

# Semi-kvantitativne metode karakterizacije mikroplastike u vodenom mediju

---

**Kveder, Ida**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2020**

*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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:022630>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-17**



*Repository / Repozitorij:*

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE  
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Ida Kveder

**ZAVRŠNI RAD**

Zagreb, srpanj 2020.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE  
POVJERENSTVO ZA ZAVRŠNE ISPITE

Kandidatkinja   **Ida Kveder**  

Predala je izrađen završni rad dana:   7. srpnja 2020.  

Povjerenstvo u sastavu:

Izv. prof. dr. sc. Šime Ukić, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu

Dr. sc. Marko Racar, asistent, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu

Prof. dr. sc. Sanja Martinez, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Sveučilište u Zagrebu

povoljno je ocijenilo završni rad i odobrilo obranu završnog rada pred povjerenstvom u istom sastavu.

Završni ispit održat će se dana:   10. srpnja 2020.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE  
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Ida Kveder

SEMI-KVANTITATIVNE METODE KARAKTERIZACIJE MIKROPLASTIKE U  
VODENOM MEDIJU

ZAVRŠNI RAD

Voditelj rada: izv. prof. dr. sc. Šime Ukić

Članovi ispitnog povjerenstva: izv. prof. dr. sc. Šime Ukić  
dr. sc. Marko Racar  
prof. dr. sc. Sanja Martinez

Zagreb, srpanj 2020.

*Ovaj rad je izrađen 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.*

*Ponajprije, zahvaljujem se svojem mentoru izv. prof. dr. sc. Šimi Ukiću, na vodstvu prilikom izrade ovog završnog rada.*

*Također, zahvaljujem se i Viktoriji Prevarić, mag. ing. cheming., na pomoći i savjetima pruženima tijekom izrade rada.*

*Naposljetku, zahvaljujem se obitelji i svima koji su mi bili podrška kroz dosadašnje godine studija.*

## Sažetak

Plastika je izdržljiv, čvrst materijal visoke kakvoće i niske cijene proizvodnje. Sveprisutnost mikroplastike u vodenom okolišu posljedica je masovne proizvodnje plastike. Kada plastični predmet izgubi svoju funkciju, postaje otpad i vrlo često u konačnici završi u vodi gdje može plutati na površini, lebdjeti ili se slegnuti na dno.

Kvantitativne metode su metode koje prikupljaju i analiziraju podatke s ciljem dobivanja brojčanog opisa predmeta istraživanja. Karakterizacija vrste plastike (veličina, oblik, vrsta polimera) otežana je ukoliko se koristi samo jedna analitička metoda. Stoga se često kombiniraju više od dvije tehnike.

Proučavanjem mikroplastike u biotskom i abiotskom okolišu dobiva se status i razina zagađenja te izloženost organizama zagađenju. Negativna osobina plastike jest sposobnost adsorpcije toksičnih tvari na površini – vodeni organizmi gutaju plastiku iz vode čime ona (a time i potencijalno toksične supstance) ulazi u prehrambeni lanac.

U ovom radu bit će dan pregled najčešćih vrsta mikroplastike te kvantitativnih metoda njihove karakterizacije u vodenim ekosustavima.

**Ključne riječi:** mikroplastika, kvantitativne metode, vodeni okoliš

## Summary

Plastic is a durable, solid material of high quality and low production cost. The ubiquity of microplastics in the aqueous medium is due to the mass production of plastics. When plastics becomes a waste, it often ends in the aquatic environment where it can float or settle to the bottom.

Quantitative methods are methods that collect and analyze data in order to obtain a numerical description of the analyzed subject. Characterization of the type of plastic (size, shape, type of polymer) is difficult if only one analytical method is used. Therefore, more than two techniques are usually combined.

The level of environment pollution and of the exposure of organisms can be obtained by studying microplastics in biotic and abiotic environment. The negative property of plastics is the ability to adsorb toxic substances on the surface – aquatic organisms ingest microplastics and thus plastics enter the food chain.

This paper will provide an overview of the most common types of microplastics and quantitative methods used for their characterization in aquatic ecosystems.

**Key words:** microplastics, quantitative methods, aquatic environment



# Sadržaj

1.	Uvod.....	1
2.	Mikroplastika .....	2
2.1.	Općenito.....	2
2.2.	Vrste plastike i njihove karakteristike .....	4
2.2.1.	Polietilen, (C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> ) <sub>n</sub> .....	5
2.2.2.	Polipropilen, (C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> ) <sub>n</sub> .....	5
2.2.3.	Polivinil klorid, (C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> Cl) <sub>n</sub> .....	5
2.2.4.	Poliuretan .....	6
2.2.5.	Polistiren, (C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> ) <sub>n</sub> .....	6
2.2.6.	Polietilen tereftalat, (C <sub>10</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub> ) <sub>n</sub> .....	7
3.	Metode za semi-kvantitativno određivanje .....	8
3.1.	Raman spektroskopija.....	8
3.2.	FTIR spektrofotometrija .....	11
3.3.	SEM/EDS spektroskopija .....	14
3.4.	Piroliza-GC-MS metoda .....	17
4.	Primjena spomenutih semi-kvantitativnih metoda.....	20
4.1.	Raman spektroskopija.....	20
4.2.	FTIR spektrofotometrija .....	21
4.3.	SEM/EDS mikroskopija .....	22
4.4.	Piroliza-GC-MS .....	24
5.	Zaključak.....	25
6.	Literatura .....	26
	Životopis.....	31

# 1. Uvod

Mikroplastika je sintetski organski polimer veličine čestica 0,001 – 5 mm. Trenutno postoje dvije kategorije u koje možemo svrstati mikroplastiku prema veličini čestica, a to su „velike“ (1 mm – 5 mm) i „male“ (<1 mm).<sup>1,2</sup> Primarna mikroplastika dominantna je u kozmetičkim proizvodima, dok sekundarna mikroplastika u vodene sustave dopire fragmentacijom bilo koje plastične robe ili plastičnog otpada.<sup>3,4</sup> Razgrađena mikroplastika istog je sastava kao i plastika od koje potječe.

Široka ekološka prisutnost i štetni biološki učinci mikroplastike veliki su problem današnjice. Raspadom plastike čestice postaju više bioraspoložive za male vodene organizme. Vlakna mikroplastike rasprostranjena su u vodi, sedimentu i fauni.

Mikroskopskom analizom mikroplastike dobiva se uvid u njena fizička svojstva (veličina, oblik), dok za potvrdu kemijskih svojstava (vrsta polimera) analitičari koriste spektroskopske metode. Svaka metoda i kombinacija metoda imaju svoje prednosti i nedostatke. Budući da je istraživanje mikroplastike novo područje, analitičke metode identifikacije i kvantifikacije još su u fazi razvoja.

## 2. Mikroplastika

### 2.1. Općenito

Mikroplastika se najčešće definira kao čestice ili vlakna promjera  $<5$  mm koje se sastoje od polimera. Donja granica veličine čestica još nije definirana, ali izraz „mikro“ podrazumijeva  $1\ \mu\text{m}$ . Unatoč tome, većina studija istraživala je čestice  $>300\ \mu\text{m}$ .<sup>5</sup> Donja granica se u većini slučajeva određuje veličinom mrežice sita ili mreže koja se koristi za filtriranje uzoraka te primjenom spektralne i optičke analize za identifikaciju.<sup>5,6</sup>

Glavna značajka ovih materijala proizlazi iz njihove etimologije: riječ plastika potječe od grčke riječi *plastikos* (πλαστικός) koja označava sposobnost oblikovanja, ili *plastos* (πλαστός) što znači oblikovati.<sup>7</sup> Iz toga slijedi još jedna definicija plastike prema kojoj je plastika materijal napravljen od velikog broja polusintetskih ili sintetskih organskih spojeva koji se mogu oblikovati dok su mekani, a zatim se postavljaju u vrlo krut ili blago elastičan oblik.<sup>8</sup>

Ovisno o stvarnom izvoru, mikroplastika se klasificira kao primarna i sekundarna.<sup>3</sup> Primarna mikroplastika milimetarske ili submilimetarske je veličine, a može se naći u kućanskim predmetima, osobnim higijenskim proizvodima, poput sredstava za čišćenje lica, paste za zube i pilinga i u manjoj mjeri u medicini.<sup>4</sup> Primjerice, procijenjeno je da oko 6% tekućih proizvoda za čišćenje kože koji se prodaju u Europskoj uniji, Švicarskoj i Norveškoj sadrže mikroplastiku, od čega se preko 93% sastoji od polietilena.<sup>10</sup> Mikroplastika iz takvih proizvoda dospjeva u okoliš putem sustava za prikupljanje i pročišćavanje otpadnih voda.<sup>11</sup>

