

Biorazgradnja mikroplastike gljivama

Soldo, Petra

Undergraduate thesis / Završni rad

2022

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:149:813663>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-04**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Petra Soldo
ZAVRŠNI RAD

Zagreb, rujan 2022.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Petra Soldo

BIORAZGRADNJA MIKROPLASTIKE GLJIVAMA

ZAVRŠNI RAD

Mentor: doc. dr. sc. Dajana Kučić Grgić

Članovi ispitnog povjerenstva:

doc. dr. sc. Dajana Kučić Grgić

doc. dr. sc. Vesna Očelić Bulatović

dr. sc. Lidija Furač

Zagreb, rujan 2022.



Ovaj završni rad izrađen je u sklopu projekta „Primjena naprednih tehnologija obrade voda za uklanjanje mikroplastike“ (IP-2019-04-9661) Hrvatske zaklade za znanost na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu.

Zahvale

Zahvaljujem se svojoj mentorici doc. dr. sc. Dajani Kučić Grgić na predloženoj temi, uloženom vremenu, razumijevanju, stručnom vodstvu i pomoći tijekom izrade završnog rada.

Hvala mojim prijateljicama na podršci i vremenu koje smo provele zajedno.

Najveće hvala mojoj obitelji na bezuvjetnoj podršci, strpljenju i ohrabrenju tijekom cijelog školovanja.

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO.....	3
2.1. Plastika i vrsta plastike.....	3
2.1.1. Polietilen	4
2.1.2. Vinilni polimeri.....	5
2.2. Mikroplastika	8
2.2.1. Primarna mikroplastika	9
2.2.2. Sekundarna mikroplastika.....	10
2.2.3. Karakteristike mikroplastike	10
2.3. Mikroplastika u okolišu	12
2.3.1. Mikroplastika u tlu	13
2.3.2. Mikroplastika u oceanu.....	14
2.3.3. Mikroplastika u slatkim vodama.....	14
2.4. Razgradnja mikroplastike u okolišu.....	15
2.4.1. Fizikalno kemijski procesi	15
2.4.1.1. Napredni oksidacijski procesi	15
2.4.1.2. Adsorpcija	20
2.4.1.3. Membranska filtracija	21
2.4.2. Biološki procesi	23
3. PREGLEDNI DIO	26
3.1. Biorazgradnja mikroplastike gljivama	26
3.2. Gljive	27
3.2.1. <i>Aspergillus</i> sp.....	28
3.2.2. <i>Penicillium</i> sp.....	31
3.2.3. Gljive bijele truleži.....	31
3.2.4. <i>Fusarium</i> sp.	32
4. ZAKLJUČAK	34
5. LITERATURA	35

SAŽETAK

U današnje vrijeme sve više se koristi plastika u svakodnevnom životu, a odbačena plastika predstavlja prijetnju okolišu. Degradacijom plastike u okolišu nastaju sitne čestice plastike, koje se nazivaju mikroplastika. Za razgradnju mikroplastike potrebno je nekoliko desetljeća. Proces recikliranja i spaljivanja ne predstavljaju održiva rješenja za zbrinjavanje plastičnog otpada, stoga je potreban razvoj novih tehnologija za upravljanje otpadom. U usporedbi s drugim procesima razgradnje, biorazgradnja se smatra učinkovitim procesom razgradnje mikroplastike. Proces biorazgradnje je ekološki prihvatljiv i ekonomski isplativ. Biorazgradnja sintetičkih polimera je vrlo spor proces koji uključuje djelovanje okolišnih čimbenika i mikrobnih vrsta. Pri biorazgradnji mikroplastike, mikroorganizmi poput gljiva imaju važnu ulogu, oni izlučuju enzime, kao što su peroksidaza i lakaza, koji dodatno pospješuju razgradnju. Poznato je nekoliko rodova gljiva, koje imaju sposobnost biorazgradnje mikroplastike, a to su: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, itd. Prema nekim istraživanjima razgradnja mikroplastike je učinkovitija kada su fotodegradacijski i termodegradacijski procesi uključeni istovremeno u proces biorazgradnje. U ovom radu dati će se pregledni dio o vrstama plastike, fizikalno-kemijskim i biološkim procesima biorazgradnje mikroplastike.

Ključne riječi: Mikroplastika, Biorazgradnja, Gljive, Enzimi

ABSTRACT

Nowadays, more and more plastic is used in everyday life, and discarded plastic poses a threat to the environment. When plastic decomposes in the environment, it produces small plastic particles called microplastics. It takes several decades for microplastics to break down. Recycling and incineration are not sustainable solutions for managing plastic waste, so the development of new waste management and remediation technologies is needed. Compared to other degradation processes, biodegradation is effective and best method for degrading plastics because it does not cause pollution and is cost effective. Biodegradation of synthetic plastics is a very slow process in which environmental factors and the action of microbial species also play a role. Fungi play an important role in the biodegradation of microplastics as they secrete degradative enzymes such as peroxidases and laccases that can cause effective degradation. Some known species that show effective degradation of microplastics are *Aspergillus*, *Pencillium*, *Fusarium*, etc. Some studies state that the degradation of plastics was more effective when photodegradation and oxidative mechanisms were simultaneously involved in biodegradation. This study will provide an overview of the types of plastics and the abiotic and biotic processes of microplastic biodegradation.

Keywords: Microplastics, Biodegradation, Fungi, Enzymes

1. UVOD

Plastični materijali su sintetski polimeri koji zbog svoje ekonomičnosti imaju vrlo široku primjenu u mnogim industrijama. Godišnje se proizvodi otprilike 300-350 milijuna tona plastike.[1] Samo mali udio proizvedene plastike se obnavlja, dok se veći udio izravno ispušta u okoliš kao otpadna plastika. Plastični proizvodi se djelovanjem fizikalnih, kemijskih ili bioloških procesa u okolišu mogu razgraditi na čestice promjera manjeg od 5 mm, koje se nazivaju mikroplastika.[1] Mikroplastika u okolišu se može razgraditi različitim postupcima poput fotorazgradnje, termooksidativne razgradnje i biološke razgradnje.[2]

U usporedbi s drugim procesima razgradnje, proces biorazgradnje je uglavnom poželjan zbog mehanizma koji dodatno ne onečišćuje okoliš. Kod biorazgradnje proces se pokreće djelovanjem mikroorganizama (bakterije i gljive), pri čemu dolazi do promjene u svojstvima površine i smanjenja mehaničke čvrstoće.[3] Biorazgradnja uključuje rast gljiva na površini plastike, gdje plastika služi kao hranjivi medij gljivama, a sam proces ovisi o okolišnim čimbenicima, poput temperature i pH vrijednosti.[3] Primjerice gljive *Fusarium* sp., *Penicillium* sp. i *Aspergillus* sp. mogu proizvesti enzime, kao što su lakaze, lipaze, peroksidaze.[4] Uz djelovanje navedenih ekstracelularnih enzima dolazi do enzimske depolimerizacije polimera na manje molekule: oligomere, dimere i monomere.[4] Mikrobni enzimi uključeni u ovaj proces stvaraju navedene međuprodukte s modificiranim svojstvima, koji povećavaju njihovu bioasimilaciju. Nakon što se stvore međuprodukti, stanice ih koriste kao izvor ugljika i razgrađuju do krajnjih produkata.[4]

Biorazgradnja plastike može se izvoditi u aerobnim ili anaerobnim uvjetima. Aerobna razgradnja rezultira ugljikovim dioksidom (CO_2) i vodom (H_2O), dok anaerobna razgradanja rezultira ugljikovim dioksidom (CO_2), vodom (H_2O), i metanom (CH_4) kao krajnjim produktima. Na uspješnost razgradnje utječu razni čimbenici, kao što su hidrofobnost površine, kemijska struktura, stupanj kristalnosti, temperatura taljenja i elastičnost.[4]

Sam proces biorazgradnje je spor, međutim u kombinaciji s fotorazgradnjom i termooksidativnom razgradnjom proces se ubrzava, a pospješuje se i biorazgradnja.[3] Izlaganjem mikropastike UV zračenju ili temperaturama višim od temperatura taljenja može se smanjiti hidrofobnost, te dovesti do stvaranja pukotina i molekularnih promjena plastike.[3]

Djelovanjem UV zračenja dolazi do stvaranja slobodnih radikala, koji uzorkuju pucanje lanaca oksidacijom polimerne molekule, što za posljedicu ima redukciju makromolekula polimera. Pri toplinskoj razgradnji polimer se izlaže na temperature više od temperatura tališta, te se povećava brojnost karbonilnih skupina, što za rezultat ima bolju razgradnju plastike.[3]

Cilj ovog rada bio je dati pregled vrsta plastike, njezine rasprostranjenosti u okolišu, te procesa biorazgradnje mikroplastike djelovanjem gljiva i enzima koje one izlučuju.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Plastika i vrsta plastike

Polimeri su organski materijali, koji nastaju sintezom monomera pri čemu nastaje makromolekula ili polimerni lanac, tj. procesom polimerizacije. Općenito se prema podrijetlu polimeri dijele na prirodne (biopolimere) i sintetske polimere.

Prirodni polimeri nastaju u prirodi, biosintezom u biljkama i živim organizmima.[5] Za takve materijale kaže se da potječu iz obnovljivih izvora. Prirodni polimeri su međusobno vrlo različiti i složeni spojevi. S obzirom na ponavljajuće jedinice u makromolekulu mogu se podijeliti u nekoliko skupina:

- Polisaharidi
- Proteini
- Prirodni kaučuk
- Prirodne smole

S obzirom na podrijetlo i način dobivanja polimerima iz obnovljivih izvora u širem smislu smatraju se još dvije skupine polimera:

- Poli(laktidna kiselina) (PLA)
- Poli(hidroksi alkanoat) (PHA)

Većina prirodnih polimera biološki je razgradiva tj. mogu se razgraditi djelovanjem mikroorganizama (bakterija, gljiva, algi) do ugljičnog dioksida i vode u aerobnim, odnosno ugljičnog dioksida i metana u anaerobnim uvjetima u prihvatljivom vremenskom periodu. [6]

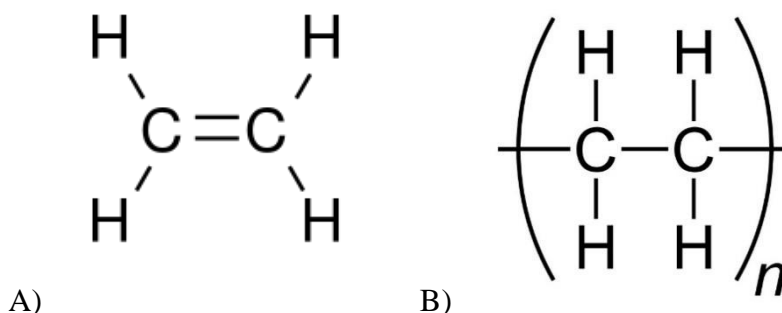
Sintetski polimeri opći je naziv za poliplaste koji uključuju plastomere, duromere i elastomere.[6]

Sintetski polimeri su materijali koje karakteriziraju:

- velike molekulske mase
- svaka molekula polimera ima različit stupanj polimerizacije (DP)
- polimerne molekule formiraju različitu strukturu: amorfna, kristalna i semikristalna [5]

2.1.1. Polietilen

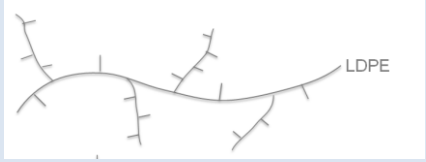



Polietilen, PE, je jedan od prvih sintetiziranih polimera. Izvorno ga je sintetizirao njemački kemičar Hans von Pechman 1898. kao slučajni produkt prilikom sinteze diazometana.[7] Polietilen je polimer koji se najviše upotrebljava u svakodnevnom životu. Iz polietilena se izrađuju filmovi i folije (vrećice), različita ambalaža, kanalizacijske cijevi, dječje igračke i drugi proizvodi.[6] Dobiva se procesom polimerizacije monomera-etilena. Etilen (C_2H_4) je plinoviti ugljikovodik i dobiva se rafinacijom nafte u petrokemijskoj industriji, te se strukturno može prikazati kao par metilnih skupina ($-CH_2-$) međusobno povezanih. Struktura etilena prikazana je na slici 1.(a). Molekula polietilena je dugački lanac ugljikovih atoma koji imaju na sebe vezana po 2 ugljikova atoma. Struktura polietilena je prikazana na slici 1.(b).[6]



Slika 1. Strukturna formula a) etilena [7], b) monomera polietilena [8]

Razvijene su brojne metode za polimerizaciju polietilena, a najčešće se koristi polimerizacija polietilena visoke čistoće s titanijevim (III) kloridom ($TiCl_3$), koju su razvili Ziegler i Natta. Ostale metode uključuju upotrebu polimerizacije s metalocentrima što omogućava sintezu polimera različitih gustoća.[7] U tablici 1. je prikazana podjela polietilena s obzirom na gustoću i izgled lanca.

