poput acetona te je lako zapaljiv i pri potpunoj oksidaciji daje produkte CO<sub>2</sub> i vodenu paru [15]. Polistiren se koristi za proizvodnju plastičnog pribora za jelo, raznih izolatora, plastičnih poklopaca, boca, polistirenskih petrijevih zdjelica i ostalih čvrstih i vrlo inertnih proizvoda koji zahtijevaju jednostavnu i jeftinu proizvodnju [14].

Polietilen tereftalat (PET) je polimer koji nastaje esterifikacijom etilen glikola sa tereftalnom kiselinom (TPA) ili dimetal tereftalatom (DMT). Za razliku od prije spomenutih polimera čija baza se sastoji od ugljikovog lanca, PET lanac sastoji se od veze ugljik-kisik-ugljik od kojih je jedan od ugljika dio karbonilne skupine (Slika 5.) [16].



**Slika 5.** Struktura polietilen tereftalata [17].

Najčešće se koristi za pakiranje hrane i pića zbog kemijske otpornosti, male mase, elastičnosti i stabilnosti u širokom intervalu temperatura (od -60°C do 220°C) [16].

Poliamidi su vrsta polimera koju karakterizira prisutnost ponavljajuće amidne skupine [-C(=O)-NH-] u polimernom lancu te se sintetizira polimerizacijom diamino spojeva sa dikarboksilnom kiselinom ili esterom [18]. Najviše se koriste kao ljepila u industriji namještaja, odjeće i obuće te elektroindustriji [19].

Polilaktična kiselina je biorazgradivi alifatski poliester koji se proizvodi iz kukuruza, pšenice i riže direktnom kondenzacijom laktične kiseline i cikličkog dimera laktida [19]

Unatoč velikoj izdržljivosti plastike, najveći dio proizvodi se za jednokratnu upotrebu, većinom za pakiranje hrane, pića i ostalih proizvoda što dovodi do rasta plastičnog otpada koji je neadekvatno zbrinut i vrlo često završava u morima i oceanima te se pretpostavlja da 75 % otpada u morima čini plastika [5].

## **2.2. Mikroplastika u okolišu**

### **2.2.1. Mikroplastika u morima**

Glavni izvor mikroplastike u oceanima čine proizvodi za osobnu higijenu poput pilinga za lice iz kojih mikrogranule završe u otpadnim vodama, a nakon toga u rijekama i oceanima. Drugi važni izvori su velika količina opreme za ribolov te vlakna iz sintetičke odjeće otpuštena tijekom pranja [1].

Brojna istraživanja utjecaja mikroplastike na površinske vode i mora provedena su u Kini, najvećem proizvođaču plastičnih materijala na svijetu. Čak 27,8 % svjetske proizvodnje plastike proizvodi se u Kini [21] te je usprkos ekonomskom rastu, zbrinjavanje otpada na zabrinjavajuće niskoj razini. Godine 2014. provedeno je istraživanje o utjecaju mikroplastike na kineska jezera, rijeke, mora i rezervoare te su evidentirani sljedeći utjecaji kod organizama: ogrebotine i začepljenje probavnog sustava, povećanje stupnja smrtnosti i plodnosti, problemi prilikom hranjenja, promjene u ponašanju i prilikom razmnožavanja. Unatoč brojnim propisanim regulacijama i zakonima u vezi odlaganja plastike, njihova primjena često je neučinkovita, posebno u ruralnim i nerazvijenim dijelovima Kine, što predstavlja sve veći problem za površinske vode i mora. Brojna istraživanja i bolje razumijevanje problema mikroplastike te njezinih trajnih posljedica za životinjski svijet pokazala su da još nisu u potpunosti razvijene standardizirane analitičke metode za identifikaciju i kvantifikaciju mikro i nanoplastike u različitim uzorcima te nisu dovoljno istraženi procesi degradacije mikroplastike, kao ni put čestica od kopna do površinskih voda i oceana te sveukupni utjecaj na eko-sustav [22].

Više od 100 000 čestica mikroplastike/km<sup>2</sup> nalazi se u Sredozemnom moru [23] što predstavlja velik problem za Jadransko more zbog njenog osebujnog oblika te velikog antropogenog utjecaja povezanog sa turizmom i industrijom. Tijekom proteklih godina dolazi do razvitka akvakulture te uzgoja dagnja i raznih školjkaša što je rezultiralo korištenjem polimernih materijala za održavanje takvih postrojenja. Polimerni materijali su jeftiniji, izdržljiviji i lakši za korištenje od prirodnih vlaknastih užadi [24]. Danas su akvariji, ograde, mreže i sustav za hranjenje napravljeni od plastičnih materijala zbog čega akvakultura značajno doprinosi zagađenju mora mikroplastikom.

Ostali izvori mikroplastike u Jadranu čine otpadne vode, kozmetički proizvodi, rijeke i poljoprivreda [25]. Također, važan je i utjecaj čovjeka na globalnoj razini, pa i u Hrvatskoj postoji problem odlaganja i razgradnje plastičnog otpada.

Godine 2017. provedeno je istraživanje o koncentraciji mikroplastike na 10 različitim lokacijama na dubini od 3 do 15 metara u Parku prirode Telašćica koji je smješten u središnjem djelu istočne obale Jadranskog mora [26]. Najviša koncentracija zabilježena je u Uvali Mir, dok je najniža zabilježena u Veli Proversi te 90 % mikroplastike činila su sintetička vlakna (Tablica 1).

**Tablica 1.** Koncentracija plastike na 10 različitim lokacijama u Parku prirode Telašćica [26].

Lokacija	Koncentracija / čestica/kg
Mala Proversa	279.2
PodStražica	177.4
Uvala Mir	377.8
Čušćica	170.3
Magrovica	32.3
Farfarikulac	177.9
Vela Proversa	42.6
Gmajnac	84.4
Loišće	296.5
Lučice	137.7

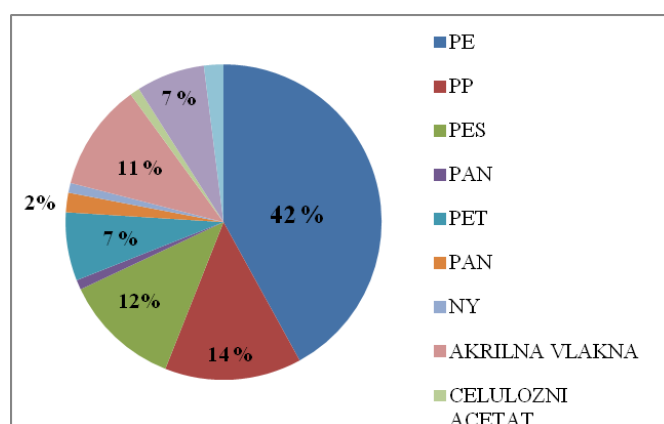
U usporedbi sa koncentracijom mikroplastike na Malti i u Veneciji, utvrđeno je da je koncentracija u Parku prirode slična onoj na Malti, a manja od one u Veneciji [27, 28]. U Venecijskoj laguni zabilježena je koncentracije mikroplastike od 672 do 2175 čestica po kilogramu te je identificirano najviše polietilena i polipropilena koji čine 82 % pronađenih čestica, a pojavljuju se i etilen propilen (PEP), poliester, polivinil klorid (PVC) i polivinil alkohol (PVA) [28].

U sklopu Projekta DeFishGear koji se bavi problematikom otpada u Jadranskom moru, provedeno je istraživanje o količini i sastavu mikroplastike u uzorcima uzetih s površine mora i riječnih ušća, iz sedimenata na plažama te iz želudaca riba na područjima gdje se odvijaju ribolovne aktivnosti (Slika 6.) [29]



**Slika 6.** Lokacije uzorkovanja morskog otpada s plaža, površine mora, morskog dna, mikroplastike u ribama, izgubljenih ribarskih mreža te ribarskih luka Vira i Tribunja [29].

Rezultati pokazuju da je veća koncentracija zabilježena u uzorcima bliže obali i u unutrašnjem dijelu ušća Neretve zbog blizine izvora otpada s kopna. Utvrđen je porast koncentracije mikroplastike nakon turističke sezone, posebice na plaži Bačvice u Splitu koja predstavlja jednu od najpopularnijih turističkih plaža na tom području. Također, uočava se znatno povećanje koncentracije mikroplastike u jesen (4200 čestica/kg sedimenta) u odnosu na početak ljeta (870 čestica/kg sedimenta) na plaži Zaglav što je posljedica utjecaja otvorenog mora te jakih južnih vjetrova i valova [29]. U uzorcima je pronađeno najviše polietilena i polipropilena što i nije neobično zbog njihove raznolike upotrebe (Slika 7).



**Slika 7.** Polimerni sastav uzorka sa pješčanih plaža (**PA** poliamid, **PE** polietilen, **PS** polistiren, **PP** polipropilen, **PES** poliester, **PAN** poliakrilonitrin, **PET** polietilen tereftalat, **NY** nylon, **PO** poliolefin, **PU** poliuretan) [29].

## 2.2.2. Mikroplastika u tlu

U usporedbi sa utjecajem mikroplastike na morske životinje, utjecaj na kopnene nije toliko istražen, ali u posljednjih nekoliko godina to se mijenja zbog sve većeg korištenja plastičnih materijala u poljoprivrednoj industriji. Mikroplastika se u tlu vrlo jednostavno može naći ako je prisutna u vodi za navodnjavanje, a može negativno utjecati na razlaganje mikroflora te usporiti rast brojnih životinja poput glista ili čak i izazvati smrt [28]. Kao i kod istraživanja o utjecaju u morima, glavni problem kod istraživanja o utjecaju na tla je to što ne postoje standardizirane metode za kvantifikaciju mikroplastike u tlu [2].

Glavni izvori mikroplastike u tlu su: plastični pokrovi za biljke, otpadni mulj, navodnjavanje otpadnim vodama, abrazija guma te prijenos atmosferom [2]. Na slici (Slika 8.) shematski su prikazani različiti izvori mikroplastike u tlu uključujući čestice mikroplastike koje se prenose zrakom, a zatim završavaju u vodama i naposljeku u tlu te čestice nastale utjecajem čovjeka zbog odlaganja plastike u okoliš. Unatoč visokom stupnju uklanjanja mikroplastike iz otpadnih muljeva koji se koriste kao gnojivo u poljoprivredi, velik dio zaostaje pa može zadržavati čak do 24000 čestica mikroplastike po kilogramu [31].



**Slika 8.** Izvori i sudbina mikroplastike u tlu (crne i bijele strelice pokazuju transport čestica mikroplastike. a) abrazija guma, b) moguća konzumacija pomoću biljaka, c) transport pomoću životinja, d) transportacija putem hranidbenog lanca) [2].

### 2.2.3 Mikroplastika u površinskim vodama

Najviše mikroplastike u površinskim vodama dolazi iz kopnenih izvora te velik dio prelazi u oceane, dok se ostatak zadržava u površinskim vodama uključujući izolirane vodene sustave poput planinskih jezera [32]. Mikroplastika je široko rasprostranjena u površinskim vodama u svijetu (Tablica 2.) čijem širenju pridonose utjecaji vjetra i geostrofičke cirkulacije [33] te značajan utjecaj na distribuciju i transport ima gustoća, oblik i veličina čestica mikroplastike [34]. Veća koncentracija mikroplastike pronađena je u rijekama i jezerima koja se nalaze u blizini gusto naseljenih područja [35]

**Tablica 2.** Pregled količine mikroplastike u različitim dijelovima svijeta [36].

Lokacija	Postupak identifikacije	Broj čestica/km <sup>2</sup>
Dunav, Austrija	Vizualno	0.137
Rajna	FTIR	8.93 x 10 <sup>5</sup>
Kanali/ Amsterdam	FTIR	1 x 10 <sup>5</sup>
Hidroelektrana Tri klanca, Kina	Vizualno + Raman	8.47 x 10 <sup>6</sup>
Estuarij Yangtze	Vizualno	4.14 x 10 <sup>3</sup>
Jezero Taihu, Kina	FTIR + SEM-EDS	8.93 x 10 <sup>3</sup>
Jezero Hovsgol, Mongolia	Vizualno	2.03 x 10 <sup>4</sup>
Jezero Winnipeg, Kanada	SEM-EDS	1.93 x 10 <sup>5</sup>
Velika jezera, USA	SEM-EDS	4.30 x 10 <sup>4</sup>
Estuarij Goiana, Brazil	Vizualno	3.1 x 10 <sup>4</sup>

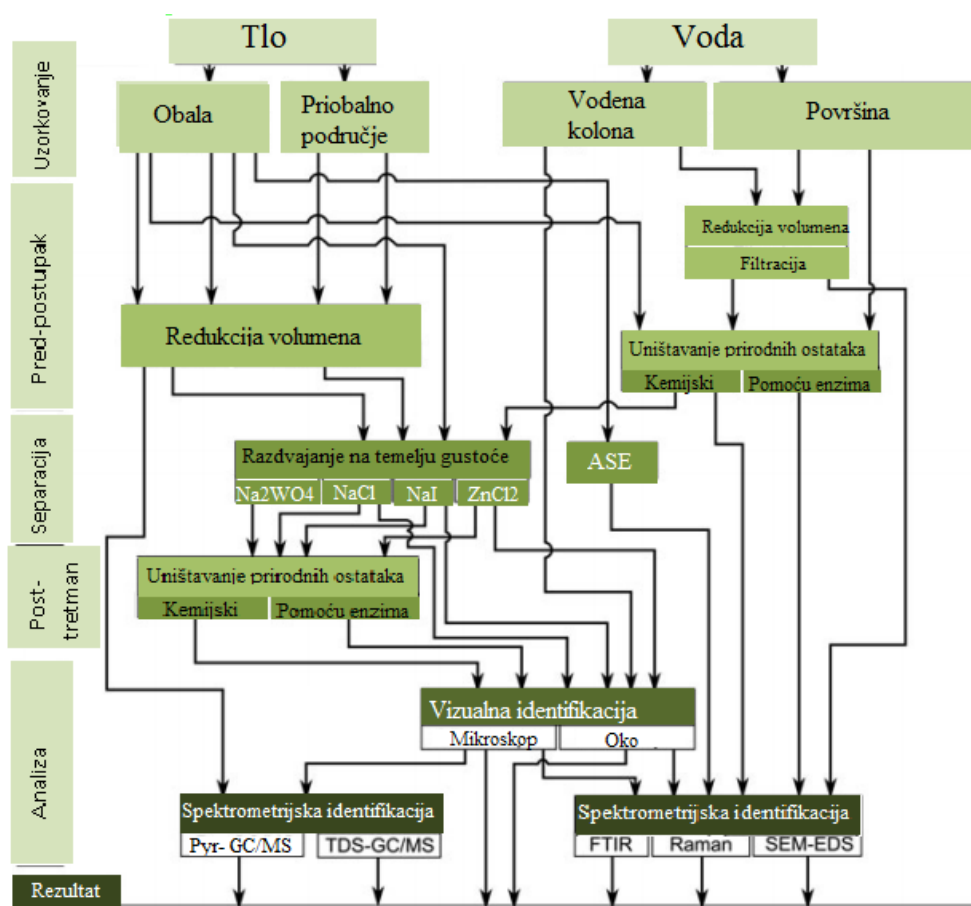
Jedan od glavnih izvora mikroplastike u površinskim vodama su otpadne vode. Godine 2016. provedeno je istraživanje u SAD-u o količini mikrogranula koje dospiju u okoliš preko otpadnih voda te rezultati pokazuju zabrinjavajućih 13 bilijuna čestica po danu [37].



Usprkos tome što je prisutnost mikroplastike dokazana u brojim površinskim vodama, još uvijek njen negativan utjecaj na žive organizme nije dovoljno istražen, ali mu se pridaje sve više pozornosti.

### 2.3. Postupci određivanja mikroplastike u okolišu

U usporedbi s makroplastikom, vrlo male čestice mikroplastike znatno otežavaju detekciju u uzorcima iz okoliša i zahtijevaju korištenje složenijih analitičkih metoda. Uzorci često sadržavaju visoku koncentraciju organskih čestica koje onemogućuju jednostavnu vizualnu detekciju mikročestica te su potrebne prikladne metode za pripremu uzoraka kako bi se lakše ekstrahirale čestice mikroplastike (Slika 9.).



**Slika 9.** Mogući načini analize mikroplastike u tlu i vodenim uzorcima (FTIR- Infracrvena spektroskopija s Fourierovim transformacijama, SEM-EDS- scanning electron microscopy energy-dispersive X-ray spectroscopy, Pyr- GC/MS, TDS-GC/MS- piroliza ili termalna desorpcija- plinska kromatografija/masena spektrometrija, ASE- ubrzana ekstrakcija otapala) [39].

Mikroplastika u vodi lako se filtrira od uzorka, dok se čestice mikroplastike u talozima najčešće separiraju na temelju razlike u gustoći. Naime, u otopini velike gustoće, čestice plutaju na površini, dok se ostale čestice u uzorku talože na dno. Da bi se pripremila otopina velike gustoće koriste se razne soli poput NaCl, NaI, ZnCl<sub>2</sub> i Na<sub>2</sub>WO<sub>4</sub>.