Još jedan ključan izvor primarne mikroplastike su sirovine koje se koriste u proizvodnji plastičnih proizvoda. Akumuliraju se u okoliš slučajnim gubitkom, neadekvatnim rukovanjem, otjecanjem iz postrojenja za preradu ili bacanjem ostataka od proizvodnje plastičnih materijala.<sup>12,13</sup>

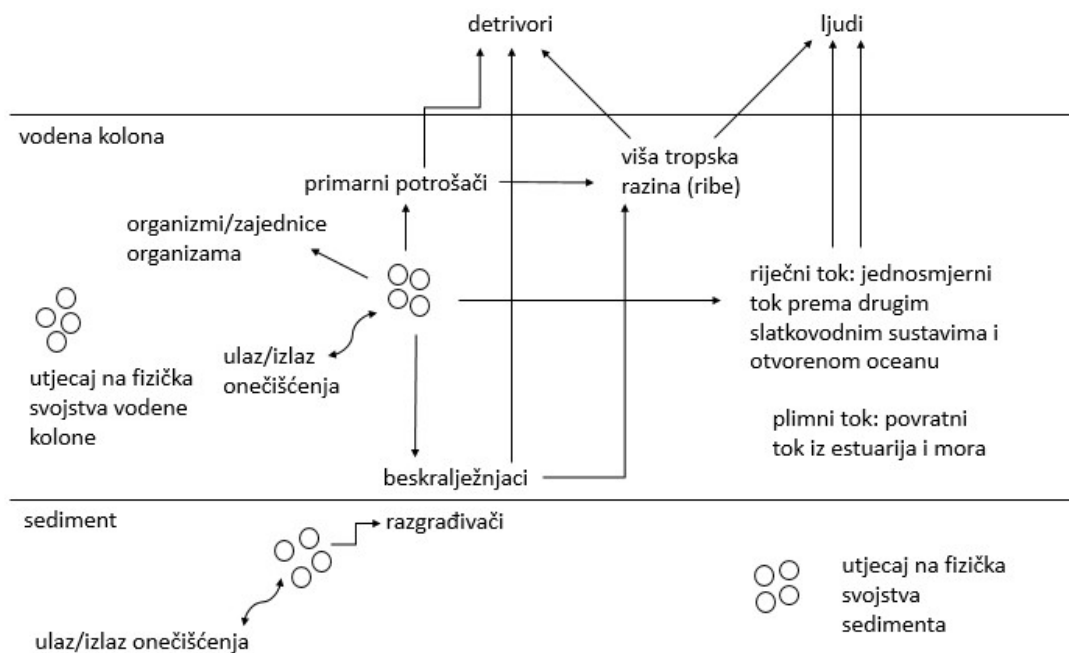
Sekundarna mikroplastika nastaje raspadom većih plastičnih čestica. Polimerne čestice podložne su fizikalnim, kemijskim i biološkim procesima koji kulminacijom uzrokuju smanjenje strukturnog integriteta plastičnih otpada, što dovodi do njihove fragmentacije. Do fragmentacije može doći i prije ulaska plastike u okoliš, primjerice sintetička vlakna koja se ispuštaju tijekom pranja odjeće.<sup>4</sup>

**Tablica 1.** Glavni izvori primarne i sekundarne mikroplastike<sup>14</sup>

Primarna mikroplastika	Proizvodi za osobnu higijenu
	Specifični medicinski proizvodi; zubni lak
	Industrijski abrazivi
	Tekućine za bušenje
	Sirovine za proizvodnju plastike; procesni potproizvodi
Sekundarna mikroplastika	Smeće, odlaganje plastičnog otpada
	Abrazivi na odlagalištima otpada i postrojenjima za reciklažu
	Nepažljivo rukovanje plastičnim ribolovnim alatom
	Smeće generirano brodovima i u brodskim lukama, smeće odloženo nakon rekreativnih aktivnosti
	Plastični materijal prisutan u organskom otpadu
	Boje koje sadrže sintetičke polimere/abrazive tijekom uklanjanja boje
	Polimeri koji se koriste u aditivima za kompostiranje
	Vlakna ispuštena iz higijenskih proizvoda
	Vlakna ispuštena iz sintetičkog tekstila

Veći je broj faktora koji utječu na količinu mikroplastike u slatkovodnom okruženju. Osim fizičkih sila, utjecaj ima i gustoća naseljenosti područja u blizini oceana, blizina urbanih središta, vrijeme zadržavanja vode, veličina oceana, način gospodarenja otpadom te izljev kanalizacije.<sup>15,16</sup>

Kod morskih organizama slučajno gutanje velikih plastičnih predmeta može uzrokovati gušenje, unutarnje ili vanjske rane, čireve, blokirani probavni trakt, lažni osjećaj sitosti, oslabljenu sposobnost hranjenja, izgladnjivanje, oslabljenje, ograničenu sposobnost izbjegavanja grabežljivaca ili čak smrt.<sup>17,18</sup> Osim što ima izravnu interakciju s organizmima, mikroplastika u vodenim staništima može imati veliki utjecaj u interakciji s abiotskom okolinom ili posredni učinak na biotske zajednice ili ekosustave.<sup>19</sup>



**Slika 1.** Shematski prikaz potencijalnih prijenosnih puteva mikroplastike u slatkovodnim sustavima<sup>19</sup>

Izvor primarne mikroplastike u vodenom okolišu jest kanalizacija, a odnosi se na polietilenske, polipropilenske i polistirenske čestice iz sredstava za čišćenje i kozmetike.<sup>20-22</sup> Prah od plastičnih smola ili peleta u industrijskoj zoni<sup>21,23</sup> te sirovine korištene za proizvodnju plastičnih masa<sup>24,25</sup> također su izvor primarne mikroplastike u vodenom okolišu.

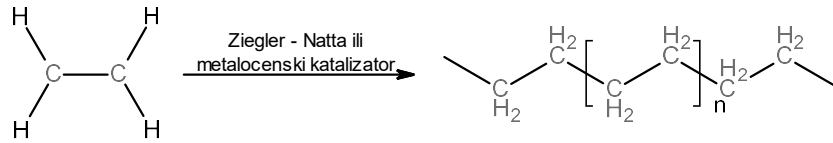
Sekundarna mikroplastika nastaje prilikom raspada većih plastičnih predmeta, međutim do raspada može doći i prije nego što plastika dospije u vodeni okoliš. Do potonjeg može doći u dva slučaja: oslobađanjem sintetičkih vlakana prilikom pranja odjeće<sup>26</sup> odnosno razornim djelovanjem vremenskih uvjeta.<sup>27,28</sup> Vlakna su najčešće izrađena od poliester, akrila i poliamida, a mogu doseći i do 100 vlakana po litri otpadne vode.<sup>26,29</sup>

## 2.2. Vrste plastike i njihove karakteristike

Na globalnoj razini se 2012. proizvelo 288 Mega Tona (Mt) plastike (Europa 58 Mt, SAD 57 Mt) te se ta proizvodnja u posljednjih 60 godina iznimno povećala. Navedeni brojevi odnose se uglavnom na polimere velikog volumena poput polietilena (PE), polipropilena (PP), polivinilklorida (PVC), poliuretana (PU), polistirena (PS) i polietilen tereftalata (PET). Ukoliko se u obzir uzmu i vlakna od PET, poliamida (PA) i poliakrila, ukupna tonaža još je veća.<sup>30</sup>

### 2.2.1. Polietilen, (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)<sub>n</sub>

Polietilen se dobiva dodavanjem ili radikalnom polimerizacijom etilen (olefinskih) monomera uz prisutnost Ziegler – Natta ili metalocenskih katalizatora.

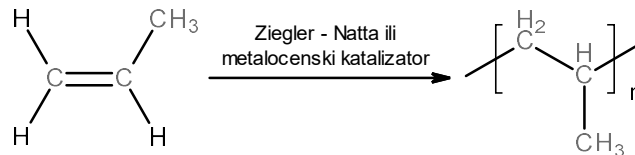


**Slika 2.** Dobivanje polietilena radikalskom polimerizacijom uz katalizator

Najveću primjenu polietilen nalazi u ambalaži, potrošačkoj robi, vlaknima i tekstilu<sup>31</sup>, vrećicama i plastičnim bocama.<sup>32</sup>

### 2.2.2. Polipropilen, (C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>)<sub>n</sub>

Polipropilen se dobiva polimerizacijom monomera propena formule C<sub>3</sub>H<sub>6</sub> uz prisutnost Ziegler – Natta ili metalocenskog katalizatora.