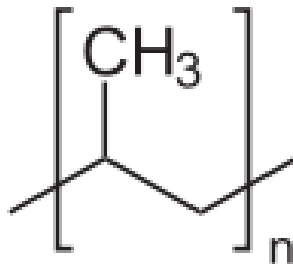
Tablica 1. Podjela polietilena s obzirom na gustoću i izgled lanca [9,5]

KATEGORIJA	GUSTOĆA	Tipični lanac
Polietilen niske gustoće (LDPE)	0,915-0,945 g/cm ³	
Polietilen visoke gustoće (HDPE)	0,96-0,98 g/cm ³	
Linerarni polietilen niske gustoće (LLDPE)	0,919-0,925 g/cm ³	
Polietilen ultra visokih molekularnih masa (UHMWPE)	0,93-0,935 g/cm ³	

2.1.2. Vinilni polimeri

Vinilni polimeri predstavljaju najveću grupu polimera. Svim polimerima zajednički je vinilni monomer odnosno monomer etilena. Vinilni polimeri dobivaju se iz vinilnog monomera kojem je jedan ili više atoma vodika supstituiran nekim drugim atomom ili atomskom skupinom i potom nastaje potpuno novi monomer.[5]

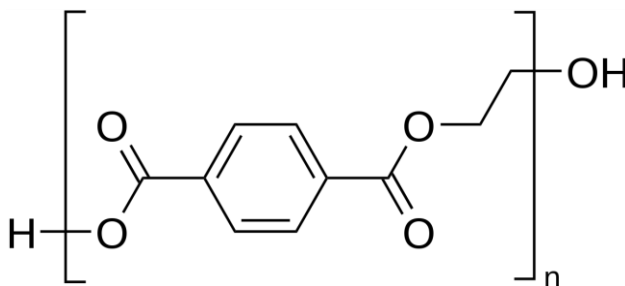
Polipropilen, PP, je linearni polimer koji se koristi kao plastični materijal i za izradu vlakna. Zbog svoje dobre reaktivnosti monomer propilena koristi se između ostalog za sintezu raznih kemikalija kao što su propilen oksid, akrilonitril, kumen i izopropilenski alkohol. Po strukturi polipropilen je vinilni polimer koji na svakom drugom vodikovom atomu u osnovnom lancu sadrži vezanu metilnu skupinu. Na slici 2. prikazana je strukturna formula ponavljajuće jedinice polipropilena. Polipropilen se dobiva iz monomera propilena Ziegler-Natta polimerizacijom ili polimerizacijom uz metalocenske katalizatore. S obzirom na položaj metilne skupine u odnosu na ravninu osnovnog lanca moguće su dvije konfiguracije: izotaktna (kristalna struktura), i ataktna (amorfnost struktura).[5]



Slika 2. Prikaz strukture monomera polipropilena [10]

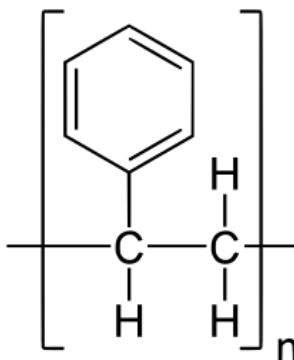
Polipropilen je jedan od najlakših materijala, gustoća mu je 0.895-0.92 g/cm³. Za razliku od polietilena, kristalna i amorfna područja se neznatno razlikuju po gustoći. Međutim, gustoća polipropilena može se značajno promijeniti s dodatkom punila. Visoko talište mu omogućuje upotrebu u širokom temperaturnom području.[10]

Poli(etilen-tereftalat), PET, je kondenzacijski polimer sintetiziran polimerizacijom tereftalne kiseline i etilen glikola (Slika 3.).[11] Poli(etilen-tereftalat) je kristalične strukture i pokazuje fizikalna, mehanička, električna i toplinska svojstva, kao što su: žilavost, jako mali stupanj apsorpcije vode, te dobra čvrstoća i tvrdoća. Gornja temperaturna granica za kontinuiranu upotrebu polimera je 140 °C dok pri nešto višim temperaturama oko 265 °C poli(etilen-tereftalat) se degradira. Karakterizira ga otpornost prema velikom broju otapala, kao što su: voda, kiseline, baze, alkoholi, esteri i alifatski ugljikovodici. Zbog izuzetnih svojstava upotreba poli(etilena-tereftalata) je vrlo široka. Koristi se za proizvodnju ambalaže u obliku filmova u folija te kao konstrukcijski polimerni materijal u građevinarstvu, brodogradnji, kemijskoj industriji te u elektroindustriji. [12]



Slika 3. Kemijska struktura poli (etilen-tereftalata) [12]

Polistiren, PS, je sintetski aromatski polimer. Polistiren je vinilni polimer kojem je jedan atom vodika zamijenjen s benzenom (slika 4.). Čisti polistiren je homopolimer koji se često naziva i kristalnim polistirenom. Njegova primjena je ograničena zbog izrazite krtosti.[5]

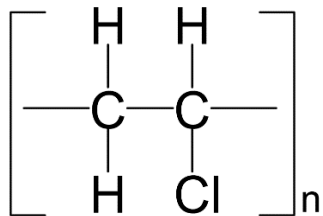


Slika 4. Kemijska struktura monomera polistirena [13]

Kako bi se poboljšala mehanička svojstva kristalnog polistirena, u procesu polimerizacije, umjesto čistog stirena, uvodi se otopina stirena i polibutadienske gume. Na taj način dobiveni polistiren naziva se gumo-modificirani ili HIPS. Sadržaj stirena u gumo-modificiranom polistirenu iznosi od 88 % do 96 %. Ako se pak kristalnom polistirenu u procesu polimerizacije dodaje pentan dobiva se ekspanzirani polistiren (EPS).[5]

Po količini u svjetskoj proizvodnji termoplasta polistiren zauzima četvrto mjesto.[5] Tipični primjeri njegove primjene su: zaštitna pakiranja, jednokratni pribor za jelo te polistirenske pjene koje se koriste kao toplinski izolatori u građevinarstvu.

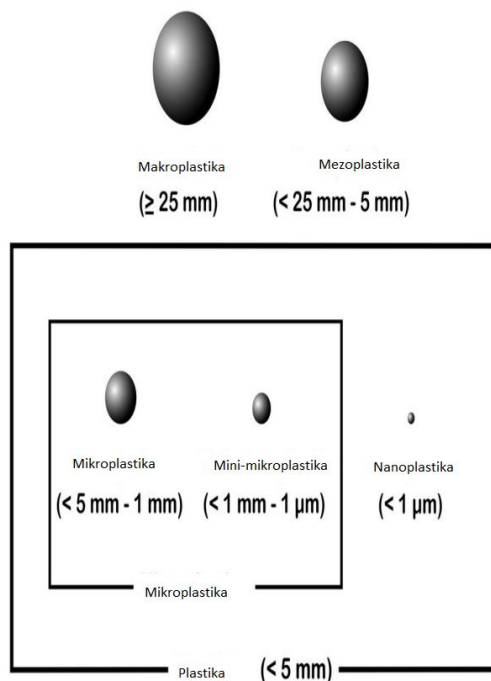
Poli(vinil-klorid), PVC, je polimer dugog lanca, koji nastaje slobodno-radikalskom polimerizacijom monomera vinil-klorida (slika 5.). Radi prisutnosti klora, visoko je polarni polimer, što omogućuje ugradnju drugih monomera tijekom polimerizacije, npr. vinil-acetata, ali i dodatkom mnogobrojnih stabilizatora i punila, čime se osigurava širok raspon fizičkih svojstava. Tako je poznato više od stotinu modifikacija poli(vinil-klorida) u širokom rasponu svojstava, od tvrdog i žilavog do mekanog i elastomernog materijala. Poli(vinil-klorid) ima široko područje primjene od građevinske primjene za vodovodne cijevi do primjene za proizvodnju proizvoda za pakiranje hrane. [14]



Slika 5. Kemijska struktura poli (vinil klorida) [15]

2.2. Mikroplastika

Pojam mikroplastike, općenito se odnosi na komade plastike manje od 5 mm te veće od 1 μm duž njegove najduže dimenzije. Svaki komad plastike manji od 1 μm svrstava se u nanoplastiku. Međutim, zbog nevjerovatno male veličine kao i problema prilikom detekcije većina studija koje se bave proučavanjem vodenog okoliša zanemaruje nanoplastiku te se isključivo bave mikroplastikom. Čestice plastike manje od 25 mm svrstavaju se u mezoplastiku, a veće od 25 mm u makroplastiku.[16] Na slici 6. prikazana je podjela mikroplastike prema veličini čestica.

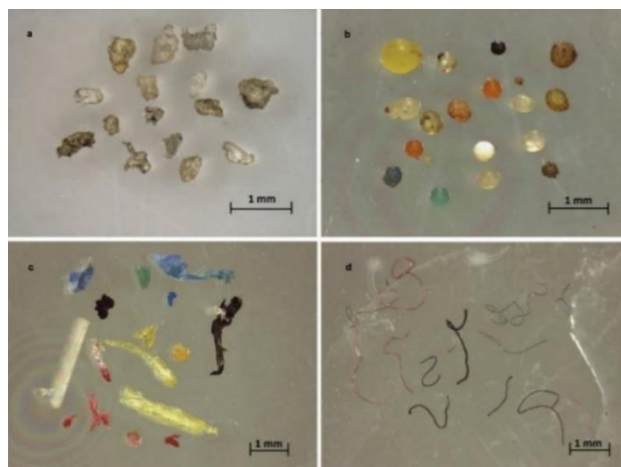


Slika 6. Podjela plastike prema veličini čestica [16]

Mikroplastika je sintetski polimer koji postaje sve veći uzrok onečišćenja morske i slatke vode, kao i tla. Proizvedena je namjerno (predproizvodnja plastike koja služi kao sirovina za daljnju proizvodnju većih plastičnih proizvoda, mikro zrna u kozmetičkim proizvodima, tinta za 3D printere) ili usitnjavanjem velikog komada plastike (fotodegradacija ili mehanička fragmentacija).[17] Prema podrijetlu mikroplastika se dijeli na primarnu i sekundarnu mikroplastiku. [16]

2.2.1. Primarna mikroplastika

Plastika koja je proizvedena u mikroskopskoj veličini je definirana kao primarna mikroplastika. Ova plastika se uobičajeno primjenjuje u kozmetici kao piling, koji se koristi u sredstvima za čišćenje ruku i lica, zamjenjujući tradicionalno korištene prirodne sastojke kao što su badem i zobene pahuljice (Slika 7.).[18] Najčešće se koristi polietilen koji zbog svoje glatke površine ima nježan učinak na koži čime se smanjuju oštećenja u usporedbi sa korištenjem prirodnih sastojaka grublje površine. Mnogo primarne mikroplastike često završi direktno u morima tijekom pjeskarenja, pri čemu mikroplastika zamjenjuje pijesak u cilju očuvanja boje i čišćenju od hrđe. Posljedica ovog procesa je da plastične čestice nošene vjetrom završavaju u slanim i slatkim vodama. Sintetička vlakna koja se koriste u tekstilnoj industriji također se ubrajaju u primarnu mikroplastiku. U uzorcima prikupljenim iz okoliša, sintetička mikrovlakna su jedna od najčešćih vrsta mikroplastike. Jedan od značajnijih izvora mikroplastičnih vlakana dolazi od pranja tkanina ne samo u industriji već i u kućanstvima.[16] Mikroplastična vlakna nošena su kroz kanalizacijske sustave do mora te se još pronalaze kao sediment u tlu. Također, uočeno je i da veće količine mikroplastičnih vlakana mogu proći kroz filtere za obradu otpadnih voda te na taj način završava direktno u okolišu. Procijenjeno je da Europa kroz otpadne vode u ocean ispušta između 80.042 i 218.662 tona primarne mikroplastike od čega je 3,2-4,1 % mikroplastike potječe od proizvoda za osobnu njegu.[16] U ove podatke nije uračunata nanoplastika koja je sastavni dio kozmetičkih proizvoda. Dakle, stvarni iznos plastike koji završi u morima je mnogo veći. S obzirom da mikroplastika može proći kroz filtere za pročišćivanje otpadnih voda ona može zaobići daljnje procese obrade vode i pronaći put ka pitkoj vodi. Prema tome, potrebno je zahtijevati rigoroznije mjere tijekom provođenja znanstvenih istraživanja kako bi se utvrdilo postoje li znanstveni rizici tijekom konzumacije vode.[16]



Slika 7. (a),(b)-primarna mikroplastika- mikrobna zrnca dobivena iz proizvoda za osobnu njegu. (c),(d)-sekundarna mikroplastika-fragmenti nastali raspadom veće plastike i sintetičkih tekstilnih vlakana [19]

2.2.2. Sekundarna mikroplastika

Sekundarna mikroplastika opisuje se kao maleni komadići plastike koji nastaju razgradnjom ili lomom većih komada plastike, kako u moru tako i na kopnu.[18] Tijekom vremena veliki komadi plastike se degradiraju djelovanjem ultraljubičastog zračenja od sunca kao i mehaničkim djelovanjem (plimni valovi) kako bi stvorili manje komade plastike do mikroplastične veličine.[16]

Smatra se da bi se mikroplastika dalje mogla degradirati do nanoplastične veličine. Razvoj biorazgradive plastike često se smatra kao održiva zamjena za tradicionalnu plastiku, međutim i ona može biti izvor mikroplastike.[18] Izvor mikroplastike mogu biti odbačeni tepisi i mreže protiv grabežljivaca, koji zbog svoje vlaknaste strukture mogu otpustiti velike količine vlakana u okolne vode.[16]

2.2.3. Karakteristike mikroplastike

Općenito se analiza mikroplastike može podijeliti na fizikalnu i kemijsku karakterizaciju. Fizikalna karakterizacija se uglavnom odnosi na parametre kao što su: veličina, raspodjela mikroplastike, oblik i boja.[20]

Primarna mikroplastika uglavnom ima svoj izvorni izgled, sfernog ili vlaknastog oblika, dok sekundarna mikroplastika je nepravilnog oblika te ju je teže kategorizirati.[16] Trenutno ne postoje stroge klase oblika i karakterizacija ponekad ovisi o ciljevima istraživanja. Općenito čestice mikroplastike se najčešće pojavljuju u obliku fragmenata, peleta, vlakana, folija ili pjene (Tablica 2.).[21]

Tablica 2. Opis različitih oblika mikroplastike [21]

OBLIK	OPIS
Fragment	Čestice koje potječu od većih plastičnih komada. Dolaze u velikom rasponu boja i oblika.
Peleti	Čestice koje potječu od peleta industrijske smole. Najčešće su bijeli ili prozirni, ali mogu se pojaviti i u drugim bojama.
Vlakna	Bilo koja vrsta vlaknaste plastike.
Folija	Tanka, fleksibilna plastika nalik na listove. Često potječe od plastičnih vrećica, plastične folije ili drugih materijala za pakiranje.
Pjena	Bilo koja vrsta plastike pjenaste strukture.