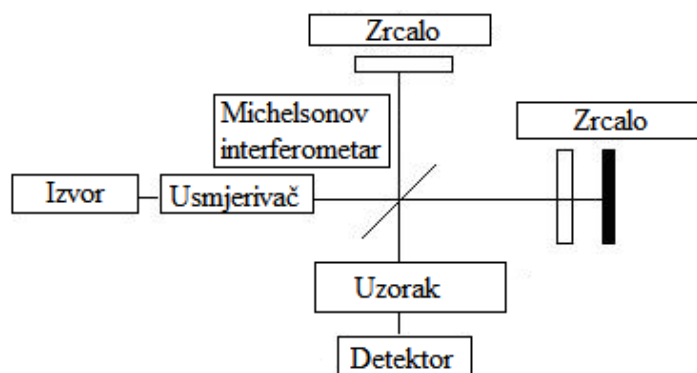
Druga metoda je ubrzana ekstrakcija otapala koja se izvodi pod uvjetima visokog tlaka kako bi se povisila točka vrelišta otapala, što povećava brzinu ekstrakcije. Međutim, problem nastaje kod komplicirane identifikacije ekstrakta koji sadrži više vrsta polimera [38]. Neizbježno je i uklanjanje prirodnih ostataka u uzorcima koji se mogu uništiti kemijskim ili enzimičnim putem. Kemijsko uništavanje odnosi se na uklanjanje pomoću vodikovog peroksida, mješavine vodikovog peroksida i sumporne kiseline, ali tako agresivni uvjeti mogu djelovati i na mikroplastiku koja je podložna oksidaciji. Uništavanje pomoću enzima uključuje korištenje smjese enzima (lipaza, amilaza, proteinaza, celulaza), a sam postupak je skup i vrlo dugotrajan [39].

### 2.3.1. FTIR

U većini istraživanja, čestice mikroplastike se prvo vizualno identificiraju te se zatim koriste razne spektroskopske metode. Jedna od njih je metoda infracrvene spektroskopije s Fourierovim transformacijama (FTIR) koja je široko rasprostranjena u organskoj sintezi, detekciji polimera, petrokemijskom inženjerstvu, farmaceutskoj industriji i analizi hrane [40]. Metoda se temelji na utvrđivanju strukture molekule pomoću njezine mogućnosti adsorpcije infracrvenog zračenja. Prilikom izloženosti zračenju, molekula adsorbira zračenje specifičnih valnih duljina što uzrokuje promjenu dipolnog momenta te se vibracijska energija transformira iz osnovnog u pobuđeno stanje. Analizom infracrvenog spektra može se saznati struktura molekule [41]. Korištenje Fourierovih transformacija pokazalo je brojne prednosti u odnosu na disperzivne IR spektrometre poput:

- odnos šum-signal značajno je viši
- odstupanje je u rasponu  $\pm 0.01 \text{ cm}^{-1}$
- brže vrijeme skeniranja svih frekvencija
- širi raspon skeniranja ( $1000 \sim 10 \text{ cm}^{-1}$ )

FTIR spektrometar se sastoji od izvora, interferometra, uzorka, detektora, zrcala i računala (Slika 10.). Zračenje proizlazi iz izvora kroz interferometar do detektora. Zatim se signal konvertira u digitalni signal koji dolazi do računala gdje se provodi Fourierova transformacija. Glavna razlika između FTIR spektrometra i disperznog IR spektrometra je Michelsonov interferometar koji razdjeljuje jednu zraku svjetlosti u dvije različite putanje koje se rekombiniraju u detektor gdje se mjeri njihov intenzitet [41].



**Slika 10.** Dijelovi FTIR spektrometra [41].

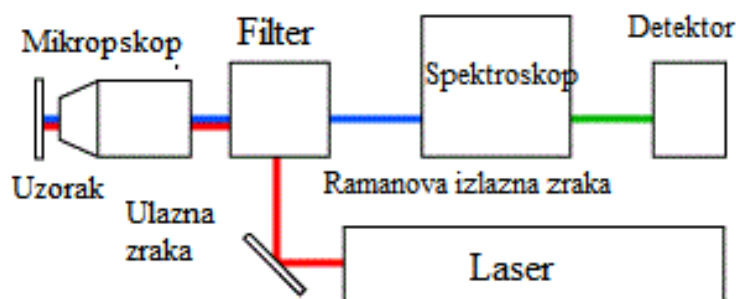
**Tablica 3.** Funkcionalne grupe u najraširenijim polimerima i njihove valne duljine u FTIR spektru [43].

Polimer	Funkcionalna grupa	Valna duljina/ $\text{cm}^{-1}$
HDPE	C-H istezanje	2915, 2845
	$\text{CH}_2$ uvijanje	1463
	$\text{CH}_2$ njihanje	730
Polivinil klorid (PVC)	$\text{CH}_2$ uvijanje	1427
	CH uvijanje	1331, 1255
	C-C istezanje	1099
	$\text{CH}_2$ njihanje	966
	C-Cl istezanje	616
Polipropilen (PS)	C-H istezanje	2950, 2915
	$\text{CH}_2$ uvijanje	1455
	$\text{CH}_3$ uvijanje	1377
Polistiren (PS)	aromatsko C-H istezanje	3024
	C-H istezanje	2847
	aromatsko istezanje prstena	1492, 1601
	$\text{CH}_2$ uvijanje	151
Polietilen tereftalat (PET)	C=O istezanje	1713
	C-O istezanje	1241, 1094
Poliamidi	N-H istezanje	3298
	CH istezanje	2932, 2858
	C=O istezanje	1634
	NH uvijanje	1538
	$\text{CH}_2$ uvijanje	1464, 1372

Velika baza spektara polimera omogućuje ne samo potvrdu o prisutnosti mikroplastike, već i identifikaciju specifičnih vrsta polimera. Male čestice mikroplastike zahtijevaju korištenje mikro-FTIR ( $\mu$ -FTIR) koji se koristi za mikroskopsko proučavanje prije spektroskopijske potvrde te se mogu detektirati čestice jednake veličine kao otvor kroz koji prolazi IR zračenje. ATR-FTIR (FTIR sa smanjenom totalnom refleksijom) se smatra oblikom analize kod kojeg dolazi do površinskog kontakta te je moguće oštećenje površine osjetljivijih vrsta mikroplastike. Također, pomoću FTIR-a je moguće odrediti stupanj degradacije mikroplastike zbog pojave oksidiranih veza u IR spektru [42]. Tablica 3. prikazuje tipične funkcionalne grupe koje se pojavljuju u strukturama polimera i njihove odgovarajuće valne duljine u FTIR spektrima.

### 2.3.2. Raman spektroskopija

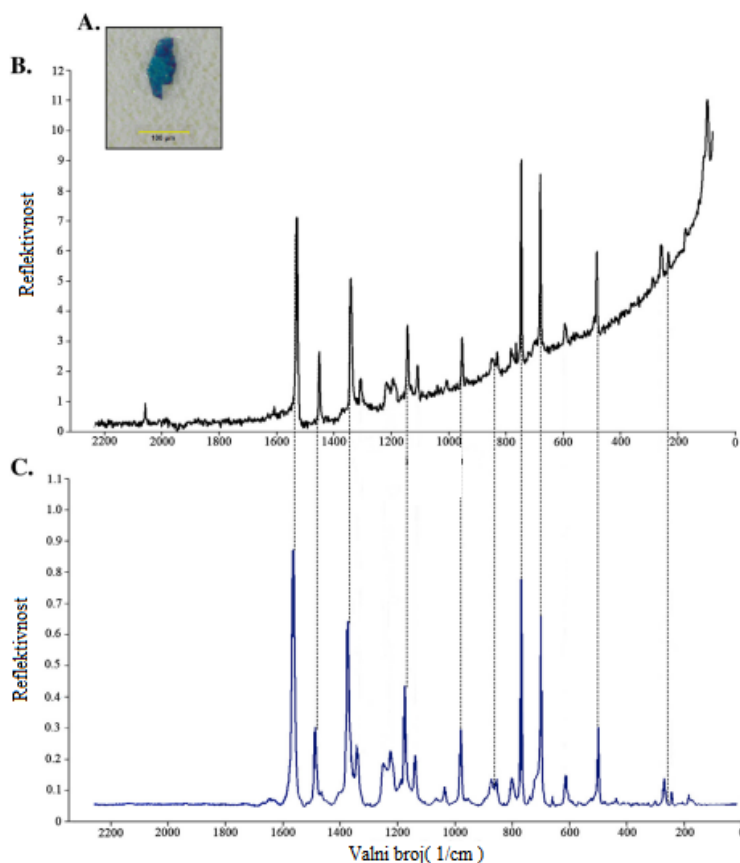
Prilikom usmjeravanja svjetlosti na molekulu, dolazi do raspršenja zračenja koje ima različitu frekvenciju od ulazne zrake zbog interakcija između oscilacije svjetla i molekulske vibracije. Taj fenomen naziva se Ramanovo raspršenje te je pomoću analiza spektra raspršenog zračenja moguće odrediti strukturu molekule. Za analizu čestica mikro veličine Ramanova spektroskopija kombinira se sa mikroskopom (Slika 11.) [44].



**Slika 11.** Dijelovi Ramanovog mikroskopa [44].

S obzirom da tijekom analize ne dolazi do oštećenja površine čestica, moguće su daljnje analize uzoraka, ali je Raman spektroskopija osjetljiva na aditive i pigmente u mikroplastici koje mogu smetati identifikaciji različitih vrsta polimera [42]. Primjerice, prilikom identifikacije mikroplastike pomoću Ramanove spektroskopije dobiven je spektar koji odgovara plavom pigmentu (bakrov ftalocijanin), a ne spektar koji odgovara određenom tipu plastike (slika 12.). Međutim, taj pigment je često korišten u plastičnoj industriji, što pridonosi pretpostavci da je nepoznati uzorak mikroplastika [45].

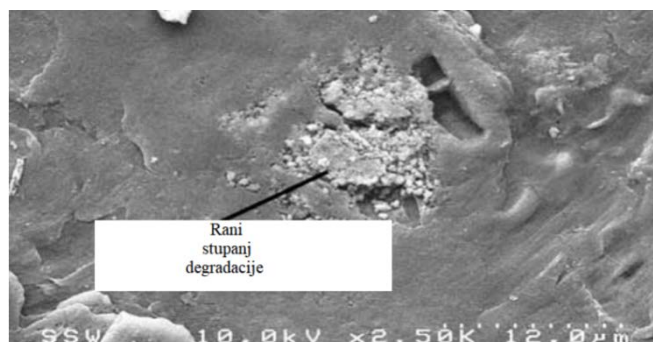
Za lociranje čestica mikroplastike u tkivima koristi se koherentno anti-Stokes Ramanovo raspršenje (CARS) te se često upotrebljava za detekciju čestice veličine 2-3  $\mu\text{m}$  kod zooplanktona [44]. FTIR i Raman spektroskopija su komplementarne zato što su neke molekulske vibracije vidljive u Raman spektru dok u IR nisu i obrnuto [47].



**Slika 12.** Identifikacija mikroplastike pomoću mikro-Raman spektroskopije. **A.** čestica mikroplastike sa dna mora na 2749 metara dubine. **B.** Ramanov spektar za česticu mikroplastike **C.** Ramanov spektar za plavi pigment bakrov ftalocijanin. Ramanovi signali na C podudaraju se sa onima na slici B (isprekidane linije) [45].

### 2.3.3. SEM

SEM (*Scanning electron microscope*) je metoda određivanja mikroplastike kod koje se pomoću uskog snopa elektrona dobiva vrlo detaljna slika površine (Slika 13.). Snaga rezolucije mikroskopa limitirana je kvalitetom leća i valnom duljinom upadne zrake te s obzirom da elektroni imaju značajno kraće valne duljine, elektronski mikroskopi pružaju bolju rezoluciju od svjetlosnog mikroskopa [48].



**Slika 13.** Površina mikroplastike snimljena pomoću SEM – a [49].

Nakon SEM analize, provodi se analiza sa energijsko-disperznom spektroskopijom X-zrakama (SEM-EDS) koja pruža elementarni sastav istog objekta te omogućuje odvajanje plastike od anorganskih čestica. SEM-EDS metoda je skupa, vremenski zahtjevna i potrebna je prethodna priprema uzorka te se preporuča za površinske karakterizacije i elementarne analize čestica mikroplastike [42].

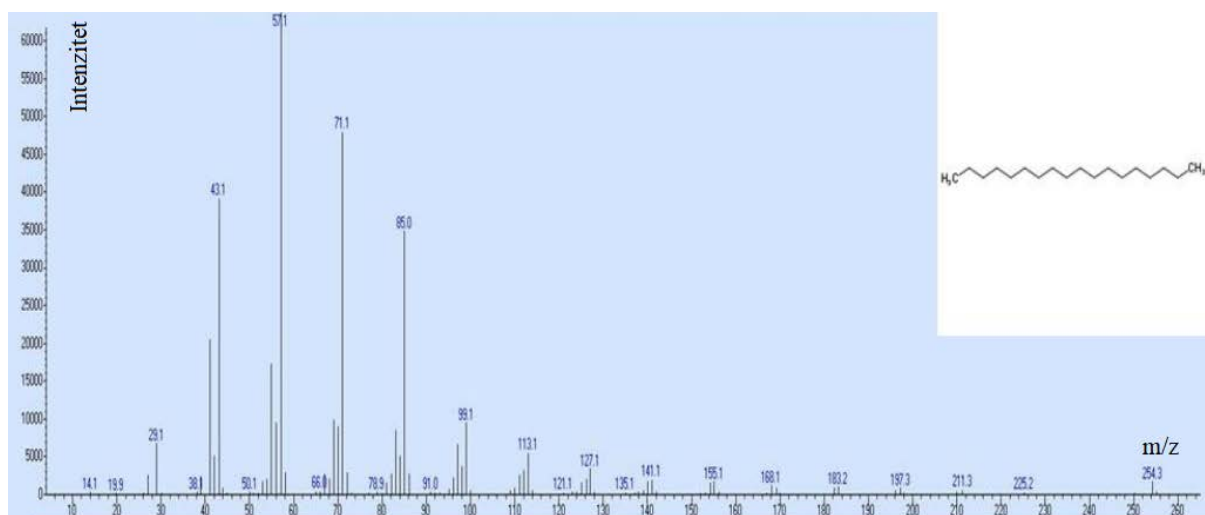
#### **2.3.4. HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*)**

HPLC analitička je metoda pomoću kojeg se razdvajaju komponente otopljenje u određenom otapalu. Kromatografska separacija sastoji se od otapala, pumpe, uzorka, stupca, detektora i računala. Pokretna faza ili otapalo obično je mješavina polarnih i nepolarnih komponenata čija koncentracija ovisi o uzorku. Sve kromatografske separacije funkcioniraju na istom principu: kromatografija razdvaja uzorak na sastavne komponente zbog razlike različitih molekulskih afiniteta prema mobilnoj i stacionarnoj fazi korištenoj kod separacije [50]. Kombinacijom tekućinske kromatografije i masene spektrometrije mogu se odrediti koncentracije polietilena tereftalata (PET) i polikarbonata (PC) na način da se molekule depolimeriziraju hidrolizom [51].

#### **2.3.5. GC/MS (*Gas chromatography/Mass spectrometry*)**

Upotreba plinske kromatografije u kombinaciji sa masenom spektrometrijom sve se više koristi u polimernoj industriji. Piroliza-plinska kromatografija/masena spektrometrija (Py-GC/MS) analitička je metoda koja se koristi za identifikaciju komponenata, a uključuje zagrijavanje uzorka do visokih temperatura što uzrokuje razlaganje na manje molekule koje su separirane pomoću plinske kromatografije i identificirane pomoću masene spektrometrije [52]. Piroliza je termičko raspadanje materijala koje nastaje pri temperaturama višim od 600 °C bez prisutstva kisika [53].

Koncentracije polimera za koje se metoda može primijeniti ovise o vrsti polimera i mogućim smetnjama prirodnih matrica prilikom provođenja metode. Istraživanjem je dokazano da je moguća detekcija polietilena, polipropilena, polietilena tereftalata, polivinil klorida, polikarbonata i poliamida tijekom provođenja jedne izvedbe metode GC/MS [50]. Detekcija se provodi uspoređivanjem dobivenih MS spektara sa već određenim MS spektrima određenih polimera (Slika 14.).



**Slika 14.** Maseni spektar produkta pirolize polietilena 1,17-okstadiena [54].

### 3. PREGLEDNI DIO

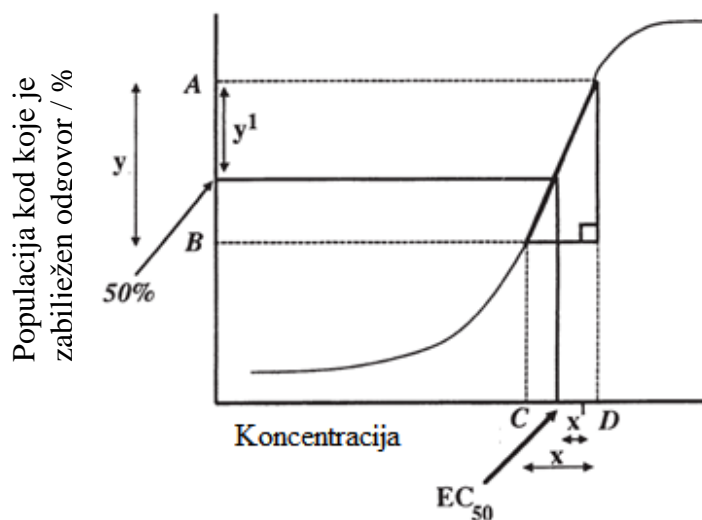
#### 3.1. Utjecaj mikroplastike na različite organizme - ekotoksikološka ispitivanja

Ekotoksikološka ispitivanja provode se zbog utvrđivanja negativnih utjecaja koje ispitivana tvar ima na organizam, populaciju, ekosustav i biosferu [55]. Provode se na organizmima koji su jednostvani za održavanje u laboratoriju te imaju jednostavniji razvojni mehanizam koji se može primijeniti na složenije organizme. Najčešće korišteni organizmi na kojima se provode eksperimenti su nematod *Caenorhabditis elegans*, vinska mušica *Drosophila melanogaster*, žaba *Xenopus laevis*, miš *Mus musculus* i zebrafish *Danio rerio* zato što su relativno mali, imaju jednostavnu anatomiju i kratak životni vijek [56].