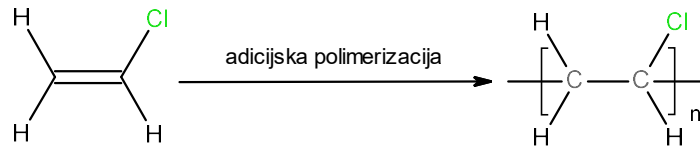


**Slika 3.** Polimerizacija propena

Koristi se u automobilskoj industriji, za proizvodnju potrošačke robe i namještaja<sup>33</sup>, sastavni je dio ambalaže, čepova za boce, užadi, tepiha, laboratorijske opreme i slamki za piće.<sup>32</sup>

### 2.2.3. Polivinil klorid, (C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>Cl)<sub>n</sub>

Monomer vinil klorida dobiva se kloriranjem etilena i pirolizom nastalog etilen-diklorida u komori za krekiranje, a njegovom polimerizacijom nastaje polivinil klorid.<sup>34</sup>

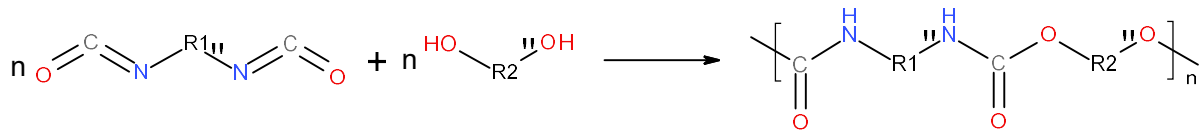


**Slika 4.** Dobivanje polivinil klorida<sup>34</sup>

PVC se koristi za proizvodnju cijevi, okvira prozora, podova te zavjesa za tuširanje.<sup>32</sup>

#### 2.2.4. Poliuretan

Poliuretan spada u grupu polimernih materijala koji se bitno razlikuju od većine ostalih plastičnih masa po tome što ne postoji uretanski monomer te polimer gotovo uvijek nastaje tijekom proizvodnje  $[-RNHCOO-]_n$  jedinice. Proizvodnja poliuretana je egzotermna reakcija između alkohola s dvije ili više reaktivnih hidroksilnih grupa po molekuli (dioli, trioli, polioli) i izocijanata s više od jedne reaktivne izocijanatne skupine ( $-NCO$ ) po molekuli (diizocijanati, poliizocijanati).

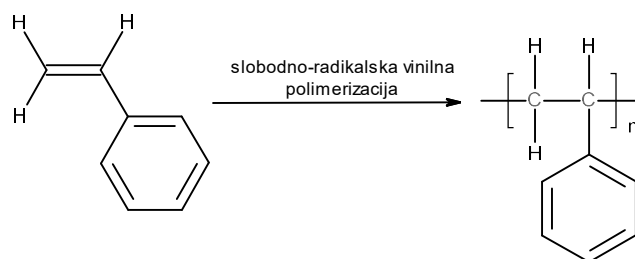


**Slika 5.** Shematski prikaz nastajanja poliuretana

Koristi se za izradu konstrukcija, kao izolacija, u automobilskoj industriji i proizvodnji namještaja. Sastavni je dio elastomera, adheziva, brtvila i premaza. Poliuretan se može naći i u cipelama, vlaknima, madracima, jastucima te u sjedalima automobila.<sup>35</sup>

#### 2.2.5. Polistiren, $(C_8H_8)_n$

Radi se o vinilnom polimeru koji je po strukturi dug ugljikovodični lanac s fenilnom skupinom vezanom za svaki drugi atom ugljika. Nastaje slobodnom radikalnom polimerizacijom vinila od monomera stirena.



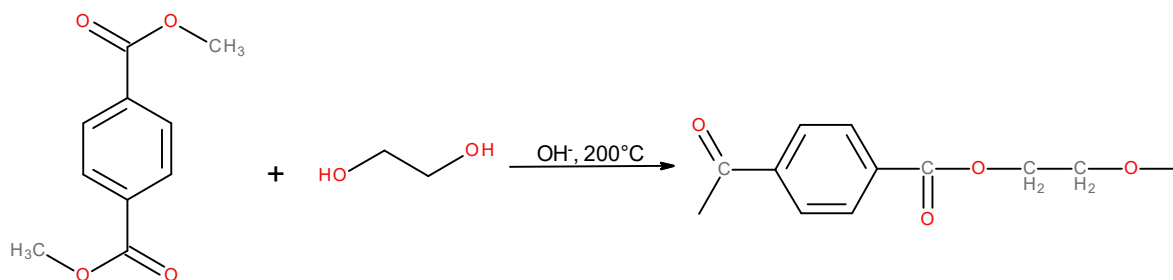
**Slika 6.** Radikalna polimerizacija stirena

Polistiren se koristi za izradu vanjskog kućišta računala, automobila i zrakoplova, sastavni je dio pjenaste ambalaže za izolaciju, prozirnih šalica za piće, lijevanih dijelova na unutrašnjosti automobila. Može se naći u igračkama, kućestima za stvari (sušilo za kosu, računalo, kuhinjski uređaji)<sup>36</sup>, posudama za hranu, CD-ima i građevinskim materijalima.<sup>32</sup>

#### 2.2.6. Polietilen tereftalat, (C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>)<sub>n</sub>

PET je alifatski poliester. Nastaje reakcijom polikondenzacije monomera:

- Esterifikacijom između tereftalne kiseline i etilen glikola
- Trans-esterifikacijom između etilen glikola i dimetil tereftalata



**Slika 7.** Esterifikacija između tereftalne kiseline i etilen glikola

Primjenu nalazi u plastičnim bocama, posudama za kozmetiku, posudicama za mikrovalnu pećnicu te u izradi prozirnih filmova.<sup>37</sup> Dosta česta je primjena i u bocama bezalkoholnih pića, ambalaži za hranu te kao toplinska izolacija.<sup>32</sup>

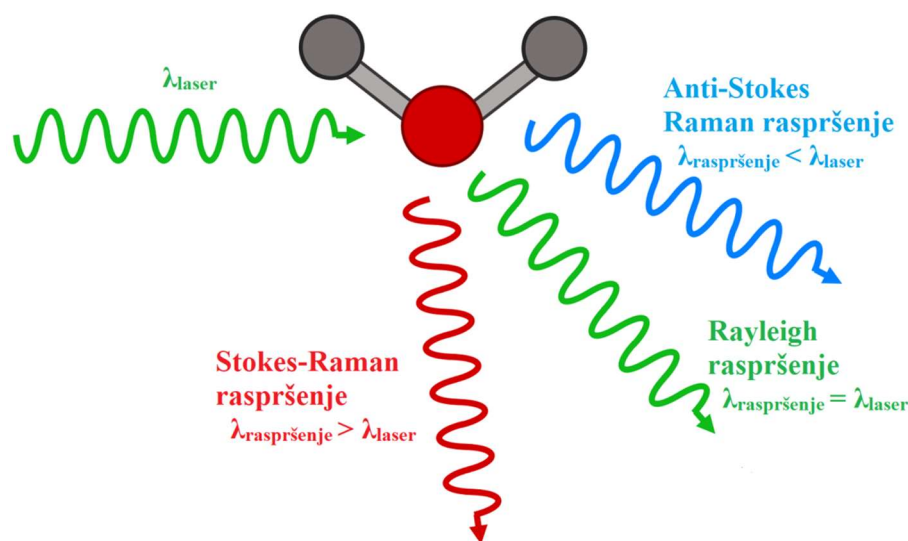


### 3. Metode za semi-kvantitativno određivanje

#### 3.1. Raman spektroskopija

Raman spektroskopija je analitička tehnika u kojoj se raspršena svjetlost koristi za mjerenje vibracijskih stanja energije uzorka. Ime je dobila po indijskom fizičaru C.V. Ramanu koji je zajedno sa svojim asistentom K.K. Krishnanom prvi opazio Ramansko rasipanje 1928. godine.<sup>38</sup>