Mikroplastika uglavnom ima manju gustoću od gustoće vode i nije biološki razgradiva, te zbog težine ona tone na dno vode, gdje se istaloži na sediment.[23]

Kemijska karakterizacija se uglavnom primjenjuje pri istraživanju sastava mikroplastike te se u tu svrhu koriste različiti uređaji poput Fourirerovog infracrvenog spektrofotometra (FTIR), Raman spektrofotometra, skenirajućeg elektronskog mikroskopa (SEM), transmisijskog elektronskog mikroskopa (TEM), te uređaja za tekućinsku i plinsku kromatografiju.[20]

Svjetlosna mikroskopija se koristi za identifikaciju mikroplastike u rasponu od nekoliko stotina mikrometara. Skenirajući elektronski mikroskop (SEM) može pružiti vrlo oštro i veliko povećanje slike, čak i za vrlo male čestice poput nanoplastike. Tekstura površine čestica, koja se može potvrditi kroz slike visoke rezolucije olakšava razlikovanje organskih čestica i mikroplastike.

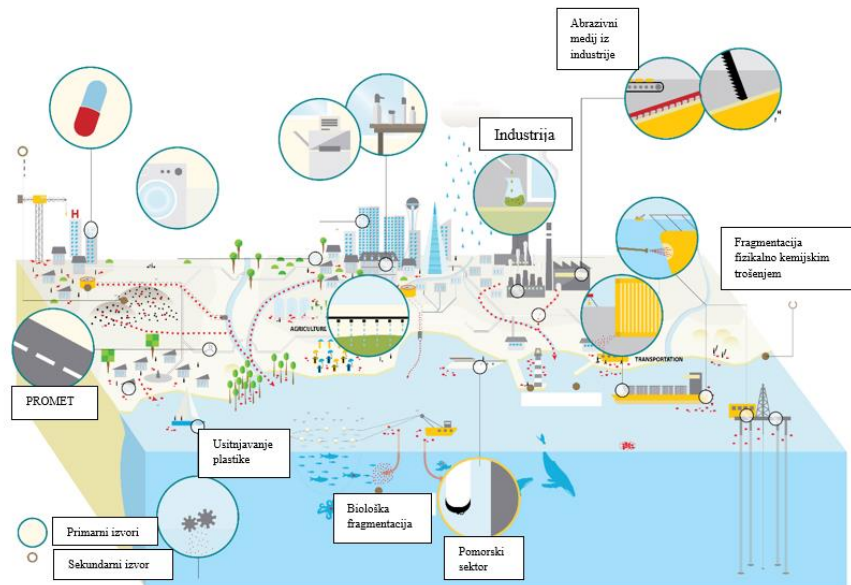
Transmisijska elektronska mikroskopija (TEM) se također koristi za identifikaciju mikroplastike. SEM i TEM su vrlo korisne metode za određivanje površinskog sastava čestica, međutim obje metode ograničavaju broj uzoraka, koji se mogu obraditi zato što je oprema skupa, a priprema uzorka zahtjeva značajno vrijeme.[22]

Fourierova transformacijska infracrvena spektroskopija (FTIR) nam daje informacije o specifičnosti kemijskog vezivanja čestica. Polimeri na bazi ugljika mogu se lako identificirati pomoću ove metode. Kemijska struktura plastike s različitim konfiguracijama vezivanja stvara jedinstveni spektar koji se razlikuje od ostalih organskih i anorganskih spojeva. Trenutno je mikro-ATR-FTIR vrlo koristan za identifikaciju mikroplastike u uzorcima iz okoliša, nadopunjujući dvije funkcije mikroskopske identifikacije čestica sličnih plastici i spektroskopije. Međutim, vrlo je teško dobiti jasan spektar kojim se može točno identificirati mikroplastika veličine manje od 50 μm . [22]

U Raman spektroskopiji, kada se objekt ozrači laserskom zrakom, dobivamo jedinstveni spektar za svaki polimer, na osnovu frekvencije povratno raspršene svjetlosti. Dobiveni spektar ovisi o molekularnoj strukturi i atomima prisutnim u uzorku. Ramanova spektroskopija identificira plastiku i daje profil polimernog sastava za svaki uzorak, slično kao i FTIR. Ramanova spektroskopija je slična FTIR metodi u smislu kombinacije nedestruktivne kemijske analize i mikroskopije.[22]

2.3. Mikroplastika u okolišu

Zahvaljujući brzom razvoju industrije proizvodnje plastike od 1950-ih godina pa do danas dosegla je količinu od 367 milijuna tona godišnje.[24] Na svjetskoj razini najveći proizvođači plastike su zemlje Azije, od kojih Kina predvodi sa 32 % svjetske proizvodnje. Europa čini 15%, a zemlje članice NAFT-e 19 % svjetske proizvodnje.[24] Velika količina mikroplastike završava u okolišu, te ih pronalazimo u vodenim sustavima, kao sediment u tlu, u zraku te u arktičkom području. Ova okruženja su međusobno povezana te plastika između njih cirkulira. Pod djelovanjem vjetra i kiše plastika se taloži na tlo, te dalje pronalazi svoj put do vodenog sustava i zraka.[25] Velike količine mikroplastike pronađene su kao sediment na morskom dnu (0-16,042 Nm^{-3}), kao i na ledenjacima gdje je prosječna gustoća plastičnih ostataka iznosi 0-1,200 Nm^{-3} . [26] Način prijenosa MP-e u okoliš prikazan je na slici 8.



Slika 8. Prikaz prijenosa MP-a u okoliš [26]

2.3.1. Mikroplastika u tlu

Mikroplastika se u tlu taloži uz pomoć vjetrova i vode iz različitih izvora. Veliki izvori mikroplastike u tlu su velika industrijska postrojenja.[27] Nadalje, velike količine mikroplastike nalaze se na obalama vodenih sustava. Koncentracija mikroplastike u tim područjima ovisi o više čimbenika kao što su otpadne vode, gustoća naseljenosti te industrijalizacija. Izvor mikroplastike u tlu može biti i poljoprivreda.[27] Prema istraživanjima iz 2016. godine godišnji unos mikroplastike na poljoprivredna zemljišta kretao se od 63 do 430 tisuća tona u Europi, te 44 do 300 tisuća tona u Sjevernoj Americi.[28]

Prema istraživanju koje su proveli Scheurer i Bigalke (2018.) pronađena je mikroplastika u približno 90 % švicarskog poplavnog tla na dubinama između 0 i 5 cm, te je određena srednja koncentracija mikroplastike na vrijednosti između 5-55 mgkg⁻¹. Također je utvrđeno da mikroplastika čini oko 0,002 % suhe težine tla u neurbanim visokoplaninskim područjima.[29]

Primjena otpadnog mulja jedan je od najvećih izvora primarne mikroplastike u tlu. Nizzetto i suradnici (2016.) procijenili su da primjenom gnojiva na poljoprivrednim zemljištima se godišnje taloži 63-430 i 44-300 tona čestica mikroplastike u Europi i sjevernoj Americi.[27] Sekundarna mikroplastika u tlu nastaje abrazijom te mehaničkim trošenjem plastičnih ostataka.

Prisutnost mikroplastike u tlu značajno može promijeniti fizikalna svojstva tla kao što su poroznost i struktura.[27]

2.3.2. Mikroplastika u oceanu

Onečišćenje oceana dolazi iz različitih izvora kao što su mora, kopno i zrak. Približno 70% morskog plastičnog otpada taloži se u sedimentima na morskom dnu, dok oko 15 % pluta na površini morske vode.[30] Plutanje plastike na površini mora je posljedica toga što mikroplastika (PE, PP, PS) ima nižu vrijednost gustoće od vode.[30] Koncentracija plastike na površini oceana je uglavnom nejednolika te se uglavnom nakuplja u zonama konvergencije pet subtropskih krugova (sjeverni Pacifik, sjeverni Atlantik, južni Pacifik, južni Atlantik, Indijski ocean). Također velike količine mikroplastike nakupljaju se na području Sredozemnog mora.[31] Općenito se smatra da je oko 75-90 % plastičnog otpada u morima došlo iz kopnenog izvora, dok je 10-25 % je oceanski izvor, npr. ribolov. Glavni izvor onečišćenja morskog okoliša mikroplastikom dolazi iz postrojenja za pročišćavanje otpadnih voda koje kroz rijeke izravno ulazi u ocean.[32]

2.3.3. Mikroplastika u slatkim vodama

Velika količina mikroplastike pronađena je i u slatkim vodama. Koncentracija mikroplastike u slatkovodnim sustavima ovisi o mnogo čimbenika, kao što su: veličina čestica, gustoća naseljenosti, gospodarski i urbani razvoj te gospodarenje otpadom.[27]

S obzirom da polietilen i polipropilen imaju manju gustoću od gustoće vode, oni su dva glavna izvora mikroplastike u slatkim vodama.[27]

Diljem svijeta zabilježena je prisutnost mikroplastike u sedimentu riječnog dna. Na primjer, u rijeci Ciwalengke u Indoneziji zabilježena je koncentracija mikroplastike od $30,3 \pm 15,9$ komada/kg sedimenta, što je posljedica industrijskih procesa pranja, kao i pranja rublja u kućanstvu.[32] U rijeci Brisbane u Australiji, maseni udio mikroplastike varirao je od 0,18 do 129,2 mg/kg, te izračunata količina mikroplastike je iznosila 10-520 komada/kg sedimenta.[33] Tragovi mikroplastike nalaze se ne samo u rijekama već i u malim potocima. Ona je pronađena i u 18 potoka u okolici Aucklanda, a količina mikroplastike koja je pronađena je slična kao u velikim rijekama (80 komada/kg sedimenta).[34]

2.4. Razgradnja mikroplastike u okolišu

Razvoj polimernih materijala obuhvaća promišljanje o njegovom životnom ciklusu i razmatra njegov okolišni utjecaj, od uporabe do trenutka kada postaje beskoristan. Kada se polimeri odbace neadekvatno ili u nekontroliranim uvjetima, polimerni materijal ugrožava okoliš i kvalitetu života na planeti. Velik problem plastičnih materijala je njena velika otpornost prema degradaciji.[35] Razgradnja je kemijska reakcija u kojoj dolazi do cijepanja polimernih lanaca, koja može biti uzorkovana različitim fizikalnim i kemijskim sredstvima, te može nepovratno promijeniti svojstva materijala.[35] Neki polimerni materijali imaju izraženije privlačne sile od drugih te su duže postojani u okolišu. Razgradnja ovakvih materijala može potrajati tisućama godina.[16] Proces razgradnje polimera ovisi o njegovoj prirodi te uvjetima kojima je podvrgnuta.[35] Razlikujemo dvije osnovne podjele razgradnje mikroplastike u okolišu ovisno o čimbenicima koji utječu na sam proces razgradnje, a to su:

- 1) Fizikalno kemijska razgradnja definira se kao proces razgradnje polimera pod utjecajem čimbenika iz okoliša (npr. sunce, vlažnost, temperatura)
- 2) Biološka razgradnja definira se kao proces biorazgradnje, koji je uzorkovan djelovanjem mikroorganizama (npr. bakterije, gljive) koji troše polimer i značajno mijenjaju njegova svojstva.[35]

2.4.1. Fizikalno kemijski procesi

2.4.1.1. Napredni oksidacijski procesi

Napredni oksidacijski procesi (eng. *Advanced oxidation process, AOP*) su postupci koji se primjenjuju pri obradi otpadnih voda, koje sadrže biološki nerazgradive ili teško razgradive tvari. Provode se kombinirajući različite tehnike kao što su svjetlost, toplina, katalizatori, te tijekom procesa proizvode visoko reaktivne slobodne radikale. Proizvedeni radikali imaju visoke oksidacijske potencijale te vrlo brzo i neselektivno reagiraju s organskim tvarima.[36]