Toksičnost opisuje kako različite tvari djeluju na ljude i ostale organizme. Može uzrokovati trenutačnu smrt ili suptilne promjene u organima, raznim vrstama stanica ili kod biokemijskih reakcija koje se primjećuju tek nakon par mjeseci ili godina [57]. Toksini se mogu podijeliti u dvije skupine [16]. To su sistematični toksini koji djeluju na cijelo tijelo i mnoge organe (npr. kalijev cijanid) te organski toksini koji djeluju samo na određene organe (npr. benzen je primarno toksičan za tkiva koja stvaraju krvne stanice).

Faktori koji određuju toksičnost su doza, uvjeti eksponiranja i odgovor domaćina [58]. Nadalje, prisutnost drugih tvari može smanjiti toksičnost (antagonistički efekt) ili povećati toksičnost (sinergistički efekt) [59]. Deskriptori doza koriste se kako bi se opisala veza između specifičnog efekta određene supstance i doze koja je potrebna za nastajanje negativnog učinka. Toksičnost se može izraziti preko akutne toksičnosti i subkronične odnosno kronične toksičnosti. Akutna toksičnost obuhvaća jednokratni unos visoke doze štetne tvari u organizam i posljedice koje se pri tom pojavljuju. Akutna toksičnost se izražava dozom otrova koja izaziva smrt kod 50 % organizama – “lethal dose” LD<sub>50</sub> i najčešće se izražava u mg/kg tjelesne težine. Uz prikazivanje podataka za LD<sub>50</sub> uvijek je potrebno navesti na koje se organizme (*Vibrio fischeri* [21], *Daphnia magna* [8], alge [74], morski račići [6]) ona odnosi i koji je put unosa opasne tvari u organizam (oralni, dermalni i inhalacijski). Često se akutna toksičnost izražava i kao EC<sub>50</sub> („effect concentration“), koja označava koncentraciju ispitivane tvari koja je uzrokovala negativne učinke kod 50 % ispitivane populacije [59]. Postoje razni načini za izračunavanje EC<sub>50</sub> vrijednosti te se mnogi od njih temelje na analizi koncentracija-odgovor grafova (slika 15.).





**Slika 15.** Ovisnost populacije kod koje je zabilježen odgovor o koncentraciji. Iz matematičkih zakonitosti može se izračunati  $EC_{50}$  [60].

Zbog bržeg i točnijeg izračunavanja koriste se razne statističke metode, a neke od njih su probit analiza, logistička regresija i Spearman-Karber metoda pomoću programa poput GraphPadPrism, BLesQ, OriginPro, SigmaPlot i drugih [61].

Postoje brojne metode za određivanje  $LD_{50}$  vrijednosti poput Lorkeove, Karberove i Up and Down metoda, a novije metode teže korištenju manjeg broja životinja [62]. Jedna od njih je metoda podijeljena u 3 stupnja i dodatnog koji služi za potvrdu rezultate završnog stupnja. Za prvi stupanj potrebne su 4 životinje koje su podijeljene u 4 grupe i izložene su različitim koncentracijama ispitivane tvari (Tablica 4.) te se promatraju svakih 2 sata u intervalu od 24 sata, a ako nije zabilježena smrtnost, kreće se u 2. stupanj.

**Tablica 4.** Metoda za određivanje vrijednosti  $LD_{50}$  - preporučene doze za različite stupnjeve [63].

Stupanj	Preporučena doza / mg / kg težine			
	Grupa 1	Grupa 2	Grupa 3	Grupa 4
1.	10	100	300	600
	50	200	400	800
2.	1000	1500	2000	
3.	3000	4000	5000	

On uključuje 3 životinje podijeljene u 3 grupe i izložene su većoj koncentraciji ispitivane tvari od one u stupnju 1. Treći stupanj zahtijeva 3 životinje izložene vrlo visokoj koncentraciji supstance te ako nema zabilježene smrtnosti smatra se da je LD<sub>50</sub> veći od 5000 mg/kg i supstanca ima vrlo nisku toksičnost. Nakon obavljene procedure, formula koja se koristi za računanje LD<sub>50</sub> je:  $LD_{50} = [M_0 + M_1] / 2$ , gdje je M<sub>0</sub> najviša doza koja nije prouzročila smrtnost, a M<sub>1</sub> najniža doza koja je prouzročila smrtnost [63].

Subkronična i kronična toksičnost predstavljaju svojstvo štetne tvari koja se javlja tijekom dužeg unosa otrova u organizam uz više ili manje redovitu učestalost unosa i uz različite doze. Pojedinačna doza je mala, ne izaziva nikakve učinke na organizam, ali može umanjiti sposobnost jedinke da izbjegne predatora, pronađe hranu ili se razmnožava. Ispitivanja se provode na životinjama, ali i epidemiološkim istraživanjima na skupinama ljudi koji su na radnom mjestu ili u okolišu dugotrajno izloženi otrovu. Testovi subkronične i kronične toksičnosti traju duže (po nekoliko tjedana ili mjeseci) od testova akutne toksičnosti (unutar 24 sata) [64].

Rezultati kroničnih testova toksičnosti mogu se koristiti za računanje vrijednosti koje određuju standard kvalitete vode, a to su NOEC („no observed effects concentration“) definira se kao najviša koncentracija ispitivane tvari koja ne pokazuje nikakve negativne posljedice u odnosu na kontrolnu grupu te LOEC („lowest observed effects concentration“) koja označava najmanju koncentraciju ispitivane tvari koja pokazuje negativne posljedice. Testovi kronične toksičnosti mogu biti skupi i komplicirani za izvedbu zbog poteškoća u održavanju konstantnih uvjeta, održavanju stalne kvalitete vode, konstante izloženosti supstancama i dugotrajnosti procesa [64]. Također, postoje brojni faktori koji smanjuju ili povećavaju toksičnost [65]:

- **fizikalno-kemijski faktori-** pH-vrijednost, bazičnost, tvrdoća vode, temperatura, količina otopljenog organskog ugljika
- **biološki faktori-** vrste organizama, njihova veličina i dob

## 3.2. Toksičnost

### 3.2.1. Morski organizmi

Utjecaj mikroplastike varira s obzirom na tip i veličinu čestica te se može negativno odraziti na razna prirodna staništa. Na primjer, kod više od 40 % kita ulješure nasukanih na obalu Sjevernog mora (Slika 16.) u probavnom sustavu pronađene su folije, užadi i plastika za pakiranje te su istraživanja pokazala da brojni organizmi poput kitova, riba, raznih školjaka, kamenica, škampa i glista zabunom jede čestice mikroplastike misleći da je hrana [5].



**Slika 16.** Nasukani kitovi na obali Njemačke [65].

Godine 2018. provedeno je istraživanje o utjecaju mikroplastike na zooplankton koji se u izobilju nalazi u rubnim dijelovima mora, gdje je pronađena najveća koncentracija mikroplastike. Zooplankton obuhvaća različite vrste sitnih životinjskih vrsta koji lebde ili se ograničeno kreću u vodi, nošeni strujama i valovima te ima važnu ulogu u funkcioniranju ekosustava zato što predstavlja izvor hrane mnogim organizmima te sudjeluje u kruženju ugljika. Istraživanje je pokazalo da kopepodni račići (Slika 17.), izloženi prirodnim algama i mikroplastici veličine 20  $\mu\text{m}$ , konzumiraju manje alga nego što bi konzumirali u okruženju bez prisutstva mikroplastike, što dovodi do smanjenja mase ugljika od  $-9.1 \pm 3.7 \mu\text{g}$  po kopepodnom račiću po danu [6].



**Slika 17.** Kopepodni račić [67].

Nadalje, slabija prehrana može negativno utjecati na plodnost, točnije na stvaranje jajašca i poteškoće u njihovom razvoju, što je također dokazano na kopepodima [66].

Nakon što mikroplastika dospije u more, na nju djeluju različiti procesi koji uzrokuju površinska oštećenja te se na njih može adsorbirati sloj organskih i anorganskih tvari.

Zbog privlačnih i odbojnih sila između mikroplastike i mikroorganizama, može se formirati biofilm koji sadrži mikroorganizme kojima se zooplankton hrani te je kod raznih istraživanja dokazano da će mikroorganizmi prije odabrati mikroplastiku koja se već neko vrijeme nalazi u vodi, od one koja je tek ušla [66].

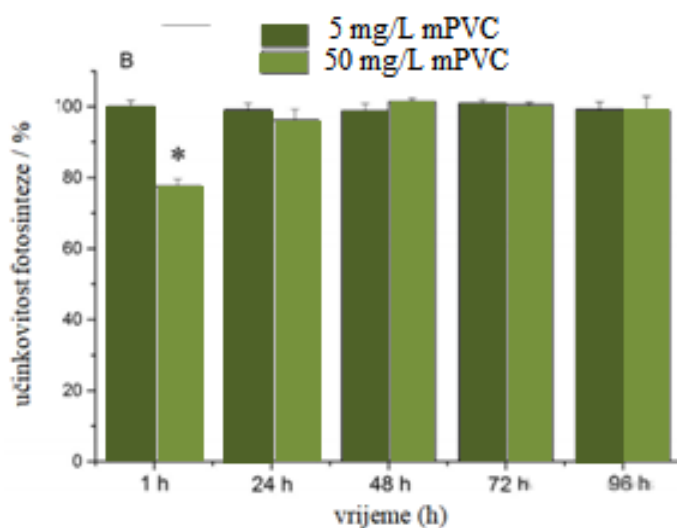
Posljednjih nekoliko godina raste zabrinutost o utjecaju mikroplastike na dagnje upravo zbog toga što su one vrlo raširene u prehrambenoj industriji. Budući da nemaju selektivni način prehrane, već se hrane filtracijom hranjivih tvari iz vode, jače su izložene unosu mikroplastike. Laboratorijskim istraživanjima dokazano je da plava dagnja *Mytilus edulis* akumulira mikročestice polistirena nakon 12 sati izloženosti mikroplastici i morskoj vodi, a zadržava ih više od 48 dana. To je uzrokovalo brojne posljedice, a jedna od njih je povišena koncentracija pirena u probavnoj žlijezdi, što nije utjecalo na dagnje samo na staničnoj razini, već i na transkripcijskoj razini, na ciklus limunske kiseline i metabolizam arahidonske kiseline koja je zaslužna za regulaciju enzima [68].

### 3.2.2. Mikroalge

Alge su autotrofni fotosintetski organizmi od kojih većinu čine morske alge, ali žive i u površinskim vodama, različitim vrstama tla i kamenju uz prisutnost dovoljne količine svjetlosti i vode [69]. Alge procesom fotosinteze pomoću klorofila, karotenoida i fikobilina pretvaraju ugljikov dioksid u ugljikohidrate i kao produkt nastaje kisik [70].

Zbog toga imaju vrlo važnu ulogu u morskom ekosustavu i čine bazu hranidbenog lanca te postanak gotovo svih životinjskih vrsta ovisi o algama. [71]

Osim na rast i razvoj, značajan utjecaj mikroplastike primjećuje se na udio klorofila te na mogućnost i učinkovitost obavljanja. Prema istraživanju Zhang C. i sur. (2017.) u kojem se ispitaio utjecaj mikroplastike na udio klorofila u algama, primijetilo se da se kod nižih koncentracija mikroplastike udio klorofila nije značajno promijenio, dok je pri višim koncentracijama, pri 50 mg/L, udio klorofila pao za 20 % u periodu od 96 sati (Slika 18.). Kod iste koncentracije, učinkovitost obavljanja fotosinteze smanjila se za 32 % u jednom satu, što nije nezanemarivo, ali nakon toga blago raste što se može pripisati prilagodbom na nove uvjete [72].



**Slika 18.** Utjecaj koncentracije mikroplastike (5 i 50 mg/L mPVCa) na učinkovitost obavljanja fotosinteze [72].

Mikroalge su jedan od glavnih proizvođača energije u ekosustavu i na dnu su hranidbene piramide. Pri ingestiji mikroplastike, mikroplastika indirektno utječe na sve razine prehranbenog lanca. Jedna od učinkovitijih metoda za određivanje toksičnosti je  $EC_{50}$  vrijednost, ali mnogi znanstvenici susreću se sa problemom njegovog računanja zbog velike ovisnosti o veličini čestica, aditivima i površinskoj napetosti te to onemogućuje generalizaciju čak i po vrsti polimera [73]. Nadalje, drugi problem je njihovo uspoređivanje jer se koncentracije  $EC_{50}$  vrijednosti izražavaju u mg/L i u česticama/L [73]. Kod raznih istraživanja uočeno je da mikroplastika može prouzrokovati fizička oštećenja, povećanje osmotskog tlaka, otpuštanje toksičnih kemikalija i zadebljanje stanične stjenke [74,75,76]. Međutim, primjećeno je da su nabrojani efekti privremeni i da nakon inicijalnog perioda osjetljivosti slijedi oporavak. U tablici 5. vidi se da najveći utjecaj mikroplastika ima na fotosintezu, zaustavljanje rasta organizma i količinu klorofila.

Vrsta i veličina polimera također može doprinijeti toksičnosti što je i potvrdio Lagarde (2016.) koji je primijetio zaustavljanje rasta u okolini sa česticama polietilena kod *Chlamydomonas reinhardtii*, dok kod polietilena visoke gustoće nije primijećeno zaustavljanje rasta organizama [77].

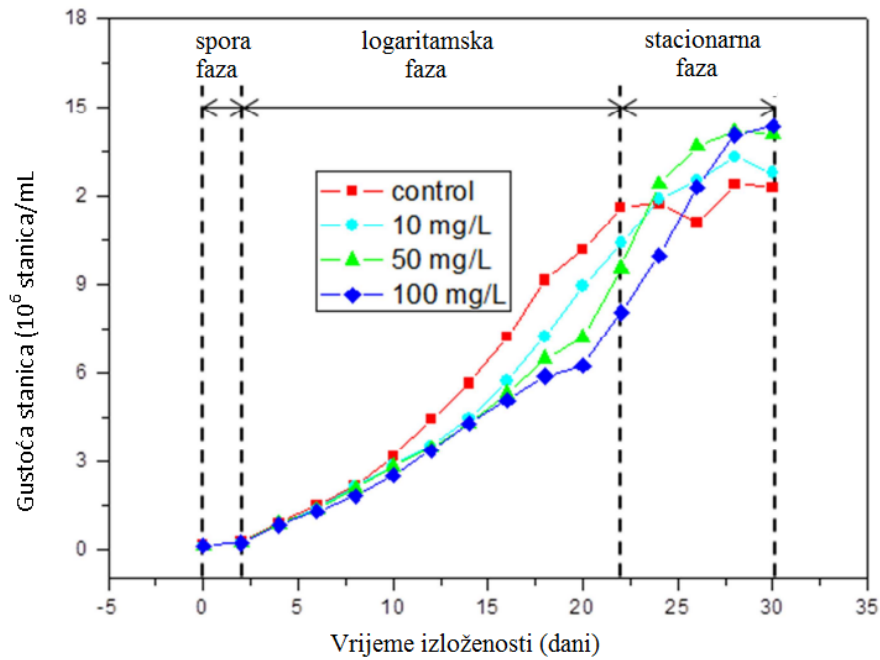
Fitoplankton je jedan od glavnih proizvođača kisika te sudjeluje u biogeokemijskom kruženju dušika i fosfora te je zbog osjetljivosti na promjene u okolišu, od velike važnosti razumijevanje odnosa između fitoplanktona i mikroplastike zbog procjene mogućih posljedica na morski okoliš [78]. Cilj istraživanja koje je provedeno na algi *Chlorella pyrenoidosa* bio je ispitati utjecaj mikroplastike na njezin rast, identificirati morfološke promjene i zabilježiti reakciju alge na izloženost mikroplastici. Rast alge može se podijeliti u 3 faze: faza prilagodbe, logaritamska faza i stacionarna faza. Na slici 19 vidi se da alga sporije raste do 22 dana, nakon čega dolazi do eksponencijalnog rasta.

Najsporiji rast se očitovao pri najvećoj koncentraciji mikroplastike (100 mg/L) odnosno za 14,7 % je gustoća stanica algi bila manja od uzorka kojem nije bilo mikroplastike [79].

