

# Biorazgradnja kompozita na osnovi linearnog polietilena niske gustoće (LLDPE) i rižinih ljuskica (RLJ) bakterijama *Bacillus cereus* i *Pseudomonas aeruginosa*

---

**Božičković, Ana-Maria**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2021**

*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:149:572831>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-18**



*Repository / Repozitorij:*

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE  
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Ana-Maria Božičković

# ZAVRŠNI RAD

Zagreb, srpanj 2021.



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FAKULTET KEMIJSKOG INJŽENJERSTVA I  
TEHNOLOGIJE  
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Ana-Maria Božičković

**BIORAZGRADNJA KOMPOZITA NA OSNOVI LINEARNOG POLIETILENA NISKE  
GUSTOĆE (LLDPE) I RIŽINIH LJUSKICA (RLJ) BAKTERIJAMA *BACILLUS  
CEREUS* I *PSEUDOMONAS AERUGINOSA***

**ZAVRŠNI RAD**

Voditeljica rada: Prof.dr.sc. Emi Govorčin Bajsić

Članovi ispitnog povjerenstva:

Prof.dr.sc. Emi Govorčin Bajsić, FKIT

Izv.prof.dr.sc. Nevenka Vrbos, FKIT

Prof.dr.sc. Igor Sutlović, FKIT

Zagreb, srpanj 2021.

*Zahvaljujem se prof.dr.sc. Emi Govorčin Bajsić na mentorstvu i razumijevanju tijekom pisanja ovog rada. Također se zahvaljujem i svojoj majci Nedi na nemjerljivoj podršci kao i svojim prijateljima na ustrajnom ohrabrenju i podršci.*

# SADRŽAJ

|   |           |
|---|-----------|
| SAŽETAK.....  | 1         |
| <b>1.UVOD.....</b>  | <b>3</b>  |
| <b>2. OPĆI DIO.....</b>   | <b>5</b>  |
| <b>2.1. Polimerni materijali .....</b>  | <b>5</b>  |
| <b>2.1.2. Polimerni kompozitni materijali ojačani vlaknima .....</b>                  | <b>7</b>  |
| <b>2.1.3. Biokompoziti .....</b>  | <b>11</b> |
| <i>2.1.3.1. Vrste prirodnih vlakana.....</i>  | <i>11</i> |
| <b>2.1.4. Polietilen (PE) .....</b>   | <b>13</b> |
| <i>2.1.4.1 Linearni polietilen niske gustoće (LLDPE) .....</i>                        | <i>15</i> |
| <b>2.1.5. Rižine ljuskice .....</b>   | <b>16</b> |
| <b>2.2. Polimerni otpad.....</b>  | <b>17</b> |
| <b>2.2.1. LCA( Life cycle assesment-Procjena životnog ciklusa) biokompozita .....</b> | <b>17</b> |
| <b>2.3. Biorazgradnja .....</b>   | <b>18</b> |
| <b>2.3.1 Mehanizam biorazgradnje.....</b>   | <b>19</b> |
| <b>2.4. Mikroorganizmi.....</b>   | <b>21</b> |
| <b>2.4.1. Biorazgradnja polimera mikroorganizmima .....</b>                           | <b>22</b> |
| <b>2.4.2. Biorazgradnja polietilena (PE).....</b>                                     | <b>23</b> |
| <i>2.4.2.1. Bakterijska biorazgradnja polietilena (PE).....</i>                       | <i>23</i> |
| <i>2.4.2.2. Učinci mikrobiološke aktivnosti na polietilen (PE) .....</i>              | <i>24</i> |
| <b>2.5. Mikrobiološka razgradnja komercijalnih polimera .....</b>                     | <b>28</b> |
| <b>2.5.1. Razgradnja Polipropilena .....</b>  | <b>28</b> |
| <b>2.5.2. Razgradnja Polihidroksibutirata (PHB).....</b>                              | <b>28</b> |
| <b>2.5.3. Razgradnja Polietera.....</b>   | <b>30</b> |
| <b>2.6. Biorazgradnja bakterijama .....</b>   | <b>31</b> |
| <b>2.6.1. Bakterije .....</b>   | <b>31</b> |
| <i>2.6.1.1. Bacillus cereus .....</i>   | <i>31</i> |
| <i>2.6.1.2. Pseudomonas aeruginosa .....</i>  | <i>32</i> |
| <b>3.EKSPERIMENTALNI DIO.....</b>   | <b>34</b> |
| <b>3.1.Materijali .....</b>   | <b>34</b> |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>3.2. Hranjive podloge.....</b>                    | <b>34</b> |
| <b>3.3. Priprema biokompozita.....</b>               | <b>34</b> |
| <b>3.4. Sterilizacija i inokulacija uzoraka.....</b> | <b>35</b> |
| <b>4. REZULTATI I RASPRAVA .....</b>                 | <b>37</b> |
| <b>4.1. Određivanje mase uzoraka .....</b>           | <b>37</b> |
| <b>5. ZAKLJUČAK .....</b>                            | <b>40</b> |
| <b>6. LITERATURA .....</b>                           | <b>41</b> |
| <b>7.ŽIVOTOPIS.....</b>                              | <b>45</b> |





## SAŽETAK

Danas se u cilju zaštite okoliša sve više provode istraživanja vezana uz razvoj novih, biorazgradljivih i za okoliš prihvatljivih materijala koji se mogu dobiti iz prirodnih izvora poput celuloze, kolagena, svile ili pamuka. Celuloza je najatraktivniji prirodni polimer zbog njezine dostupnosti, obnovljivosti, biorazgradivosti i netoksičnosti. Cilj ovoga rada bio je pripremiti biokompozite na osnovi linearnog polietilena niske gustoće (LLDPE) i rižinih ljuskica (RLJ) i ispitati njihovu biorazgradnju u bakterijama *Bacillus cereus* i *Pseudomonas aeruginosa* na različitim hranjivim podlogama ( hranjivi bujon i hranjivi agar) tijekom 30 dana. Čisti LLDPE te biokompoziti LLDPE/RLJ s udjelom rižinih ljuskica od 10 i 50 mas. % pripremljeni su u laboratorijskoj Brabender gnjetilici. Dobiveni rezultati pokazali su naznake biorazgradnje jedino kod kompozita s 50 mas.% rižinih ljuskica, dok je za ispitivanje biorazgradljivosti čistog polimera i kompozita LLDPE/RLJ s 10 mas.% rižinih ljuskica potreban duži vremenski period inkubacije.

**Ključne riječi:** linearni polietilen niske gustoće (LLDPE), rižine ljuskice (RLJ), biorazgradnja, biokompoziti, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa*

## ABSTRACT

Today, to protect the environment, investigations are related to the development of new, biodegradable and environmentally friendly materials that can be obtained from natural sources such as cellulose, collagen, silk or cotton. Cellulose is the most attractive biopolymer due to its abundance, renewability, biodegradability and notoxicity. The aim of this study is to prepare a composite of linear low-density polyethylene (LLDPE) and rice husk (RH) and examine their biodegradation on bacteria *Bacillus cereus* and *Pseudomonas aeruginosa* on various growth media (nutrient broth and nutrient agar) over 30 days. The neat LLDPE and LLDPE/RH biocomposites with rice husk content of 10 wt% and 50 wt% were prepared in laboratory Brabender mixer. The results indicated only biodegradation of LLDPE/RH biocomposite with 50 wt%, while longer incubation period is required to examine the biodegradability of the neat LLDPE and LLDPE/RH biocomposites with 10 wt%.

**Keywords:** linear low-density polyethylene (LLDPE), rice husk (RH), biodegradation, biocomposites, *Bacillus cereus* , *Pseudomonas aeruginosa*

## 1.UVOD

Povećana prisutnost plastičnog otpada u okolišu predstavlja veliki problem zbog emisije štetnih tvari. Sintetski polimerni materijali imaju široku primjenu kao ambalažni materijali, u prehrambenoj industriji, tekstilnoj industriji, građevini, medicini itd., međutim njihovim odlaganjem u okolišu dugo zaostaju nerazgrađeni. Zbog toga se zbog sve veće ekološke osviještenosti i poticanja održivog razvoja potiče razvoj biopolimernih materijala dodatkom prirodnih razgradljivih polimera ili vlakana.

Kompozitni materijali prisutni su dugi niz stoljeća u svakodnevnom životu, te njihova različita svojstva omogućuju njihovu primjenu u gotovo svim ljudskim djelatnostima. Kompoziti se sastoje od kontinuirane faze odnosno matrice, punila kao diskontinuirane faze koja može uključivati i vlakna. Odgovarajućim odabirom matrice, punila i procesa prerade moguće je proizvesti kompozit točno željenih ili potrebnih svojstava. Upravo su zbog takve mogućnosti postizanja dobrih i poboljšanih svojstava polimernih materijala znanstvena istraživanja usmjerena na razvoj novih kompozitnih materijala. Kao matrica najčešće se upotrebljava keramika, metali ili polimeri. Punila doprinose povećanju čvrstoće, krutosti i otpornosti na trošenje također se mogu koristiti i u svrhu povećanja ekonomičnosti matrice (miješanjem s materijalom koji će poboljšati izgled ili smanjiti cijenu, održavajući ostala dobra svojstva matrice).

Svojstva samog kompozita ovise o: svojstvima matrice i ojačavala, veličini i raspodjeli komponenata, volumnom udjelu komponenata, obliku komponenata te o prirodi i jakosti veza između komponenata. Neke od prednosti kompozitnih materijala pred konvencionalnim materijalima su mogućnost izrade složenih oblika, smanjenje troškova naknadne obrade dijelova, mogućnost modifikacije u postupku proizvodnje, otpornost na koroziju, dimenzijska stabilnost pri radnim uvjetima te dizajniranje svojstava.

Najčešći kompoziti od polimernih matrica su duromeri i plastomeri (termoplasti). Termoplastični materijali koji se trenutno najviše koriste kao ambalažni materijali su poliolefini, kao što su polietilen visoke gustoće (engl. *high density polyethylene*, HDPE), polietilen niske gustoće (engl. *low density polyethylene*, LDPE) i polipropilen (PP). Razlog njihove široke primjene su dobra mehanička svojstva, laka prerada i velika fleksibilnost, a glavni nedostatak je nerazgradljivost. Jedan od velikih nedostataka kompozitnih materijala jest nemogućnost njihova recikliranja. Nakon

isteka vijeka trajanja proizvoda, iz kompozitnih materijala trenutno nije moguće razdvojiti vlakna i matricu, niti ih reciklirati drugim metodama osim deponiranjem ili usitnjavanjem. Biorazgradljivi polimeri imaju sve veću primjenu zbog mogućnosti recikliranja. Biorazgradljivost podrazumijeva biokemijske procese tijekom kojih mikroorganizmi iz okoliša pretvaraju materijal u prirodne tvari (voda, ugljikov dioksid, kompost), bez upotrebe aditiva.

Biorazgradljivi polimeri pod odgovarajućim uvjetima mogu biti razgrađeni na jednostavnije komponente koje ne predstavljaju opasnost za okoliš ni zdravlje živih bića koje u njemu borave. Razgradnja pomoću mikroorganizama donosi velike mogućnosti u razvoju tehnologija pri razgradnji polimernog otpada u ciklusu zbrinjavanja otpada.

## 2. OPĆI DIO

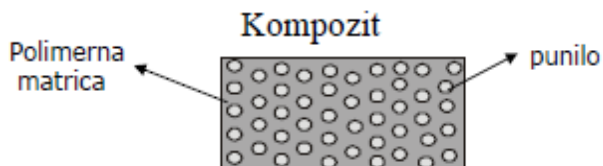
### 2.1. Polimerni materijali

Polimere možemo podijeliti u dvije osnovne skupine, prirodne i sintetske. Prirodni polimeri prisutni su u svakidašnjem životu kroz dugu povijest, kao prirodni polimer može se navesti drvo, papir, celuloza, biljna i životinjska vlakna, prirodni kaučuk, prirodne smole te neki silikatni proizvodi. Sintetski polimeri nastaju polimerizacijom monomera uglavnom dobivenih iz nafte ili prirodnog plina [1]. Sintetske polimere možemo podijeliti prema tipu molekula koji čine polimerni lanac, pa tako razlikujemo kopolimere i homopolimere. Kopolimeri se sastoje od različitih tipova jedinica, dok se homopolimeri sastoje od istovrsnih jedinica. Prema svojstvima polimere možemo podijeliti na elastomere, plastomere, duomere i termoplastične elastomere.