Učinkovitost različitih procesa AOP-a ovisi o brzini stvaranja radikala i vremenu kontakta između radikala i organski spojeva. Ovisno o oksidacijskom sredstvu i načinu stvaranja radikala razlikujemo nekoliko različitih postupaka AOPs-a.[37]

Prema vrsti energije koja se koristi za stvaranje hidroksilnih radikala napredni oksidacijski procesi mogu se podijeliti u nekoliko kategorija: kemijski, fotokemijski, fotokatalitički, mehanički električni procesi.[38] Od naprednih oksidacijski procesa najveću primjenu imaju: oksidacija vodikovim peroksidom (Fentonov proces), ozonom (ozonizacija), UV-fotoliza, fotokataliza uz primjenu titanijeva dioksida i elektrokemijska oksidacija.[39]

Fentonov proces se temelji na primjeni Fentonovog reagensa, koji je zapravo smjesa vodikovog peroksida i neke željezove (II) soli. Djelovanjem vodikovog peroksida na željezov (II) ion dolazi do stvaranja hidroksilnih radikala prema jednadžbi (1)



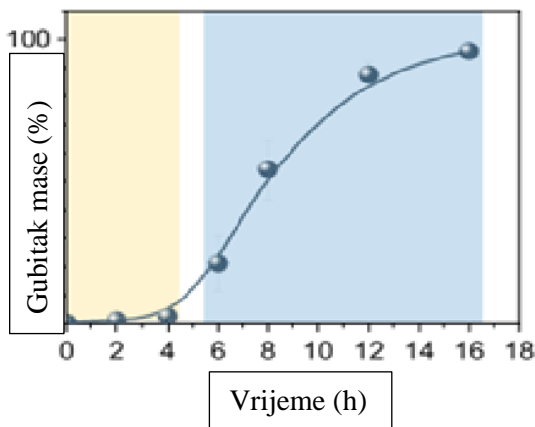
Nastali hidroksilni radikali dalje razgrađuju organsku tvar prema jednadžbama (2) i (3)



U Fentonovom sustavu Fe^{2+} ion djeluje kao katalizator, tj. ubrzava mineralizaciju organske tvari te iz procesa izlazi nepromijenjen i u istom oksidacijskom stanju. Djelotvornost Fentonovog procesa ovisi o omjeru količina Fe^{2+} iona i vodikovog peroksida, pH, temperaturi, mediju i vremenu trajanja reakcije.[39] Minimalna kritična koncentracija željeza koja omogućava da se reakcija odvija u nekom razumnom vremenskom intervalu je 3-15 mg/L, te omjer željezo/supstrat 1:50.[40] Brzina kemijskih reakcija s Fentonovim reagensima se povećava porastom temperature. Najveća učinkovitost je u temperaturnom intervalu između 20 i 40 °C. Pri temperaturi od 50 °C, iako raste brzina kemijske reakcije, učinkovitost H_2O_2 opada, te dolazi do razgradnje na kisik i vodu.[40] Optimalna vrijednost pH je između pH=3 i pH=6. Povećanjem pH vrijednosti željezo djeluje katalitički na vodikov peroksid i razgrađuje ga na vodik i kisik, bez nastajanja hidroksilnih radikala.[39] Vrijeme koje je potrebno za dovršetak Fentonove reakcije ovisi o mnogim čimbenicima: koncentraciji željezovih iona i vodikovog peroksida, kao i o prisutnosti organskih tvari u otpadnim vodama. Za jednostavne procese oksidacije vrijeme trajanja je 30-60 minuta, dok za razgradnju složenih organskih tvari vrijeme razgradnje može potrajati nekoliko sati.[40] Fentonov proces je učinkovit pri obradi biološki, teško razgradljivih otpadnih voda industrije plastičnih aditiva, bojila, tekstilne industrije, itd. Može se primjenjivati i na muljevima i

onečišćenom tlu, gdje omogućava razgradnju organskih onečišćivala, te poboljšava biorazgradnju.[39]

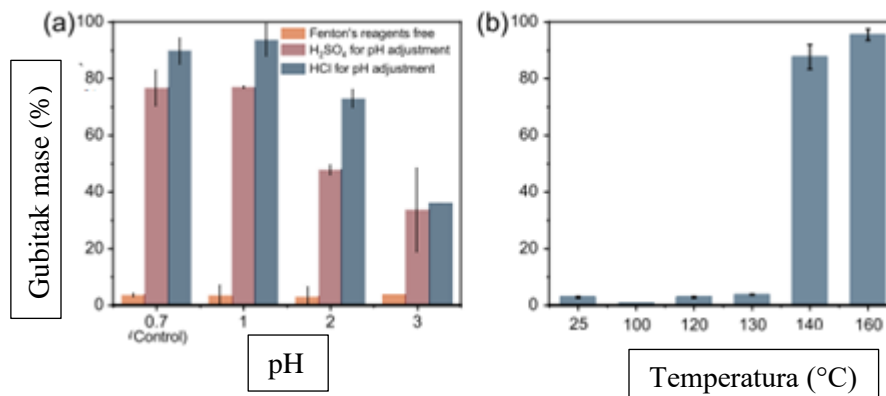
Hu i suradnici (2021.) proveli su istraživanje o utjecaju Fentonovih procesa na razgradnju mikroplastike. Uzorci mikroplastike (PS, PET, HDPE, LDPE, PP) bili su izloženi oksidaciji u teflonskom autoklavu pri temperaturi od 140 °C. Kako bi se spriječilo stvaranje željeznog mulja i olakšalo mjerenje gubitka težine mikroplastike, pH vrijednost otopine je podešena na kiselo ($c(\text{H}^+)=0,2 \text{ M}$), korištenjem sumporne ili klorovodične kiseline. Rezultati istraživanja su pokazali da je razgradnja mikroplastike kinetički model u dva stupnja. Konstante brzine reakcije u prvom (0-4 h) i drugom stupnju (6-16 h) bile su $0,0058\pm 0,0006 \text{ h}^{-1}$ i $0,299\pm 0,009 \text{ h}^{-1}$. Prema dobivenim rezultatima možemo vidjeti da početni stupanj nije izravno utjecao na gubitak težine, ali pretpostavljamo da je značajno promijenio strukturu mikroplastike istežanjem polimernog lanca, što dovodi do stvaranja karbonilnih skupina i smanjenja kristalnosti mikroplastike tijekom hidrotermalne obrade. Faza istežanja lanca je ključna zato što značajno olakšava naknadno cijepanje lanca i oksidaciju Fentona. Fentonov proces za razgradnju polietilena ultra velike molekularne mase postigao je gubitak težine od 75,6 % u 12 h i 95,9 % u 16 h (slika 9.). [41]



Slika 9. Razgradnja mikroplastike djelovanjem Fentonovog reagensa [41]

Također, uočeno je da je najučinkovitija razgradnja postignuta pri koncentraciji H^+ iona između $0,2$ i 10^{-3} M ($\text{pH}=0,7-3$), te se učinkovitost smanjuje povećanjem pH jedinica (slika 10.-a). Nadalje, pri temperaturama nižim od $140 \text{ }^\circ\text{C}$ do razgradnje gotovo da i nije došlo. Kada je

temperatura povišena na 140 °C učinkovitost razgradnje se povećala na gotovo 90 % i 95,5 % uklanjanja pri temperaturi od 160 °C (slika 10-b). [41]

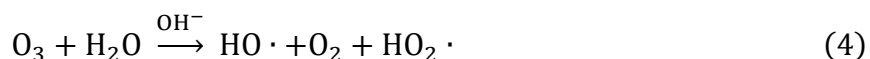


Slika 10. Gubitak mase čestica mikroplastike pod utjecajem pH(a) i temperature (b) [41]

Glavni nedostaci Fentonovog procesa za razgradnju mikroplastike su upotreba homogenog katalizatora, usko pH područje, te gubitak katalizatora. Katalitička oksidacija se često kombinira sa biološkom obradom zbog ekonomskih razloga, pri čemu se štetni organski spojevi prevode u biorazgradive spojeve, koji se dalje mogu obraditi klasičnim biološkim tehnikama. [37]

Oksidacija ozonom

Ozon je vrlo jako oksidacijsko sredstvo te se u vodi može raspasti na hidroksil radikale koji su jače oksidacijsko sredstvo od vode kao što je prikazano u jednadžbi (4):



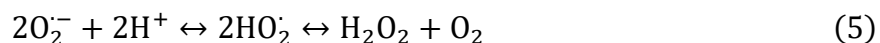
Također mogu reagirati vrlo selektivno sa spojevima koji imaju specifične funkcionalne skupine, kao što su nezasićeni i aromatski ugljikovodici sa hidroksilnim i amino skupinama. Koji će se od ova dva mehanizma provoditi ovisi o mnogo čimbenika, kao što su: pH, temperatura i kemijski sastav vode. [37]

Korištenjem vodikovog peroksida ili UV zračenja značajno se ubrzava raspad ozona i povećava koncentracija hidroksilnih i peroksidnih iona, pri čemu se poboljšava učinkovitost obrade voda.[39] Proces ozoniziranja pokazuje promjene kemijske strukture polietilenske mikroplastike uz utjecaj na pH, brzinu protoka ozona i trajanje kontakta između ozona i mikroplastike.

U istraživanju Fitri i suradnika (2021.) rezultati su otkrili promjene kemijske strukture polietilena nakon ozoniziranja, što je potvrđeno pojavom karbonilnih skupina i gubitkom težine.

Optimalni radni uvjeti nastali su pri pH=12 s protokom ozona od 5 L/min tijekom 3 sata, što je rezultiralo gubitkom težine od 0,0482 %. [42]

Fotokataliza je procesu kojem hidroksil radikali nastaju apsorpcijom UV zračenja na metalnom katalizatoru.[37] Poluvodički materijali, kao što su TiO₂, ZnO, ZnS, SnO₂ koriste se kao fotokatalizatori.[43] Fotokatalizatori su tvari koji apsorpcijom svjetlosti se aktiviraju i stupaju u reakciju s reaktantima. Fotokataliza se zasniva na pobuđivanju površine metala UV zračenjem pri čemu nastaju parovi šupljina/elektron. Šupljine u valentnoj vrpici su pozitivno nabijene te mogu na površini vezati vodu i hidroksilne skupine, pri čemu nastaju hidroksilni radikali. Elektroni reagiraju sa otopljenim kisikom stvarajući superoksidne ione (O₂⁻ ·). Superoksidni anioni i njegov protonirani oblik naknadno reagiraju dajući vodikov peroksid ili peroksidni anion (izraz 5.).[39]



Titanijev (IV) oksid je poluvodič koji je jedan od najčešće korištenih fotokatalizatora za razgradnju čestica mikroplastike. Fotokatalitička aktivnost titanijeva dioksida pokazuje dva kristalna oblika: anatazni i rutilni. Širina zabranjene zone kod TiO₂ iznosi 3,23 eV, što odgovara adsorpciji elektromagnetskog zračenja u ultraljubičastom području spektra. [44] Glavni nedostatak procesa je uski apsorpcijski spektar valnih duljina za čisti TiO₂ zato što sunčeva svjetlost može apsorbirati samo 2-3% UV zračenja, te veliki investicijski i operativni troškovi procesa. Učinkovitost procesa se može poboljšati dopiranjem TiO₂ katalizatora različitim metalnim kationima s ciljem proširenja apsorpcijskog spektra valnih duljina. [37] Istraživanje Uheida i suradnika (2021.) pokazalo je mogućnost razgradnje čestica mikroplastike niske gustoće, kao što je polipropilen, kada je razgradnja potaknuta fotokatalizom, a kao fotokatalizator se koristi ZnO. Nakon 456 h izlaganja vidljivoj svjetlosti uočena je brza kinetička evolucija karbonilnih i hidroksilnih skupina i povećanje produkata fotorazgradnje. Razgradnja polipropilenske mikroplastike odvija se cijepanjem lanca što dovodi do stvaranja manjih lanaca, što se vidi iz kristalnog pomaka prilikom DSC analize i morfologije u SEM analizi.