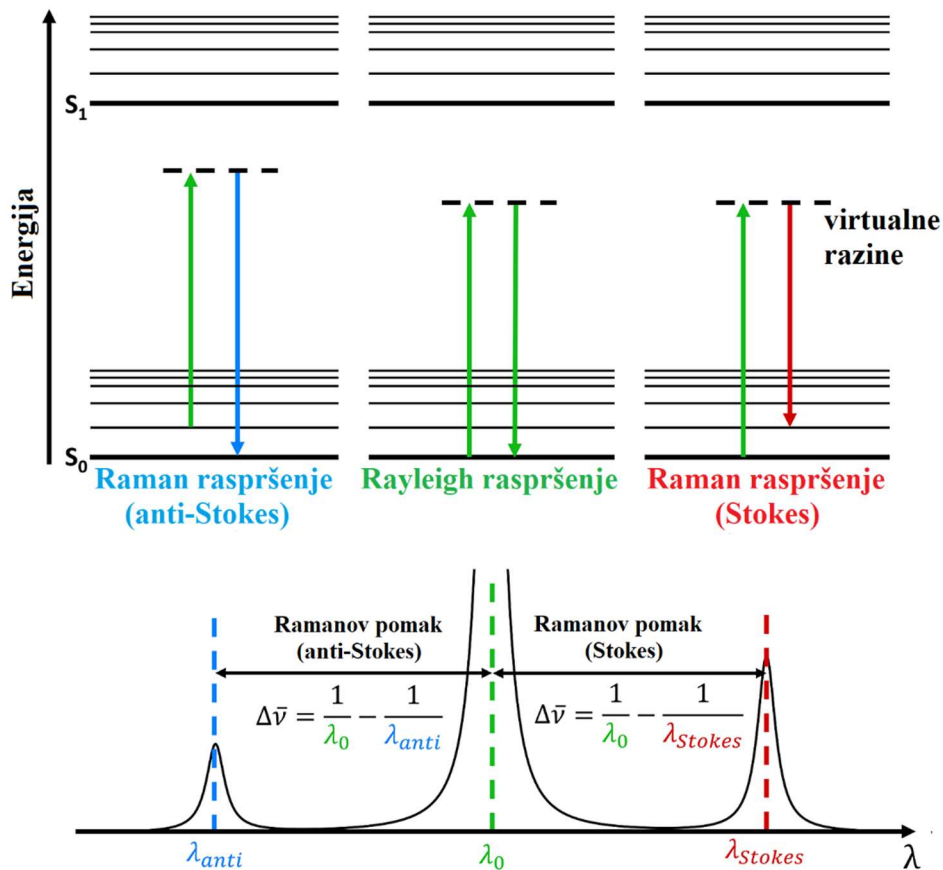
Tehnika daje informacije o strukturi i kemijskim svojstvima te mogućnost identifikacije tvari kroz karakteristični Ramanov „otisak prsta“. Kada se svjetlost raspršuje molekulom, oscilirajuće elektromagnetsko polje fotona inducira polarizaciju molekulskog elektronskog oblaka posljedica čega je povišeno energetska stanje molekule. Prilikom toga formira se kratkoživući kompleks foton-molekula koji se naziva virtualnim stanjem molekule. Budući da se radi o izrazito nestabilnom kompleksu, foton se gotovo odmah emitira kao raspršena svjetlost.



**Slika 8.** Vrste Ramanova raspršenja kao posljedica interakcije svjetlosti i molekule

U većini slučajeva, energija molekule ostaje nepromijenjena nakon interakcije s fotonom. Energija, a samim time i valna duljina raspršenog fotona jednaka je energiji ulaznog fotona. To se naziva elastično (očuvana je energija raspršivanja čestica) ili Rayleighovo raspršivanje. Rjeđe (otprilike na 1 u 10 milijuna fotona)<sup>39</sup> dolazi do Ramanova rasipanja, što je neelastičan proces raspršivanja prilikom čega dolazi do prijenosa energije između molekule i raspršenog fotona. Ukoliko molekula primi energiju od fotona prilikom rasipanja biti će

pobuđena na višu energetska razinu. Istu energiju koju molekula primi, foton gubi, posljedica čega je povećanje njegove valne duljine te tada govorimo o Stokes Ramanovom raspršenju (G.G. Stokes). U suprotnome govorimo o anti-Stokes Ramanovom raspršenju, prilikom kojeg se molekula spušta na nižu energetska razinu i gubi energiju, a raspršeni foton tu istu energiju prima pa analogno slijedi da se njegova valna duljina smanjuje.



**Slika 9.** Dijagram Jablonskog za anti-Raman Stokes, Rayleigh i Raman-Stokes raspršenje

Iz prethodnog slijedi da valna duljina Ramanove raspršene svjetlosti ovisi o valnoj duljini pobuđene svjetlosti. Radi toga je Ramanova valna duljina nepraktičan broj za usporedbu spektara dobivenih pomoću različitih lasera. Ramanov položaj rasipanja pretvara se u Ramanov pomak prema sljedećoj relaciji:

$$\Delta\bar{\nu} = \left( \frac{1}{\lambda_0} - \frac{1}{\lambda_1} \right) \quad (1)$$

gdje je  $\Delta\bar{\nu}$  – valna duljina Ramanova pomaka ( $\text{cm}^{-1}$ )

$\lambda_0$  – valna duljina lasera za pobuđivanje (nm)

$\lambda_1$  – valna duljina Ramanova raspršenja (nm).

Slika 9. prikazuje način na koji se mjeri razlika u energijama između vibracijskih razina molekule. Ljestvice vibracijskih razina namijenjene su jednom vibracijskom nivou molekule. Poliatomske molekule imaju mnogo vibracijskih nivoa, gdje svaki ima svoje ljestvice vibracijskih razina.

Za nelinearne molekule s N brojem atoma vrijedi relacija:

$$\text{broj vibracijskih nivoa} = 3N - 6 \quad (2)$$

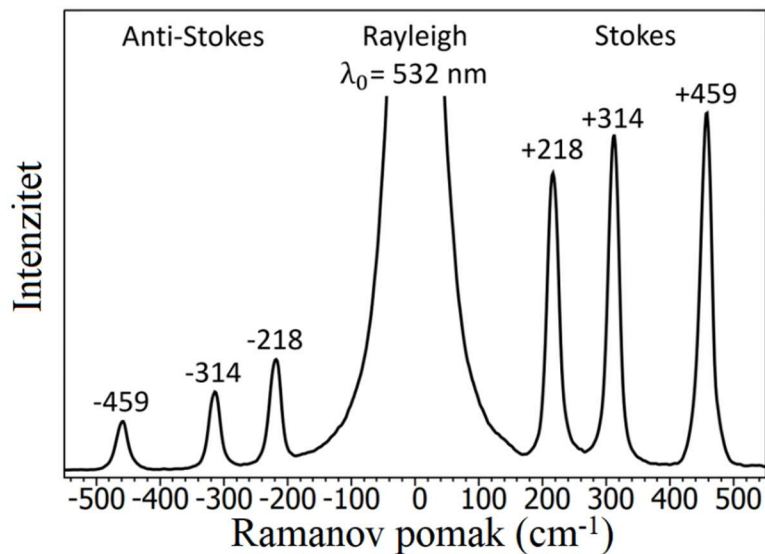
$3N$  predstavlja ukupni stupanj slobode molekule, a od njega se oduzima 6 stupnjeva slobode – 3 translacijska i 3 rotacijska.

Linearne molekule imaju jedan stupanj slobode manje iz čega analogno slijedi:

$$\text{broj vibracijskih nivoa} = 3N - 5 \quad (3)$$

Raman spektroskopija nije primjenjiva kod detekcije svih molekula. Da bi se mogla mjeriti vibracija molekule, ona mora biti „Raman aktivna“ što se postiže promjenom molekulske polarizibilnosti tijekom vibracije.

Na slici 10. prikazan je primjer Ramanova spektra. Ugljikov tetraklorid ( $\text{CCl}_4$ ) tetraedarska je molekula s tri izražena Ramanova aktivna vibracijska stanja u području valova od  $100 \text{ cm}^{-1}$  do  $500 \text{ cm}^{-1}$  (na  $780 \text{ cm}^{-1}$  postoji dodatni pik koji ovdje nije prikazan). U središtu spektra nalazi se pik Rayleighovog raspršenja na laserskoj valnoj duljini ( $\lambda_0=532 \text{ nm}$ ). Taj pik milijun je puta intenzivniji od Ramanskog rasipanja i zbog toga ga normalno blokira urezani ili rubni filter na Ramanovu spektrometru, ali je ovdje uključen radi jasnoće. S obje strane Rayleighovog vrha nalaze se tri Stokes i tri anti-Stokes pika koji odgovaraju trima najintenzivnijim Ramanovim aktivnim vibracijama za  $\text{CCl}_4$ . Anti-Stokes linije znatno su slabije od Stokes linija zbog veće populacije molekula u osnovnoj vibracijskoj razini svakog nivoa.  $\text{CCl}_4$  ima jedan od najjednostavnijih spektara, ali isti princip vrijedi za sve uzorke: Ramanska spektroskopija koristi se za mjerenje jedinstvenog vibracijskog otiska uzorka i na temelju tih podataka utvrđuju se kemijska, strukturna i fizička svojstva.