Polimerni proizvodi iznimno su primjenjivi i to sa izvrsnim svojstvima kao što su otpornost na vodu, mikrobiološko djelovanje, odlična mehanička svojstva, niske su gustoće što pojednostavljuje i pojeftinjuje transport, te su jeftini za preradu.

#### 2.1.1. Kompozitni materijali

Kompozitni materijali ili kompoziti (lat. Compositium) proizvedeni su umjetnim spajanjem dvaju ili više materijala različitih svojstava s jasnom granicom između njih (slika 1) [2]. Posljedica takvog spajanja je dobivanje materijala takvih svojstava kakva ne posjeduje niti jedna komponenta sama za sebe.



*Slika 1.* Shematski prikaz kompozita

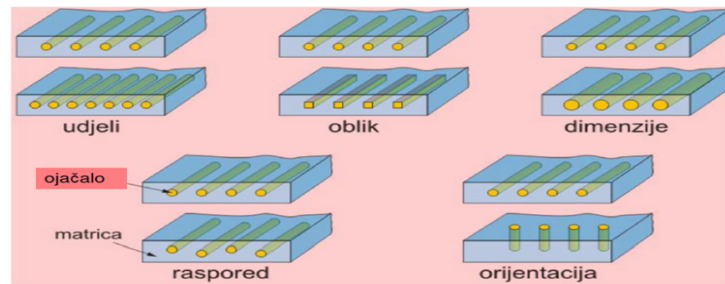
Neke od općih prednosti kompozitnih materijala pred konvencionalnim materijalima jesu sljedeće:

- mogućnost izrade vrlo složenih oblika,

- smanjenje troškova naknadne obrade dijelova,
- mogućnost spajanja dijelova tijekom samog postupka proizvodnje,
- dimenzijska stabilnost pri ekstremnim radnim uvjetima,
- otpornost na koroziju,
- dizajniranje svojstva.

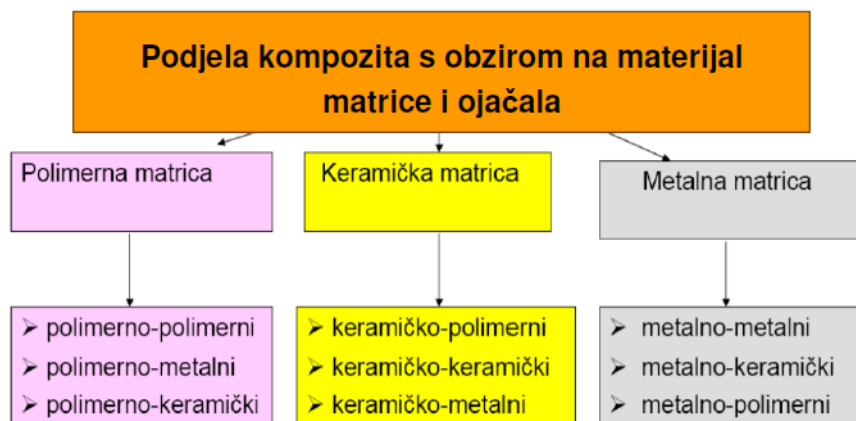
Kompozitni materijali se sastoje od dva osnovna dijela, matrice i ojačavala (slika 1). Osnovna uloga ojačala je da budu nosivi element kompozita, tj da osiguraju visoku čvrstoću, visoki modul elastičnosti – krutost te otpornost na trošenje. Dok matrica ima ulogu da drži ojačala zajedno, štiti ih od vanjskih utjecaja, ima važnu funkciju u prijenosu opterećenja na ojačalo, daje vanjsku formu kompozitu, određuje njegovo ponašanje obzirom na djelovanje atmosfere, itd..

Konačna svojstva kompozita ovisit će o veličini i raspodijeli matrice i ojačala, svojstvima matrice i ojačavala, volumnom udjelu matrice i ojačavala, obliku matrice i ojačavala te prirodi i jakosti veza između matrice i ojačavala (slika 2).



**Slika 2.** Kompozitni sustav; matrica i ojačavalo

Kompoziti se najčešće dijele s obzirom na materijal matrice i oblik ojačavala (slika 3).



**Slika 3.** Podjela kompozita s obzirom na materijal matrice i ojačavala

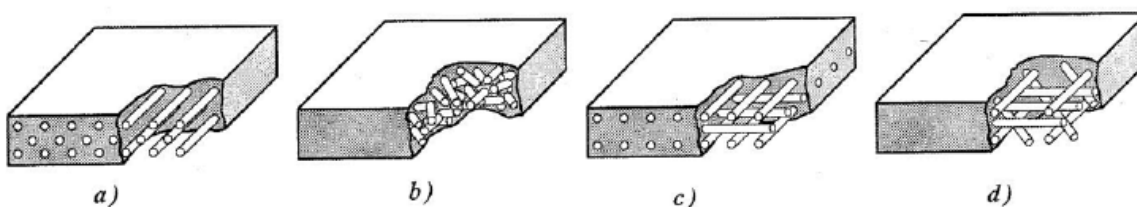
S obzirom na materijal matrice, kompoziti se dijele na metalne, keramičke i polimerne kompozite [3]. S obzirom na oblik ojačavala, kompozite dijelimo na kompozite ojačane česticama, ojačane vlaknima te strukturne kompozite (slojeviti kompoziti te sendvič konstrukcije). *Kompozite ojačane česticama*, s obzirom na veličinu i način na koje čestice utječu na svojstva kompozita, dijelimo na kompozite s nano česticama i kompozite s makro česticama. Čestice su najčešće od oksida, nitrida i karbida, npr  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{SiC}$ ,  $\text{BN}$ ,  $\text{ZrO}_2$ ,  $\text{SiO}_2$  itd. Kompoziti s nano česticama sadrže sitnije čestice ( $< 0,1 \mu\text{m}$ ) koje su raspoređene u količini do 15 %. Dok kompoziti s makro česticama sadrže veće udjele (veće od 15%) velikih čestica ( $> 1 \mu\text{m}$ ). Ovakvi kompoziti su namijenjeni za proizvode kod kojih se ne traži posebno izražena čvrstoća (abrazivne ploče, električni kontakti).

### 2.1.2. Polimerni kompozitni materijali ojačani vlaknima

Polimerni kompozitni materijali ojačani vlaknima su materijali s povećanom čvrstoćom, većom otpornošću na zamor, povećanom krutošću, povećanom čvrstoćom na sobnoj i na povišenim temperaturama. Svojstva kompozita ojačanim vlaknima ovise o omjeru duljina/promjer vlakana, volumnom udjelu vlakana, usmjerenosti (rasporedu) vlakana, svojstvima vlakana, svojstvima matrice.

Kod vlaknima ojačanih kompozita dolazi do izražaja poboljšanje čvrstoće, žilavosti, krutosti, te povećanja omjera čvrstoća/gustoća uslijed ugradnje čvrstih, krutih i krhkih vlakana u mehaniju,

duktilniju matricu. Materijal matrice prenosi opterećenje na vlakna te osigurava duktilnost i žilavost, budući da vlakna nose veći dio opterećenja. Upravo zbog te činjenice je vrlo važna veza između matrice i vlakana. Najvažnije svojstva vlakana su visoka toplinska stabilnost i kontrolirana rastezljivost pri povišenim temperaturama. Vlakna se razlikuju prema: vrsti, duljini, promjeru, orijentaciji, hibridizaciji. S obzirom na dužinu i orijentaciju dijelimo ih kontinuirana (neprekidna) i diskontinuirana vlakna, gdje je orijentacija svakog vlakna različita (slika 4).



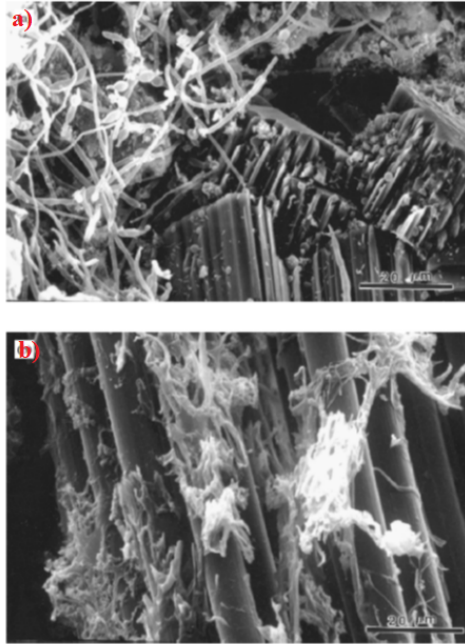
**a) kontinuirana jednosmjerna vlakna b) slučajno usmjerena diskontinuirana vlakna**  
**c) ortogonalno raspoređena vlakna d) višesmjerno usmjerena vlakna**

*Slika 4. Različiti raspored vlaknastih ojačavala*

Kontinuirana vlakna se teže proizvode i ugrađuju u matricu, ali osiguravaju najbolja svojstva. Diskontinuirana vlakna s velikim omjerom ‘‘duljina/promjer’’ znatno se lakše ugrađuju u matricu, i tako čine materijal visoke krutosti i čvrstoće.

Polimerni kompozitni materijali ojačani vlaknima nalaze veliku primjenu u avioindustriji [4]. Zbog sve veće primjene kompozita ojačanih vlaknima, posebno u avioindustriji potrebno je procijeniti biorazgradljivost ove vrste novih materijala. Kompoziti ojačani vlaknima također su osjetljivi na prisutnost mikroorganizama . Ustanovljeno je da nečistoće i aditivi koji mogu pospješiti rast mikroorganizama mogu poslužiti i kao potencijalni izvori ugljika i hrane za mikroorganizme iz okoliša (slika 5).





**Slika 5.** SEM mikrografije rasta stanica na površini a) kompozitnog materijala ojačanog vlaknima (rast bakterija i gljivica) i b) grafitna ugljikova vlakna, rast uglavnom gljivica

Obje i bakterije i gljivice sposobne su rasti na grafitnim vlaknima kompozitnog materijala ojačanog vlaknima, ali samo gljivice uzrokuju pogoršanje koje se može detektirati tijekom više od 350 dana [5]. Pronađeno je da su omekšavala biorazgradiva i mogu prirodnim mikroorganizmima pružati izvor ugljika i hrane [6]. Ftalati i ftalat esteri su velika skupina kemikalija koje se koriste kao omekšavala u proizvodnji plastike, te se često mogu naći u eluatima tla na odlagalištima otpada u velikim količinama, a mogu se brzo razgraditi aerobnim mikroorganizmima [7]. Općenito su bakterije manje učinkovite u razgradnji kompozita od gljivica.

Najčešće korištene polimerne matrice su duromeri i plastomeri (termoplasti) [2]. Duromeri su termoaktivne plastične mase ili umjetne smole koji sadrže polimere koji se tijekom procesa stvrdnjavanja povezuju stvarajući nepovratnu gusto umreženu strukturu, gusto umrežena struktura sprječava ponovno taljenje, ali daljnjim povećanjem temperature toplinski se razgrađuju.

Plastomeri ili termoplasti se zagrijavanjem omekšaju i prelaze iz krutine u taljevinu. Hlađenjem materijala dolazi do ponovnog prijelaza u krutinu bez promjene svojstava. S obzirom da se ciklus hlađenja i taljenja može ponavljati bez promjene svojstva, plastomeri se mogu vrlo jednostavno prerađivati. Otporni su na djelovanje velikog broja kemikalija, a u plastomere spada i polietilen (PE).

**Tablica 1.** Usporedba svojstava plastomera i duromera [2].

|                                     | <b>DUROMERI</b>                          | <b>PLASTOMERI (TERMOPLASTI)</b>  |
|-------------------------------------|--|--|
| <b>SVOJSTVA<br/>I<br/>PREDNOSTI</b> | Zagrijavanjem ne omekšavaju niti se tale | Zagrijavanjem omekšavaju, hlađenjem ponovno kristaliziraju             |
|                                     | Umrežena struktura                       | Linearna struktura   |
|                                     | Dobre tvrdoće                            | Izvršne čvrstoće i dimenzijske stabilnosti                             |
|                                     | Otpornost na deformaciju                 | Mehanička svojstva koja omogućuju razne primjene                       |
|                                     | Na višim temperaturama pucaju            | Nakon taljenja moguća je ponovna kristalizacija i preoblikovanje       |
|                                     | Ne mogu se reciklirati                   | Može ih se reciklirati   |
|                                     | Otporniji na temperaturu od plastomera   | Kemijski otporni, male osjetljivosti na vlagu, dobro otporni na udarce |
|                                     | Estetski prihvatljivi                    | Izvršnih estetskih karakteristika                                      |

Polimerni kompoziti su višefazni sustavi koji se sastoje od polimerne matrice (plastomeri: -PA, PE, PP, ABS, visokotemperaturni plastomeri (PEEK, PPS, PEI); duromeri: -poliesterske, epoksidne, vinil esterske, fenolne smole itd.) kao kontinuirane faze i anorganske komponente, ojačavala (staklena vlakna, ugljična vlakna, aramidna vlakna, ostali vlaknasti materijali (B, SiC, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) kao diskontinuirane faze.