**Tablica 5.** Utjecaju mikroplastike na mikroalge temeljene na različitim kriterijima [28].

	Vrsta	Polimer	Veličina (µm)	Testirana koncentracija (mg/L)	Utjecaj
<b>Slatke vode</b>	<i>Scenedesmus obliquus</i>	PS	0.07	44-1100	Zaustavljanje rasta, klorofil
	<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	PS-PEI	0.05	0.1 - 1	Zaustavljanje rasta
	<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	PS	0.1, 1	10-100	Fotosinteza Morfolologija Zaustavljanje rasta
	<i>Microcystis aeruginosa</i>	PS	20-350	66.7	Veličina alge Broj stanica
<b>Slane vode</b>	<i>Dunaliella tertiolecta</i>	PS	0.5-6	25, 25	Zaustavljanje rasta
	<i>Tetraselmis chuii</i>	PE	1.5	0.75- 48	Klorofil
	<i>Rhodomonas baltica</i>	PS	10	75-7500 ppb	Broj stanica Klorofil

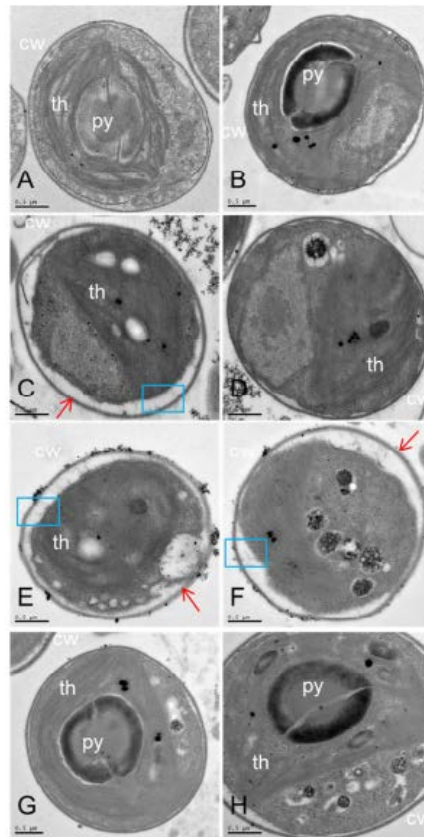
\*PS- polistiren, PE- polietilen, PS-PEI- polietilenimin polistiren



**Slika 19.** Ovisnost gustoće stanica o vremenu izloženosti mikroplastici [77].

Nadalje, u eksperimentu proučavale su se i morfološke promjene algi (Slika 20.). Nakon 13 dana inkubacije, u uzorku bez mikroplastike, u stanici *Chlorella pyrenoidosa* jasno se vidi morfologija sa označenom staničnom stijenkom (cw), tilakoidom (th) i pirenoidom (py) (A i B). U prisutnosti čestica mikroplastike stanična stijenka odvojila se od stanične membrane (E,F, označeno plavim pravokutnikom), izobličen je oblik tilakoida (C-F) koji upućuje na to da je obavljanje fotosinteze bilo onemogućeno te je uočeno zadebljenje stanične stijenke (E,F, označeno crvenim strelicama). Međutim, nakon 25 dana, morfologija stanice se vratila se u početni oblik (G,H) [79].

Tijekom druge faze (od kraja logaritamske do stacionarne faze), primjećuje se oporavak gustoće alge, mogućnost obavljanje fotosinteze i strukture stanice. Razlog tome je prilagodba stanice na novonastale uvjete uključujući zadebljanje stanične stijenke koja učinkovito sprječava ulazak mikroplastike u stanicu, a samim time i njeno oštećenje. Zadebljanje stanice zabilježeno je i kod *Chlorella ellipsoids* prilikom izloženja nanočesticama aluminijevog oksida [80]. Nadalje, homo-agregacija (približavanje stanica alga jedna drugoj) štiti stanice od daljnje štete zato što se smanjuje površina na koju se čestice mikroplastike mogu adsorbirati. Treća prilagodba je hetero-agregacija alga i čestica mikroplastike koje se talože na dnu ukoliko se ne mogu adsorbirati te na taj način manje djeluju na stanice [82].



**Slika 20.** TEM slike *Chlorella pyrenoidose* nakon izloženosti česticama mikroplastike veličine 0.1 i 1.0  $\mu\text{m}$  [79].

### 3.2.3. *Danio rerio* (Zebrafish)

*Danio rerio* (Slika 21.) je mala slatkovodna riba dužine do 3,8 cm koja pripada porodici *Cyprinidae* te se vrlo često koristi kao model za biomedicinska istraživanja zbog jeftinog i lakog održavanja, transparentnog embrija, lake manipulacije gena, visoke plodnosti i brzog razvoja embrija [81].

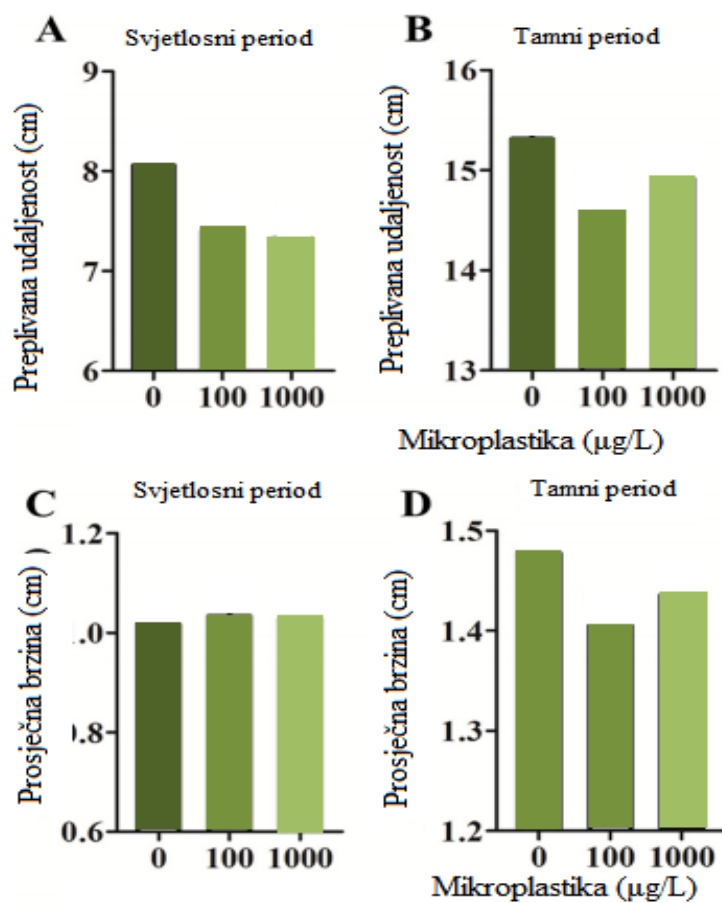
Osim utjecaja mikroplastike na rast, razvoj i razmnožavanje organizama, razna istraživanja provedena su o utjecaju na sposobnost plivanja koja je izrazito važna za preživljavanje zbog pronalazanja hrane i bježanje od grabežljivaca. Kao model za istraživanja utjecaja mikroplastike na plivanje riba u slatkim vodama korišteni su se embriji *Danio rerio*, poznatiji kao zebrafish [7]. Oni su bili izloženi svjetlosti i tami u izmjeničnim periodima od 60 min te se mjerila postignuta brzina i udaljenost.



Istraživanja su pokazala da je kod skupine koja je bila izložena 1000  $\mu\text{g/L}$  mikroplastike zabilježen pad ukupne preplivane udaljenosti od 2,6 %, a dok su bili izloženi tami prosječna brzina pala je za 4,9 % za razliku od svjetlosnog perioda kod kojeg se brzina nije značajno promijenila (Slika 22).

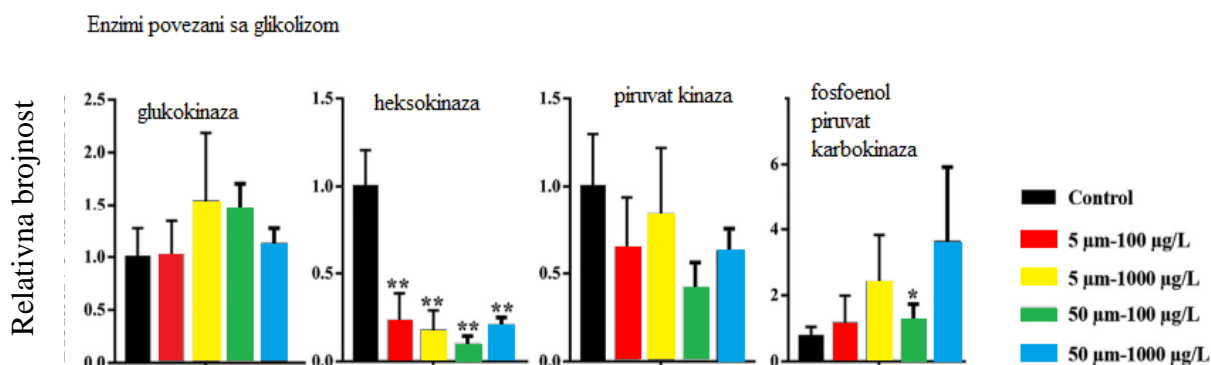


**Slika 21.** *Danio rerio* [82].



**Slika 22.** Preplivana udaljenost i prosječna brzina plivanja kod različitih koncentracija mikroplastike u svjetlosnom i tamnom periodu [7].

Izloženost mikroplastici utjecala je na zebrafish i na molekularnoj razini, na način da potiče stvaranje aktivnih kisikovih spojeva i oksidativnog stresa što, također, doprinosi smanjenju sposobnosti plivanja [83]. Nadalje, provedeno je istraživanje utjecaja mikroplastike na zebrafish mikrofloru i metabolizam nakon što je 7 dana bila izložena vodi sa 100 mg/L i 1000 mg/L polistirena [84]. Rezultati pokazuju da je došlo do značajnog smanjenja Gram-negativnih bakterija koje se nalaze u probavnom traktu životinja, a važne su zbog metaboličkih pretvorba koje su od bitne važnosti za domaćina zbog razlaganja proteina ili kompleksnih polimera. S druge strane, primjećena je veća količina Gram-pozitivnih bakterija koje stvaraju endospore i na taj način preživljavaju ekstremne uvjete. Optimalna razina mikroflora vrlo je bitna za zdravlje organizma, razvoj, otpornost prema invazivnim patogenim vrstama, regulaciju imunološkog sistema i regulaciju energije. Također, u istom istraživanju primjećene su promjene kod linoleinske kiseline, razine kolesterola i zimosterola koji su povezani sa metabolizmom lipida te kod glukoze i piruvata. Nadalje, nakon izlaganja mikroplastici primjećene su veće koncentracije fruktoze-6-fosfata i riboze-5-fosfata koji su vrlo bitni kod glikolize što direktno rezultira smanjenjem energije jer je glukoza jedan od procesa kojim ona nastaje [84].

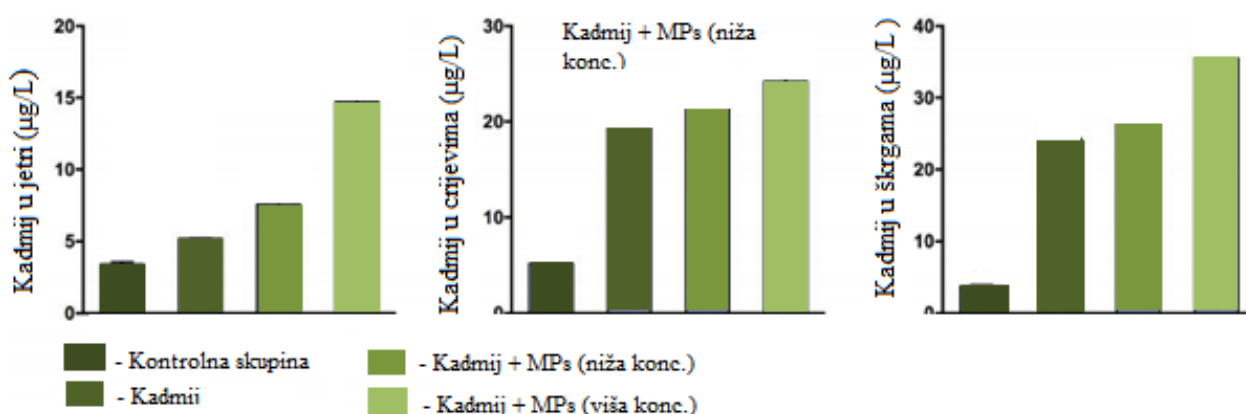


**Slika 23.** Utjecaj različitih veličina mikroplastike na enzime povezane s glikolizom [84].

Rezultati (Slika 23.) pokazuju da mikroplastika veličine 50µm uzrokuje veće razlike u koncentraciji određenih enzima od mikroplastike gdje su čestice veličine 5µm, ali se ne može generalno zaključiti da su veće čestice mikroplastike toksičnije zato što manje čestice imaju veću specifičnu površinu i stanice ih lakše adsorbiraju, pa su tako male čestice mikroplastike (5µm) pronađene u škragama, jetri i crijevima [85].

Kao što je već prije spomenuto, prijetnju okolišu ne stvara samo mikroplastika, već i teški metali, poput kadmija, koji su često korišteni kao aditivi u proizvodnji plastike. S druge strane, čestice mikroplastike mogu i adsorbirati metale iz okoliša na svoju površinu i na te se načine metali relativno lako nađu u organizmima.

Prisutnost mikroplastike utječe na toksičnost teških metala te je kod 96-satne izloženosti kromu, kod ribe glavoča primijećen smanjen predatorski učinak [86]. Lu, Qiao i Zhang (2018.) proveli su istraživanje o utjecaju mikroplastike na akumulaciju kadmija u tkivima na način da su skupine ribe zbrafish tri tjedna bile izložene samo kadmiju, kombinaciji kadmija i mikroplastike različitih koncentracija. Rezultati su pokazali da je kod skupine koja je bila izložena mikroplastici koncentracije 20  $\mu\text{g/L}$  pronađeno 46 % više kadmija u jetri, 10 % više u crijevima i 9 % više u škragama od skupine koja ja bila izložena samo kadmiju [87]. Mikroplastika koncentracije 200  $\mu\text{g/L}$  značajno je utjecala na akumulaciju kadmija te je detektirano čak 164 % više kadmija u jetri, 25 % više u crijevima i 46 % više u škragama (Slika 24.) [87]



**Slika 24.** Koncentracija kadmija u različitim tkivima (jetri, crijevima i škragama) uz prisutnost mikroplastike [87].

Osim u crijevima, škragama i jetri, teški metali poput Cd, Cr, Cu, Fe, Pb i Zn većinom se akumuliraju i u bubrezima i mišićima. Kada se kadmij nađe u organizmu, nastaju brojne posljedice poput povećane koncentracije metalotioneina koji ima važnu ulogu u zaštiti od toksičnih metala u tkivima, smanjena koncentracija glutationa i superoksidne dismutaze koji su vrlo važni za antioksidanski obrambeni sustav i ponašaju se kao biosenzori za prepoznavanje toksičnih elemenata [88].

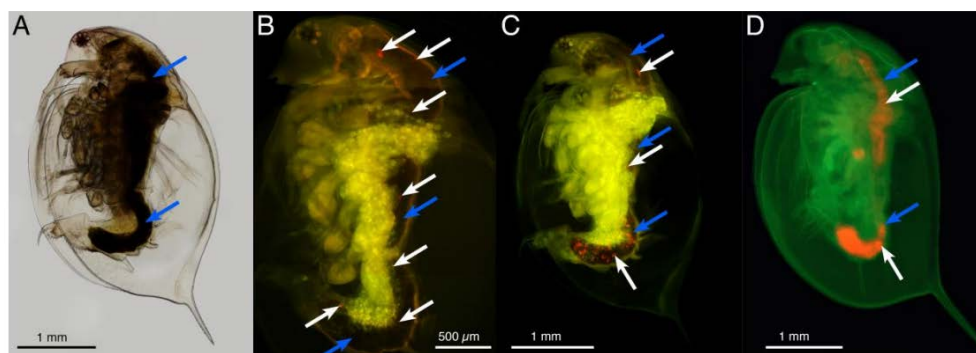
### 3.2.4. *Daphnia magna*

*Daphnia magna* (Slika 25.) je plankton koji pripada razredu člankonožaca te veličinom varira između 1 do 5 mm. Živi u slatkim vodama, hrani se filtracijom hranjivih tvari iz vode koju većinom čine planktonske alge te u laboratorijskim uvjetima može živjeti do 2 mjeseca [89].



**Slika 25.** *Daphnia magna* [90].

Imhof, Rusek i Thiel (2017.) proveli su istraživanje o utjecaju mikroplastike na ekspresiju gena povezanih sa reakcijom na stres (npr. HSP60, HSP70 & GST) kao i na ostale gene uključene u normalno funkcioniranje organizma *Daphnia magna* [91]. Koristile su se 3 linije klonova između kojih se utvrđivala različitost, a organizmi su bili izloženi značajno manjom koncentracijom čestica mikroplastike prema česticama hrane (mikroplastika čini 1 %) što predstavlja realan okoliš, a samim time i realne utjecaje mikroplastike. Rezultati pokazuju da je u probavnom sustavu *Daphnie* nakon 48 sati u probavnom traktu pronađeno  $33 \pm 22$  čestica od početnih 569 čestica po ml što predstavlja visoko onečišćenje mikroplastikom (Slika 26.) [91].



**Slika 26.** Lokacija crvenih fluorescentnih čestica mikroplastike kod *Daphnie Magne* [91]

- (A) *Daphnia Magna* sa česticama alga u probavnom traktu;
- (B) *Daphnia Magna* sa česticama mikroplastike (koncentracija: 1 % hrane)
- (C) *Daphnia Magna* sa česticama mikroplastike (koncentracija: 10 % hrane)
- (D) *Daphnia Magna* sa česticama mikroplastike (koncentracija: 50 % hrane)

Plava strelica označava probavni trakt, a bijela čestice mikroplastike.

Za razliku od kopepoda *Tigriopus japonicus* kod kojeg mikroplastika značajno utječe na plodnost, kod *Daphnie magne* ne primjećuje se razlika u broju potomaka. Provođenjem eksperimenta uočene su male i suptilne promjene kod HSP skupine gena koji su dio unutarstaničnog alarma koji štiti proteine od negativnih efekta poput topline i toksičnih tvari te kod GST (Glutathionin-S-transferaze), enzima koji uklanja reaktivne oksidativne vrste iz stanica. Iako male, promjene nisu zanemarive i čestice mikroplastike u budućnosti predstavljaju veliku prijetnju *D. magni* [91].