Dobiveni rezultati su pokazali da fotokatalitička razgradnja polipropilenske mikroplastike kroz dva tjedna smanjuje njezin prosječni volumen čestica za 65%.[45] Također je otkriveno da dobiveni nusprodukti u uzorcima nakon fotorazgradnje polipropilena imaju nisku toksičnost na ljudski i vodeni okoliš.[45] Dobiveni rezultati pokazuju uspješnu implementaciju fotokatalitičkih reaktora za održivo uklanjanje mikroplastike iz izvora vode prije njezine upotrebe ili ispuštanja u okoliš. Povećanje učinkovitosti fotokatalitičkih reaktora može se postići proširenjem veličine ploče uređaja, te ovako projektirani reaktori imaju veliki potencijal za korištenje u pročišćavanju vode.[45]

Elektrokemijske metode koriste se za obradu otpadnih voda koje sadrže organska onečišćavala. Prednost ovih metoda zasniva se na mogućnosti višestruke namjene, visokoj energetske učinkovitosti, mogućnosti automatizacije i velikoj sigurnosti. [37]

2.4.1.2. Adsorpcija

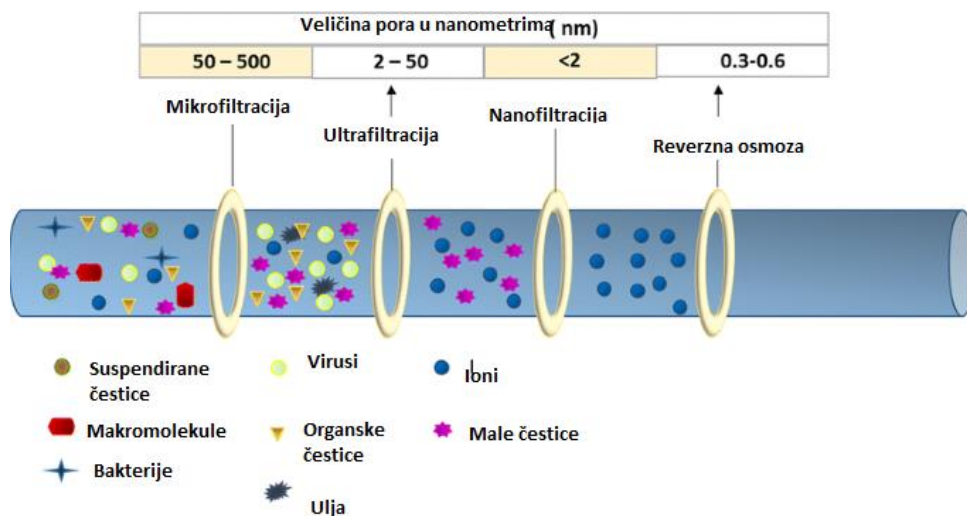
Adsorpcija je proces u kojem molekule ili ioni (adsorbat) u plinovitom ili tekućem stanju se lijepe na površinu čvrste tvari (adsorbenta). To je površinski proces, odnosno samo površina adsorbenta sudjeluje u procesu, a adsorbat ne difundira u strukturu adsorbenta. Adsorpcijski procesi se mogu opisati kao fizikalni ili kemijski ovisno o prirodi sila koje su uključene u međudjelovanje. Fizikalna adsorpcija prisutna je kada adsorbat prijanja na površinu kao posljedica djelovanja van der Waalsovih sila. Kod kemijske adsorpcije (kemisorpcije) adsorbat je vezan kemijskim vezama na površinu adsorbenta što je praćeno velikim oslobađanjem energije. [46] Na adsorpciju utječu mnogi fizikalni i kemijski parametri, a posebno temperatura, pH i redoks potencijali.[47] S obzirom da je adsorpcija površinski proces, važan čimbenik za adsorpciju je površina adsorbenta.[46] Najbolji adsorbensi su porozne tvari i općenito tvari sa velikom površinom po jedinici volumena.[47] Osim aktivnog ugljena (u obliku praha ili granula), kao adsorbensi se koriste zeoliti, gline i različiti sintetski polimeri. [37] Proces adsorpcije se prirodno odvija u okolišu, te može imati veliku industrijsku primjenu (npr. obrada otpadnih voda farmaceutske industrije). [47] U istraživanju Yuan i suradnika korišten je reducirani grafen oksid (RGO) kao adsorbens za uklanjanje polistirenske mikroplastike. Optimalni uvjeti pri kojima je provedeno istraživanje su $pH=6$, $t=120$ min i temperatura od 26 °C.

Adsorpcija se temelji na jakoj Π - Π interakciji između grafena i polistirena, te prostornoj strukturi 3D RGO, što je dodatno olakšalo vezivanje čestica polistirena na površinu adsorbensa. Rezultati su pokazali da je adsorpcija mikroplastične otopine (0,6 g/L) na 3D RGO (1,5 mg) postigla ravnotežu nakon 2 sata. Nadalje rezultati termodinamičke analize pokazali su da je adsorpcija polistirena bila spontni endotermni proces. [48] Prednost postupka adsorpcije je jednostavnost te fleksibilnost izvedbe i provedbe procesa, visok stupanj pročišćavanja te neosjetljivost na toksične supstance, dok je glavni nedostatak procesa adsorpcije visoka cijena aktivnog ugljena, potreba za izdvajanjem iz vode te zbrinjavanje nakon upotrebe. [37]

2.4.1.3. Membranska filtracija

Membranska filtracija se koristi za uklanjanje tvari i finih čestica iz otopina te za kontinuirano odvajanje boje iz otpadnih voda. S obzirom na poroznost membrane membranska filtracija se dijeli na: mikrofiltraciju, ultrafiltraciju, nanofiltraciju i reverznu osmozu.[49] Mehanizam separacije ovisi o brojnim čimbenicima kao što su značajke membrane, uvjeti provedbe procesa, značajke mikrozagađivala te prljanje membrane. [37]

Mikrofiltracija (MF) je proces sličan konvencionalnim procesima filtracije u tekstilnoj otpadnoj vodi te imaju ograničeno područje primjene. Membrane mikrofiltara općenito imaju pore u rasponu 0,1-10 μm , a odvajanje je učinkovito pri niskom tlaku ispod 2 bara. [37] Ultrafiltracija (UF) je proces koji se koristi za odvajanje makromolekula i koloida iz otopine te je i njihova primjena ograničena. Nanofiltracija (NF) je proces membranskog odvajanja gdje je tlak glavna pokretačka snaga odgovorna za proces odvajanja, te ima karakteristike između ultrafiltracije i reverzne osmoze. Nanofiltracija je proces odvajanja koji se temelji na membrani pod tlakom od 4 do 20 MPa. Reverzna osmoza je proces filtracije vode i uklanjanja nečistoća, koji uključuje prolazak vode kroz membranu pod visokim tlakom gdje se odvaja čista voda od nečistoća (Slika 11.). [37]



Slika 11. Prikaz uklanjanja onečišćenja različitim postupcima membranske separacije [49]

Pizzichetti i suradnici (2021.) pokazali su mogućnosti PC i CA membrana, obje sa promjerom od 47 mm i veličinama pora od 5 μm , za pročišćavanje uzorka koji sadrži poliamidni najlon 6 (PA) i čestice polistirena (PS). Polikarbonatne membrane i celulozni acetat membrane su negativno nabijene sa zeta potencijalom od -11,5 mV pri pH=7,4 i -35 mV pri pH=6. Stoga CA membrana ima jače negativno nabijenu površinu u odnosu na PC membranu. Prosječni promjer PS čestica bio je oko 37,40 μm , s česticama u rasponu 10-100 μm , a za čestice PA 15,66 μm u rasponu 2-50 μm . Rezultati su pokazali da iako je veličina manja od raspodijele veličine čestica mikroplastike, ne postiže se potpuno uklanjanje čestica ni sa jednom membranom. Mirkoplastika u rasponu veličine čestica od 20-300 μm detektira se u prolasku kroz pore membrane manje od 5 μm . Objašnjenje se temelji na postojanju inducirane abrazije membrane česticama sa oštrim kutovima, te niskom vrijednosti tvrdoće membrane. Nadalje, možemo smatrati da je udar čestica na membranu potaknuo njihov daljnje usitnjavanje na manje čestice kako bi lakše prolazile kroz pore membrane. Kod PC membrana zabilježena je znatna količina PA čestica koja je prošla kroz pore membrane. Procijenjena je prisutnost na 127000 čestica/L s prosječnom veličinom manjom od definiranog raspona koji se koristi. PC membrane su pretrpjela veće onečišćenje sa PS česticama nego sa PA. Ovo ponašanje se može objasniti u samim svojstvima PC, koji je hidrofilan i vjerojatnije je da će imati izraženije interakcije s drugim hidrofilnim materijalom, kao što je PS. Nakon filtracije čestica PA kroz CA membranu procijenjeno je prisustvo 27000 čestica/L, što čini jednu petinu količine u odnosu na PC membranu.

CA membrane su pokazale najnižu vrijednost tvrdoće u suhom okruženju. Stoga CA membrane su ipak pokazale veću učinkovitost pri filtraciji uzorka. [50]

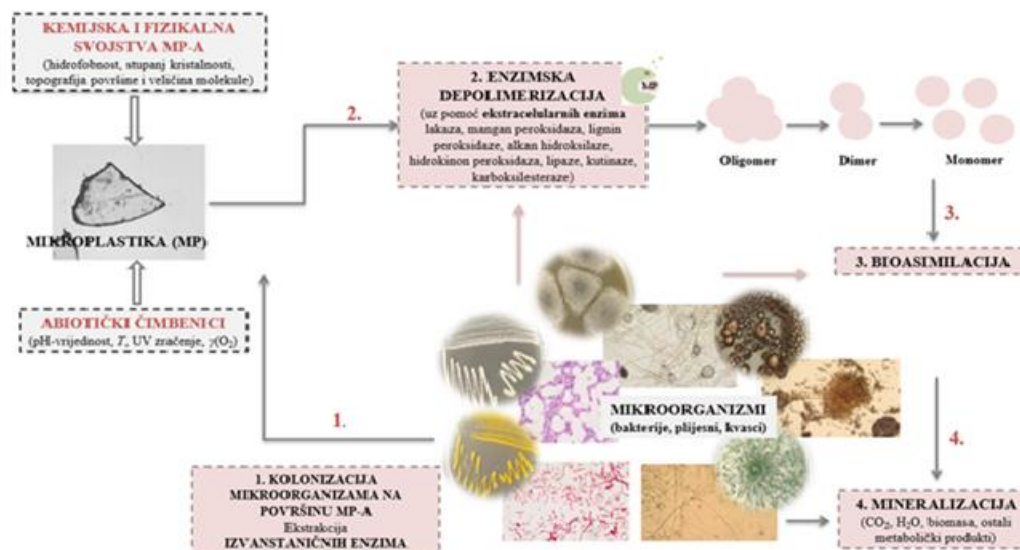
Prednosti membranske separacije su kontinuirana provedba, manji energetske troškovi, lako se kombinira sa drugim separacijskim procesima, membranska svojstva su varijabilna i mogu se podešavati te nema potrebe za aditivima. Nedostatci su im visoka cijena, kratak životni vijek, niska selektivnost, dolazi do taloženja materijala na površini i u porama, što uzrokuje promjenu svojstava membrane te dolazi do usitnjavanja čestica mikroplastike prilikom udara na membrane što im omogućava prolazak kroz pore membrane. [37, 50]

2.4.2. Biološki procesi

Biološka razgradnja je razgradnja koja se odvija pod djelovanjem mikroorganizama, kao što su bakterije, gljive i alge. Biorazgradnja je prirodni proces u kojem dolazi do razgradnje polimernih organskih spojeva na manje komponente, pri čemu dolazi do promjene svojstava polimera (smanjenje funkcionalnosti). Kao sporedni produkti ovog procesa nastaju ugljikov dioksid, metan i voda. [35] Proces biorazgradnje je veoma spor proces, koji obuhvaća niz fizikalnih, kemijskih i enzimskih procesa. [35]