Prednosti polimernih kompoziti su:

- dobra žilavost,
- dobra obradljivost,
- izuzetna korozijska otpornost
- visoki omjer čvrstoća/težina.

Nedostatci polimernih kompoziti su:

- niska krutost i čvrstoća,
- loša svojstva na visokim temperaturama.

### **2.1.3. Biokompoziti**

Razvoj i upotreba sintetskih bionerazgradljivih polimernih materijala ili plastike kao ambalažnog materijala za pakiranje hrane danas je u značajnom porastu. Međutim upotreba nerazgradljivih polimera (ili razgradljivih u dugom vremenskom periodu), a koji imaju kratkotrajnu upotrebu kao jednokratne vrećice, kutije za pakiranje, jednokratni pribor za jelo te medicinske i higijenske potrepštine imaju loš utjecaj na okoliš. Biokompoziti se sastoje od biorazgradljivog polimera kao matrice i biovlakna kao ojačavala i njihova primjena je sve veća. Biokompoziti mogu značajno doprinijeti smanjenju otpada vezanog za plastične proizvode iz svakodnevne upotrebe i time očuvanju okoliša. Popularizacija ekološke osviještenosti potiče razvoj biokompozita i ekološki prihvatljivih materijala ne samo kroz cijelo proteklo stoljeće, već i u tekućem stoljeću. Korištenjem biokompozita, odnosno ekološki prihvatljivih materijala moguća je njihova uporaba i smanjenje otpada u okolišu.

Biopolimeri imaju sposobnost biorazgradnje bez obzira da li potiče od obnovljivih ili neobnovljivih izvora, ili ako se sastoje od neobnovljivih materijala koji su nastali iz obnovljivih izvora. Biokompoziti s prirodnim vlaknima kao punilima mogu konkurirati ostalim plastičnim materijalima iz naftnih derivata, na način da su prirodna vlakna dostupna u velikim količinama, po niskoj cijeni, takvi kompoziti također pružaju dobra mehanička svojstva i dobru tvrdoću, te povrh svega mogu pratiti trend održivosti što može utjecati i na komercijalnu vrijednost konačnog proizvoda [4].

### 2.1.3.1. Vrste prirodnih vlakana

Prirodna vlakna najčešće se dijele na biljna, životinjska ili mineralna vlakna. Biljna vlakna dalje možemo podijeliti na drvenasta ili nedrvenasta. Drvenasta vlakna dalje možemo podijeliti u pet skupina a to su:

1. Tkivna: konoplja, lan, juta, kenaf (bombajska konoplja) (slika 6)
2. Lisnata: sisal, ananas, abaka (slika 7)
3. Slama: pšenica, riža, soja, i škrob (slika 8)
4. Sjeme/Voće: vlakna kokosa, kapok,
5. Trava/ trska: divlje proso , miskantus (kineski šaš)

#### Industrijski/biogorivi suprodukt



**Destilat sušenog zrna sa topivim (DDGS)**      **Lignin**

*Slika 6.* Tkivna punila



*Slika 7.* Lisnata punila, slamnata punila

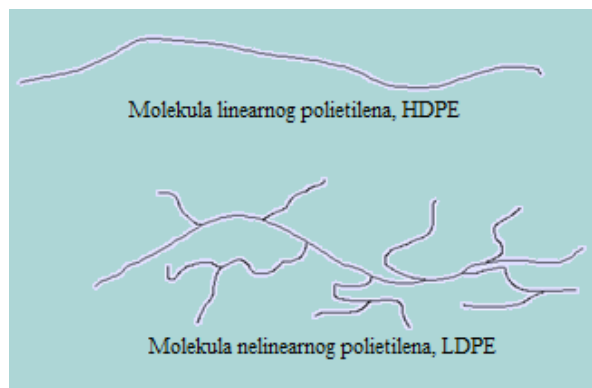


**Slika 8.** Punila koja zaostaju u poljoprivredi i nakon industrijske obrade

Ostala lignocelulozna vlakna kao što su vlakna šećerna trske, kava, drvni ostaci u poljoprivredi i industriji također predstavljaju jedan od izvora vlakana za razvoj biokompozita temeljenih na obnovljivim izvorima za industrijske primjene.

#### **2.1.4. Polietilen (PE)**

Polietilen spada u plastične materijale odnosno poliplaste, jedan je od najčešće korištenih polimera, stoga ga i pronalazimo u svakodnevnom životu s obzirom da se od polietilena proizvode folije, filmovi i razna ambalaža. Osnovna strukturna jedinica polietilena je etilen što ga čini najjednostavnijim polimerom s toliko širokom primjenom (slika 9). Struktura polietilena postaje kompleksnija kada ugljikov atom na sebe veže lanac polietilena umjesto vodikov atom te dobivamo razgranati polietilen, ukoliko osnovni lanac nije razgranat dobivamo linearni polietilen. Razgranati polietilen još se naziva i polietilen niske gustoće ( LDPE ), a linearni polietilen poznat je kao i polietilen visoke gustoće HDPE.



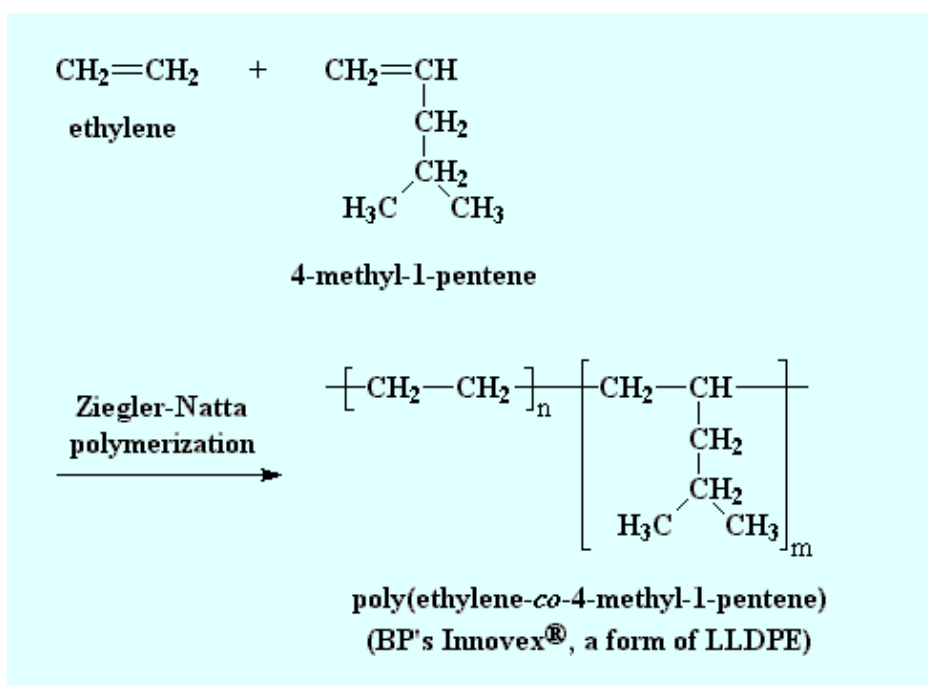
**Slika 9.** Molekula linearnog i razgranatog polietilena

Različite vrste polietilena obuhvaćaju raspon gustoće između  $0,91$  i  $0,965 \text{ g cm}^{-3}$ . Polimeri s većom gustoćom imaju veću kristalnost, tvrdi su i manje propusni za plinove. Niska kristalnost daje veću transparentnost filma i lakšu obradu. PE ima dobru otpornost na kemikalije poput organskih otapala i kiselina, te je izvrstan električni izolator. Polietileni (PE) visoke i niske gustoće prvenstveno se koriste u pakiranju proizvoda kao tanke folije i filmovi. Njihova razgradljivost u prirodnom okruženju predstavlja ozbiljne ekološke probleme zbog njihove spore razgradnje u prirodnim uvjetima, te opasnosti koju predstavljaju biljnom i životinjskom svijetu. Prethodna izloženost polietilena (PE) UV zračenju potiče njegovu razgradnju. Aditivi koji se dodaju u polimere, kao što su škrob, antioksidansi, stabilizatori, omekšavala i dr. dodatci mogu značajno promijeniti biorazgradljivost polimera [8]. Dodatkom fotokemijski aktivnih molekula stupanj razgradnje može se povećati za 2–4 %, a bez obzira na to razgradnja je vrlo spora te se procjenjuje u desetljećima. Kristalnost, tretiranje površine, aditivi, molekulska masa, i sredstva za smanjenje površinske napetosti su čimbenici koji utječu na razgradnju PE, te mogu ubrzati proces razgradnje. Abiotička razgradnja PE vidljiva je pojavom karbonilnih funkcionalnih skupina u abiotičkim okruženjima dok je suprotno tome, povećanje dvostrukih veza primijećeno uslijed smanjenja molekulske mase što je posljedica biorazgradnje [9]. Mikrobna razgradnja polietilena (PE) proces je koji se odvija u dva koraka koji uključuje početnu abiotičku fotooksidaciju, nakon čega slijedi pucanje polimernog lanca. Međutim, za određivanje mehanizma pucanja polimernog lanca potrebna su dodatna ispitivanja. Polietileni (PE) manje molekulske mase, uključujući parafin mogu biti biorazgradljivi. Parafin se podvrgava oksidativnoj hidroksilaciji kako bi se formirala alkoholna

skupina, nakon čega slijedi stvaranje karboksilne kiseline. Pri višim temperaturama, dolazi do stvaranja ketona, alkohola, aldehida, laktona, i karboksilne kiseline abiotski u 6 tjedana [9].

#### 2.1.4.1 Linearni polietilen niske gustoće (LLDPE)

Najčešći kratkolančani polimer je linearni polietilen niske gustoće LLDPE. LLDPE se sintetizira kopolimerizacijom etilena s alfa-olefinima kao što su 1-butan, 1-heksan ili 1-oktan, te nastaje kopolimer s kratkim bočnim granama ugljikovodika (slika 10) [10].



*Slika 10.* Ziegler-Natta polimerizacija

LLDPE se najčešće koristi u izradi filmova, a samo je u 2010. godini proizvedeno čak  $27 \cdot 10^6$  tona LLDPE-a. U cijelokupnoj primjeni LLDPE-a, proizvodnja filma pokriva čak 80% ukupne proizvodnje. Uz film česta primjena LLDPE-a može se naći i u injekcijskom prešanju koje obuhvaća 7% proizvodnje, oblaganje žica te izoliranje kablova obuhvaćaju 4%, a ostale primjene 9% [11].

### 2.1.5. Rižine ljuskice

Riža je samo jedna od velikih skupina žitarica koje se mogu koristiti za proizvodnju vlakana. Danas se usjevi pšenice, kukuruza, raži, zobi i drugih žitarica koriste za proizvodnju vlakana i kao punila u kompozitnim materijalima.