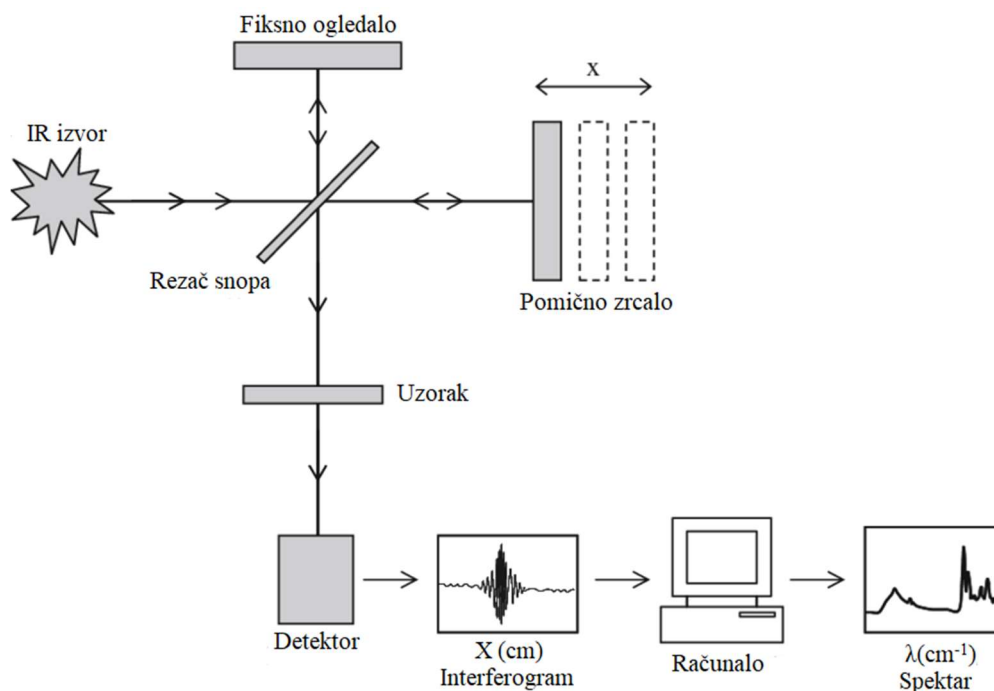
**Slika 10.** Ramanov spektar za CCl<sub>4</sub> snimljen pomoću lasera na 532 nm<sup>40</sup>

Spektar sadrži brojne pikove prikazujući tako intenzitet i položaj valne duljine Ramanove svjetlosti. Svaki pik odgovara specifičnoj vibraciji molekulske veze, uključujući pojedinačne veze kao što su C-C, C=C, N-O, C-H...

Raman spektroskopija koristi se i za mikroskopsku analizu (čestice veličine 0,5 – 1  $\mu\text{m}$ ). Analiza se vrši Ramanovim mikroskopom. Mikroskop je kombinacija Ramanova spektrometra i standardnog optičkog mikroskopa što omogućava vizualizaciju uzorka pri visokom uvećanju i Ramanovu analizu s mikroskopskim laserskim mrljama. Postupak analize vrlo je jednostavan: uzorak se stavi pod mikroskop, izoštri se fokus i napravi se mjerenje.<sup>41</sup>

### 3.2. FTIR spektrofotometrija

Spektrofotometar je uređaj koji daje spektar apsorpcije za željeni spoj. Fourierov transformacijski spektrofotometar daje IR spektar puno brže od tradicionalnog.



**Slika 11.** Shematski prikaz FTIR spektrofotometrije

Uobičajeni FTIR (*eng. Fourier transformation infrared*) spektrometar sastoji se od izvora, interferometra, posude za uzorak, detektora, pojačala, A/D pretvarača i računala. Izvor stvara zračenje koje prolazi uzorak kroz interferometar da bi došlo do detektora. Potom se signal pojačava i pretvara u digitalni signal pomoću pojačala, odnosno analogno-digitalnog pretvarača. Na kraju se signal prenosi u računalo u kojem se vrši Fourierova transformacija.

Instrument proizvodi snop IR zračenja koji se emitira iz užarenog izvora crnog tijela. Nakon toga snop prolazi kroz interferometar gdje dolazi do spektralnog kodiranja. Rekombinacijom snopova različitih duljina puta stvaraju se konstruktivne i destruktivne interferencije – interferogram. Nakon toga se snopom djeluje na uzorak koji apsorbira točno određenu frekvenciju energije, karakterističnu za uzorak iz interferograma.

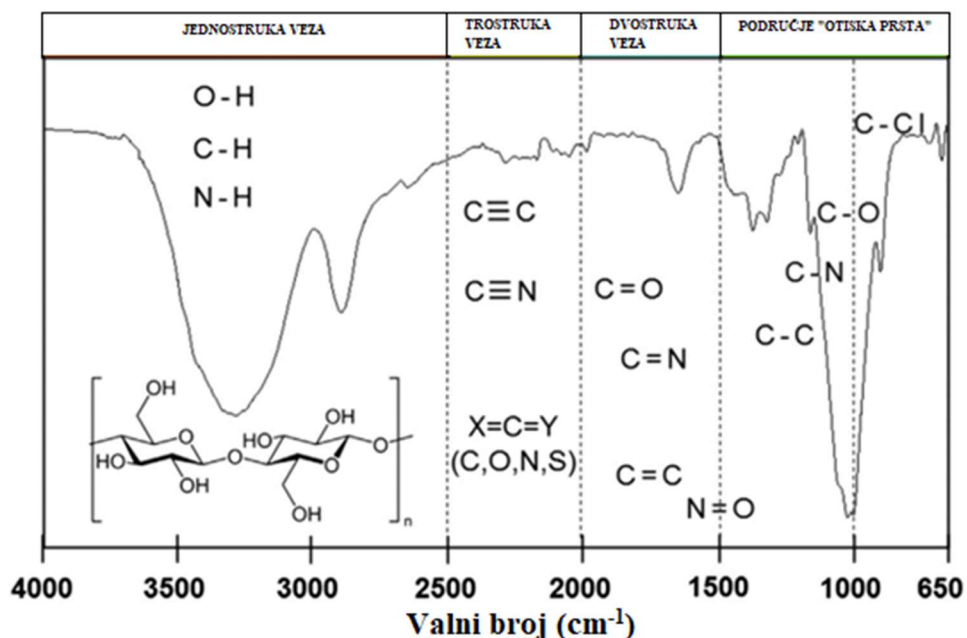
Detektor istovremeno mjeri poseban interferogramski signal za sve frekvencije i daje grafičku ovisnost energije o vremenu. U međuvremenu se snop postavlja kako bi se dobila referenca (pozadina) za rad instrumenta. Željeni spektar dobiven je nakon što je interferogram automatski oduzeo pozadinski spektar uzorka pomoću Fourierovog softvera za transformaciju.

IR spektar dobiven pomoću FTIR spektrometra smješten je u područje  $2,5 - 15 \mu\text{m}$  između  $4000 \text{ cm}^{-1}$  i  $666 \text{ cm}^{-1}$ . Prijelazne energije koje odgovaraju promjenama u vibracijskoj energiji za mnoge funkcionalne grupe smještene su u srednjem IR području ( $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ )

te se tako može utvrditi je li određena funkcionalna grupa unutar molekule na temelju apsorpcijskog pika. Pomoću FTIR spektra mogu se analizirati četiri vrste veza.

Na slici 12. uočljivo je da se jednostruka veza (O-H, C-H i N-H) detektira na višim valnim brojevima ( $2500-4000\text{ cm}^{-1}$ ), dok se trostruka i dvostruka veza detektiraju na srednjim vrijednostima valnih brojeva ( $2000-2500\text{ cm}^{-1}$  i  $1500-2000\text{ cm}^{-1}$ ). Uz to, vibracije cijele molekule daju kompleks pikova u nižem području valnih brojeva ( $650-1500\text{ cm}^{-1}$ ) koji su karakteristični za pojedinu molekulu te služe za njenu identifikaciju.<sup>42</sup>

Primjerice, FTIR analiza regenerirane celulozne membrane prikazana na slici 12. prikazuje karakteristične pikove celuloze. Pik na  $891\text{ cm}^{-1}$  odnosi se na C-O-C vibracije rastezanja na  $\beta$ -spojnici glukoze na celulozu.