Jedan od mnogih problema koje uzrokuje mikroplastika kod *Daphnie magne* je imobilizacija koja je primijećena kod *Daphnie* nakon što je bila izložena česticama polietilena veličine 1  $\mu\text{m}$  i 100  $\mu\text{m}$  pri koncentracijama od 12.5 do 400 mg/L do 96 sati. Organizmi su se smatrali imobiliziranima ako nisu bili sposobni plivati 15 sekunda nakon miješanja čaše u kojoj su se izvodili eksperimenti.

Bitno je napomenuti da je nakon 72 h, 35 % organizama postalo imobilno (Tablica 6) (200  $\mu\text{g/L}$ ) te nakon 96 h imobilnost se povećala na 75 %.  $\text{EC}_{50}$ , to jest koncentracija mikroplastike koja izaziva štetan učinak kod polovice promatrane populacije, iznosila je 57.43 mg/L nakon 96 sati, dok se za 24, 48 i 72 sata ne može izračunati zbog niske imobilizacije u tim vremenskim intervalima. Vrijednost  $\text{EC}_{50}$  pokazuje da su potrebne visoke koncentracije i relativno dugo vrijeme izloženosti da bi se primjetili negativni efekti kod *Daphnie magne* [8].

**Tablica 6.** Postotak imobiliziranih organizama kod različitih vremena izloženosti mikroplastici [91].

Koncentracija/ mg/L	Postotak imobiliziranih <i>Daphna magna</i> / %			
	24 sata	48 sati	72 sata	96 sati
kontrolna grupa	5 $\pm$ 1	5 $\pm$ 1	0	0
12.5	5 $\pm$ 1	10 $\pm$ 2	10 $\pm$ 2	25 $\pm$ 1.91
25	5 $\pm$ 1	10 $\pm$ 2	25 $\pm$ 1	35 $\pm$ 1
50	0	10 $\pm$ 2	20 $\pm$ 1.63	55 $\pm$ 1
100	0	5 $\pm$ 1	25 $\pm$ 1.63	50 $\pm$ 2.58
200	0	0	35 $\pm$ 3	75 $\pm$ 1
400	0	0	10 $\pm$ 1.15	35 $\pm$ 1.91

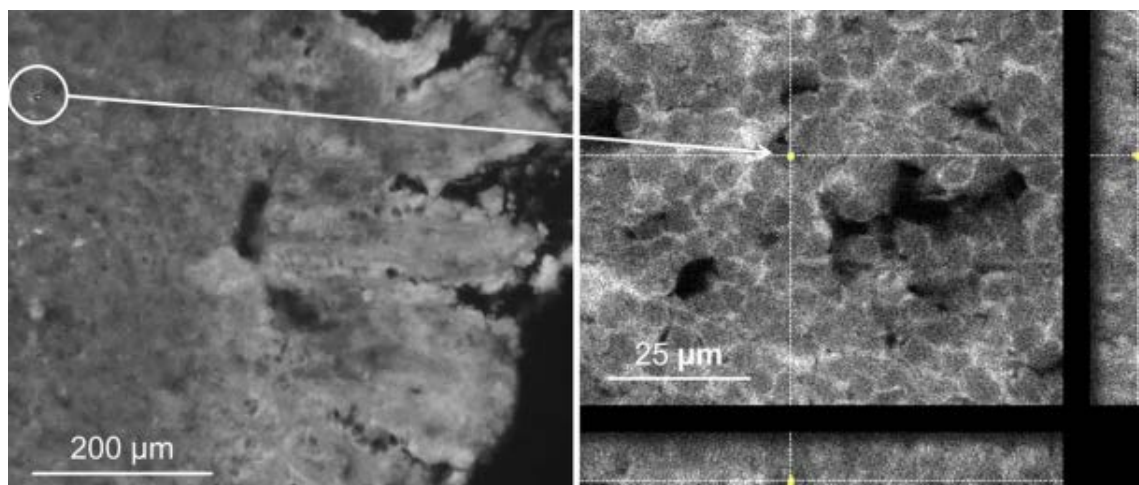
Također, zabilježeno je da se čestice karboksiliranog polistirena veličine 20 nm i 1  $\mu\text{m}$  mogu akumulirati ne samo u crijevima, već i u skladišnim lipidima nakon kratkotrajne izloženosti [92].

Mikroplastika sa karboksilnom skupinom znatno utječe na toksičnost nikla u usporedbi sa niklom koji je prisutan u okolišu bez karboksiliranih čestica mikroplastike. S obzirom da mikroplastika sa karboksilnom skupinom ima negativno nabijenu funkcionalnu grupu, pretpostavlja se da će se nikal lakše adsorbirati, a samim time će *Daphnia* akumulirati više nikla. Prema pretpostavci, EC<sub>50</sub> u 48 satu za mikroplastiku bez karboksilne grupe iznosio je 42.78 mg/mL, sa karboksilnom grupom 25.96 mg/mL te za nikal bez prisutnosti mikroplastike 3.85 mg/L [92]. Uočena je i veća akumulacija nikla u organizmu u okolini sa česticama mikroplastike od one bez, što je i primijećeno u drugom istraživanju sa većom akumulacijom srebra u prisustvu mikroplastike kod zebrafish [93]. Utvrđeno je da mikroplastika bez karboksilne skupine ima antagonistički efekt na toksičnost, to jest, manju toksičnost od samog metala, dok karboksilirane čestice mikroplastike ima sinergistički efekt, to jest, povećava toksičnost nikla [94].

### 3.2.5. In-vivo test

*In vivo* test obuhvaća provođenje eksperimenata na živim organizmima ili stanicama, obično na životinjama ili biljkama u svrhu proučavanja utjecaja mikroplastike na brzinu rasta, plodnost, životni vijek i reprodukciju [95].

Jedan od organizama na kojem su provedeni *in vivo* eksperimenti je kolnjak *Brachionus koreanus* koji ima nekoliko prednosti za provođenje eksperimenata kao što su mala veličina (200 μm), jednostavna struktura, visoka plodnost i lako laboratorijsko održavanje [96]. Kako bi se zabilježio utjecaj mikroplastike na rast, organizmi su bili promatrani 12 dana pod mikroskopom, a plodnost jedinka se određivala brojanjem novorođenih organizama svakih 12 sati. Nadalje, proučavan je utjecaj mikroplastike na miševе koji su 28 dana bili izloženi česticama polistirena različitih veličina [97]. Tijekom eksperimenta svi organizmi su bili zdravi te nisu utvrđeni nikakvi klinički znakovi bolesti, ali su nakon smrti pronađene čestice mikroplastike u probavnom traktu (Slika 27) [97]. Također, zaključuje se da izloženost koncentraciji polistirena koja se nalazi u okolišu ne izaziva značajne toksične efekte kod miševa, ali potrebno je više provedenih eksperimenata o utjecaju mikroplastike raznih veličina, oblika, materijala i adsorbiranih molekula radi boljeg razumijevanja negativnih efekata.



**Slika 27.** Čestica mikroplastike veličine 1 µm u probavnom traktu miševa nakon hranjenja 3 puta tjedno nakon 28 dana [97].

### 3.3. Uklanjanje mikroplastike iz vodenog medija

Mikroplastika se iz vodenog medija može ukloniti biotičkim putem kojem prethodi abiotički. Abiotička razgradnja uključuje fizikalno-kemijske procese kojima se veće molekule cijepaju na manje molekule.

Prolaskom kroz membrane mikroorganizama, nastupa biotička razgradnja uz enzime prisutne u stanicama mikroorganizama. Razgradnja većine vrsta mikroplastike započinje na površini koja je izložena kemijskom i enzimskom napadu, a vizualni dokazi razgradnje uključuju promjenu boje i nastajanje pukotina koje poboljšavaju dostupnost materijala za daljnje raspadanje.

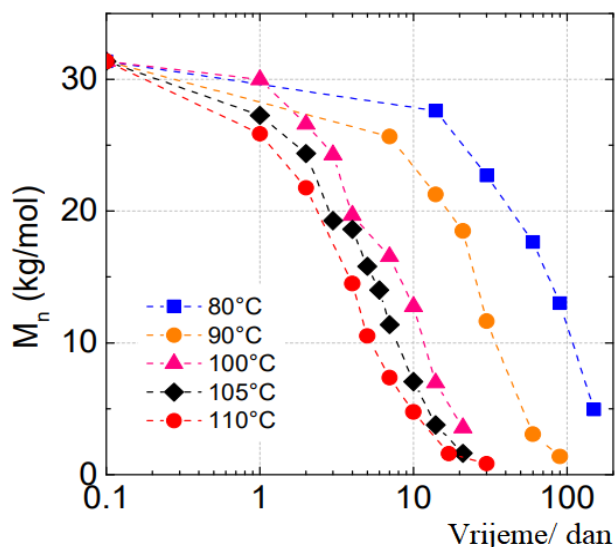
#### 3.3.1. Fizikalno-kemijski postupci

Fizikalno-kemijski postupci uključuju fizička djelovanja (površinska oštećenja, hlađenje/zagrijavanje), fotooksidaciju (UV zrake), kemijsku razgradnju (oksidacija, hidroliza), zračenje elektronskim snopom i Gamma zrakama. Nedostatak fizikalno-kemijskih postupaka je neekonomičnost procesa i nastajanje nano čestica koje mogu imati potpuno drugačiji utjecaj na okoliš od početne čestice mikroplastike, što može biti i prednost jer manje čestice su podložnije daljnjoj razgradnji. [36]

Foto-oksidativnoj razgradnji pomoću UV zraka podliježe mikroplastika koja u svojoj strukturi ima ugljikovodični lanac. Sastoji se od tri stupnja: inicijacije, propagacije i terminacije. Kod inicijacije dolazi do kidanja glavnog polimernog lanca uz svjetlost te nastajanja slobodnog radikala.

Da bi se inicijacija odvila, polimer mora sadržavati nezasićene veze koje absorbiraju energiju te se smatra da su polietilen i polipropilen manje podložni foto-oksidaciji jer ne sadrže nezasićene dvostruke veze [98]. Slijedi propagacija, proces u kojem dolazi do cijepanja, spajanja lanaca i nastajanja novih radikala, dok do terminacije dolazi pri spajanju dva radikala. Olefini, aldehidi i ketoni koji su podložniji foto-oksidaciji očekivani su produkti radikalske terminacije [99]. Kako se molekulska masa polimera smanjuje, materijal postaje krhak i skloniji fragmentaciji što stvara veću površinu za daljnje reakcije [100].

Termička oksidacija rezultira nastajanjem hidroksilnim, karboksilnim i hidroperoksilnim grupama te povećava hidrofilnost polimera čineći ga sklonijim vezanju mikroorganizama na površinu [101]. Brojna istraživanja pokazuju da prethodno termičko tretiranje polimera ubrzava proces degradacije, to jest, gubitak mase polimera. Primjerice, kod polimera koji su bili termički obrađeni te nakon toga izloženi bakteriji *Bacillus spericus*, primijećen je gubitak mase od 17 % dok je kod polimera koje nije bio termički tretiran zabilježen gubitak mase od 10 % [102]. Nedvojbeno je da termička obrada poboljšava razgradnju, ali temperatura i trajanje mora biti optimizirano za svaki polimer radi postizanja boljih rezultata (Slika 28.).

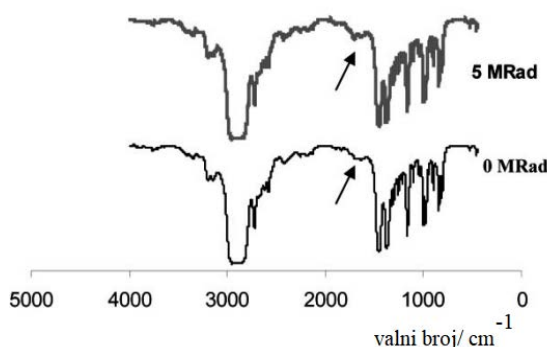


**Slika 28.** Utjecaj različitih temperatura na promjenu mase PET - a [102].

Razgradnju polimera može inicirati i zračenje elektronskog snopa. Naime, prilikom zračenja, polimer apsorbira energiju elektrona što rezultira stvaranjem radikala koji iniciraju daljnje reakcije u polimeru. Energija (keV ili MeV), struja (mA) i snaga (kW) akceleratora koji provodi zračenje ovisi o debljini i gustoći polimera [103]. Zračenje može uzrokovati smanjenje duljine ugljikohidratnog lanca i promjene kristalizacije te je razgradnja bolja zbog prisutnosti zraka što dovodi do istovremene oksidacije [104].



Tijekom snimanja FTIR spektra polipropilena nakon zračenja, na  $1715\text{ cm}^{-1}$  primijećeno je povećanje intenziteta karbonilnog signala koji može inicirati biorazgradnju (Slika 29.).



**Slika 29.** Usporedba FTIR spektra polipropilena prije i nakon zračenja snopom elektrona. Strelica upućuje na karbonilnu skupinu (C=O) [104].

Gamma zrake su vrsta elektromagnetskog zračenja koji nastaje radioaktivnim raspadom jezgre te imaju najvišu frekvenciju te sadrže najveću količinu energije sa najkraćim valnim duljinama od svih zračenja u elektromagnetskom spektru [103]. Istraživanja su pokazala da djelovanje male količine Gamma zraka na polipropilen značajno poboljšava proces pirolize [105].

Za uklanjanje mikroplastike iz uzoraka slatkih i slanih voda, tla, sedimenata i otpadnih voda često se koristi proces oksidacije pomoću  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{NaClO}$  i Fentonovog reagensa. Glavna kemikalija korištena kod Fentonovog procesa je vodikov peroksid ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), jaki oksidans čiji se utjecaj pojačava korištenjem metalnih soli (soli željeza), ozona ili UV zračenja koji aktiviraju  $\text{H}_2\text{O}_2$  i nastaju hidroksilni radikali koji su, također, jaka oksidacijska sredstva [106].

Oksidacija pomoću Fentonova reagensa omogućuje uklanjanje organske tvari iz uzoraka otpadnih voda, dok se struktura mikroplastike ne mijenja što omogućuje jednostavnu izolaciju čestica mikroplastike iz otpadnih voda [107].

Tijekom ispitivanja djelovanja sumporne kiseline ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) na polipropilen primijećeno je da 98 % otopina tijekom 75 dnevnog tretmana na  $100\text{ }^\circ\text{C}$  dovodi do 80 % smanjenja vlačne čvrstoće polimera. Međutim, smanjenje temperature na  $60\text{ }^\circ\text{C}$  ne pokazuje nikakve promjene [108]. Također, značajno smanjenje čvrstoće opaža se kod korištenja 10-40 %-tne otopine dušične kiseline na  $100\text{ }^\circ\text{C}$ , dok masa ostaje ista.

### 3.3.2. Biorazgradnja mikroplastike u vodi

Biorazgradnja je proces razgradnje onečišćujuće tvari (mikroplastike) pomoću mikroorganizma. Primarna razgradnja ovisi o vrsti biofilma, tj sloju mikroorganizama koji se nalazi na površini mikroplastike. Zatim slijedi razgradnja polimera do nižih molekulskih masa koje mikroorganizmi lakše razgrađuju. Konačni cilj je razgradnja polimera do CO<sub>2</sub> i vode, ali je u prirodnim uvjetima to veoma spor proces i ovisi o različitim faktorima poput:

1. Aktivnim funkcionalnim grupama
2. Hidrofobnosti molekule
3. Molekulske mase
4. Fizikalnim svojstvima polimera
5. Distribucije kristalnih i morfnih regija
6. Strukture polimera (linerani ili razgranati lanac)
7. Kemijske strukture polimera (aditivi, UV stabilizatori, antioksidansi)
8. Vrsti mikroorganizama [109].

U biorazgradnji mikroplastike sudjeluju bakterije iz roda *Streptomyces* [111], *Bacillus subtilis* [112], *Kocuria palustris*, *Bacillus pumilus* [115] *Rhodococcus ruber* [118], *Pseudomonas aeruginosa* [123], gljive *Zalerion maritimum* [139] i *Penicillium simplicissimum* [141] te plijesni *Aspergillus niger* [142].

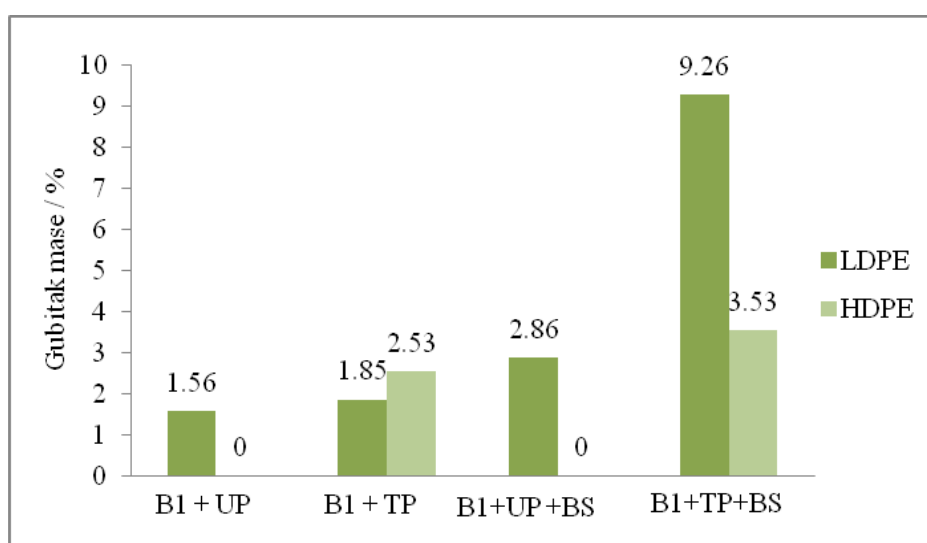
Provedena su brojna istraživanja u svrhu ubrzanja procesa biorazgradnje polimera njihovom modifikacijom ili ubrzanjem inicijalnog koraka stvaranjem slobodnih radikala [110]. Neki od načina su dodavanje biorazgradivih polimera (škrob, celuloza), predobrada mikroplastike koja uključuje termičko i djelovanje UV zraka te inokulacija mikroorganizama koji imaju sposobnost razgradnje mikroplastike. Umješavanjem biorazgradivih polimera (škrob, celuloza, hitin) u nerazgradivi polimer povećava se biorazgradivost polimera, ali mu se mijenjaju fizikalna i mehanička svojstva odnosno smanjuje se vijek trajanja i ubrzava se inicijalni korak oksidativne razgradnje [110].