Rižine ljuskice (RLJ) pripadaju obitelji nedrvenih biovlakana, a dobivaju se kao ostatak poljoprivredne obrade riže, odnosno nakon žetve. S obzirom da su poljoprivredni ostaci dostupni, i to u većim količinama, isplativije ih je koristiti od drvenih vlakana kod proizvodnje biokompozita. Rižini ostaci najčešće se spaljuju ili koriste kao hrana za životinje, a porastom korištenja rižinih ljuskica u proizvodnji biokompozita zamijenili bi se resursi s puno većim utjecajem na okoliš kao što su nafta i drvo. [12]

**Tablica 2.** Kemijski sastav rižinih ljuskica [12]

| Kemijski sastav rižine ljuskice , % |              |        |                                      |
|-------------------------------------|--------------|--------|--------------------------------------|
| Celuloza                            | Hemiceluloza | Lignin | Silicijev dioksid (SO <sub>2</sub> ) |
| 28-48                               | 12-16        | 23-28  | ~19                                  |

Jedno od glavnih ograničenja u pripremi kompozita s RLJ je njihova loša kompatibilnost s hidrofobnim polimernim matricama zbog njihovog hidrofilnog karaktera i prisutnosti voska i prirodnih masti. Kako bi se poboljšala kompatibilnost između punila i matrice, predložena je uporaba kompatibilatora ili sredstva za vezivanje. Međupovršinske interakcije između punila i matrice su od velikog značaja za realizaciju prijenosa interakcija iz matrice u punilo, a vjeruje se da ojačavajući potencijal punila uglavnom ovisi o njihovim međupovršinskim interakcijama s matricom. Poboljšane međupovršinske interakcije dovode do bolje adhezije koja rezultira boljim mehaničkim svojstvima. Inherentna različitost između nepolarnih, hidrofobnih polimernih matrica i polarnih, hidrofilnih RLJ i relativnih viših koncentracija silikata i voska, uglavnom u unutarnjim slojevima, ometaju kompatibilnost i međupovršinske interakcije RLJ s polimernom matricom. Kako bi se poboljšala kompatibilnost, treba raditi na smanjenju površine čestica RLJ, s ciljem aktiviranja dostupnih i/ili uvođenja novih reaktivnih mjesta za međupovršinske interakcije. Bolje



interakcije između polimerne matrice i RLJ mogu se postići obradom RLJ sredstvima za vezivanje kao što su npr. silani.

## **2.2. Polimerni otpad**

Tijekom posljednjih desetljeća, rastom populacije, raste i potreba za sve naprednijim uvjetima života, što posljedično tome, uzrokuje povećanu proizvodnju i potrošnju polimernih materijala, koji u svakodnevnom konzumerističkom društvu pronalaze beskonačno mnogo primjena. Porast uporabe polimernih materijala uvjetovao je i porast količine polimernog otpada, što pobuđuje interes za recikliranje i ponovno korištenje polimera (slika 11) [13].



*Slika 11.* Najčešći polimerni otpad, svakodnevno korištena plastika

Tradicionalne metode kao što su spaljivanje ili zakapanje otpada pokazuju negativan učinak na okoliš kao što su stvaranje čestica čađe, para i otrovnih plinova u zraku, te onečišćenje podzemnih voda i drugih resursa. Postupak recikliranja najbolji je način upravljanja polimernim otpadom. Postoje različiti postupci recikliranja otpadnih polimernih materijala, uključujući, mehaničko, kemijsko i energijsko recikliranje [14].

### **2.2.1. LCA( Life cycle assesment-Procjena životnog ciklusa) biokompozita**

Klasifikacija održivosti, zahtijeva sveobuhvatnu i rigoroznu analizu podataka kako bi se napravila procjena, o utjecaju nove tehnologije na okoliš u odnosu na prethodno korištene tehnologije. Procjena životnog ciklusa jedna je od najboljih metoda koja omogućuje takvu analizu.

Pojam životni ciklus (LCA) odnosi se na ideju da je za sveobuhvatnu procjenu utjecaja štetnosti potrebno procijeniti proizvodnju sirovina, proizvodnju proizvoda njegovu distribuciju, uporabu i na kraju odlaganje nakon primjene (otpad) (uključujući sve intervenirajuće korake prijevoza). Kako bi se izračunala količina emisije i otpada nastalih tijekom životnog ciklusa proizvoda, potrebne su mnoge temeljne informacije o preradi, materijalima i potrošnji energije. Općenito, LCA bio-polimernih kompozita pokazuje povoljnije rezultate u smislu utjecaja na okoliš i potrošnje energije u usporedbi s proizvodima dobivenim od nafte. Nekoliko provedenih LCA analiza za tradicionalne kompozite i biokompozite pokazale su da se prednosti korištenja biokompozita proizvedenih prirodnim vlaknima i prirodnim matricama, u usporedbi sa sintetskim kompozitima, čine superiornijima, a njihove tržišne mogućnosti rastu za mnoga industrijska područja. Sintetski kompoziti su još uvijek vrlo važni u onim područjima u kojima je potrebna visoka termomehanička učinkovitost (npr. avio i sportska industrija). U tim se slučajevima nanotehnologija pokazuje kao najučinkovitija, iako je LCA nanokompozita u ranoj fazi. Glavna prednost korištenja LCA u mješovitoj proizvodnji je da pruža sveobuhvatan način određivanja ukupnog utjecaja na okoliš za razvoj novih materijala i procesa. LCA je koristan alat za odabir čistih proizvodnih procesa, izbjegavanje opasnih i toksičnih materijala, povećanje učinkovitosti energije koja se koristi za proizvodnju i za proizvod koji se koristi i dizajnira za gospodarenje otpadom i recikliranje. Ipak, još uvijek postoji nekoliko ključnih aspekata koje treba razmotriti. Najveće ograničenje LCA analize je nesigurnost podataka. Postojeće baze podataka za kompozite ojačane vlaknima, zelene ili tradicionalne, nisu sigurne i potrebno ih je stalno ažurirati i ispravljati. Nesigurnost podataka proizlazi i iz činjenice da se studije provode na regionalnoj lokaciji, a rezultati su u određenim slučajevima specifični za pojedinu državu (npr. emisije stakleničkih plinova iz nacionalne proizvodnje električne energije). S druge strane, nesigurnost podataka može se smanjiti ako se iz nekoliko neovisnih analiza za različite zemlje dobiju slični rezultati[15].

### **2.3. Biorazgradnja**

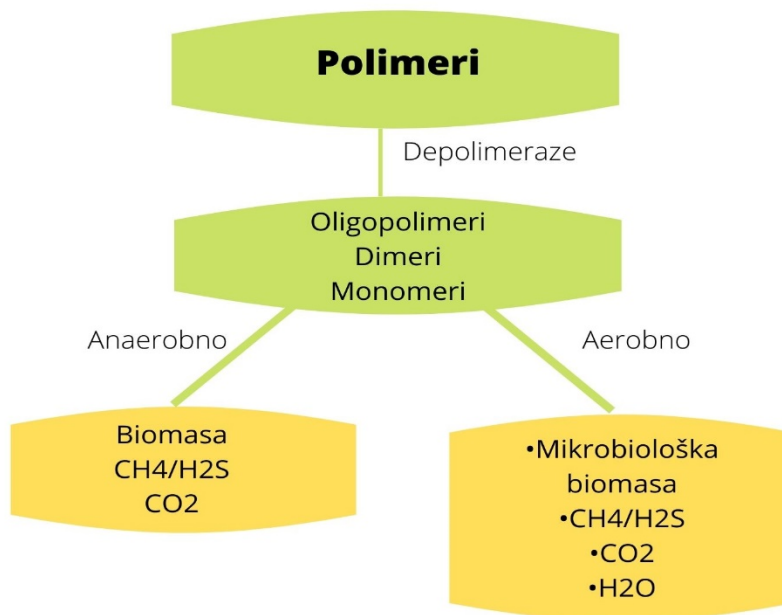
Biorazgradnjom se smatra proces razgradnje materijala na jednostavnije spojeve djelovanjem mikroorganizama, a razgradnja se može odvijati aerobno ili anaerobno. Korištenje bakterija za biorazgradnju raznih prirodnih i sintetskih polimera, sve više privlači pozornost. Bakterije posjeduju široku paletu potencijala bioremedijacije koji su korisni i s ekološkog i

ekonomskog stajališta. Biorazgradljiva plastika izvorno je razvijena kako bi se započelo rješavanje posebnih pitanja vezanih za poljoprivredni otpad i otpad koji nastaje u industriji hrane. Polimeri i kompoziti sadrže polimerne lance koji su jedini izvor ugljika za mikrobiološku razgradnju. Biorazgradnj pridonosi niz različitih čimbenika koji uključuju karakteristike polimera, vrstu mikroorganizma te vrstu predobrade. Svojstva polimera poput pokretljivosti, taktilnosti, kristaličnosti, molekulske mase, funkcionalnih skupina i supstituenata i aditiva prisutnih u strukturi imaju značajnu ulogu u samom procesu biorazgradnje. Pri biorazgradnji LDPE-a primjerice, polimerni lanac se najprije prevodi u monomerne jedinice, potom slijedi mineralizacija monomera kao završna faza. Depolimerizacija je nužan korak u razgradnji LDPE-a upravo zbog veličine njegove molekule koja ne može ući u stanicu mikroorganizma prolazeći staničnu membranu, već se u monomernom obliku može apsorbirati i razgraditi unutar stanice.

### **2.3.1 Mehanizam biorazgradnje**

Polimeri se mogu razgraditi različitim mehanizmima: toplinske, kemijske, foto i biološke razgradnje. Razgradnja polimera je fizikalna ili kemijska promjena polimera koja nastaje kao posljedica čimbenika okoliša, poput svjetlosti, topline, vlage, kemijskih uvjeta ili biološke aktivnosti. Biorazgradnja je biokemijski proces koji se odnosi na razgradnju i asimilaciju polimera živim mikroorganizmima, za proizvodnju produkta razgradnje. Mikroorganizmi kao što su bakterije, gljivice i aktinobakterije uključeni su u razgradnju i prirodne i sintetske plastike. Mikroorganizmi nemaju mogućnost prijenosa polimera izravno kroz staničnu membranu stanice, gdje se odvija većina biokemijskih procesa zbog nedostatka topljivosti i duljine polimernog lanca. Polimeri se mogu razgraditi heterotrofnim mikroorganizmima uključujući bakterije i gljivice. Biorazgradljivost polimera ovisi o njihovoj molekulskoj masi, kristaličnosti i strukturi [16]. Općenito, povećanje molekulske mase dovodi do smanjenja razgradnje polimera mikroorganizmima. Monomeri, dimeri i oligomeri lakše se razgrađuju i mineraliziraju. Što je veća molekulska masa manja je topljivost polimera, odnosno slabija razgradnja djelovanjem mikroorganizama jer kod razgradnje bakterijama supstrat se prevede kroz staničnu membranu, a zatim dodatno razgradi staničnim enzimima. Međutim, treba istaknuti da istodobni nebiološki i biološki procesi mogu pospješiti razgradnju polimera. Najmanje dvije skupine enzima aktivno sudjeluju u biološkoj razgradnji polimera: izvanstanična i unutarstanična depolimerizacija

[17]. Tijekom razgradnje izvanstanični enzim (egzoenzim) iz mikroorganizama razgrađuju složene polimere na kratke lance ili manje molekule, npr., oligomere, dimere i monomere, koji su dovoljno mali da prođu kroz vanjske polupropusne bakterijske membrane i da posluže kao izvor ugljika i hrane mikroorganizmima (slika 12). Proces se zove depolimerizacija.



**Slika 12.** Shematski prikaz razgradnje polimera u aerobnim i anaerobnim uvjetima.

Kada su konačni produkti CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O ili CH<sub>4</sub>, razgradnju nazivamo mineralizacija. Uobičajeno je pravilo da što je struktura polimera sličnija prirodnoj molekuli, lakše će biti razgrađena i mineralizirana. Polimeri poput celuloze, hitina, i PHB-a biološki su sintetizirani i mogu se potpuno i brzo biorazgraditi u širokom rasponu heterotrofnim mikroorganizmima u okolišu [18,19]. Prirodni uvjeti uključuju i okoliš u kojem su osnovni anaerobni procesi [20]. U prisutnosti kisika (aerobni uvjeti) potpunom razgradnjom polimera nastat će mikrobiološka biomasa, CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> i H<sub>2</sub>O (slika 12). Važno je napomenuti da razgradnja polimernog materijala rijetko ide do 100% , razlog je što će mali dio polimera biti ugrađen u mikrobnu biomasu, humus i druge prirodne proizvode [21]. Dominantne skupine mikroorganizama i procesi razgradnje polimera određeni su

uvjetima okoliša. Bez prisustva kisika (anaerobni uvjeti), primarni produkti su mikrobiološka biomasa, CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub> i H<sub>2</sub>O u metanogenim uvjetima [21], ili H<sub>2</sub>S, CO<sub>2</sub> i H<sub>2</sub>O u sulfidogenim uvjetima (slika 12). Poznato je da aerobni procesi daju mnogo više energije i omogućuju veću populaciju mikroorganizama od anaerobnih procesa jer je termodinamički O<sub>2</sub> učinkovitiji primatelj elektrona od SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> i CO<sub>2</sub>. Ovi uvjeti se naširoko nalaze u prirodnom okolišu i mogu se simulirati u laboratoriju. U razgradnju polimera uključeni su i aerobni i strogo anaerobni mikroorganizmi.