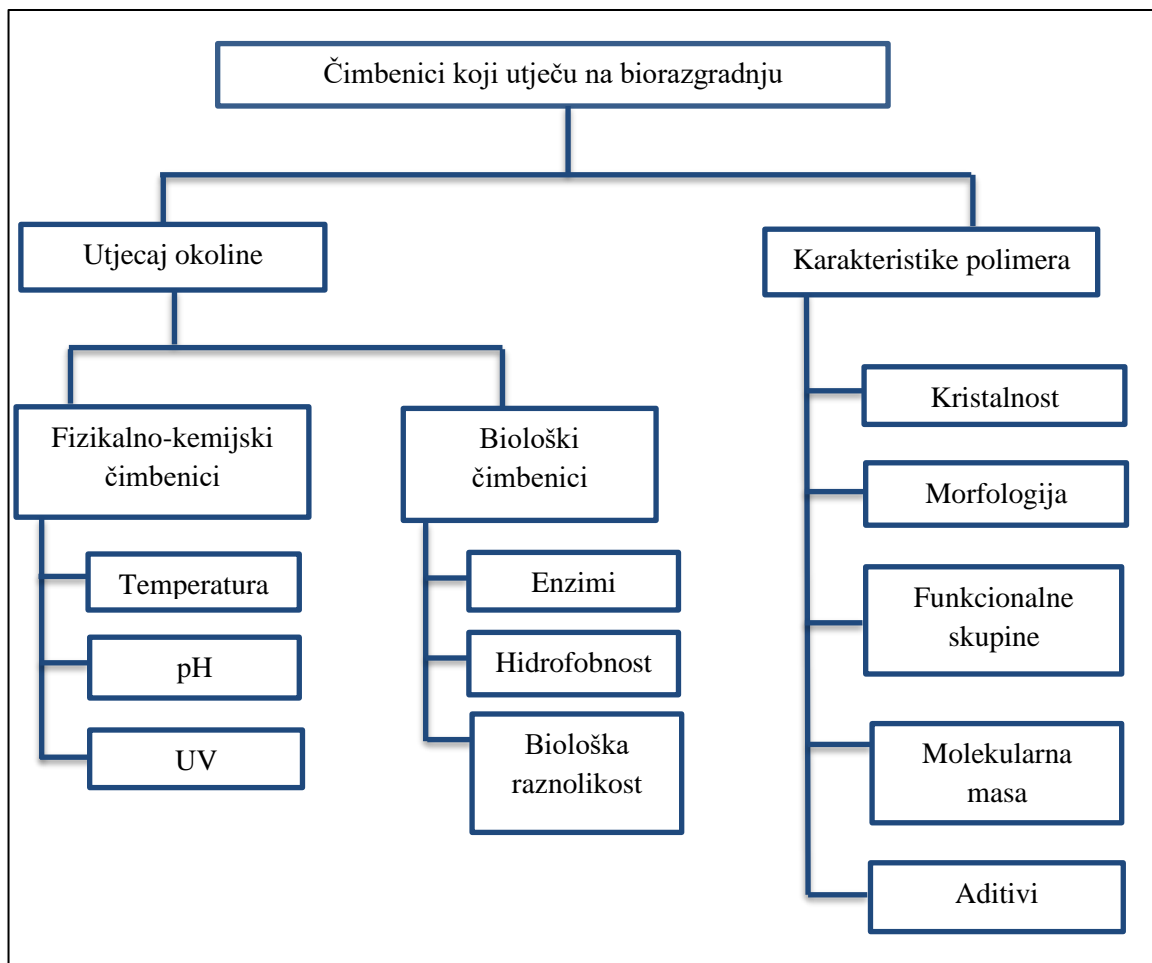
Biorazgradnja općenito uključuje nekoliko faza, kao što je prikazano na slici 12. Razgradnja započinje djelovanjem fizikalnih čimbenika, kao što su: temperatura, vlaga, pH i svjetlost.[35] Primarna faza, koja uključuje kolonizaciju mikroorganizama na površini mikroplastike, je pod utjecajem hidrofobnosti polimera i mikroorganizama. Nakon kolonizacije, mikroorganizmi prisutni na površini polimera izlučuju izvanstanične enzime koji se vežu na površinu te su iznimno važni za daljnju biološku razgradnju. S obzirom na to da molekule polimera u većini slučajeva nemaju hidrofilne veze, izlučuju se enzimi kao što su lakaze, peroksidaze, lipaze i kinaze, koji mogu oksidirati polimerne veze u prisutnosti kisika, metala i UV zračenja. Sljedeći korak u procesu biorazgradnje je enzimska depolimerizacija pri čemu nastaju jednostavne polimerne jedinice: oligomeri, dimeri i monomeri. Monomeri topljivi u vodi mogu proći kroz staničnu membranu i ući u stanicu gdje postaju izloženi unutarstaničnim enzimima: monooksigenazama, hidrolazama i dioksigenazama.

Mikroorganizmi započinju bioasimilaciju, tako što iskorištavaju monomere kao izvor energije i ugljika, što rezultira daljnjoj razgradnji monomera na ugljikov dioksid (CO_2), vodu (H_2O), biomasu i ostale metaboličke produkte, tj. u procesu koji se naziva mineralizacija. [53]



Slika 12. Shematski prikaz biorazgradnje mikroplastike [53]

Na proces biorazgradnje utječe niz čimbenika kao što su karakteristike plastike, vrsta mikroorganizama te njihova izloženost okolišnim uvjetima (slika 13). Kristalnost polimera je važan čimbenik koji kontrolira biorazgradnju, zato što enzimi napadaju amorfno područje polimera. Kod amorfnih polimera molekule su slabije povezane, što ih čini podložnijim degradaciji. Kristalni dio polimera otporan je na razgradnju, te brzina razgradnje opada sa povećanjem kristalnosti polimera. Povećanjem molekulske mase polimera dolazi do smanjenja njegove mikrobiološke razgradnje. [51] Primjerice, uočeno je da uzorak amorfnog PLA nakon 18 tjedana postiže smanjenje težine oko 14%, dok je sličan gubitak težine za polukristalni PLA postignut tek nakon 20 mjeseci [52]. Hidrofilne površine omogućuju kolonizaciju mikroorganizama te one omogućuju hidrolitičku reakciju, koja kod hidrofobnih površina nije moguća. [35]



Slika 13. Čimbenici koji utječu na proces biorazgradnje [51]

Fizikalno-kemijski čimbenici kao što su temperatura, pH vrijednost i vlaga neizravno utječu na proces biorazgradnje. Ovi čimbenici osiguravaju medij pogodan za reakciju hidrolize, koja neizravno upravlja brzinom biorazgradnje. Povećanje sadržaja vlage i povišenjem temperature dolazi do pospješena reakcije biorazgradnje. S druge strane, temperatura taljenja polimera ima važan utjecaj na mehanička svojstva materijala i biološku degradaciju. Pri višoj temperaturi taljenja osigurava se veća čvrstoća i otpornost polimera na degradaciju. [51]

Važnu ulogu u procesu biorazgradnje imaju karakteristike mikroorganizama koji sudjeluju u procesu. Bakterije koriste polimere kao izvor ugljika u hranjivim medijima, te na taj način smanjuju molekularnu masu i induciraju promjene u morfološkoj i kemijskoj strukturi. Biorazgradnja se može poboljšati korištenjem bakterijskih konzorcija, tj više bakterija koje žive u simbiozi.

3. PREGLEDNI DIO

3.1. Biorazgradnja mikroplastike gljivama

Mehanizam biorazgradnje mikroplastike gljivama uključuje djelovanje mikrobnih enzima na površini mikroplastike. Mikroorganizmi kao što su bakterije i gljive vežu se na površinu polimera te izlučuju enzime (intracelularni i ekstracelularni). Glavne klase enzima, koji su uključeni u biorazgradnju mikroplastike su lakaze, peroksidaze, lipaze i kinaze. Ovi enzimi su proučavani zbog njihove uključenosti u prirodne i industrijske procese. [4]

Lakaze su bakrene oksidaze koje kataliziraju oksidaciju fenolnih spojeva. One koriste kisik kao akceptor elektrona i oksidiraju fenolne i nefenolne spojeve, te sudjeluju u redukciji kisika u vodu. Lakaze su prvi put identificirane 1896. godine u gljivama Bertrand i Laborde.[4] Sljedećih godina lakaze su otkrivene u mnogim vrstama gljiva, a najviše su se proučavale gljive bijele truleži, koje koriste lignocelulozu kao supstrat za rast.[54]

Peroksidaze su skupina oksidoredukcijskih enzima, koji sadrže hem, koji katalizira oksidaciju organskih i anorganskih spojeva. Peroksidaze se dijele u tri klase: unutarstanične peroksidaze (koje se nalaze u većini živih organizama, osim životinja), izvanstanične peroksidaze i ekstracelularne biljne peroksidaze. Glavne gljivične peroksidaze su manganove peroksidaze (MnP), liginske peroksidaze (LiP), svestrane peroksidaze (VP) i peroksidaze za dekolorizaciju boja (EC). Najpoznatija vrsta gljiva koja proizvode peroksidazu su liginolitičke gljive, kao što su gljive bijele truleži *Phanerochaete chrysosporium*, *Trametes versicolor*. [3] Ove gljive su pokazale veliku učinkovitost u razgradnji polietilena visoke molekularne mase, gdje je MnP bila ključan enzim u razgradnji.[54] Glavne karakteristike peroksidaza je nespecifičnost i sposobnost da oksidiraju supstrat sa visokim redoks potencijalom.[3]

Lipaze su izvanstanični enzimi koji kataliziraju hidrolizu lipida. Glavni rodovi gljiva koji proizvode lipazu su: *Aspergillus*, *Beauveria*, *Fusarium*, *Penicillium* i *Trichoderma*. [4]

Kinaze su enzimi koji su uočeni u gljivama *Fusarium solani*, *Penicillium*, *Aspergillus oryzae*, *Humicola insolens*. Uočeno je da aktivnost *Fusarium solani* i *Humicola insolens* pokazuje degradirajuće sposobnosti na česticama PET-a, sa gubitkom težine od 97% tijekom 96h. [3]

3.2. Gljive

Gljive su članice velike skupine organizama u koju se ubrajaju kvasci i pljesni. One su eukariotski organizmi, a najveća razlika u odnosu na životinje, biljke i bakterije je u to što stanice gljiva imaju staničnu stijenku koja sadrži hitin. Gljive se mogu razmnožavati spolno i nespolno. Nespolno razmnožavanje gljiva odvija se vegetativnim razmnožavanjem, rastom hifa u svim smjerovima šireći područje koje okupiraju. Spolno razmnožavanje odvija se spajanjem haploidnih spora prilikom čega se formiraju diploidne jezgre, a ciklus se nastavlja klijanjem te jezgre. Kod gljiva se češće odvija nespolno nego spolno razmnožavanje. Razlog tome je što nespolnim razmnožavanjem se povećava adaptivna moć gljiva te se sprječava nastanak štetnih mutacija i njihov prijenos s generacije na generaciju. Gljive se općenito smatraju heterotrofnim organizmima, koji se oslanjaju isključivo na hranjive tvari iz drugih izvora. [4] Gljive mogu učinkovito razgraditi nekoliko vrsta plastike (tablica 3.).

Tablica 3. Razgradnja mikroplastike gljivama, uvjeti analize i korištene metode detekcije

Gljiva	Tip polimera	Uvjeti analize	Metoda detekcije	Razgradnja polimera (%)	Izvor
<i>Aspergillus niger</i>	HDPE	30 dana, pri 45°C	Gubitak težine, SEM, FTIR	3,44	[55]
<i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus nidulans</i>	LDPE	6 mjeseci 30°C	Gubitak težine	20,96 12,63	[56]
<i>Aspergillus flavus</i>	PU	1 mjesec 45°C	Gubitak težine, SEM, FTIR, TGA	60,6	[57]
<i>Aspergillus oryzae</i>	LDPE	3 mjeseca 27°C	Gubitak težine, SEM, FTIR, Mehanički test	47,2	[58]
<i>Aspergillus tubingensis</i>	PU	1 mjesec 37°C	FTIR, SEM, Mehanički test	90	[59]
<i>Aspergillus nomius</i> <i>Trichoderma viride</i>	LDPE	45 dana	Gubitak težine, Mehanički test	6,63 5,13	[60]
<i>Penicillium simplicissimum</i>	PE	3 mjeseca 50°C	Gubitak težine, SEM, FTIR, NMR	38 16 7,7	[61]

Degradacija gljivama može se poboljšati djelovanjem UV zračenja prije biorazgradnje. UV svjetlo je inicijator oksidacije, te se proizvode karbonilne skupine na polimerima, potičući napad mikroorganizama na čestice mikroplastike. S druge strane, izlaganje filmova sunčevoj svjetlosti nije dovoljno za poticanje biorazgradnje, ali ova metoda omogućava rast sojeva na polimerima, kao što je u slučaju *Pleurotus ostreatus*. [35]

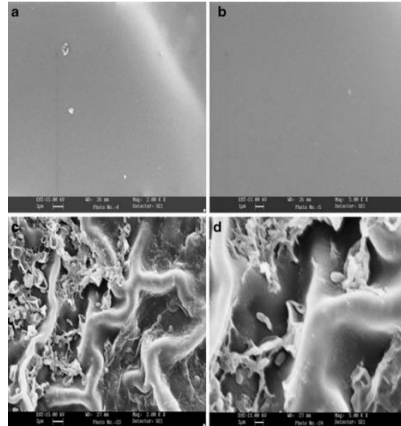
3.2.1. *Aspergillus* sp.

Gljive iz roda *Aspergillus*, odnosno *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus nidulans* i *Aspergillus niger* koriste se za biorazgradnju polietilena. Svojstvo biorazgradnje proizlazi iz sposobnosti da slobodno i obilno rastu u tlu, kao i zbog boljeg vremena inkubacije u odnosu na druge rodove gljiva.