Nanda i sur. (2010.) ispitali su biorazgradnju polietilena sa 6 % škroba na osam različitih vrsta bakterija *Streptomyces* (*Streptomyces iakyrus*, *Streptomyces aveblanens*, *Streptomyces warraensis*, *Streptomyces misioensis*, *Streptomyces humidus*, *Streptomyces parvullus*, *Streptomyces aburaviensis*, *Streptomyces nigellus*). Pokus se provodio 4 tjedana. Polietilen je prethodno bio dezinficiran 30 %-tnim etanolom i 10 dana izložen toplini (70 °C). Rezultati pokazuju povećanje mase polietilena zbog nakupljanja bakterija na površini osim kod *S. aburaviensis*, *S. parvullus* i *S. nigellus* kod kojih je zabilježen gubitak mase u prosjeku za 28.5 % (Tablica 7.) [111].

**Tablica 7.** Promjene u masi polietilena sa 6 % škroba nakon mjesečne inkubacije pri 30 °C [111].

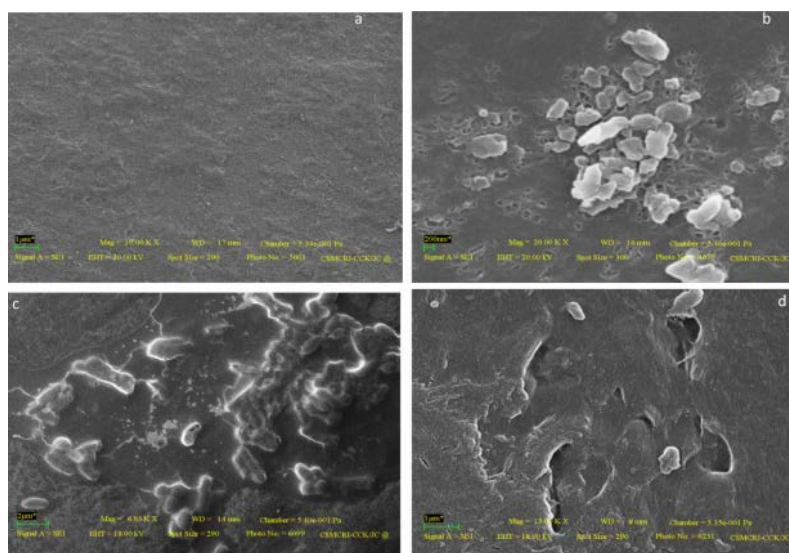
Mikroorganizam	<i>m</i> (prije pokusa) / g	<i>m</i> (nakon pokusa) / g
<i>Streptomyces iakyrus</i>	0.2652	0.2682
<i>Streptomyces aveblanens</i>	0.2568	0.2582
<i>Streptomyces warraensis</i>	0.2881	0.2881
<i>Streptomyces misioensis</i>	0.2705	0.275
<i>Streptomyces humidus</i>	0.2616	0.2669
<i>Streptomyces parvullus</i>	0.2654	0.2453
<i>Streptomyces aburaviensis</i>	0.2611	0.2619
<i>Streptomyces nigellus</i>	0.269	0.266

Bakterija *Bacillus subtilis* je Gram-pozitivna bakterija koja je vrlo često korištena u biotehnologiji i za izlučivanje industrijski važnih enzima [112]. Vimala i sur. (2016.) ispitali su učinkovitost biorazgradnje polietilena primjenom bakterije *Bacillus subtilis*. Nadalje, ispitali su utjecaj gustoće polimera, UV zraka, biosurfaktanta (površinski aktivnih tvari) na učinkovitost biorazgradnje [113]. Dobiveni rezultat istraživanja (slika 30) prikazuju da do najveće promjene mase (9.26 %) dolazi kod polietilena manje gustoće (LDPE) uz biosurfaktante i prethodno djelovanje UV zraka dok kod polietilena visoke gustoće bez djelovanja UV zraka ne primjećuje se promjena u masi. Također, veći gubitak mase, a samim time i bolja biorazgradnja primjećuje se kod polietilena niske gustoće.



**Slika 30.** Usporedba promjene mase polietilena u % nakon inkubacije od 30 dana (**B1.** *Bacillus subtilis*, **UP.** Pred-tretman pomoću UV zraka, **TP.** Bez pred-tretmana UV zrakama, **BS.** biosurfaktanti) [113].

Razlog većeg gubitka mase kod korištenja biosurfaktanata je bolje vezanje mikroorganizama na površinu polietilena te tako dolazi do brže razgradnje [113]. Naime, biosurfaktanti su površinski aktivne, biorazgradive tvari koje imaju hidrofobna i hidrofilna svojstva, a čine ih razne tvari poput glikolipida, lipopeptida, masnih kiselina, kationa i aniona [114]. Zbog svojih svojstava zaslužni su za bolje vezanje bakterija na površinu polietilena omogućujući im korištenje polimera kao izvor ugljika pri većoj brzini [114]. Mogućnost razgradnje polietilena ispitano je i na 60 morskih bakterija izoliranih iz različitih lokacija u Arapskom moru i rezultati pokazuju da su među njima tri vrste (*Kocuria palustris*, *Bacillus pumilus* i *Bacillus subtilis*) rastle u mediju koji sadrži polietilen koji su koristile kao izvor ugljika [115]. SEM slike na kojima se vidi površinska razgradnja potvrđuju enzimsku aktivnost na polietilenu (Slika 31.). Na bakterijsku adheziju na površinu mikroplastike utječu sile kojima se bakterija veže te svojstva površine i stanične stjenke mikroorganizama. Generalno, hidrofobna bakterija preferira hidrofobnu površinu te je primijećeno da sa porastom hidrofobnosti stanične stjenke raste interakcija sa hidrofobnom površinom polietilena [116].



**Slika 31.** SEM fotografija površine polietilena nakon 30 dana. **a.** površina polietilena koja nije u kontaktu s bakterijama, **b.** polietilen nakon djelovanja bakterije *K. palustris*, **c.** površina nakon djelovanja bakterije *B. pumilus*, **d.** površina nakon djelovanja bakterije *B. subtilis* [116].

Budući da je polietilen jedan od najinertnijih polimera, te ako se izloži UV zračenju 26 dana, razgraditi će se samo 0,5 % mase u obliku CO<sub>2</sub> nakon 10 godina [117], provedeno je mnogo istraživanja u svrhu ubrzanja biorazgradnje pomoću raznih bakterija. Jedna od proučavanih bakterija i njezinih mogućnosti biorazgradnje je *Rhodococcus ruber*, Gram-pozitivna bakterija koja ima veliku biotehnološku važnost zbog velike katalitičke raznolikosti i niza enzima koje posjeduje [118].

Značajan utjecaj na biorazgradnju ima i stvaranje biofilma kojeg na čvrstim površinama stvara većina bakterijskih populacija. U kojoj mjeri biofilm utječe na stupanj razgradnje polimera uz bakteriju *Rhodococcus ruber* proučavali su Orr i Hadar 2004. godine [119]. Rezultati pokazuju da je nastajanje biofilma uistinu nužno za bolju biorazgradnju što potvrđuje i činjenica da je kod bakterija koje ne stvaraju biofilm zabilježena znatno slabija razgradnja polietilena (za 50 %) [120]. Unatoč tome što mnoga istraživanja dokazuju enzimsku razgradnju polimera do određenog stupnja, jedan od glavnih problema je nepoznavanje enzimske strukture i mehanizma djelovanja i kinetiku razgradnje. Također, važno je poznavanje konačnih produkata zbog moguće toksičnosti u okolišu [120]. Osim polietilena, bakterija *Rhodococcus ruber* može razgraditi površinu polistirena stvarajući biofilm. Nakon četiri tjedana zabilježen je gubitak mase od 0,5 % dok se nakon 8 tjedana masa polietilena smanjila za 0,8 % [121].

Brojne bakterijske vrste roda *Pseudomonas* nalaze se u morskim i površinskim vodama te su zbog svoje raznolikih metaboličkih sposobnosti jedne od najznačajnijih razgrađivača različitih vrsta polimera (Tablica 8.) [122]. Najbolja razgradnja polietilena je zabilježena kod bakterije *Pseudomonas aeruginosa*, dok se kod PVA (polivinil alkohola) koji ima sličnu strukturu kao polietilen lakše razgrađuje zbog prisutnosti hidroksilne grupe [123]. Najmanja učinkovitost biorazgradnje uz djelovanje bakterija roda *Pseudomonas* zabilježeno je kod PP (polipropilena), PVC (polivinil klorida) i PET (polietilen tereftalata). Razlog tome je što su PP i PVC jako hidrofobični i otporni na kemijsku abraziju, dok je PET termički i kemijski stabilan [124].

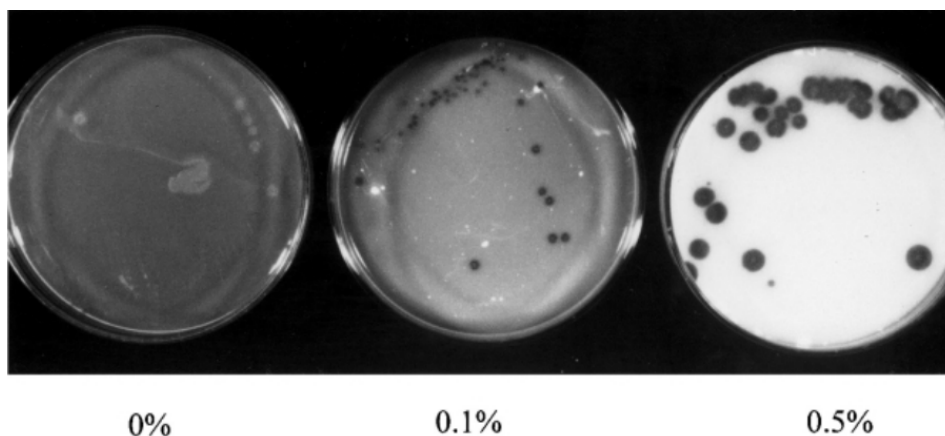
Enzimska biorazgradnja uključuje procese djelovanja izvanstaničnih i unutarstaničnih enzima, a njima prethodi kemijska i biološka oksidacija koja povećava hidrofilnost polimera [136]. Izvanstanični enzimi poput depolimeraze i hidrolaze djeluju tako da cijepaju velike polimerne čestice na manje molekule koje se mogu razgraditi unutar stanice [137]. Esteraza i lipaza neophodne su kod biorazgradnje i pripadaju hidrolazama koje uzrokuju kidanje esterskih veza. Unutarstanična razgradnja nije u potpunosti objašnjena, ali poznato je da nakon cijepanja polimera nastaju manje molekule koje mogu sudjelovati u metabolizmu bakterije i krajnje razgrađene do CO<sub>2</sub> ili mogu ulaziti u različite metaboličke cikluse [135]. Primjerice, tijekom razgradnje polietilena nastaje octena kiselina koja sudjeluje u ciklusu limunske kiseline te razgradnja polistirena vodi do nastajanje međuprodukata poput fenil etanola koji ulazi u aromatične kataboličke procese [136].

Usprkos tome što je provedeno mnogo eksperimenata vezanih uz razgradnju polimera uz pomoć bakterije roda *Pseudomonas*, javljaju se problemi kod razumijevanja interakcija stanice sa plastičnim površinama u biofilmu, katalitičkog mehanizma enzima zaslužnih za oksidaciju i hidrolizu, važnosti procesa koje prethode biorazgradnji poput toplinske oksidacije, UV fotooksidacije i djelovanju oksidativnih kemikalija [138].

**Tablica 8.** Bakterije roda *Pseudomonas* i enzimi pomoću kojih razgrađuju plastiku.

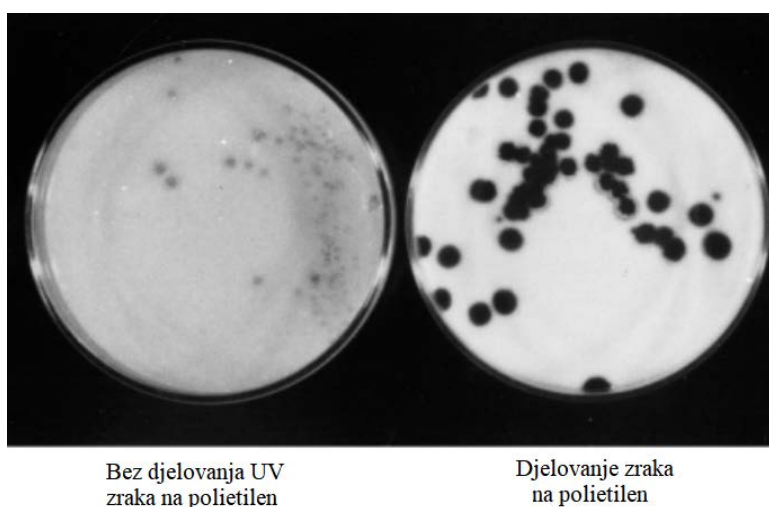
Vrsta polimera	Mikroorganizmi	Enzimi	Literatura
LDPE	<i>Pseudomonas sp. AKS2</i>	Hidrolaza	125
LMWPE	<i>Pseudomonas sp. E4</i>	Alkan hidroksilaza	126
Polistirene (PS)	<i>Pseudomonas sp.</i>	Esteraza	127
Vinil klorid	<i>P. putida AJ</i>	Alkan monooksigenaza	128
Poliester	<i>P. chlororaphis</i>	Poliuretanaza	129
	<i>P. aeruginosa</i>	Esteraza	130
	<i>P. fluorescens</i>	Esteraza, proteaza	131
	<i>P. protegens BC2-12</i>	Lipaza	132
Polietilen tereftalat (PET)	<i>Pseudomonas sp.</i>	Lipaza	133
Polietilen glikol (PEG)	<i>P. stutzeri</i>	PEG dehidrogenaza	134
Polivinil alkohol (PVA)	<i>P. vesicularis</i>	Esteraza	135

*Zalerion maritimum* je vrsta gljive koja je vrlo raširena u morima te je 2017. godine proveden eksperiment pomoću kojeg je ispitana njezina mogućnost razgradnje polietilena [139]. Osim promjene mase mikroplastike, što je jedan od indikatora biorazgradnje, primijećene su i promjene na FTIR-ATR i NMR spektrima koje isto tako potvrđuju pretpostavku da gljiva *Zalerion maritimum* razgrađuje polietilen. Još jedna gljiva koja ima mogućnost biorazgradnje polietilena je *Penicillium simplicissimum* te je ispitan utjecaj različitih udjela polietilena, utjecaj dušične kiseline na polietilen te prethodno izlaganje polietilena UV zrakama na stupanj degradacije [140]. Povećanjem koncentracije polietilena, dolazi do boljeg rasta gljive što upućuje na korištenje polietilena kao jedini izvor ugljika (Slika 32.).



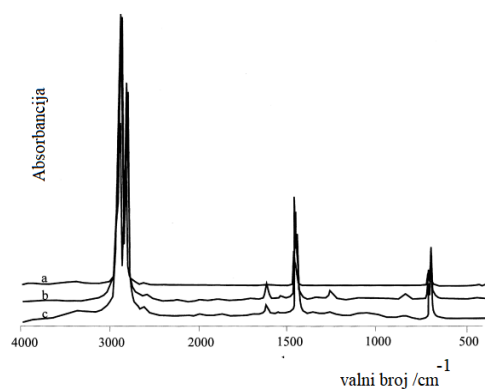
**Slika 32.** Rast gljive *P. simplicissimum* na petrijevim zdjelicama sa različitim koncentracijama polietilena (0, 0.1, 0.5%) [141].

Također, primijećen je bolji rast gljiva koje su rasle u prisutnosti polietilena prethodno izloženom UV zrakama (Slika 33). Naime, prilikom UV zračenja nastaju karbonilne grupe koje napadaju mikroorganizmi te na taj način započinje biorazgradnja [141].



**Slika 33.** Rast gljive *P. simplicissimum* na agaru uz prisutnost polietilena [141].

Funkcionalne skupine nastaju i nakon djelovanja dušične kiseline što se vidi iz FTIR spektra (Slika 34.). Intenzitet absorpcije na  $1620-1640\text{ cm}^{-1}$  i  $840-880\text{ cm}^{-1}$  (odgovara vezi  $\text{-C=C-}$ ) koji se pojavljuje nakon djelovanja dušične kiseline, smanjuje se nakon inkubacije sa gljivom. Stoga se zaključuje da dvostruke veze između ugljikovih atoma mogu biti razdvojene pomoću gljive *Penicillium simplicissimum* ako su one prethodno prisutne u molekuli što je moguće uz korištenje UV zraka ili jakog oksidirajućeg sredstva poput dušične kiseline te postojanje funkcionalnih skupina značajno ubrzava biorazgradnju.