## 2.4. Mikroorganizmi

Mikroorganizmi su vrlo prilagodljivi okolišu u kojem se nalaze i mogu stvarati unutarstanične enzime (endoenzime) i vanstanične enzime (egzoenzime) koji djeluju na polimerni materijal dolazi do pucanja molekulskog lanc u manje segmente. Nastali enzimi su proteini složene kemijske strukture s visokim molekulskim masama, sastoje se od hidrofilnih skupina kao što su -COOH, --OH, i -NH<sub>2</sub> koje mogu dovesti do potpune razgradnje materijala. Čimbenici poput vode, temperature, kisika, minerala, pH, redukcijskog potencijala, ugljika i izvora energije utječu na rast mikroorganizama (Tablica 3). Proces razgradnja koji nastaju u polimernom materijalu djelovanjem gljivica i bakterija rezultat su stvaranja enzima koji dovode do pucanja materijala u cilju opskrbe hranjivim tvarima. Razlika između gljivica i bakterija prikazana je u tablici 4.

**Tablica 3.** Uvjeti pogodni za rast mikroorganizma

| Čimbenik               | Uvjeti  |
|------------------------|---|
| pH                     | 0 do 13   |
| Temperatura            | -5 do 116 °C  |
| Tlak                   | do 1,000 bara   |
| Redukcijski potencijal | -500mV do + 850mV   |
| Salinitet              | Izrazito čista voda do gotovo zasićene vode                   |
| Zračenje               | Biofilmovi- UV-lampe, jedinice zračenja i nuklearne elektrane |

|                           |   |
|---------------------------|---|
| Koncentracija nutrijenata | od 10 $\mu\text{gL}^{-1}$ (pitka i pročišćena voda) |
|---------------------------|---|

**Tablica 4.** Razlika između gljivica i bakterija

| <b>Gljivice</b>                     | <b>Bakterije</b>                               |
|-------------------------------------|--|
| Jednostanične gljivice              | Jednostanične bakterije                        |
| Višestanične gljivice               | Zajednica jednostaničnih bakterija (monera)    |
| Višestanični organizmi, osim kvasca | Jednostanični organizmi                        |
| Heterotrofni organizmi              | Heterotrofni ili autotrofni organizmi          |
| Aerobni organizmi                   | Aerobni ili anaerobni organizmi                |
| Eukarioti                           | Prokarioti                                     |
| Pretežno kiselije okruženje         | Pretežno neutralno ili slabo lužnato okruženje |

#### **2.4.1. Biorazgradnja polimera mikroorganizmima**

Mikroorganizmi mogu proizvesti različite kompleksne polimere u prisustvu dovoljno ugljika. Polimeri uključuju razne poliestere, polisaharide, svilu [22-24]. Mikrobiološka razgradnja polimera ovisi o njihovoj strukturi, molekulskoj masi i prisutnosti specifičnih mikroorganizama na površini materijala. Biorazgradnja ovisi o kemijskoj strukturi polimera. Prirodni polimeri lako su razgradljivi u prirodnim uvjetima, dok se sintetski polimeri teže ili sporije razgrađuju. Prema tome proces biorazgradnje ovisi o strukturi polimernih materijala. Stupanj razgradnje ovisi o kemijskoj strukturi, C-C i drugim tipovima veza, molekulskoj masi, konfiguraciji polimera kao i prisutnosti mikroorganizama i vanjskim uvjetima. Polimeri veće molekulske mase manje su biorazgradljivi odnosno razgrađuju se sporije od onih s manjom molekulskom masom. Osim toga, kristaličnost i stereokemija polimera također značajno doprinose stupnju razgradnje, ali se rijetko uzimaju u obzir. I homopolimeri i kopolimeri se mogu razgraditi u biološko aktivnom okolišu.

## 2.4.2. Biorazgradnja polietilena (PE)

Struktura polietilena se sastoji od dugačkih lanaca etilen monomera koji mu daju veliku stabilnost i ne može se lagano razgraditi mikroorganizmima. Biorazgradnja PE je vrlo spor proces i složen mehanizam njegove biorazgradnje još nije u potpunosti određen. Poznato je da razni abiotički i biotički čimbenici imaju značajnu ulogu u biorazgradnji PE u okolišu. Istraživanja biorazgradnje PE provode se ili pomoću čistih kultura koje su u stanju razgraditi PE ili korištenjem složenih mikrobnih zajednica iz raznih kopnenih (tla s odlagališta, kompost) i morskih staništa. Istraživanja su pokazala da se dodatkom ciljano proizvedenih bakterijskih kultura može ubrzati biorazgradnja PE. Nadalje, znatno brža biorazgradnja PE-a može se postići razgradnjom pomoću ličinke gusjenica voštanih moljaca (voštani crvi).

### 2.4.2.1. Bakterijska biorazgradnja polietilena (PE)

Pokazalo se da više od 20 bakterijskih vrsta razgrađuje različite tipove polietilena. One uključuju razne gram-negativne i gram-pozitivne vrste koje pripadaju rodovima *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Stenotrophomonas*, *Klebsiella*, *Acinetobacter*, itd i *Rhodococcus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Streptomyces*, *Bacillus*, itd. Većina tih bakterijskih vrsta razgrađuju površinu PE i/ili stvaraju biofilm na PE. U tablica 5 prikazane su bakterijske vrste vezane za biorazgradnju PE. Provedena su istraživanja o utjecaju *Pseudomonas* bakterija na razgradnju i metabolizaciju raznih sintetskih polimera i proizvoda. Bakterije vrste *Pseudomonas* razgrađuju i metaboliziraju polimer izvanstaničnim oksidativnim i/ili hidrolitičkim djelovanjem enzima na taj način dolazi do razgradnje dijelova polimera, te kontroliraju interakcije između biofilmova i površine polimera. Tribedi i Sil [25] pokazali su da je dodavanje mineralnog ulja u medij bakterija *Pseudomonas* sp. AKS2 za razgradnju LDPE-a potaknulo hidrofobnu interakciju za stvaranje biofilmova na površini polimera pri čemu se razgradilo  $5 \pm 1\%$  LDPE-a za 45 dana. Termofilne bakterije *Brevibacillus borstelensis* izolirane iz tla korištene su za razgradnju LDPE-a kao jedini izvor ugljika i hrane, pri čemu se smanjilo 30% molekulske mase polietilenskog filma tijekom inkubacije u vremenu od 30 dana [26].

**Tablica 5.** Bakterijske vrste povezane s razgradnjom PE

| Bakterija  | Polietilen        |
|--|-------------------|
| <i>Streptomyces badius, S. setonii,</i>  | starch-PE         |
| <i>Arthrobacter paraffineus</i>  | LDPE, HDPE        |
| <i>Brevibacillus borstelensis</i>  | LDPE              |
| <i>Nocardia asteroides</i>   | LDPE, HDPE        |
| <i>Rhodococcus rhodochrous</i>   | LDPE, HDPE        |
| <i>Bacillus halodenitrificans</i>  | LDPE              |
| <i>Bacillus sphaericus</i>   | LDPE, HDPE        |
| <i>Arthrobacter sp.</i>  | HDPE              |
| <i>Pseudomonas sp.</i>   | HDPE              |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i>  | LDPE              |
| <i>Rhodococcus rhodochrous</i>   | LDPE, HDPE, LLDPE |
| <i>Arthrobacter viscosus, Acinetobacter baumannii</i>  | LDPE              |
| <i>Bacillus amyloliquefaciens, B. cereus B. circulans, B. mycoides, B. pumilus, B. thuringiensis, M. luteous, M. lylae</i> |                   |
| <i>Pseudomonas fluorescens, Paenibacillus macerans, Rahnella aquatilis</i>   | LDPE              |
| <i>Staphylococcus cohnii</i>   | LDPE              |
| <i>Staphylococcus xylosus</i>  | LDPE              |
| <i>Microbacterium paraoxydans</i>  | LDPE              |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>  | LDPE              |
| <i>Rhodococcus ruber C208</i>  | LDPE              |
| <i>Pseudomonas sp. AKS2</i>  | LDPE              |
| <i>Klebsiella pneumonia</i>  | HDPE              |

#### 2.4.2.2. Učinci mikrobiološke aktivnosti na polietilen (PE)

Učinak mikrobne kolonizacije na površini polietilena proučavan je praćenjem promjena različitih karakteristika s obzirom na stupanj biorazgradnje polimera: funkcionalne skupine na površini, hidrofobnost/hidrofilnost, kristaliničnost, raspodjela molekulske mase, površinskamorfologija, mehanička svojstva i gubitak mase (Tablica 6).

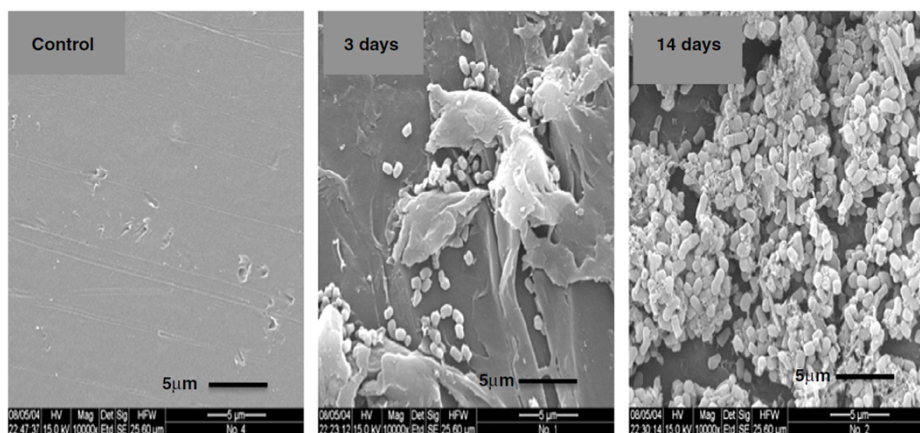


**Tablica 6. Tehnike korištene za karakterizaciju biorazgradnje PE**

| Korištene tehnike  | Promjene PE                         | Mjerene vrijednosti   |
|--------------------|-------------------------------------|---|
| FTIR               | Funkcionalne skupine na površini PE | Keto-karbonilni indeks (11715 /11565);<br>Ester-karbonilni indeks (11740 /11465);<br>Indeks vinilne veze (11640 /11465)<br>Indeks dvostruke veze (1908/11465);<br>C-O istezanje (I1100) |
| Kontaktni kut      | Hidrofobnost/Hidrofilnost           | Kontaktni kut s vodom, površinska energija  |
| FTIR/DSC/XRD       | Kristaličnost                       | Kristaličnost, Temperatura Taljenja, Relativna kristaličnost, Lamelarna debljina  |
| HT-SEC/GPCS        | Raspodjela molekulske mase          | Promjena u molekulskoj masi   |
| SEM/AFM            | Površinska morfologija              | Raspodjela molekulske mase  |
| Mehanička kidalica | Mehanička svojstva                  | Čvrstoća, Istezanje, Modul elastičnosti   |
| TGA                | Razgradnja polimera                 | Gubitak mase  |

FTIR spektroskopija koristila se za proučavanje stvaranja različitih funkcionalnih skupina na površini PE nakon abiotičke i biotičke oksidacije termo-UV tretmanom i mikrobnom razgradnjom. Na primjer, izlaganje PE UV zračenju i dušičnoj kiselini dovelo je do povećanja apsorpcijske vrpce na 1710–1715  $\text{cm}^{-1}$  (što odgovara karbonilnoj skupini) te vrpci na 1640  $\text{cm}^{-1}$  i 830–880  $\text{cm}^{-1}$  (što