Slika 12. FTIR spektar regenerirane celulozne membrane<sup>43</sup>

Pored toga, C-O-C vibracije rastezanja piranoznog prstena daju oštri pik na  $1053\text{ cm}^{-1}$  što odgovara sastavu celuloze u regeneriranoj celuloznoj membrani (RCM).<sup>44</sup>

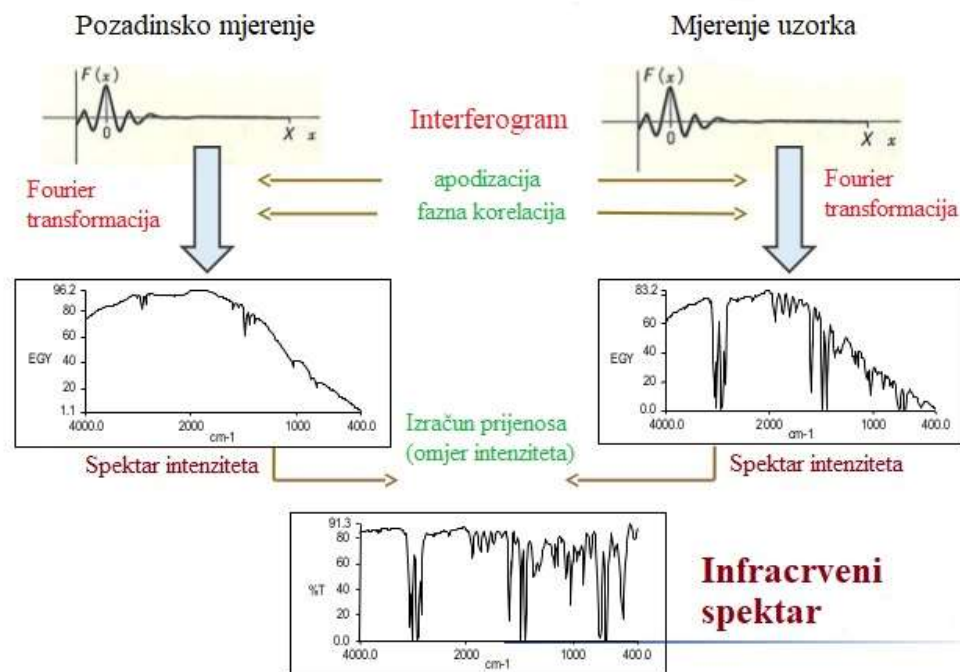
Lord Rayleigh je 1892. godine otkrio da su spektar i njegov interferogram povezani Fourierovom transformacijom. Međutim, prvi koji je uspješno pretvorio interferogram u njegov spektar bio je Fellgett. Metoda brze Fourierove transformacije na kojoj se temelji moderni FTIR spektrometar uveli su Cooley i Turkey 1965. godine.

Metoda se široko primjenjuje na analitičke metode poput infracrvene spektrometrije, nuklearne magnetske rezonancije i masene spektrometrije. Fourierova transformacija, nazvana

po francuskom fizičaru Jean Baptisteu Josephu Fourieru, matematička je metoda kojom se funkcija pretvara u novu funkciju. Uobičajeni oblik Fourierove transformacije s unitarnim konstantama normalizacije dana je sljedećom relacijom:

$$F(\omega) = \frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} f(t)e^{-i\omega t} dt \quad (4)$$

gdje je  $t$  – vrijeme, a  $i$  kvadratni korijen od  $-1$ .<sup>45</sup>



Slika 13. Shematski prikaz Fourierove transformacije

### 3.3. SEM/EDS spektroskopija

SEM (*eng. scanning electron microscopy*) metoda omogućuje vizualno promatranje područja od interesa na potpuno drugačiji način od onoga golim okom ili čak normalnim optičkim mikroskopom. SEM slike pokazuju jednostavne kontraste između materijala koji se temelje na organskoj osnovi i metalu te na taj način pružaju veliku količinu informacija o području koje se pregledava. S druge strane, EDS (*eng. energy dispersive x-ray spectroscopy*), koja se ponekad naziva i EDAX ili EDX, koristi se za dobivanje polukvantitativnih elementarnih rezultata o vrlo specifičnim lokacijama unutar područja od interesa.

SEM omogućava ispitivanje područja koje je zanimljivo kod izuzetno velikih uvećanja. Proizvodi slike visoke rezolucije i detaljne dubine polja za razliku od onih koje se mogu postići

korištenjem normalne optičke mikroskopije. Primjerice, površinske strukture, opće anomalije i područja onečišćenja mogu se lako identificirati i, prema potrebi, izolirati za daljnju analizu.

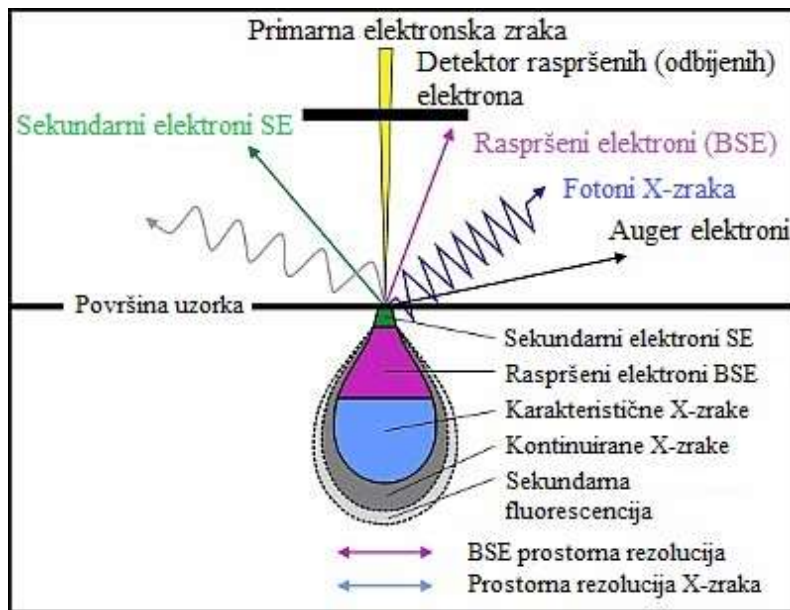
Uzorak se nalazi unutar vakuumske komore na dnu SEM stupca. Izvor elektrona, smješten na vrhu kolone, proizvodi elektrone koji prolaze kroz kolonu i upadaju na uzorak. Elektronska zraka je usmjerena i usredotočena pomoću magneta i leće unutar SEM stupca dok se približava uzorku. Snop se „ljudlja“ po uzorku uzrokujući reflektiranje odnosno apsorpiranje pojedinih elektrona. Specijalizirani detektori primaju te elektrone i obrađuju signal u upotrebljiv format. Koriste se tri različita detektora: detektor sekundarnih elektrona, detektor povratnih (raspršenih) elektrona i detektor X-zraka.

Sekundarni elektronski detektor prvotno se koristi za promatranje strukture (površine) povezane s uzorkom. Ovaj detektor pretvara elektrone koje odražava površina uzorka u signal koji se može prikazati kao slika na monitoru. Naknadno se te slike po želji mogu snimiti i kao fotografija. SEM slike, kao i sve „snimljene“ fotografije sive su boje jer se otkriveni elektroni nalaze izvan svjetlosnog spektra.

Detektor raspršenih elektrona djeluje slično detektoru sekundarnih elektrona jer „čita“ elektrone koji bivaju reflektirani od uzorka te ih prikazuje za promatranje i/ili fotografiranje. Siva skala na slikama izravan je rezultat elemenata prisutnih u promatranom području. Elementi s većim atomskim brojem apsorbiraju će više elektrona nego onaj s nižim atomskim brojem, pa će, primjerice, područja koja se sastoje od ugljika biti mnogo tamnija na skali sive nego područje koje sadrži olovo.

X-Ray detektor općeniti je pojam za vrstu detektora koji se koristi za izvođenje EDS. X-detektor ili EDS tehnika koriste se za kvalitativno i većinu vremena „polukvantitativno“ određivanje elementarnog sastava područja od interesa. To područje vizualno je identificirano i opaženo je korištenjem spomenutih detektora sekundarnog elektrona i detektora raspršenih elektrona.





**Slika 14.** Shematski prikaz vrsta zraka detektiranih SEM/EDS tehnikom

Kako snop elektrona iz SEM-a pogodi površinu uzorka, tako se elektroni unutar atoma u području od interesa nađu u pobuđenom stanju. Kada se elektroni u tim atomima vrate u osnovno stanje emitira se karakteristična rendgenska zraka. Te zrake skuplja rendgenski detektor i pretvara ih u „korisne“ informacije. Slika se može generirati, međutim bitno je da te rendgenske zrake daju podatke o elementarnom sastavu područja.

EDS tehnikom moguće je otkriti elemente od ugljika do urana u količinama od 1,0 % masenog udjela.



**Slika 15.** SEM uređaj s karakterističnim detektorima

Na slici 15. prikazan je SEM uređaj s tri prethodno opisana detektora. SEM stupac i komora mogu se promatrati u središtu slike sa sekundarnim elektronskim i detektorima raspršenih elektrona koji se nalaze pričvršćeni na lijevoj strani komore i detektorom X-zraka pričvršćenim s desne strane komore.<sup>46</sup>

Fokusirani snop elektrona visoke energije (~20 keV) propušta se po cijeloj površini uzorka.<sup>47</sup> Kada ti visokoenergetski elektroni pogode uzorak, generira se tri vrste signala – sekundarni elektroni, raspršeni elektroni i X-zrake. Ti signali daju informaciju o morfološkoj i elementarnoj strukturi uzorka.