Aspergillus niger razgrađuje HDPE. Uočeno je povećanje rasta gljiva na površini polietilena kada je uzgajanje provedeno pri temperaturi od 30 °C kroz mjesec dana. Nakon 30 dana inkubacije zabilježeno je smanjenje mase od 3,44%, kao i smanjenje vlačne čvrstoće za 61%. SEM analizom uočeno su pukotine na površini polietilena, kao i prodiranje hifa, koje tvore biofilm, što ukazuje na uspješno prijanjanje *A. niger-a* na površinu polietilena. [55]

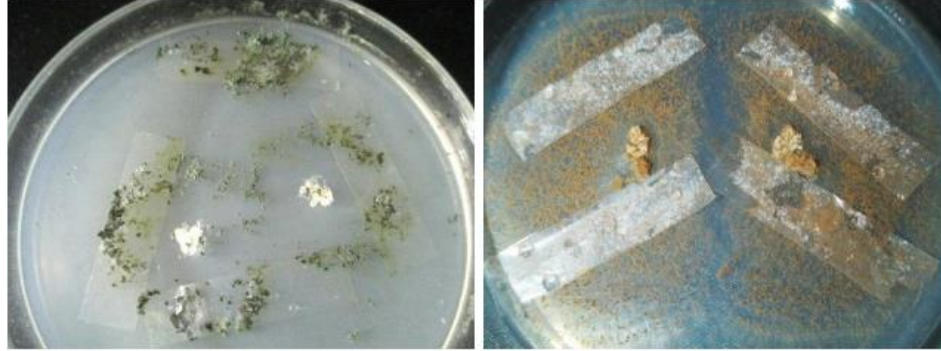
Biorazgradnja uz djelovanje gljiva *Aspergillus flavus* i *Aspergillus nidulans* pokazala je značajnu degradaciju polietilena niske gustoće (LDPE). Analizom kolonizacije, kroz periode od 2, 4 i 6 mjeseci, uz korištenje skenirajućeg elektronskog mikroskopa (SEM) otkriveno je da je došlo do razgradnje polietilena djelovanjem enzima, koji su proizvedeni od ove dvije vrste gljiva. Kod *A. flavus* u razdoblju od 6 mjeseci zabilježeno je smanjenje mase od 20,96 %, dok je kod *A. nidulans* za isto vremensko razdoblje smanjenje mase iznosi 12,63 %. [56] Za razgradnju uzorka PU kroz 30 dana pomoću *A. flavus* zabilježeno je smanjenje težine od 60,6±0,3%. također provedena je i SEM analiza kako bi se proučavao rast *A. flavus* na poliuretanskom filmu. Slika 13. predstavlja rezultate SEM analize, koja pokazuje topografiju površine poliuretanskog uzorka prije i poslije inkubacije s *A. flavus*. Kod kontrolnog uzorka (slika 14. a, b) površina poliuretana je bila glatka, dok morfologija površine poliuretana s *A. flavus* (slika 14. c, d) pokazala je promjene kao što su jame, erozije i tamne mrlje. [57] Uspješna razgradnja LDPE-a zabilježena je primjenom *Aaspergillus oryzae*. Uzorci LDPE-a kroz 3 mjeseca su bila izložena UV zračenju i *A. oryzae* te je zabilježeno smanjenje mase za 47,2%.

Nadalje, provedbom mehaničkog testa uočeno je smanjenje u vlačnoj čvrstoći (za 62%) i postotku produljenja (24%) u usporedbi s čistim LDPE-om.[58] Također, uz pomoć *A. tubingensis* zabilježena je razgradnja PU za 90-95%, uzrokujući oštećenja na filmovima, kao što su erozija, pucanje površina te gubitak vlačne čvrstoće [59].



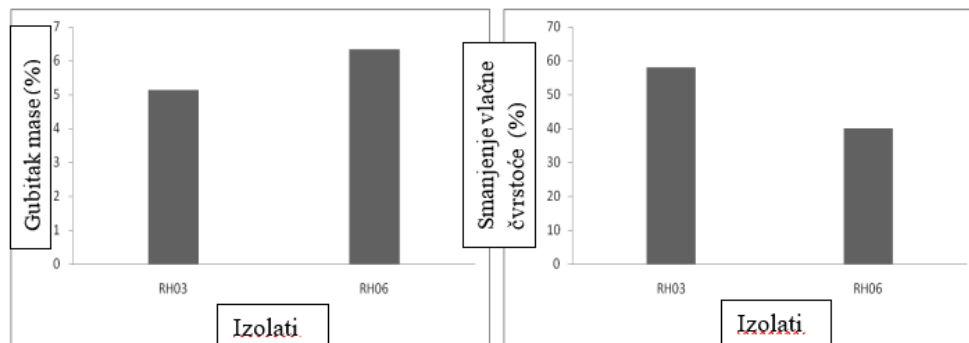
Slika 14. Rezultati SEM analize kod poliuretana prije (a, b) i poslije (c, d) inkubacije sa *A. flavus* [57]

U ispitivanju koje su proveli Munir i suradnici (2018.) provedena je analiza razgradnje LDPE-a sa gljivama izoliranim iz tla lokalnog odlagališta. Dobiveno je devet izolata gljiva, koje su identificirane kao RH01-RH09. Prema morfološkim pojavama uočeno je da većina izolata predstavlja uobičajene kontaminantne gljive. Zatim je ispitana sposobnost rasta izolata u razgradnji LDPE-a u mineralnim solima (MSMB), koji sadrži LDPE prah kao jedini izvor ugljika. Rezultati su pokazali da su dva izolata RH03 i RH06 pokazala spori rast, dok ostali izolati nisu pokazali rast nakon 45 dana inkubacije. Rast RH03 i RH06 u mediju koji sadrži LDPE do kraja uzgoja pokazao je da se oba dva izolata mogu koristiti za proučavanje razgradnje LDPE-a. Slika 15. prikazuje rast izolata nakon 45 dana inkubacije na sobnoj temperaturi ($26\pm 2^{\circ}\text{C}$). [60]



Slika 15. Test biorazgradnje LDPE sa odabranim kulturama nakon 45 dana inkubacije, (lijevo RH03, desno RH06) [60]

Kako je vidljivo na slici 16. (lijevo) obje kulture su smanjile težinu LDPE-a, a sposobnost je bila relativno mala te sličnih vrijednosti. RH03 je smanjio težinu LDPE filma za 5,13%, dok kod RH06 smanjenje iznosi 6,63 % nakon 45 dana od uzgoja. Nadalje, analiza vlačne čvrstoće (slika 16.-desno) pokazala je da su oba izolata smanjila vlačnu čvrstoću LDPE filma. Kod izolata RH03 čvrstoća je smanjena za 58% i 40% za RH06. molekularnom analizom identificirani su uzorci izolata, te je uočeno da potencijalni izolati RH03 i RH06 nalikuju *Trichoderma vride* i *Aspergillus nomius* sa 97% odnosno 96% sličnosti. Iz dobivenih rezultata ovog ispitivanja može se zaključiti da gljive izolirane iz tla odlagališta imaju sposobnost razgradnje LDPE-a. [60]



Slika 16. Profil gubitka težine (lijevo) i smanjenja vlačne čvrstoće (desno) LDPE filma nakon inkubacije s testiranim izolatima tijekom 45 dana [60]

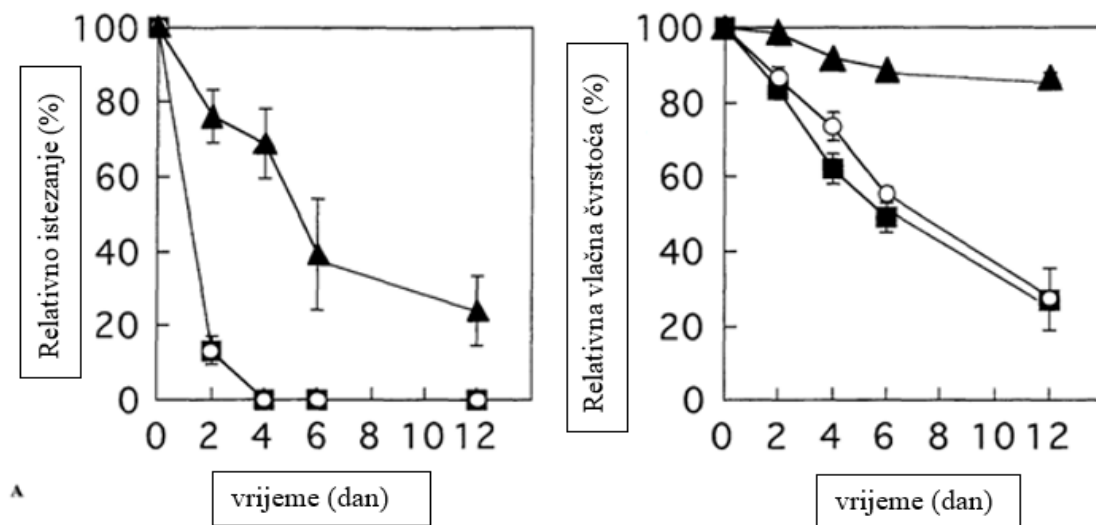
3.2.2. *Penicillium* sp.

Gljive iz roda *Penicillium* imaju važnu primjenu u biorazgradnji mikroplastike. Sowmya i suradnici (2015.) uspjeli su izolirati *Penicillium simplicissimum* iz tla odlagališta te su pratili djelovanje ove gljive na razgradnju polietilena. Razgradnja je provedena korištenjem autoklaviranog, UV tretiranog i površinski steriliziranog polietilena. Učinkovitost *P. simplicissimum* za polietilen pod djelovanjem UV zračenja kao jedinog izvora ugljika bila je puno bolja od autoklavirane i površinske sterilizacije. Razgradnja je praćena gubitkom težine, SEM, FTIR i NMR analizama. Gubitak težine polietilena obrađenog UV zrakama (38%) veći je nego kod autoklaviranog polietilena (16%) i površinski steriliziranog polietilena (7,7%). FTIR rezultati pokazali su stvaranje aldehida, alkohola, karboksilne kiseline, što ukazuje na razgradnju polietilena od strane *P. simplicissimum*-a. NMR analizom uočeno je stvaranje aromatskih protona i CH=CH protona, koji nisu bili prisutni u kontrolnom polietilenu. Enzimi odgovorni za razgradnju polietilena identificirani su kao lakaza i mangan peroksidaza. Ovi enzimi su izolirani iz gljive, a molekularna težina lakaze je bila 66 kDa, a mangan peroksidaze oko 60 kDa. Učinkovitost djelomično pročišćenih enzima za razgradnju polietilena procijenjena je inokulacijom u natrij acetatnom puferu, koji sadrži prethodno izvagane polietilenske diskove. Gubitak težine i FTIR rezultati potvrdili su razgradnju polietilena ovim enzimima. Učinkovitost mangan peroksidaza (0,6%) bila je veća od lakaza (0,5%). Svi ovi rezultati potvrđuju razgradnju polietilena djelovanjem *P. simplicissimum*. [61]

3.2.3. Gljive bijele truleži

Gljive bijele truleži razvile su mehanizme koje koriste lignocelulozu kao supstrat za rast. Ova vrsta gljiva stvara izvanstanične enzime ligin peroksidaza (LiP), mangan peroksidaza (MnP) i lakaza. Iiyoshi i suradnici (1998.) su uočili povezanost ovih enzima u biorazgradnji polietilena. Za razgradnju polietilena koristile su se vrste *Phanerochaete chrysosporium* ME-446, *Trametes vericolor* IFO 7043 i IZU-154. Razgradnja polietilena pratila je se u promjenama relativnog istezanja, relativne vlačne čvrstoće i raspodijele molekulske mase, ovisno o koncentraciji dušika. Uočeno je da se produljenje i vlačna čvrstoća polietilenske membrane drastično smanjila u mediju bez amonijeva sulfata (slika 17.).

Degradacija polietilena djelovanjem IZU-154 u mediju bez dušika pokazuje značajno smanjenje molekulske mase. Ovi podaci ukazuju na to da je promjena mase tijekom djelovanja IZU-154 slična promjenama produljenja. *T. versicolor* pokazuje slične promjene tijekom degradacije kao IZU-154, dok *P. chrysosporium* je pokazao slabiju degradaciju polietilena u odnosu na druge dvije gljive. Pri razgradnji bez glukoze (C-0) najizraženije smanjenje produljenja i vlačne čvrstoće pokazao je IZU-154. [62]



Slika 17. Smanjenje relativnog produljenja (A) i relativne vlačne čvrstoće (B) polietilenske membrane gljivama koje razgrađuju ligin u N-0 mediju; kvadrati-IZU-154; krugovi-*P. chrysosporium*; trokutovi-*T. versicolor* [62]

3.2.4. *Fusarium* sp.

Gljive iz roda *Fusarium* pokazuju uspješnu razgradnju LDPE i PU. Ragavendra i suradnici (2016.) izolirali su autohtone gljive na tlu sa odlagališta otpada u regiji Karnataka u Indiji, kako bi provjerili njihovu sposobnost razgradnje PU i LDPE-a primjenom in-vivo i iv-vitro studija. Veliku aktivnost kod razgradnje pokazale su gljive iz roda *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger* i *Penicillium* sp.. Nakon 60 dana razgradnje smanjenja težine djelovanjem *F. oxysporum* došlo je do smanjenja mase LDPE za 2,79%, dok je smanjenje mase za PUR za isti vremenski period iznosio 0,73%. *Penicillium* sp. pokazao je smanjenje težine za 2,02% , *A. niger* 2,94% za LDPE, dok za PUR vrijednosti iznose 0,52%, odnosno 0,78%.

Mehanička svojstva ispitana su određivanjem vlačne čvrstoće i postotkom istezanja. Među svim gljivičnim vrstama uzorak pod djelovanjem *A. niger* je pokazao najveće istezanje i čvrstoću od 25,5 MPa za LDPE i 12,9 MPa za PUR. [63]

4. ZAKLJUČAK

Iako danas onečišćenje okoliša s mikroplastikom ima sve veću pozornost još uvijek nemamo rješenje za izdvajanje čestica mikroplastike iz okoliša. Kontinuirano ispuštanje mikroplastike trajno oštećuje naše ekosustave i prehrambene lance. Stoga su danas brojna znanstvena istraživanja usmjerena prema novim tehnologijama koje koriste mikroorganizme za razgradnju mikroplastike. Ovaj rad dao je pregled provedenih istraživanja utjecaja gljiva na proces biorazgradnje mikroplastike. Stupanj biorazgradnje polimera određuje se primjenom različitih metoda (TGA, SEM, FTIR) pri čemu se određuje gubitak mase polimera, te vrijednosti vlačne čvrstoće. Dobiveni rezultati ukazuju da učinkovitost razgradnje ovisi o mnogim čimbenicima, kao što su vrsta mikroorganizma, uzorak mikroplastike i medij u kojem je proveden proces razgradnje. Mnoga istraživanja su pokazala učinkovitost pojedinih vrsta gljiva u procesu biorazgradnje mikroplastike. Međutim, nijedno istraživanje nije dokazalo potpunu razgradnju mikroplastike, unutar razumnog vremenskog intervala. Nadalje, veliki problem je što još uvijek ne možemo točno definirati efikasnost pojedinih vrsta gljiva i njihovih enzima za razgradnju određene vrste plastike.