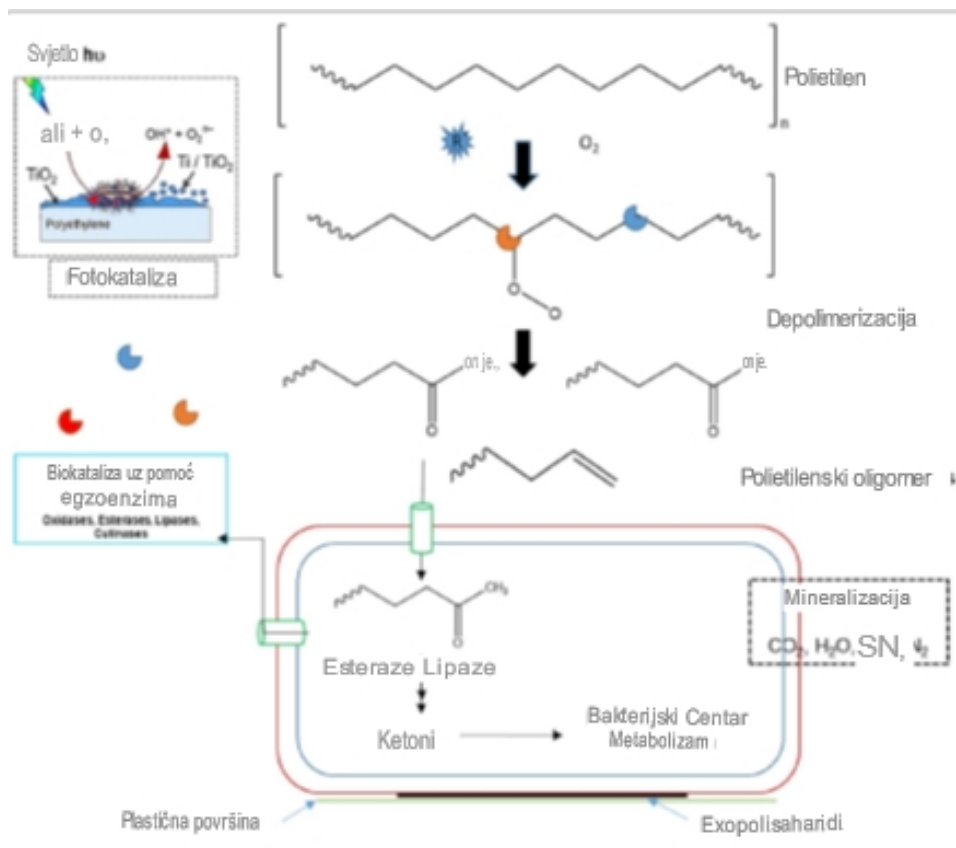
odgovara  $-C=C-$ ), intenzitet navedenih apsorpcijskih vrpca smanjio se nakon inkubacije u mikroorganizmima [27]. Slično tome, Harshvardhan i Jha [28] istraživali su biorazgradnju PE primjenom FTIR-a te su dobili povećanje indeksa karbonilne veze, keto karbonilne veze i vinilne veze, izračunate iz FTIR spektra što je ukazalo na biorazgradnju. Ove funkcionalne skupine na površini PE važne su jer oksidirane skupine uzrokuju povećanje hidrofilnosti što rezultira učinkovitim vezanjem mikroorganizama na površinu PE čime se potiče biorazgradnja. Hidrofilnost se obično određuje mjerenjem kontaktnog kuta površine vodom. Mali kontaktni kut s vodom ukazuje na visoku hidrofilnost površine PE [29]. Kristaličnost je još jedan važan parametar za predviđanje stupnja biorazgradnje polimera, određuje se uz pomoć diferencijalne pretražne kalorimetrije (DSC) i FTIR analize. Općenito, je amorfna faza podložna razgradnji mikroorganizmima, što rezultira početnim povećanjem kristalnosti. Nakon početka razgradnje amorfne faze mikroorganizmi će početi razgrađivati kristalnu fazu i povećati udio većih kristala. Kromatografskom analizom i isključivanjem čestica po veličini dobiva se uvid o veličini i raspodjeli molekulske mase polietilena (PE) nakon biorazgradnje. Povećanje prosječne molekulske mase uočava se nakon početne razgradnje lanaca male molekulske mase. SEM i AFM analize obično se koriste za istraživanje površinske morfologije polietilenskih filmova tijekom biorazgradnje. Promjene u strukturi koje se dešavaju na površini PE filma u obliku rupa i erozija uočene SEM-om ukazuju na površinsku biorazgradnju PE (slika 13)[30].



**Slika 13.** Površinska biorazgradnja PE uočena SEM-om

Promjena kristalnosti i srednje molekulske mase kao posljedica oksidacije donose promjene kod kemijskih i mehaničkih svojstva PE. Za proučavanje promjena mehaničkih svojstava polimera koristi se univerzalna mehanička kidalica. Biorazgradnja plastike složen je proces koji uključuje

razne abiotičke i biotičke čimbenike. Simultano djelovanje abiotičkih čimbenika i mikroorganizama uzrokuje pucanje polimera te se na taj način povećava površina za biorazgradnju. Neki izvanstanični enzimi provode daljnje pucanje polimera, slika 14 [30].



**Slika 14.** Shematski prikaz razgradnje PE

Nakon početnog pucanja lanca polimera nastaju oligomeri s 10–50 atoma ugljika koji se mogu prenijeti u stanicu radi daljnjeg metabolizma. Biorazgradnja PE usporava se ako nema hidroliziranih funkcionalnih skupina u lancu. Karbonilne i hidroksilne skupine nastale raznim predobradama kao što su UV zračenje ili dodavanje sredstava za oksidaciju, mogu dodatno potaknuti biorazgradnju, zbog toga je većina ispitivanja biorazgradnje PE provedena primjenom peroksida.

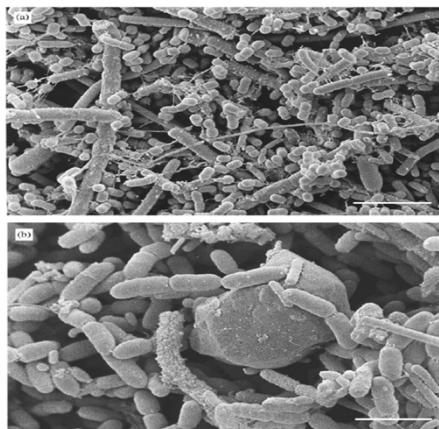
## 2.5. Mikrobiološka razgradnja komercijalnih polimera

### 2.5.1. Razgradnja Polipropilena

Polipropilen, PP, je linearni polimer koji ima široku primjenu u svakidašnjem životu zbog svoje strukture koju karakteriziraju dobra fizikalna, kemijska, mehanička, toplinska i električna svojstva. Razgradnjom PP dolazi do smanjenja njegove prekidne čvrstoće i molekulske mase. Mehanizam razgradnje može uključivati stvaranje hidroperoksida koji destabiliziraju polimerni ugljikov lanac kako bi se formirala karbonilna skupina [31]. Mehanizam razgradnje čistog PP velike molekulske mase još uvijek nije u potpunosti istražen.

### 2.5.2. Razgradnja Polihidroksibutirata (PHB)

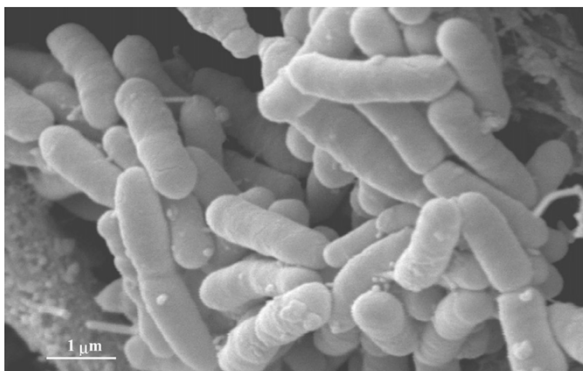
Polihidroksi butirat (PHB) spada u termoplaste s temperaturom taljenja od otprilike 180 °C. Bakterije *Pseudomonas lemoignei*, *A. faecalis*, *Acidovorax facilis*, *Variovorax paradoxus*, *Pseudomonas syringae subsp. savastanoi*, *Comamonas testosteroni*, *Cytophaga johnsonae*, *Bacillus megaterium*, *B. polymyxa*, i *Streptomyces spp*, imaju mogućnost razgradnje PHB-a. Enzimatska razgradnja odvija se na površini PHB filma nakon kolonizacije mikroorganizama (slika 15), a omjer površinske erozije ovisi o molekulskoj masi (stupnju polimerizacije), strukturi polimera, kristalčnosti i vrsti bakterija.



**Slika 15.** SEM mikrofotografija (a) aerobnih bakterija iz tla koje rastu na površini Polihidroksibutirata (PHB) (skala, 10 µm) i (b) bakterije koje okružuju PHB granulu nakon inkubacije u mezofilnim uvjetima (35°C) (skala, 5 µm).

### 2.5.3. Razgradnja Celuloznog acetata (CA)

Celulozni acetati spadaju u prirodne polimere s kemijskim modifikacijama koje poboljšavaju njihovu preradu i mehanička svojstva za razne primjene [32]. Razgradnja celuloznog acetata brže se odvija u prisutnosti nego u odsutnosti kisika, a sam mehanizam razgradnje nazivamo deacetilacija, tijekom koje se otpušta acetilna skupina, nakon čega slijedi pucanje C-C veza i nastajanje manjih molekula, s manjom molekulskom masom. Pri ovakvoj razgradnji acetilna skupina ima veliki utjecaj na razgradnju polimera. Također je pokazano kako se smanjenje molekulske mase pucanjem C-C veza u polimernom lancu i deacetilacija u CA dešavaju istovremeno tijekom razgradnje. Strukturne supstitucijske skupine i njihov broj po ponavljajućoj jedinici također značajno utječu na kinetiku razgradnje. Na primjeru CA s manjim stupnjem supstitucije vidljivo je da je razgradnja puno brža nego kod one sa višim stupnjem supstitucije u uvjetima prisutnosti i odsutnosti kisika, slika 16 [33].

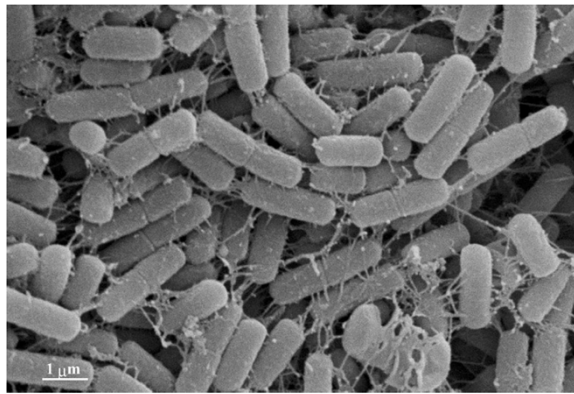


**Slika 16.** SEM mikrofotografija koja pokazuje bakterije koje rastu na površini celuloznog acetata.

Tijekom procesa razgradnje CA opadaju molekulska masa i stupanj supstitucije što ukazuje na to da se deacetilacija i dekompozicija polimernog lanca odvijaju istovremeno. Mikroorganizmi koji mogu sudjelovati u razgradnji CA su najčešće selektivne bakterije, gljivice i gram pozitivne bakterije iz porodice Actinobacteria.

### 2.5.3. Razgradnja Polietera

Polietere smatramo jednim od najčešće korištenih sintetskih polimera sa širokom primjenom i uporabom. U polietere spadaju polietilen glikol (PEG), polipropilen glikol (PPG) i politetrametilen glikol (PTMG). Koriste se u farmaceutskoj industriji, kozmetici, kao maziva i kao surfaktanti. Razgradnja ovih polimera ispitivana je u prisutnosti [34] i odsutnosti kisika [35]. Njihova razgradnja vrlo je ovisna o molekulskoj masi. Molekule s molekulskom masom većom od 1000 smatraju se otpornima na biorazgradnju. Sposobnost mikroflore za razgradnju molekule polietilen glikola (PEG) visoke molekulske mase ovisi prvenstveno o sposobnosti sintrofičnih (razmjena hranjivih tvari=sintrofija) bakterija za izmjenu tvari (metabolizam), slika 17.



**Slika 17.** SEM mikrofotografija koja pokazuje čistu kulturu bakterija sposobnih za korištenje polietilen glikola kao izvora ugljika i energije.