Sekundarni elektroni emitiraju se iz atoma koji zauzimaju gornju površinu uzorka. Povratni raspršeni elektroni sastavni su dio primarne zrake elektrona koji se reflektiraju od atoma u krutini. I sekundarni i raspršeni elektroni sudjeluju u stvaranju interpretativne slike površine uzorka. Izrađena slika je vrlo velikog uvećanja (100,000x) s razlučivosti od oko 5 nm. Interakcija primarnog snopa s atomima u uzorku uzrokuje pobudu orbitalnih elektrona. Pri povratku pobuđenih elektrona u osnovno energetska stanje, emitiraju X-zrake fiksnih valnih duljina. Emitirane X-zrake imaju energiju karakterističnu za taj element. Otkrivanje i mjerenje ove energije dopušta elementarnu analizu (EDS ili EDX analiza).

SEM analiza jest nedestruktivna – nema gubitka uzorka i, ukoliko je potrebno, uzorak se može analizirati više puta. SEM se obično koristi u razvoju proizvoda za analizu morfologije i veličine nanočestica. SEM/EDX je vrlo koristan alat za ispitivanje stranih čestica. Ograničenje SEM metode jest da se sve mora staviti pod visok vakuum – nije prikladna za mokre uzorke.<sup>48</sup>

### **3.4. Piroliza-GC-MS metoda**

Prema IUPAC konvenciji, analitička piroliza (Py) definirana je kao karakterizacija u inertoj atmosferi materijala ili kemijskog procesa reakcijom kemijske razgradnje izazvane toplinskom energijom.<sup>49</sup>

Bilo da se uzorak čini prikladnim oblikom za analizu plinskom kromatografijom (GC – *eng. gas chromatography*), masenom spektrometrijom (MS – *eng. mass spectrometry*), plinskom kromatografijom-masenom spektrometrijom (GC-MS), Fourierovom transformacijskom infracrvenom spektroskopijom (GC-FTIR) ili direktnim nadzorom kao analitičkom tehnikom, kao dio analitičkog postupka često se koristi toplinska degradacija u kontroliranim uvjetima.<sup>50</sup>

Analitička piroliza bavi se strukturnom identifikacijom i kvantifikacijom produkata pirolize s konačnim ciljem utvrđivanja identiteta izvornog materijala i mehanizama njegovog

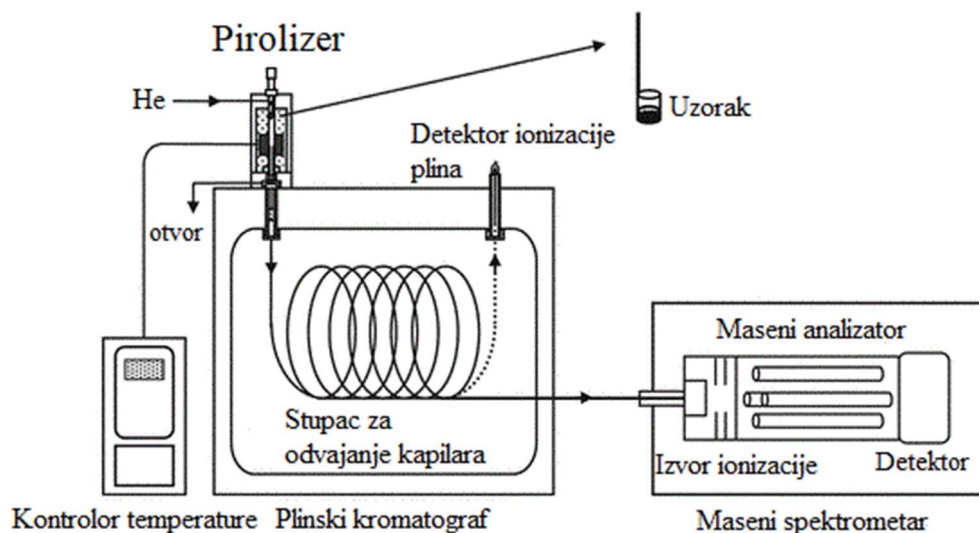
toplinskog raspadanja. Temperature pirolize od 550 do 1400 °C dovoljno su visoke da se pokidaju molekularne veze u molekulama krutog uzorka, čime nastaju jednostavniji, isparljivi spojevi. Veze se kidaju ovisno o količini potrošene energije.<sup>51</sup>

Mjerenjem i identifikacijom fragmenata, molekulski sastav izvornog uzorka često se može rekonstruirati.<sup>52</sup>

Tehnika analitičke metode piroliza-GC-MS proširila je spektar mogućnosti za karakterizaciju sintetskih polimera i kopolimera. Ova se tehnika intenzivno koristi u posljednjih 30 godina kao komplementarni analitički alat za karakterizaciju strukture sintetskih organskih polimera i kopolimera, polimernih mješavina, biopolimera i prirodnih smola. Piroliza-GC-MS je destruktivna analitička tehnika. Tipična područja interesa i primjene su identifikacija polimera usporedbom pirograma i masenih spektara s poznatim referencama, kvalitativna analiza i strukturalna karakterizacija kopolimera, određivanje mikrostrukture polimera, određivanje steričke strukture polimera, ispitivanje toplinske stabilnosti polimera i kopolimera, određivanje zaostalih monomera i otapala, isparljivih organskih spojeva (VOC – *eng. volatile organic compounds*) kao i aditiva u polimerima.

Metoda pirolize omogućava izravnu analizu vrlo malih količina uzoraka čvrstog ili tekućeg polimera/kopolimera (5-200 µg) i eliminira potrebu dugotrajne pripreme uzorka (predobrade) provođenjem analiza izravno na uzorku.

Bitni zahtjevi uređaja u analitičkoj pirolizi su obnovljivost temperature pirolize, brz porast temperature i precizna kontrola temperature. Ovisno o mehanizmu grijanja, pirolizni sustavi razvrstani su u dvije skupine: pirolizator neprekidnog načina rada (pećni pirolizator) i pirolizator s impulsnim načinom rada (flash-pirolizator) poput grijanog filameta i laserskog polarizatora. Jedinica za pirolizu (pirolizator) spojena je izravno na otvor za ubrizgavanje plinskog kromatografa.



**Slika 16.** Shematski prikaz tehnike piroliza-GC-MS

Nakon što se uzorak polimera/kopolimera pirolizira, isparivi fragmenti se uklone iz grijane jedinice za pirolizu pomoću nosača plina (helija) u plinski kromatograf. Hlapljivi proizvodi pirolize (pirolizati) kromatografski su razdvojeni upotrebom fuzioniranog kapilarnog stupa od silicijevog dioksida, prema vrelištu i srodnosti analita prema stacionarnoj fazi (unutarnji premaz stjenke kapilarnog stupa).

Tehnika detekcije razdvojenih spojeva obično je masena spektrometrija. Tvari detektirane masenom spektrometrijom naknadno su identificirane interpretacijom dobivenih masenih spektara, korištenjem knjižnica masenih spektra (npr. NIST/EPA/NIH, Wiley, MPW, Norman Mass Bank,  $m/z$  Cloud) ili korištenjem referentne tvari.

Piroliza-GC-MS može se primijeniti na istraživanje i razvoj novih materijala, kontrolu kvalitete, karakterizaciju i ocjenu konkurentskih proizvoda, medicinu, biologiju i biotehnologiju, geologiju, zračni prostor i analizu okoliša u forenzičke svrhe ili očuvanje i obnovu kulturne baštine. Te aplikacije pokrivaju analizu i identifikaciju polimera/kopolimera i aditiva u komponentama automobila, guma, ambalažnog materijala, tekstilnih vlakana, premaza, ljepila, poluproizvoda za elektroniku, boja ili lakova, kože, papira ili proizvoda od drva, hrane, lijekova, površinski aktivnih tvari i mirisa.<sup>53</sup>

## 4. Primjena spomenutih semi-kvantitativnih metoda

### 4.1. Raman spektroskopija

Lulu Lv, Lei He i suradnici<sup>54</sup> razvili su analitičku metodu koja može odrediti kemijski sastav mikroplastike i nanoplastike u vodenim otopinama. U eksperimentu su koristili različite vrste plastike (PS, PE, PP) različitih veličina (0,1, 0,5 i 10  $\mu\text{m}$ ). Razvijena analitička metoda temelji se na SERS (*eng. surface-enhance Raman spectroscopy*) tehnici za ispitivanje signala mikroplastike i nanoplastike u čistoj i morskoj vodi. Kao aktivni supstrat za SERS koristili su srebrni koloid koji su agregirali pomoću natrijeva klorida (NaCl).

Plastične čestice istraživane su promjenom volumena uzorka u srebrnom koloidu, koncentracije NaCl i koncentracije uzorka. Za karakterizaciju mikrostrukture i veličine čestica srebrnog koloida i nanoplastike korištene su TEM i DLS (*eng. dynamic light scattering*) metode. Rezultati su pokazali da SERS tehnike mogu biti dobar analitički pristup za otkrivanje mikroplastike i nanoplastike u vodenom okruženju.