**Slika 34.** FTIR spektar polietilena. **a.** Prije dušične kiseline **b.** poslije dušične kiseline i prije inkubacije **c.** poslije dušične kiseline i inkubacije u trajanju od 3 mjeseca [141].

Kod plijesni *Aspergillus niger* zabilježena je spora degradacija poliestera poliuretana (PUR), ali vidljivi znakovi degradacije nastupili su tek nakon 30 dana [142]. U Tablici 9. prikazane su različite vrste gljiva koje koriste čestice mikroplastike kao izvor ugljika i energije.

**Tablica 9.** Gljive i pripadajući enzimi koji sudjeluju u razgradnji mikroplastike [143].

Enzim	Mikroorganizmi	Plastika
Glukozidaze	<i>Aspergillus flavus</i>	Polikaprolakton (PCL)
Nepoznato	<i>Penicillium funiculosum</i>	Polihidoksibutirat (PHB)
Ureaza	<i>Trichoderma</i> sp.	Poliuretan
Serin hidrolaza	<i>Pestalotiopsis microspora</i>	Poliuretan
Peroksidaza	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	Poliuretan
Kutinaza	<i>Aspergillus oryzae</i>	Polibutilen sukcinat (PBS)



## 4. ZAKLJUČAK

Čestice mikroplastike predstavljaju veliku prijetnju za okoliš, a samim time i za čovjeka. Napretkom industrije i masovnijem korištenju plastike u svakodnevnom životu, drastično se povećala količina mikroplastike koja završi u okolišu. Neadekvatno zbrinjavanje, skupa, dugotrajna i niska mogućnost razgradnje jedni su od razloga pojave mikroplastike u okolišu koju je danas moguće pronaći u morima, jezerima, rijekama, planinskim vodama, zraku, tlu i otpadnim vodama. Naravno, prisutnost mikroplastike u okolišu ima negativne posljedice za biljni i životinjski svijet. Jednom kada mikroplastika uđe u organizam, uzrokuje štetne učinke na fiziologiju, probavni, živčani, mišićni i spolni sustav, pa čak i moguću smrt. Budući da se ljudi hrane životinjama i uzgajaju hranu, mikroplastika indirektno ulazi u organizam čovjeka, no dugotrajne posljedice još uvijek nisu poznate. Velik problem za uklanjanje mikroplastike predstavljaju njihove male dimenzije i kemijska inertnost, što razgradnju čini gotovo nemogućom. Ipak, postoje mikroorganizmi poput bakterija, kvasaca i plijesni koji imaju mogućnost razgradnje, ali mehanizam djelovanja još uvijek nije otkriven. Proteklih godina povećala se zabrinutost zbog toksičnog učinka mikroplastike na živi svijet, pa se provodi sve više ekotoksikoloških istraživanja na raznim testnim organizmima. Dakako, najučinkovitiji način sprječavanja negativnih posljedica mikroplastike na ekosustav je smanjenje njezine prisutnosti u okolišu razumnim korištenjem plastičnih boca, vrećica i ostalih plastičnih predmeta.

## 5. LITERATURA

- 1 Cole, M., Lindeque, P., Halsband, C., Galloway, T.S., Microplastics as contaminants in the marine environment: a review, *Mar. Pollut. Bull.*, 62 (2011), 2588–2597.
- 2 He, D., Luo, Y., Lu, S., Liu, M., Song, Y., Microplastics in soils: analytical methods, pollution characteristics and ecological risks, *Trends in Analytical Chemistry* (2018.).
- 3 Van Cauwenberghe, L., Devriese, L., Galgani, F., Robbins, J., & Janssen, C. R., Microplastics in sediments: A review of techniques, occurrence and effects, *Marine Environmental Research*, 111 (2015) 5–17.
- 4 Hinojosa, I., Thiel, M., Floating marine debris in fjords, gulfs and channels of southern Chile, *Mar. Pollut. Bull.* 58 (2009), 341–350.
- 5 Napper, I. E., & Thompson, R. C., Micro- and Macroplastics in Aquatic Ecosystems, Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences (2018).
- 6 Cole, M., Lindeque, P., Fileman, E., Halsband, C., & Galloway, T. S., The Impact of Polystyrene Microplastics on Feeding, Function and Fecundity in the Marine Copepod *Calanus helgolandicus*, *Environmental Science & Technology*, 49(2015), 1130–1137.
- 7 Qiang, L., & Cheng, J., Exposure to microplastics decreases swimming competence in larval zebrafish (*Danio rerio*), *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 176 (2019), 226–233.
- 8 Rehse, S., Kloas, W., & Zarfl, C., Short-term exposure with high concentrations of pristine microplastic particles leads to immobilisation of *Daphnia magna*, *Chemosphere*, 153 (2016), 91–99.
- 9 Patel, R. M., Polyethylene, Multilayer Flexible Packaging (2016), 17–34.
- 10 <https://www.newworldencyclopedia.org/entry/Polyethylene> (pristup 20. travnja 2019.).
- 11 Da Costa, J., Nunes, A., Santos, P., Degradation of polyethylene microplastics in seawater: Insights into the environmental degradation of polymers, *Journal of Environmental Science and Health, Part A* (2018).
- 12 Maier, C., & Calafut, T., Introduction, *Polypropylene* (1998), 1–2.
- 13 Simonazzi, T., De Nicola, A., Aglietto, M., & Ruggeri, G., Functionalized Polyalkenes, *Comprehensive Polymer Science and Supplements* (1989), str. 142.
- 14 Crawford, C. B., & Quinn, B., Physiochemical properties and degradation. *Microplastic Pollutants*, (2017) 68-71.
- 15 <https://polymerdatabase.com/polymer%20classes/Polystyrene%20type.html> (pristup: 16. Srpnja 2019).
- 16 Robertson, G. L., Food Packaging, *Encyclopedia of Agriculture and Food Systems* (2014) 232–249.

- 17 Crawford, C. B., & Quinn, B., Physiochemical properties and degradation, *Microplastic Pollutants* (2017), 57–100.
- 18 Licari, J. J., Swanson, D. W., Chemistry, Formulation, and Properties of Adhesives, *Adhesives Technology for Electronic Applications* (2011), 75–141.
- 19 Abris, H. J., & Knauss, W. G., Synthetic Polymer Adhesives, *Comprehensive Polymer Science and Supplements* (1998), 131–177.
- 20 Karkri, M., Thermal Conductivity of Biocomposite Materials, *Biopolymer Composites in Electronics* (2017), 129–153.
- 21 <http://www.plasticseurope.org>. (pristup 26. Travnja 2019.).
- 22 Zhang, K., Shi, H., Peng, J., Wang, Y., Xiong, X., Wu, C., Microplastic pollution in China's inland water systems: A review of findings, methods, characteristics, effects, and management. *Science of The Total Environment*, 630 (2018), 1641–1653.
- 23 Fossi M.C., Panti C., Guerranti C., Coppola D., Giannetti M., Marsili L., Are baleen whales exposed to the threat of microplastics? A case study of the Mediterranean fin whale (*Balaenoptera physalus*), *Marine Pollution Bulletin*, 64 (2012), 2374-2379.
- 24 Gomiero A., Strafella P.L., Fabi G., From plastic to microplastic litter: occurrence, composition, sources identification, interaction with aquatic organisms and fate in the marine environment: experiences from the Adriatic Sea, *Plastics in the Environment* (2018).
- 25 Alomar, C., Estarellas, F., Deudero, S., Microplastics in the Mediterranean Sea: deposition in coastal shallow sediments, spatial variation and preferential grain size. *Mar. Environ. Res.*, 115 (2016), 1–10.
- 26 Blašković, A., Fastelli, P., Čižmek, H., Guerranti, C., & Renzi, M., Plastic litter in sediments from the Croatian marine protected area of the natural park of Telašćica bay (Adriatic Sea), *Marine Pollution Bulletin*, 114 (2017), 583–586.
- 27 Romeo, T., D'Alessandro, M., Esposito, V., Scotti, G., Berto, D., Environmental quality assessment of Grand Harbour (Valletta, Maltese Islands): a case study of a busy harbour in the Central Mediterranean Sea. *Environ. Monit. Assess.* 187 (2015), 4950–4953.
- 28 Vianello, A., Boldrin, A., Guerriero, P., Moschino, Microplastic particles in sediments of Lagoon of Venice, Italy: first observations on occurrence, spatial patterns and identification. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 130 (2013), 54–61.
- 29 Tutman, P., Bojanić-Varezić, D., Prvan, M., Božanić, J., Nazlić, M., Integrirano planiranje u cilju smanjivanja utjecaja otpada iz mora – projekt DeFishGear, *Tehnoko*, 67 (2017), 20-29
- 30 Huerta Lwanga, E., Gertsen, H., Gooren, H., Peters, P., Salanki, Microplastics in the terrestrial ecosystem: implications for *Lumbricus terrestris* (Oligochaeta, Lumbricidae), *Environ. Sci. Technol.* 50 (2016), 2685-2691.

- 31 A.M. Mahon, B. O'Connell, M.G. Healy, I. O'Connor, R. Officer, R. Nash, L. Morrison, Microplastics in sewage sludge: effects of treatment, *Environ. Sci. Technol.* 51 (2017).
- 32 Free, C.M., Jensen, O.P., Mason, S.A., Eriksen, M., Williamson, N.J., Boldgiv, B., High-levels of microplastic pollution in a large, remote, mountain lake, *Mar. Pollut. Bull.* 85 (2014), 156-163.
- 33 Law, K.L., Moret-Ferguson, S., Maximenko, N.A., Proskurowski, G., Peacock, E.E., Hafner, J., Reddy, C.M., Plastic accumulation in the North Atlantic subtropical gyre. *Science* 329 (2010).
- 34 Eerkes-Medrano, D., Thompson, R.C., Aldridge, D.C., Microplastics in freshwater systems: a review of the emerging threats, identification of knowledge gaps and prioritisation of research needs, *Water Res.* 75 (2015), 63-82.
- 35 Eriksen, M., Mason, S., Wilson, S., Box, C., Zellers, A., Edwards, W., Farley, H., Amato, S., Microplastic pollution in the surface waters of the Laurentian great lakes, *Mar. Pollut. Bull.* 77 (2013), 177-182.
- 36 Li, J., Liu, H., & Paul Chen, J., Microplastics in freshwater systems: A review on occurrence, environmental effects, and methods for microplastics detection. *Water Research*, 137 (2018), 362–374.
- 37 Mason, S.A., Garneau, D., Sutton, R., Chu, Y., Ehmann, K., Microplastic pollution is widely detected in US municipal wastewater treatment plant effluent, *Environ. Pollut.* 218 (2016), 1045-1054.
- 38 Fuller S, Gautam A, A procedure for measuring microplastics using pressurized fluid extraction, *Environ Sci Technol* 50(11) (2016), 5774–5780.
- 39 Klein, S., Dimzon, I. K., Eubeler, J., & Knepper, T. P., Analysis, Occurrence, and Degradation of Microplastics in the Aqueous Environment, *Freshwater Microplastics* (2017) 51–67.
- 40 <https://www.thermofisher.com/hr/en/home/industrial/spectroscopy-elemental-isotope-analysis/spectroscopy-elemental-isotope-analysis-learning-center/molecular-spectroscopy-information/ftir-information/ftir-applications.html> (pristup: 26. lipnja 2019).
- 41 [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical\\_and\\_Theoretical\\_Chemistry\\_Textbook\\_Maps/Supplemental\\_Modules\\_\(Physical\\_and\\_Theoretical\\_Chemistry\)/Spectroscopy/Vibrational\\_Spectroscopy/Infrared\\_Spectroscopy/How\\_an\\_FTIR\\_Spectrometer\\_Operates](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_(Physical_and_Theoretical_Chemistry)/Spectroscopy/Vibrational_Spectroscopy/Infrared_Spectroscopy/How_an_FTIR_Spectrometer_Operates) (pristup: 26. lipnja 2019).
- 42 Shim, W. J., Hong, S. H., & Eo, S. E., Identification methods in microplastic analysis: a review, *Analytical Methods*, 9 (2017), 1384–1391.
- 43 Jung, M. R., Horgen, F. D., Orski, S. V., Rodriguez C., V., Validation of ATR FT-IR to identify polymers of plastic marine debris, including those ingested by marine organisms, *Marine Pollution Bulletin*, 127 (2018), 704–716.

- 44 <https://www.nanophoton.net/raman-spectroscopy/lessons/lesson-1> (pristup: 26. lipnja 2019.).
- 45 Van Cauwenberghe, L., Vanreusel, A., Mees, J., & Janssen, C. R., Microplastic pollution in deep-sea sediments, *Environmental Pollution*, 182 (2013), 495–499.
- 46 Cole, M., Lindeque, P., Fileman, E., Halsband, C., Goodhead, R., Moger, J., & Galloway, T. S., Microplastic Ingestion by Zooplankton, *Environmental Science & Technology*, 47 (2013), 6646–6655.
- 47 Qiu, Q., Tan, Z., Wang, J., Peng, J., Li, M., & Zhan, Z., Extraction, enumeration and identification methods for monitoring microplastics in the environment, *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 176 (2016), 102–109.
- 48 <https://www.nanoscience.com/techniques/scanning-electron-microscopy/> (pristup: 26. lipnja 2019.).
- 49 Cooper, D. A., & Corcoran, P. L., Effects of mechanical and chemical processes on the degradation of plastic beach debris on the island of Kauai, Hawaii, *Marine Pollution Bulletin*, 60(2010), 650–654.
- 50 [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical\\_Chemistry/Supplemental\\_Modules\\_\(Analytical\\_Chemistry\)/Instrumental\\_Analysis/Chromatography/High\\_Performance\\_Liquid\\_Chromatography](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Supplemental_Modules_(Analytical_Chemistry)/Instrumental_Analysis/Chromatography/High_Performance_Liquid_Chromatography) (pristup: 10. Srpnja 2019.).
- 51 Wang, L., Zhang, J., Hou, S., A Simple Method for Quantifying Polycarbonate and Polyethylene Terephthalate Microplastics in Environmental Samples by Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry, *Environmental Science & Technology Letters*, 4 (2017), 530–534.
- 52 Fischer, M., & Scholz-Böttcher, B. M., Simultaneous Trace Identification and Quantification of Common Types of Microplastics in Environmental Samples by Pyrolysis-Gas Chromatography–Mass Spectrometry, *Environmental Science & Technology*, 51(2017), 5052–5060.
- 53 Basu, P., *Analytical Techniques. Biomass Gasification, Pyrolysis and Torrefaction* (2018), 479–495.
- 54 Hendrickson, E., Microplastics in the surface water and sediments of western Lake Superior as determined via microscopy, Pyr-GC/MS, and FTIR (2017), 66-67.
- 55 Hagerbaumer, A.; Hoss, S.; Heininger, P.; Traunspurger, W., Experimental studies with nematodes in ecotoxicology: An overview, *J. Nematol.*, 47 (2015), 11–27.
- 56 National Research Council (US) Committee on Developmental Toxicology, Using Model Animals to Assess and Understand Developmental Toxicity, *Scientific Frontiers in Developmental Toxicology and Risk Assessment*, 7 (2000).
- 57 Tisserand, R., & Young, R., *Toxicity, Essential Oil Safety* (2014), 23–38.