Na primjer, bakterijska kultura *Flavobacterium sp.* i *Pseudomonas sp.* može mineralizirati (PEG) u potpunosti. Tijekom razgradnje, molekule PEG-a se smanjuju za jednu glikolnu jedinicu nakon svakog ciklusa oksidacije. Mehanizam razgradnje PEG-a temelji se na pucanju alifatske veze. Bakterijska kultura *Flavobacterium* i *Pseudomonas*, razgrađuje PEG procesom dehidrogeniranja do stvaranja aldehida i daljnjim dehidrogeniranjem nastaje karboksilna kiselina [35]. Važno je napomenuti da bilo koja od dvije navedene bakterije u čistoj kulturi ne može sama razgraditi PEG. U sustavu *Flavobacterium sp.* i *Pseudomonas sp.* u potpunu razgradnju PEG-a uključena su tri enzima: PEG dehidrogenaza (enzim koji pripada grupi oksidoreduktaza), PEG-aldehid dehidrogenaza i PEG-karboksil dehidrogenaza (pucanje eterske veze) te su svi potrebni za

razgradnju. Sva tri enzima se nalaze u *Flavobacterium sp.*, dok je samo PEG-karboksilat dehidrogenaza prisutan u *Pseudomonas sp.* Pucanje ugljikovih veza u eterskom lancu je iznimno osjetljivo na prisutnost glikoksilne kiseline. Iako bakterija nije *Pseudomonas sp.* nije izravno uključena u razgradnju koristi se kao toksični metabolit koji inhibira aktivnost *Flavobacterium sp.* na ovaj način postiže se sintrofija potrebna za potpunu razgradnju PEG-a. U anaerobnom uvjetima, EG i, PEG mogu se razgraditi samo s jednom bakterijom (*Pelobacter venetianus*).

## 2.6. Biorazgradnja bakterijama

Bakterije su jednostanični mikroorganizam koji imaju važnu ulogu kod razgradnje organske tvari. Bakterije mogu poboljšati kvalitetu organskih tvari, pretvarajući gradivne elemente npr. Celulozu u organske dušikove spojeve (npr. amonijak, nitrata i proteine) i vitamine. Tijekom razgradnje, bakterije igraju važnu ulogu u biogeokemijskim procesima transformacije anorganskih u organske oblike ili recikliranjem u postupku prerade zbog energetske učinkovitosti. U tom smislu bakterije su važna veza između biogeokemijskih ciklusa i okoliša, sudjeluju u recikliranju hranjivih tvari, a posebno one bogate organskom tvari, koje prolaze kroz ekosustave [36].

### 2.6.1. Bakterije

#### 2.6.1.1. *Bacillus cereus*

Vrsta bakterija *Bacillus cereus* je gram-pozitivna, aerobna ili fakultativna, sporulirajuća, štapićasta bakterija koja je široko rasprostranjena u prirodnom okruženju (slika 18).



*Slika 18. Bacillus cereus*

Bakterija *Bacillus cereus* se može naći u različitim vrstama tla i sedimenta, kao i u prašini i biljkama. Ove bakterije u okolišu se može naći u riječnim i morskim vodama, crijevima beskrležnjaka, ostacima organske razgradnje, iz kojih tlo i hrana mogu postati kontaminirane,

što dovodi do njihove kolonizacije u ljudskom crijevnom traktu, čiji je *B. cereus* uzročnik. Bakterije koje spadaju u *B. Cereus* skupinu, isključujući *B. Antracisa*, imaju različite morfološke oblike ovisno o mediju u kojem rastu. *B. Cereus* su veličine (od 1.0-1,2  $\mu\text{m}$  do 3,0-5,0  $\mu\text{m}$ ), te su gram-pozitivne štapičaste bakterije koje rastu na agarnim podlogama. Mikroskopski promatrane bakterije pronađene u tjelesnim tekućinama (kao što je aspirat iz prednje komore oka), *B. cereus* vidljive su kao ravni ili blago zakrivljeni vitki štapići, s kvadratnim krajevima, uređeni pojedinačno ili u kratkim lancima [37]. *B. cereus* poznata je po proizvodnji biofilmova koji pružaju izvor kontaminacije hrane tijekom proizvodnje i prerade. Biofilmovi su mikrobne zajednice nastale na površini, služe za preživljavanja *B. cereus-a* kod nepovoljnih uvjeta u okolišu. Matrica biofilma *B. Cereus* sadrži proteine, ugljikohidrate i DNK, štiteći ih od nepovoljnih uvjeta.

Spore *B. cereus* vrlo lako kontaminiraju hranu i ako imaju povoljne uvjete, vrlo brzo se namnože u velikome broju i mogu izazvati bolest. Spore se mogu aktivirati na temperaturi od 100°C za četiri minute, a aktivni (vegetativni) oblici bakterija za minutu na temperaturi od 60°C. *Bacillus cereus* značajan je uzročnik trovanja hranom u mnogim zemljama. Postoje dva oblika trovanja hranom uzrokovana bakterijom *Bacillus cereus* - intoksikacije i toksikoinfekcije. Intoksikacija je unošenje već stvorenoga toksina (otrova) bakterije, a toksikoinfekcija je ulazak mikroorganizama u organizam, razmnožavanje u njemu i proizvodnja otrova. Za ova trovanja su odgovorne dvije vrste otrova. Jedan otrov uzrokuje proljev, a drugi otrov uzrokuje mučninu i povraćanje.

#### 2.6.1.2. *Pseudomonas aeruginosa*



**Slika 19.** *Pseudomonas aeruginosa*

*Pseudomonas aeruginosa*, je gram-negativna bakterija, pripada *Pseudomonas* grupi čiji se zajednički patogen prenosi hranom (slika 19 ).



*P. aeruginosa* se uglavnom nalazi u mesnim proizvodima i pitkoj vodi. *P. aeruginosa* može proizvesti egzotoksin i enterotoksin koji može lako uzrokovati daljnje onečišćenje u hrani, te na taj način dalje ugroziti zdravlje ljudi [38]. *P. aeruginosa* raste pri temperaturi od 25 °C do 37 °C, a mogućnost rasta i na 42 °C razlikuje je od mnogih drugih *Pseudomonas* vrsta. *P. aeruginosa* je sveprisutni mikroorganizam koji ima sposobnost opstanka pri raznolikim uvjetima. Uzrokuje bolesti kod biljaka i životinja, kao i kod ljudi, uzrokujući ozbiljne infekcije u imunokompromitiranih bolesnika s rakom i bolesnika koji pate od teških opekлина i cistične fibroze (CF) [38]. Bakterijski sojevi kreću se pomoću jednog polarnog biča (flagela). Tipični Pseudomoni u prirodi mogu postojati u obliku biofilma, pričvršćeni na neku površinu ili podlogu, ili u planktonskom obliku, kao jednostanični organizam, aktivno plivajući koristeći svoj bič. *Pseudomonas* je brzoplivajuća bakterija te možda nije tipična bakterija iz roda *Pseudomonas* u prirodnim okruženjima. *P. aeruginosa* treba jednostavnu opskrbu hranom, a čak može rasti u destiliranoj vodi, a također može dobro rasti u mediju koji sadrži acetat (izvor ugljika) i amonijev sulfat (izvor dušika). *P. aeruginosa* je otporna na visoke koncentracije soli i boje, slabe antiseptike, i mnoge često korištene antibiotike. *P. aeruginosa* može pokazati tri vrste kolonija. Prirodni uzorci iz tla ili vode obično su u obliku male, grube kolonije, dok su klinički uzorci najčešće glatki tipovi kolonija, s ravnim rubovima i povišenim izgledom [39].

### 3.EKSPERIMENTALNI DIO

#### 3.1.Materijali

Pripremljeni su biokompoziti na osnovi linearnog polietilena niske gustoće, LLDPE-EFDA 7047, proizvođača Equate Petrochemical Company, Kuwait, MFR=1,0 g/10 min, gustoće 0,918 g/cm<sup>3</sup> i rižine ljuskice porijeklo/mjesto: Kočani/ Makedonija, tip riže: SANT ANDREA, Italija. Korišteni su standardni sojevi patogenih mikroorganizama koji su sastavni dio zbirke mikroorganizama Laboratorija za opću mikrobiologiju i mikrobiologiju namirnica Prehrambeno – biotehnološkog fakulteta, Sveučilište u Zagrebu, bakterije *Bacillus cereus* ATCC 14579 i *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

#### 3.2. Hranjive podloge

Korištene su četiri hranjive podloge za održavanje, čuvanje i uzgoj test-mikroorganizama:

- a) HA (hranjivi agar), sastava (g/L destilirane vode): pepton 15; mesni ekstrakt 3; NaCl 5; K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 0.3; agar 18; pH vrijednost podloge je 7.3; sterilizacija je provedena u autoklavu pri 121 °C kroz 15 min.
- b) HB (hranjivi bujon) je istog sastava kao i hranjivi agar, samo bez dodanog agara.
- c) Čapek agar (bez izvora ugljika), sastava (g/L destilirane vode): K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1; FeSO<sub>4</sub>×7H<sub>2</sub>O 0.01; MgSO<sub>4</sub>×7H<sub>2</sub>O 0.5; KCl 0.5; NaNO<sub>3</sub> 3; agar 15. pH vrijednost podloge je 7.3; sterilizacija je provedena u autoklavu pri 121 °C kroz 15min.
- d) Čapek bujon je istog sastava kao i Čapek agar, samo bez dodanog agara.

#### 3.3. Priprema biokompozita

Čisti LLDPE i biokompoziti LLDPE/RLJ s masenim udjelom RLJ od 10 i 50 % pripremljeni su umješavanjem u Brabender gnjetilici (slika 20 ) na temperaturi od 155 °C u trajanju od 5 minuta i pri brzini od 60 okretaja u minuti. Rižine ljuskica su usitnjene mikserom IKA-

WERKE M20 i sušene 24h u sušioniku na 90 °C kako bi se uklonila eventualno prisutna vlaga. Čisti LLDPE i LLDPE/RLJ biokompoziti pripremljeni su prešanjem na hidrauličkoj preši Fontune, Holland (SRB 140, EC 320x320NB) (slika 21 ) 5 minuta na temperaturi od 160 °C. Za mikrobiološko ispitivanje uzorci čistog LLDPE-a i LLDPE/RLJ biokompozita režu se na manje pločice mase 1 g, a od svakog uzorka izrezano je 10 pločica.



*Slika 20.* Brabender gnjetilica



*Slika 21.* Hidraulička preša Fontune, Holland

### **3.4. Sterilizacija i inokulacija uzoraka**

Prije dodavanja u odgovarajuću hranjivu podlogu uzorci čistog LLDPE-a i LLDPE/RLJ biokompozita sterilizirani su u 70% etanolu tijekom 2 sata nakon čega je provedeno ispiranje sa sterilnom vodom (45 min) i sušenje u sušioniku na 60°C tijekom noći. Pločice od 1 g tako

pripremljenih uzorka dodane su u sterilne Erlenmeyer-ove tikvice s hranjivom podlogom (100 mL) s ili bez Tween 80 (0.01-0.5% v/v). Bacterije su inokulirane u hranjivi bujon u količini  $10^6$ - $10^8$  CFU/mL. Kao kontrolni uzorci korišteni su uzorci bez dodanih mikroorganizama. Uzorci su inkubirani na 30°C, uz konstantno miješanje na tresilici (150 rpm) tijekom 30 dana.

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

### 4.1. Određivanje mase uzoraka

Nakon završene inkubacije, uzorci su isprani s 2% natrijevim dodecil sulfatom (SDS) tijekom 4 sata kako bi se uklonio mikrobni film s površine uzoraka. Nakon ispiranja sa sterilnom vodom (45 min) i sušenja u sušioniku (60 °C) preko noći slijedi vaganje, a rezultati su uspoređeni s masom na početku eksperimenta (1g uzorka). Za kontrolu je korištena hranjiva podloga na koju je dodan 1 g uzorka (slika 22 ).



**Slika 22** . Uzorci u hranjivim podlogama pripremljeni za proces biorazgradnje

Početna masa svakog uzorka prije izlaganju mikroorganizmima iznosila je 1,0000 g. U tablici 7 prikazani su rezultati mjerenja mase uzorka nakon inkubacije od 30 dana.