5. LITERATURA

- [1] Du H., Xie Y., Wang J., Microplastic degradation methods and corresponding degradation mechanism: Research status and future perspectives, J. Hazard. Mater. (2021.)
- [2] Elahi Z. A., Bukhari D. A., Shamim S., Rehman A., Plastics degradation by microbes: A sustainable approach, J. King Saud University-Science (2021.)
- [3] Srikanth M., Sandeep T.S., Sucharitha K., Godi S., Biodegradation of plastic polymers by fungi: a brief review, Bioresour. Bioprocess. (2022.)
- [4] Temporiti, M.E.E.; Nicola, L.; Nielsen, E.; Tosi, S. Fungal Enzymes Involved in Plastics Biodegradation. Microorganisms, 10, 1180, (2022.)
- [5] Hrnjak Murgić Z., Prirodni i sintetski polimeri, Interna skripta, Zagreb, (2004.)
- [6] Andričić B., Prirodni i polimerni materijali, Split, (2009.)
- [7] Paxton N., Allenby M., Lewis P., Woodruff M., Biomedical applications of polyethylene, Eur. Polym. J., (2019.)
- [8] <https://hr.differencevs.com/6845112-difference-between-polyolefin-and-polyethylene> (20.03.2021.)
- [9] <https://polymerdatabase.com/polymer%20physics/Branched%20Polymers.html> (20.03.2021.)
- [10] https://en.wikipedia.org/wiki/Polypropylene#Chemical_and_physical_properties (20.03.2021.)
- [11] Soong Y., Sobkowicz M., Xie D., Recent advances in biological recycling of polyethylene terephthalate (PET) plastic wastes, Bioengineering, 9-98, (2022.)
- [12] https://en.wikipedia.org/wiki/Polypropylene#Chemical_and_physical_properties (20.03.2021.)
- [13] <https://sh.wikipedia.org/wiki/Polistiren> (20.03.2021.)
- [14] Leadbitter J., Packaging Materials, Polyvinyl Chloride (PVC) for Food Packaging Applications, Int. J. Life Sci., Washington DC USA, (2003.)
- [15] [https://hr.wikipedia.org/wiki/Poli\(vinil-klorid\)](https://hr.wikipedia.org/wiki/Poli(vinil-klorid)) (20.03.2021.)
- [16] Crawford, C. B., Quinn, B., Microplastic Pollutants: Microplastics, standardisation and spatial distribution, str. 101-130, Amsterdam, (2017.)

- [17] L. M. Rios Mendoza, H. Karapanagioti, N. Ramirez Alvarez, Micro (nanoplastics) in the marine environment: Current knowledge and gaps, *Current Opinon, J. Environ. Sci. Health A.*, str. 47.-51., (2018.)
- [18] Cole, M.; Lindeque, P.; Halsband, C.; Gslloway, T.S., Microplastics as contaminants in the marine environment; A review, *Mar. Pollut. Bull.* 62, str. 2588.-2597., (2011.)
- [19] Koyuncunoglu P., Erden G., Sampling, pre-treatment, and identification methods of microplastics in sewage sludge and their effects in agricultural soils: a review, *Environ. Monit. Assess.*, (2021.)
- [20] Sun J., Dai, X, Wang Q., van Loosdrecht, M.C.M., Ni, B.J., Microplastics in wastewater treatment plants: Detection, occurrence and removal, *Water Res.* 152, str. 21.-37., (2019.)
- [21] <https://microplasticresearch.wordpress.com/what-is-microplastic/> (23.03.2021.)
- [22] Woo, H.; Seo, K.; Choi, Y.; Kim, J.; Tanaka, M.; Lee, K.; Choi, J., Methods of Analyzing Microsized Plastics in the Environment., *Appl. Sci.*, 11, 10640, (2021.)
- [23] Guo, X.; Wang, J., *Mar. Pollut. Bull.* 142., str. 1.-14., (2019.)
- [24] Plastics Europe. Plastics — the Facts 2020: An analysis of European plastics production, demand and waste data (Plastics Europe, 2021)
- [25] Danlian Huang, Jiaxi Tao, Min Cheng, Rui Deng, Sha Chen, Lingshi Yin and Ruijin Li, Microplastics and Nanoplastics in the Environment: Macroscopic Transport and Effects on Creatures, *J. Hazard. Mater.*, (2020.)
- [26] <https://www.grida.no/resources/6929> (20.07.2022.)
- [27] Wu P., Huang J., Zheng Y., Yang Y., Zhang Y., He F., Chen H., Quan G., Yan J., Li T., Gao B., Environmental occurrences, fate, and impacts of microplastics, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 184, (2019.)
- [28] Guo J.J., Huang X.P., Xiang L., Wang Y.Z., Li Y.W., Li H., Cai Q.Y., Mo C.H., Wong M.H., Source, migration and toxicology of microplastics in soil, *Environ. Int.* 137, (2020.)
- [29] Scheurer, M., Bigalke, M., Microplastics in swiss floodplain soils, *Environ. Sci. Technol.* 52, 3591–3598, (2018.)
- [30] Yang, H.; Chen, G.; Wang, J. Microplastics in the Marine Environment: Sources, Fates, Impacts and Microbial Degradation. *Toxics*, 9, 41, (2021.)

- [31] Eriksen, M., Lebreton, L. C. M., Carson, H. S., Thiel, M., Moore, C. J., Borerro, J. C., et al., Plastic pollution in the world's Oceans: more than 5 trillion plastic pieces weighing over 250,000 Tons Afloat at Sea, PLoS ONE, 9(12), (2014.)
- [32] Duis, K., and Coors, A., Microplastics in the aquatic and terrestrial environment: sources (with a specific focus on personal care products), fate and effects. Environ. Sci. Eur. 28:2, (2016.)
- [32] Alam, F.C., Sembiring, E., Muntalif, B.S., et al., Microplastic distribution in surface water and sediment river around slum and industrial area, Chemosphere 224, 637–645., (2019.)
- [33] He, B., Goonetilleke, A., Ayoko, G.A., et al., Abundance, distribution patterns, and identification of microplastics in Brisbane River sediments, Australia. Sci. Total Environ., (2020.)
- [34] Dikareva, N., Simon, K.S., Microplastic pollution in streams spanning an urbanization gradient. Environ. Pollut. 250, 292–299, (2019.)
- [35] Oliveira J, Belchior A, da Silva VD, Rotter A, Petrovski Ž, Almeida PL, Lourenço ND and Gaudêncio SP Marine Environmental Plastic Pollution: Mitigation by Microorganism Degradation and Recycling Valorization. Front. Mar. Sci., (2020.)
- [36] Sanghyeon K., Aebin S., Heeyeon N., Yeji P., Haesung L., Changseok H., Advanced oxidation processes for microplastics degradation: A recent trend, Chem. Eng. J., (2022.)
- [37] Zrnčević S., Farmaceutici i metode obrade otpadne vode iz farmaceutske industrije, Hrvatske vode 24 (96), 119-136., (2016.)
- [38] Kušić H., Koprivanac N., Selanec I., Fe-exchanged zeolite as the effective heterogeneous Fenton-type catalyst for the organic pollutant minimization:UV radiation assistance, Chemosphere 65, 65-73, (2006.)
- [39] Vujević D., Uklanjanje organskih tvari iz obojenih otpadnih voda primjenom naprednih oksidacijskih procesa, Disertacija, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, (2007.)
- [40] <http://www.h2o2.com/pages.aspx?pid=143&name=General-Chemistry-of-Fenton-s-Reagent> (06.04.2022.)
- [41] Hu. K., Zhou P., Yang Y., Hall T., Nie G., Yau Y., Duan X., Wang S., Degradation of Microplastics by a Thermal Fenton Reaction, ACS EST Engg, (2021.)
- [42] Fitri A.N., Amelia D., Karamah E.F., The effect of Ozonation on the chemical structur of microplastics, IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng., (2021.)

- [43] J. Wang, R. Zhuan, Degradation of antibiotics by advanced oxidation processes: An overview, *Sci. Total Environ.*, (2019.)
- [44] https://hr.wikipedia.org/wiki/Titanijev_dioksid (06.04.2022.)
- [45] Uheida A., Mejia H.G., Abdel-Rehim M., Hamd W., Dutta J., Visible light photocatalytic degradation of polypropylene microplastics in a continuous water flow system, *J. Hazard. Mater.*, (2021.)
- [46] Košutić K.; *Fizikalna kemija 2.: Zbirka nastavnih tekstova za student FKIT-a*
- [47] Artioli Y., *Encyclopedia of Ecology*, Academic press, Padua, 60.-65., (2008.)
- [48] Yuan F., Yue L., Zhao H., Wu H., Study on the adsorption of polystyrene microplastics by three-dimensional reduced graphene oxide, *Water Sci. Technol.*, (2020.)
- [49] Gurses A., Gunes K., Sahin E., *Green Chemistry and Water Remediation: Chapter 5- Removal of dyes and pigments from industrial effluents*, 135-187, (2021.)
- [49] M., Khajeh, A. & Mesbah, M. Membrane filtration of wastewater from gas and oil production., *Environ. Chem, Lett.* **16**, 367–388 (2018)
- [50] Pizzichetti A. R. P., Pablos C., Alvarez C., Reynolds K. Stanley S., Marzgan J., Evaluation of membranes performance for microplastic removal in a simple and low cost filtration system, *J. Environ. Chem. Eng 3: Case Studies*, (2021.)
- [51] Tokiwa, Y., Calabia, B. P., Ugwu, C. U., Aiba, S., Biodegradability of plastics., *Int. J. Mol. Sci.*, 10, 3722 – 3742., (2009.)
- [52] Gorrasi G., Pantani R., Hydrolysis and Biodegradation of Poly(lactic acid), *Adv Polym Sci.*, (2017.)
- [53] Miloloža M., Cvetnić M., Kučić Grgić D., et., Biotreatment strategies for the removal of microplastics from freshwater systems. A review, *Environ Chem Lett*, 20, 1377-1402 (2022.)
- [54] Iiyoshi Y., Tsutsumi Y., Nishida T., *J. Wood Sci.*, 44, 222-229., (1998.)
- [55] Mathur G., Mathur A., Prasad R., Colonization and Degradation of Thermally Oxidized High-Density Polyethylene by *Aspergillus niger* (ITCC No. 6052) Isolated from Plastic Waste Dumpsite, *Bioremediat J.*, (2011.)
- [56] Usha R., Sangeetha T., Palaniswamy M., Screening of Polyethylene Degrading Microorganisms from Garbage Soil, *Libyan Agriculture Research Center Journal International* 2, 200.-204. str., (2011.)

- [57] Mathur G., Prasad R., Degradation of Polyurethane by *Aspergillus flavus* (ITCC 6051) Isolated from Soil, *Appl Biochem Biotechnol*, (2012.)
- [58] Konduri M. K. R., Koteswarareddy G., Rohini Kumar D. B., Reddy B. V., Lakshmi Narasu M., Effect of Pro-Oxidants on Biodegradation of Polyethylene (LDPE) by Indigenous Fungal Isolate, *Aspergillus oryzae*, *J. Appl. Polym. Sci.*, (2011.)
- [59] Khan, S., Nadir, S., Shah, Z. U., Shah, A. A., Karunarathna, S. C., Xu, J., et. al., Biodegradation of polyester polyurethane by *Aspergillus tubingensis*. *Environ. Pollut.* 225, 469–480., (2017.)
- [60] Munir E., Harefa R.S.M., Priyani N., Suryanto D., Plastic degrading fungi *Trichoderma viride* and *Aspergillus nomius* isolated from local landfill soil in Medan, *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.*, (2018.)
- [61] Sowmya H.V., Ramalingappa, Krishnappa M., Thippeswamy B., Degradation of polyethylene by *Penicillium simplicissimum* from local dumpsite of Shivamogga district, *Environ Dev. Sustain*, 731,745 str., (2015.)
- [62] Iiyoshi Y., Tsutsumi Y., Nishida T., Polyethylene degradation by ligin-degrading fungi and manganese peroxidase, *J. Wood Sci.* 44,222-229 (1998.)
- [63] Raghavendra V.B., Uzma M., Govindappa M., Vasantha R.A., Lokesh S., Screening and identification of polyurethane (PU) and low density polyethylene (LDPE) degrading soil fungi isolated from municipal solid waste; *Int. J. Curr. Res.*, 8, (07), 34753-34761, (2016.)