- 58 [http://ec.europa.eu/health/ph\\_projects/2003/action3/docs/2003\\_3\\_09\\_a21\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/health/ph_projects/2003/action3/docs/2003_3_09_a21_en.pdf) (pristup: 21.lipnja 2019.).
- 59 [https://www.chemsafetypro.com/Topics/CRA/Toxicology\\_Dose\\_Descriptors.html](https://www.chemsafetypro.com/Topics/CRA/Toxicology_Dose_Descriptors.html) (pristup: 21.lipnja 2019.).
- 60 Alexander, B., Browse, D. J., Reading, S. J., & Benjamin, I. S., A simple and accurate mathematical method for calculation of the EC50 (1999).
- 61 Chen, Z., Bertin, R., & Froidi, G., EC50 estimation of antioxidant activity in DPPH assay using several statistical programs. *Food Chemistry*, 138 (2013), 414–420.
- 62 Lorke, D., A new approach to practical acute toxicity testing, *Arch Toxicol*, 54 (1983), 275-287
- 63 Chinedu, E., Arome, D., & Ameh, F., A new method for determining acute toxicity in animal models. *Toxicology International*, 20 (2013), str. 224.
- 64 De Jong, W. H., Carraway, J. W., In vivo and in vitro testing for the biological safety evaluation of biomaterials and medical devices, *Biocompatibility and Performance of Medical Devices*, (2012), 120–158.
- 65 Hsieh, C.-Y., Tsai, M.-H., Ryan, D. K., & Pancorbo, O. C., Toxicity of the 13 priority pollutant metals to *Vibrio fisheri* in the Microtox® chronic toxicity test, *Science of The Total Environment*, 320 (2014), 37–50.
- 66 <https://whalesandmarinefauna.wordpress.com/2016/02/02/eight-dead-sperm-whales-found-on-german-beach/> (pristup: 10.svibnja 2019).
- 67 <http://www.marinespecies.org/photogallery.php?album=723&pic=111091>(pristup: 10.svibnja 2019.).
- 68 Van Cauwenberghe, L., Claessens, M., Vandegehuchte, M. B., & Janssen, C. R., Microplastics are taken up by mussels (*Mytilus edulis*) and lugworms (*Arenicola marina*) living in natural habitats, *Environmental Pollution*, 199 (2015), 10–17.
- 69 Roane, T. M., Reynolds, K. A., Maier, R. M., & Pepper, I. L., Microorganisms, *Environmental Microbiology* (2009), 9–36.
- 70 Masojídek, J., Torzillo, G., & Koblížek, M., Photosynthesis in Microalgae, *Handbook of Microalgal Culture* (2013), 21–36.
- 71 <https://www.britannica.com/science/algae/Flagella> (pristup: 19. Srpnja 2019.).
- 72 Zhang, C., Chen, X., Wang, J., & Tan, L., Toxic effects of microplastic on marine microalgae *Skeletonema costatum* : Interactions between microplastic and algae, *Environmental Pollution*, 220 (2017), 1282–1288.
- 73 Prata, J. C., da Costa, J. P., Lopes, I., Duarte, A. C., & Rocha-Santos, T., Effects of microplastics on microalgae populations: A critical review. *Science of The Total Environment* (2019)

- 74 Besseling, E., Wang, B., Lürling, M., Koelmans, A.A., Nanoplastic affects growth of *S. obliquus* and reproduction of *D. magna*. *Environ. Sci. Technol.* 48 (2014), 12336–12343
- 75 Nolte, T.M., Hartmann, N.B., Kleijn, J.M., Garnæs, J., van de Meent, D., Hendriks, A.J., Baun, A., The toxicity of plastic nanoparticles to green algae as influenced by surface modification, medium hardness and cellular adsorption, *Aquat. Toxicol.* 183 (2017), 11–20
- 76 Zhang, C., Chen, X., Wang, J., Tan, L., Toxic effects of microplastics on marine microalgae *Skeletonema costatum*: interactions between microplastics and algae, *Environ. Pollut.* 220 (2017), 1282–1288
- 77 Lagarde, F., Oliver, O., Zanella, M., Daniel, P., Hiard, S., Caruso, A., Microplastic interactions with freshwater microalgae: hetero-aggregation and changes in plastic density appear strongly dependent on polymer type, *Environ. Pollut.* 215 (2016), 331–339
- 78 Wang, B., Wang, X., Hu, Y., Chang, M., Bi, Y., Hu, Z., The combined effects of UV-C radiation and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> on *Microcystis aeruginosa*, a bloom-forming cyanobacterium. *Chemosphere* 141 (2015), 34-43
- 79 Mao, Y., Ai, H., Phytoplankton response to polystyrene microplastics: Perspective from an entire growth period, *Chemosphere*, 208 (2018), 59–68
- 80 Pakrashi, S., Dalai, S., T, C.P., Trivedi, S., Myneni, R., Raichur, A.M., Chandrasekaran, N., Mukherjee, A., Cytotoxicity of aluminium oxide nanoparticles towards fresh water algal isolate at low exposure concentrations, *Aquat. Toxicol.* 132 (2013), 34-45
- 81 <https://www.intechopen.com/online-first/zebrafish-danio-erio-as-a-model-organism> (pristup: 17. srpnja 2019.)
- 82 <http://www.socmucimm.org/introduction-zebrafish-danio-erio/> (pristup: 17. srpnja 2019.)
- 83 Lu, Y., Zhang, Y., Deng, Uptake and Accumulation of Polystyrene Microplastics in Zebrafish (*Danio rerio*) and Toxic Effects in Liver. *Environmental Science & Technology*, 50(7), 4054–4060 (2016).
- 84 Wan, Z., Wang, C., Zhou, J., Shen, M., Wang, X., Fu, Z., & Jin, Y., Effects of polystyrene microplastics on the composition of the microbiome and metabolism in larval zebrafish. *Chemosphere*, 217 (2018), 646-658.
- 85 Jeong, C.B., Won, E.J., Kang, H.M., Lee, M.C., Hwang, D.S., Hwang, U.K., Zhou, B., Souissi, S., Lee, S.J., Lee, J.S., 2016. Microplastic size-dependent toxicity, oxidative stress induction, and p-JNK and p-p38 activation in the Monogonont Rotifer (*Brachionus koreanus*). *Environ. Sci. Technol.* 50, 8849-8857.
- 86 De Sá, L. C., Luís, L. G., & Guilhermino, L., Effects of microplastics on juveniles of the common goby (*Pomatoschistus microps*): Confusion with prey, reduction of the predatory

- performance and efficiency, and possible influence of developmental conditions, *Environmental Pollution*, 196 (2015), 359–362.
- 87 Lu, K., Qiao, R., An, H., & Zhang, Y., Influence of microplastics on the accumulation and chronic toxic effects of cadmium in zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*, 202, 514–520 (2018).
- 88 Lee K-W, Shim WJ, Kwon OY, Kang J-H. Size-dependent effects of micro polystyrene particles in the marine copepod *Tigriopus japonicus*. *Environ Sci Technol.*, 74 (2013), 78–83.
- 89 Ebert, D., *Ecology, Epidemiology and Evolution of Parasitism in Daphnia*, National Center for Biotechnology Information, *Introduction to Daphnia Biology* (2005).
- 90 <https://fineartamerica.com/featured/8-water-flea-daphnia-magna-ted-kinsman.html?product=greeting-card> (pristup: 18.srpnja. 2019.).
- 91 Imhof, H. K., Rusek, J., Thiel, M., Wolinska, J., & Laforsch, C., Do microplastic particles affect *Daphnia magna* at the morphological, life history and molecular level (2017.).
- 92 Rosenkranz, P., Chaudhry, Q., Stone, V., & Fernandes, T. F., A comparison of nanoparticle and fine particle uptake by *Daphnia Magna*, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28 (2019).
- 93 Khan, F. R.; Syberg, K.; Shashoua, Y.; Bury, N. R., Influence of polyethylene microplastic beads on the uptake and localization of silver in zebrafish (*Danio rerio*)., *Environ. Pollut.*, 206 (2015), 73–79.
- 94 Kim, D., Chae, Y., & An, Y.-J., Mixture Toxicity of Nickel and Microplastics with Different Functional Groups on *Daphnia magna*. *Environmental Science & Technology*, 51 (2017).
- 95 [https://mpkb.org/home/patients/assessing\\_literature/in\\_vitro\\_studies](https://mpkb.org/home/patients/assessing_literature/in_vitro_studies) (pristup: 26. lipnja 2019.).
- 96 Jeong, C.-B., Won, E.-J., Kang, H.-M., Lee, M.-C., Microplastic Size-Dependent Toxicity, Oxidative Stress Induction, and p-JNK and p-p38 Activation in the Monogonont Rotifer (*Brachionus koreanus*), *Environmental Science & Technology*, 50(2016), 8849–8857.
- 97 Stock, V., Böhmert, L., Lisicki, E., Block, R., Cara-Carmona, J., Uptake and effects of orally ingested polystyrene microplastic particles in vitro and in vivo, *Regulatory Toxicology, Archives of Toxicology* (2019), 1-17.
- 98 Calvert, P. D., Polymer degradation and stabilization, *British Polymer Journal*, 18(1986), 278–278.
- 99 Gewert, B., Plassmann, M. M., & MacLeod, M., Pathways for degradation of plastic polymers floating in the marine environment, *Environmental Science: Processes & Impacts*, 17(2015), 1513–1521.
- 100 Summers, J.W., Rabinovitch, E.B., Weatherability of vinyl and other plastics, *Weathering of Plastics* (1999), 61-68.

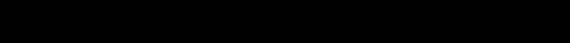


- 101 M. Sudhakar, M. Doble, P. S. Murthy, and R. Venkatesan, "Marine microbe-mediated biodegradation of low- and high-density polyethylenes", *International Biodeterioration & Biodegradation*, 61 (2008), 203-213.
- 102 Arhant, M., Le Gall, M., Le Gac, P.-Y., & Davies, P., Impact of hydrolytic degradation on mechanical properties of PET - Towards an understanding of microplastics formation, *Polymer Degradation and Stability* (2019).
- 103 Arkatkar, A., Arutchelvi, J., Sudhakar, M., Bhaduri, S., Approaches to Enhance the Biodegradation of Polyolefins, *The Open Environmental Engineering Journal*, 2 (2009).
- 104 S. Kawanishi, Y. Shimizu, S. Sugimoto, and S. Nobutake, Irradiation effects of excimer laser radiation and electron beam on polypropylene and ethylene-tetrafluoroethylene copolymer films, *Polymer*, 32 (1991), 979-983.
- 105 A. Dawood and M. Kovichi, Pyrolysis kinetics of Gamma-irradiated polypropylene, *Polymer degradation and stability*, 73 (2001), 347-354.
- 106 Pawar, V., Gawande, S., An overview of the Fenton Process for Industrial Wastewater, *IOSR Journal Of Mechanical and Civil Engineering*, (2015), 2320-2334.
- 107 Sun, J., Dai, X., Wang, Q., van Loosdrecht, M. C. M., & Ni, B.-J, Microplastics in wastewater treatment plants: Detection, occurrence and removal, *Water Research*, (2019).
- 108 M. Volcheck, A. V. Goryainova, and I.Y. Klinov, Chemical stability of polypropylene, *Chemical and Petroleum Engineering*, 4 (1968), 911-914.
- 109 Arutchelvi, J., Sudhakar, M., Arkatkar, A., Biodegradation of polyethylene and polypropylene, *Indian Journal of Biotechnology*, 7 (2008), 9-22.
- 110 Arkatkar, A., Arutchelvi, J., Sudhakar, M., Bhaduri, S., Approaches to Enhance the Biodegradation of Polyolefins, *The Open Environmental Engineering Journal*, 2 (2009), 68-80.
- 111 El-Shafei, H. A., Abd El-Nasser, N. H., Kansoh, A. L., & Ali, A. M., Biodegradation of disposable polyethylene by fungi and *Streptomyces* species, *Polymer Degradation and Stability*, 62 (1998), 361-365.
- 112 Kunst, F., Ogasawara, N., Moszer, I., Albertini, A. M., The complete genome sequence of the Gram-positive bacterium *Bacillus subtilis*, *Nature*, 390 (1997), 249-256.
- 113 Vimala, P. P., & Mathew, L., Biodegradation of Polyethylene Using *Bacillus Subtilis*, *Procedia Technology*, 24 (2016), 232-239.
- 114 Cameotra, S.S., Makkar R.S., Kaur, J., Mehta, S.K., Synthesis of Biosurfactants and Their Advantages to Microorganisms and Mankind, *Advances in Experimental Medicine and Biology, Biosurfactants* (2010), 261-280.
- 115 Harshvardhan, K., Jha, B., Biodegradation of low-density polyethylene by marine bacteria from pelagic waters, Arabian Sea, India, *Marine Pollution Bulletin*, 77(2013), 100-106.

- 116 Gilan, I., Hadar, Y., Sivan, A., Colonization, biofilm formation and biodegradation of polyethylene by a strain of *Rhodococcus ruber*, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 65 (2004), 97–104.
- 117 Albertsson, A.C., Andersson, S.O., Karlsson, S., The mechanism of biodegradation of polyethylene, *Polym Degrad Stabil*, 18 (1987), 73– 87.
- 118 Warhurst, A.M., Fewson, C.A., Biotransformations catalyzed by the genus *Rhodococcus*, *Crit Rev Biotech*, 14 (1994), 29-73.
- 119 Orr, I. G., Hadar, Y., & Sivan, A., Colonization, biofilm formation and biodegradation of polyethylene by a strain of *Rhodococcus ruber*, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 65 (2004), 97–104.
- 120 Banerjee, A., Chatterjee, K., & Madras, G., Enzymatic degradation of polymers: a brief review, *Materials Science and Technology*, 30 (2014), 567–573.
- 121 Mor, R., & Sivan, A., Biofilm formation and partial biodegradation of polystyrene by the actinomycete *Rhodococcus ruber*, *Biodegradation*, 19(2008), 851–858.
- 122 Dos Santos, V.A.P., Heim, S., Moore, E.R.B., Stratz, M., Insights into the genomic basis of niche specificity of *Pseudomonas putida* KT2440, *Env Microbiol* 6 (2004), 1264–1286.
- 123 Shima, M., Biodegradation of plastics, *Curr Opin Biotechnol* 12 (2001), 242–247.
- 124 Shah, A.A., Hasan, F., Hameed, A. and Ahmed, S., Biological degradation of plastics: a comprehensive review, *Biotechnol Adv.*, 26 (2018), 246–265.
- 125 Tribedi, P., A. K., Low-density polyethylene degradation by *Pseudomonas* sp. AKS2 biofilm, *Environmental Science and Pollution Research*, 20 (2012), 4146–4153.
- 126 Gyung Yoon, M., Jeong Jeon, H., & Nam Kim, M., Biodegradation of Polyethylene by a Soil Bacterium and AlkB Cloned Recombinant Cell, *Journal of Bioremediation & Biodegradation*, 03 (2012).
- 127 Mohan, A.J., Sekhar, V.C., Bhaskar, T. and Nampoothiri, K.M., Microbial assisted shigh impact polystyrene (HIPS) degradation, *Bioresour. Technol.* 213 (2016), 204–207.
- 128 Danko, A.S., Luo, M., Bagwell, C.E., Brigmon, R.L. and Freedman, D.L., Involvement of linear plasmids in aerobic biodegradation of vinyl chloride, *Appl. Environ. Microbiol.* 70 (2004), 6092–6097.
- 129 Ruiz, C., Main, T., Hilliard, N.P. and Howard, G.T., Purification and characterization of two polyurethanase enzymes from *Pseudomonas chlororaphis*, *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 43 (1999), 43–47.
- 130 Mukherjee, K., Tribedi, P., Chowdhury, A., Ray, T., Isolation of a *Pseudomonas aeruginosa* strain from soil that can degrade polyurethane diol, *Biodegradation* 22 (2011), 377–388.

- 131 Biffinger, J.C., Barlow, D.E., Cockrell, A.L., The applicability of ImpranilDLN for gauging the biodegradation of polyurethanes, *Polym. Degrad. Stab.* 120 (2015), 178–185.
- 132 Hung, C.-S., Zingarelli, S., Nadeau, L.J., Biffinger, J.C., Carbon catabolite repression and impranil polyurethane degradation in *Pseudomonas protegens* strain Pf-5, *Appl. Environ. Microbiol.* 82 (2016), 6080–6090.
- 133 Muller, R.J., Schrader, H., Profe, J., Dresler, K., Enzymatic degradation of poly (ethylene terephthalate): rapid hydrolyse using a hydrolase from *T. fusca*, *Macromol Rapid*, 26 (2005), 1400–1405.
- 134 Obradors, N., Aguilar, J., Efficient biodegradation of high-molecular-weight-polyethylene glycols by pure cultures of *Pseudomonas stutzeri*., *Appl. Environ. Microbiol.*, 57 (1991), 2383-2388.
- 135 Sakai, K., Fukuba, M., Hasui, Y., Moriyoshi, K., Purification and Characterization of an Esterase Involved in Poly(vinyl alcohol), Degradation by *Pseudomonas vesicularis*, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 62 (1998), 2000–2007.
- 136 Gong, J., Kong, T., Li, Y., Li, Q., Li, Z., & Zhang, J., Biodegradation of Microplastic Derived from Poly(ethylene terephthalate) with Bacterial Whole-Cell Biocatalysts, *Polymers*, 10 (2018), 1326.
- 137 Mohan, A.J., Sekhar, V.C., Bhaskar, T. and Nampoothiri, K.M., Microbial assisted shigh impact polystyrene (HIPS) degradation, *Bioresour Technol* 213 (2016), 204–207.
- 138 Wilkes, R. A., & Aristilde, L., Degradation and metabolism of synthetic plastics and associated products by *Pseudomonas sp.*: capabilities and challenges, *Journal of Applied Microbiology*, 123(2017), 582–593.
- 139 Paço, A., Duarte, K., da Costa, J. P., Santos, P. S. M., Pereira, R., Pereira, M. E., Biodegradation of polyethylene microplastics by the marine fungus *Zalerion maritimum*, *Science of The Total Environment*, 586 (2017), 10–15.
- 140 Yamada-Onodera, K., Mukumoto, H., Katsuyaya, Y., Saiganji, A., & Tani, Y., Degradation of polyethylene by a fungus, *Penicillium simplicissimum* YK, *Polymer Degradation and Stability*, 72 (2001), 323–327.
- 141 Albertsson, A-C., Andersson, S.O., Karlsson, S., The mechanism of biodegradation of polyethylene, *Polym. Degrad. Stab.*, 18 (1987), 73-87.
- 142 Russell, J. R., Huang, J., Anand, P., Kucera, K., Sandoval, A. G., Dantzler, K. W., Biodegradation of Polyester Polyurethane by Endophytic Fungi, *Applied and Environmental Microbiology*, 77(2011), 6076–6084.
- 143 Bhardwaj, H., Gupta, R., & Tiwari, A., Communities of Microbial Enzymes Associated with Biodegradation of Plastics, *Journal of Polymers and the Environment*, 21(2012), 575–579.

## 6. ŽIVOTOPIS

 Završila sam Treću osnovnu školu u Čakovcu nakon koje sam upisala srednju školu u Čakovcu, smjer Opća gimnazija. Godine 2016. Upisala sam Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, smjer Primijenjena kemija. Stručnu praksu obavila sam na Institutu Ruđer Bošković u Zagrebu.