**Tablica 7.** Rezultati mikrobiološkog ispitivanja

|                               |   | <b>Uzorak</b>                   |                           |                           |
|-------------------------------|---|---------------------------------|---------------------------|---------------------------|
|                               |   | LLDPE<br>100/0<br>/ g           | LLDPE/RLJ<br>90/10<br>/ g | LLDPE/RLJ<br>50/50<br>/ g |
| <b>Početna masa uzorka /g</b> |   | 1,0000                          | 1,0000                    | 1,0000                    |
| <b>Podloga</b>                | <b>Soj mikroorganizama</b>                    | <b>Promjena mase uzorka / g</b> |                           |                           |
|                               | <b>Kontrola<br/>(bez<br/>mikroorganizama)</b> | 1,0351                          | 1,0185                    | 1,0107                    |
|                               | <i>Bacillus cereus</i>                        | 1,0973                          | 1,0026                    | 0,9690                    |
| <b>Hranjivi bujon</b>         | <i>Bacillus cereus</i> +<br>TWEEN             | 1,0540                          | 1,0089                    | 1,0021                    |
|                               | <i>Pseudomonas<br/>aeruginosa</i>             | 1,0781                          | 1,0042                    | 0,9875                    |
|                               | <i>Pseudomonas<br/>aeruginosa</i> + TWEEN     | 1,0121                          | 1,0119                    | 0,9900                    |

Prema rezultatima prikazanim u tablici 7 vidljivo je da nakon 30 dana inkubacije dolazi do malog povećanja mase kod svih uzoraka čistog LLDPE-a osim kod uzorka u bakteriji *Pseudomonas aeruginosa* + TWEEN. Ovaj rezultat nije bio očekivan, međutim može se dovesti u vezu s mogućim zaostatkom hranjive podloge na površini uzoraka uslijed nedovoljnog ispiranja uzoraka. Međutim kod čistog LLDPE-a i nije za očekivati biorazgradnju u ovako kratkom vremenu djelovanja mikroorganizama. Kod biokompozita LLDPE/RLJ s 10 mas %. RLJ dolazi do smanjenja mase kod svih uzoraka i obje bakterije što ukazuje na početak biorazgradnje. Biokompozit LLDPE/RLJ 90/10 najviše su razgradile bakterije *Bacillus cereus* (tablica 7). Kod biokompozita LLDPE/RLJ s masenim udjelom RLJ od 50% došlo je do smanjenja mase kod bakterija *Bacillus cereus* i *Pseudomonas aeruginosa*, smanjenje je veće nego kod biokompozita LLDPE/RLJ 90/10.

Usporedbom vrijednosti promjene mase čistog LLDPE i LLDPE/RLJ biokompozita s udjelom od 50 mas.% RLJ može se vidjeti da je promjena mase veća kod svih biokompozita, što ukazuje na početak biorazgradnje dodatkom RLJ koje služe kao hrana za mikroorganizme.

## 5. ZAKLJUČAK

Provedena mikrobiološka ispitivanja pokazala su da čisti LLDPE nakon 30 dana inkubacije u bakterijama ne pokazuju znakove biorazgradljivosti. Biokompozit LLDPE/RLJ 90/10 razgradile su bakterija *Bacillus cereus* i *Pseudomonas aeruginosa*. Biokompozit LLDPE/RLJ 50/50 pokazuje biorazgradljivost u sojevima *Bacillus cereus* na hranjivom bujonu, *Pseudomonas aeruginosa* na hranjivom bujonu i hranjivom agaru

Iz provedenih ispitivanja može se zaključiti da nakon 30 dana inkubacije biokompozit LLDPE/RLJ s 50% rižinih ljuskica najviše pokazuje znakove biorazgradnje. S obzirom da taj kompozit ima najveći udio RLJ, odnosno celuloze koju mikroorganizmi razgrađuju.



## 6. LITERATURA

1. Ojeda, T.O., Polymers and the Environment, u: Yilmaz, F.Y, Polymer Science, 2013.
2. Ngo, T-D.N., Introduction to Composite Materials, u: Ngo, T-D.N. Fiber Composites, 2020.
3. W.P.S.L. Wijesinghe, M.M.M.G.P.G. Mantilakaa, K.A.A. Ruparathna, R.B.S.D. Rajapakshe, S.A.L. Sameera, M.G.G.S.N. Thilakarathna, Filler matrix interfaces of inorganic/biopolymer composites and their applications, u: Interfaces in Particle and Fibre Reinforced Composites Current Perspectives on Polymer, Ceramic, Metal and Extracellular Matrices, Goh, K.L.G, Aswathi M.K., Thomas, S.T; Woodhead Publishing, Sri Lanka 2020.
4. Pandey, J.K.P., Nagarajan, V.N., Mohanty, A.K.M., Misra, M.M., Commercial potential and competitiveness of natural fiber composites, u Misra, M.M., Pandey, J.K.P., Mohanty, A.K.M., Biocomposites: Design and mechanical performance, Dehradun, Ontario, 2015. str. 1.-15.
5. Gu, J.-D., Thorp, K., Crasto, A., Mitchell, R., 1996. Microbiological degradation of fiber-reinforced polymeric composites. In: The Electrochemical Society Spring Meeting, May 5–10, Los Angeles. The Electrochemical Society, Pennington, NJ, str. 143–144.
6. Gu, J.-D., Lu, C., Thorp, K., Crasto, A., Mitchell, R., 1997. Fungal degradation of fiber-reinforced composite materials. Materials Performance 36, str. 37–42.
7. Fan, Y., Cheng, S.P., Gu, J.-D., 2001. Degradation of phthalic acid and dimethyl phthalate ester by an aerobic enrichment of microorganisms. In: Sun, D.D., Wilson, F. (Eds.), IWA Asia Environmental Technology 2001. Nanyang University of Technology, Singapore, str. 547–554.
8. Karlsson, S., Ljungquist, O., Albertsson, A.-C., 1988. Biodegradation of polyethylene and the influence of surfactants. Polymer Degradability and Stability 21, 237–250.
9. Albertsson, A.-C., Barenstedt, C., Karlsson, S., 1994. Abiotic degradation products from enhanced environmentally degradable polyethylene. Acta Polymers 45, 97–103
10. Gavens, P.D.G., Bottrill, M.B., Kellanda, J.W.K., McMeeking, J.M., Ziegler-Natta Catalysis, u Comprehensive Organometallic Chemistry, 1982., str. 476-545
11. Patel, R.M.P., Polyethylene, u Wagner, Jr., J.R.W.Jr., Multilayer Flexible Packaging, drugo izdanje, 2016., str 17-34

12. Bassyouni, M., Waheed Ul Hasan, S., The use of rice straw and husk fibers as reinforcements in composites, u Faruk, O.F., Sain, M.S. *Biofiber Reinforcements in Composite Materials*, 2015., str. 385-422.
13. Hamad, K., Kaseem, M., & Deri, F. (2013). Recycling of waste from polymer materials: An overview of the recent works. *Polymer Degradation and Stability*, 98(12), str. 2801–2812..
14. Zare, Y. (2013). Recent progress on preparation and properties of nanocomposites from recycled polymers : A review. *Waste Management*, 33(3), str. 598–604.
15. La Rosa, A. D., & Cicala, G. (2015). LCA of fibre-reinforced composites. *Handbook of Life Cycle Assessment (LCA) of Textiles and Clothing*, str. 30116. Gu, J.-D., Ford, T.E., Mitton, D.B., Mitchell, R., 2000. Microbial degradation and deterioration of polymeric materials. In: Revie, W. (Ed.), *The Uhlig Corrosion Handbook*, 2nd Edition. Wiley, New York, str. 439–460.
17. Gujer, W., Zehnder, A.J.B., 1983. Conversion processes in anaerobic digestion. *Water Science and Technology* 15, str. 127–167.
18. Lemaire, J., Dabin, P., Arnaud, R., 1992. Mechanisms of abiotic degradation of synthetic polymers. In: Vert, M., Feijen, J., Albertsson, A., Scott, G., Chiellini, E. (Eds.), *Biodegradable Polymers and Plastics*. Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, str. 30–39.
19. Brune, A., Frenzel, P., Cypionka, H., 2000. Life at the oxic–anoxic interface: microbial activities and adaptations. *FEMS Microbiological Reviews* 24, str. 691–710.
20. Narayan, R., 1993. Biodegradation of polymeric materials (anthropogenic macromolecules) during composting. In: Hoitink, H.A.J., Keener, H.M. (Eds.), *Science and Engineering of Composting: Design, Environmental, Microbiological and Utilization Aspects*. Renaissance Publishers, Washington, OH, str. 339–362.
21. Barlaz, M.A., Schaefer, D.M., Ham, R.K., 1989b. Bacterial population development and chemical characterization of refuse decomposition in a simulated sanitary landfill. *Applied and Environmental Microbiology* 55, str. 55–65.
22. Doi, Y., 1990. *Microbial Polyesters*. VCH Publishers, New York.

23. Linton, J.D., Ash, S.G., Huybrechts, L., 1991. Microbial polysaccharides. In: Byrom, D. (Ed.), *Biomaterials: Novel Materials from Biological Sources*. Macmillan Publishers, Great Britain, str. 215–261.
24. Kaplan, D.L., Lombardi, S.J., Muller, W.S., Fossey, S.A., 1991. Silk. In: Byrom, D. (Ed.), *Biomaterials: Novel Materials from Biological Sources*. Macmillan Publishers, Great Britain, str. 1–53.
25. Tribedi P, Sil A.K., 2013 Low-density polyethylene degradation by *Pseudomonas* sp. AKS2 biofilm. *Environ Sci Pollut Res Int* 20, str. 4146–4153.
26. Hadad D., Geresh S., Sivan A. 2005. Biodegradation of polyethylene by the thermophilic bacterium *Brevibacillus borstelensis*. *J Appl Microbiol* 98, str. 1093–1100.
27. Hasan F., Shah A.A., Hameed A., Ahmed S., 2007. Synergistic effect of photo and chemical treatment on the rate of biodegradation of low density polyethylene by *Fusarium* sp. AF4. *J Appl Polym Sci* 105, str. 1466–1470.
28. Harshvardhan K., Jha B., 2013. Biodegradation of low-density polyethylene by marine bacteria from pelagic waters, Arabian Sea, India. *Mar Pollut Bull* 77, str. 100–106.
29. Sudhakar M., Doble M., Murthy P.S., Venkatesan R., 2008. Marine microbemediated biodegradation of low- and high-density polyethylenes. *Int Biodeterior Biodegradation* 61, str. 203–213.
30. Sivan A. (2011) New perspectives in plastic biodegradation. *Curr Opin Biotech* 22, str. 422–426.
31. Cacciari, I., Quatrini, P., Zirletta, G., Mincione, E., Vinciguerra, V., Lupattelli, P., Sermanni, G.G., 1993. Isotactic polypropylene biodegradation by a microbial community: physicochemical characterization of metabolites produced. *Applied Environmental Microbiology* 59, str. 3695–3700.
32. Bogan, R.T., Brewer, R.T., 1985. Cellulose esters, organic. In: *Encyclopedia of Polymer Science and Engineering*, 2nd Edition. Wiley, New York, str. 158–181.
33. Gu, J.-D., Eberiel, D.T., McCarthy, S.P., Gross, R.A., 1993. Cellulose acetate biodegradability upon exposure to simulated aerobic composting and anaerobic bioreactor environments. *Journal of Environmental Polymer Degradation* 1, str. 143–153.
34. Kawai, F., 2002. Microbial degradation of polyethers. *Applied Microbiology and Biotechnology* 58, str. 30–38.

35. Frings, J., Schramm, E., Schink, B., 1992. Enzymes involved in anaerobic polyethylene glycol degradation by *Pelobacter venetianus* and *Bacteroides* Strain PG1. *Applied and Environmental Microbiology* 58, 2164–2167.
35. Kawai, F., 1987. The biochemistry of degradation of polyethers. *CRC Critical Reviews in Biotechnology* 6, 273–307.
36. Hamad, K., Kaseem, M., & Deri, F. (2013). Recycling of waste from polymer materials: An overview of the recent works. *Polymer Degradation and Stability*, 98(12), 2801–2812.str.
37. Marrollo, R. 2016. Microbiology of *Bacillus cereus*. In *The Diverse Faces of Bacillus cereus*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-801474-5.00001-3>
38. Liu, X., Cai, J., Chen, H., Zhong, Q., Hou, Y., Chen, W., & Chen, W., 2020. Antibacterial activity and mechanism of linalool against *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbial Pathogenesis*, 141, 103980. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.103980>
39. Liu, X., Cai, J., Chen, H., Zhong, Q., Hou, Y., Chen, W., & Chen, W. 2020. Antibacterial activity and mechanism of linalool against *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbial Pathogenesis*, 141, 103980. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.103980>

## 7.ŽIVOTOPIS

### Osobni podaci:

Ime i prezime: Ana-Maria Božičković

Datum i mjesto rođenja: 30.10.1995., Rijeka

Adresa: Drenje 25, 52220 LABIN

### Obrazovanje:

- 2016. upisala preddiplomski studij ekoinženjerstva, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb
- 2010. - 2014. Opća gimnazija, Srednja Škola Mate Blažine