Najprije su sintetizirali plastične čestice polistirena veličine 100 nm i 500 nm korištenjem metode koju je osmislio Nandiyanto.<sup>55</sup>

Tikvicu s okruglim dnom koja je sadržavala ultračistu vodu stavili su u reaktorski sustav uz snažno miješanje (600 okretaja/min) i zagrijavali na specifičnoj temperaturi u atmosferi dušika. Postupak zagrijavanja trajao je 30 minuta kako bi se uklonio kisik iz otopine.

Monomer stirena (omjer stirena i vodene otopine, 100 nm PS, v:v=1:100; 500 nm PS, v:v=1:9) dodan je u reaktor na 10 minuta kako bi se ravnomjerno dispergirao u vodenoj otopini. Nakon toga, 2,2-azobis (izobutiramidin) dihidroklorid (AIBA) (100 nm, 10 mg; 500 nm, 0,3 g) prethodno otopljen u vodi doda se smjesi otopine stiren-voda.

Reakcijska smjesa se grije (sintetičke čestice polistirena veličine 100 nm pri 90 °C, sintetičke čestice polistirena veličine 500 nm na 55 °C) 10 sati pod utjecajem dušika. Ukupno je dodano 200 mL vodene otopine.

Kada se reakcijska smjesa ohladila na sobnu temperaturu, višak AIBA i monomera stirena isprani su apsolutnim etanolom. Polistirenske čestice veličine 500 nm isprane su filtracijom preko membrane veličine pora 0,22  $\mu\text{m}$ , a one veličine 100 nm isprane su metodom dijalize.

Nakon toga, uzorke su sušili na 50 °C kako bi dobili čvrsti prah. Kako bi se izbjegla laboratorijska kontaminacija, tijekom svih postupaka nošene su laboratorijske kute, stakleno

posuđe isprano je acetonom, a sve ostalo posuđe korišteno tijekom eksperimenta temeljito je isprano ultračistom vodom.

PE i PP plastični prahovi veličine oko 10  $\mu\text{m}$  kupljeni su od tvrtke Yineng Plastic Materials Co., Ltd. (Dongguan, Kina). Prahove su zasebno dispergirali u čistoj i morskoj vodi (50 mg u 10 mL). Morsku vodu prikupili su iz površinske morske vode Zhanjiang zaljeva. Budući da je obje mikroplastike teško dispergirati u vodi, dodali su 100  $\mu\text{L}$  površinske aktivne tvari (v:v=1:100) kako bi postigli ravnomjernu disperziju.

Srebrni koloid odabran kao aktivni supstrat za SERS pripremljen je metodom kemijske redukcije. U tikvicu s okruglim dnom (250 mL) stavili su 100 mL 0,18 g/L otopine  $\text{AgNO}_3$  te je kratko zagrijavali.

Kada je otopina prokuhala, brzo su dodali 2,0 mL 1 % trinatrijeva citrata i pustili da reagira 1 h. Natrij citrat koristili su kao redukcijsko sredstvo te kako bi spriječili nakupljanje formiranih nanočestica.

Kada se otopina ohladila na sobnu temperaturu, profiltrirali su je kroz filtersku membranu od 22  $\mu\text{m}$  čime su dobili homogene srebrne nanočestice. Koloid je zatim skladišten u mraku na 4 °C.

Za snimanje Ramanovih spektara koristili su Ramanov spektrometar (Ocean Optics, SR-510 Pro) sa svjetlom pobude od 785 nm. Spektralna mjerenja proveli su u vremenu izlaganja od 5 s i laserom snage 105 mW.

Mjerenje su ponovili 3 ili više puta kako bi izračunali prosječnu vrijednost. Korišteni spektrometar daje spektar u rasponu od 200 do 3000  $\text{cm}^{-1}$  sa spektralnom razlučivošću od 5  $\text{cm}^{-1}$ .

## 4.2. FTIR spektrofotometrija

K. Borg Olesen i suradnici<sup>56</sup> radili su analizu sa svrhom identifikacije i kvantifikacije mikroplastike u otpadnim vodama, sedimentu i fauni. Uzorke su sakupili u ribnjaku (Viborg, Danska) koji je uključivao sediment, vodu, ribe i pijavice. Vodene životinje koristili su samo za detekciju mikroplastike. U ribnjak se slijevaju oborinske vode i nečiste tvari s cesta. Potonje dovodi do visokih koncentracija mikroplastike u ribnjaku.

Iz ribnjaka su prikupili 50 L vode, a svaka šarža za uzorkovanje od 10 L vode podijeljena je u dvije boce za skladištenje od 5 L prevučene PTFE (politetrafluoretilen) poklopcima. Uzorke

sedimenata prikupili su 1-2 m od ruba polja ribnjaka sa staklenim držačem promjera 5 cm. Gornji sloj svakog uzorka sedimenta prebacili su u staklenu posudu.

Sve staklene predmete isprali su 3 puta prije upotrebe, dok su svu opremu i uzorke držali prekrivenima kako bi spriječili kontaminaciju.

Uzorke ribe i faune ulovljene mrežom skladištili su u staklene boce s čistim etanolom, stavili ih na led i spremili u laboratorij na -20 °C.

Jedan od većih problema pri analizi mikroplastike jest uklanjanje organskih ili bioloških onečišćenja. Budući da je većina plastike hidrofobne prirode, organska tvar adsorbira se na njenoj površini zbog čega je nužno da se ukloni prije spektroskopske analize mikroplastike. Najčešći oblik uklanjanja nečistoća jest tretiranje s vodikovim peroksidom (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) – agresivan prema organskim nečistoćama, a istovremeno inertan prema plastici.

Prije tretmana s H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uzorci sedimenata su prosijani i smrznuti. Za razdvajanje anorganskih i organskih nečistoće koristili su gravimetrijsku metodu. Zbog ispiranja s etanolom i propuštanja kroz sito, koncentracija plastike u uzorku se povećala.

Za pripremu uzoraka faune su na 1 g suhog smrznutog uzorka dodali 60 mL 5 M otopine KOH. Reakcijsku smjesu miješali su 48 sati na 45 °C. Prije prosijavanja, uzorku su dodali ultračistu vodu. Konačne koncentrirane uzorke plastičnih čestica iz svakog od tri vrste uzoraka suspendirali su u etanolu. Uzorke veličina čestica > 80 μm stavili su na infracrveno reflektirajuće stakalce (MirrIR, Kevley Technologies) kako bi dobili sliku karakterističnu za ovaj tip analize. Čestice su nanjeli na infracrveni prozirni nosač od kalcijeva fluorida (CaF<sub>2</sub>) kojeg su potom sušili za kasniju analizu. Čestice mikroplastike ostale su prilijepljene i tako bile spremne za analizu putem FTIR tehnike.

Za prepoznavanje i kvantifikaciju mikroplastike u uzorcima korišten je FTIR sustav za dobivanje slike. Sustav se sastojao od Agilent Cary 620 FTIR mikroskopa spojenog na Agilent Cary 670 FTIR spektrometar. Mikroskop je opremljen s FPA (*eng. focal plane array*) detektorom. Instrument može raditi u načinu refleksije i prijenosa.

### **4.3. SEM/EDS mikroskopija**

Zhong-Min Wang i suradnici<sup>57</sup> analizirali su četiri različite vrste uzoraka: referentne plastične vrećice (PE, PET, PP i PVC), crijeva iz laboratorijskih riba (Medaka) koje su hranili tim referentnim česticama umiješanim u kazeinsku prehranu, uzorke iz površinskih voda u blizini sjevernog Tihog oceana te crijeva iz pelagičnih riba plina prikupljenih iz plastičnih

žičara za smeće sjevernog Tihog i južnog Atlantskog oceana. Iz referentnih plastičnih vrećica i laboratorijskih ribljih crijeva korištenih u eksperimentu dobiveno je kako slijedi:

1. Referentne čestice PE, PET, PP i PVC mikroplastike u zasebnim bočicama
2. Kazeinska dijeta i četiri referentne plastike otopljene u 10% otopini KOH
3. Crijeva riba hranjenih mikroplastikom otopljena u 10% otopini KOH
4. Crijeva riba hranjenih mikroplastikom u deioniziranoj vodi

Za analizu su odabrali tri reprezentativna uzorka zapečaćena u staklenim spremnicima s morskom vodom (Tih ocean). Uzorke su isprali deioniziranom vodom, propustili kroz milimetarsko sito nehrđajućeg čelika te profilirali na 10 µm polikarbonatne filtere.

SEM/EDS analizu pojedinačno su proveli na svakoj vrsti mikroplastike koju su odabrali optičkom mikroskopijom i poduzorcima polikarbonatnih filtara kroz koje su filtrirali riblja crijeva. SEM/EDS mikroskopijom snimili su mnogo potencijalnih mikroplastičnih čestica u relativno kratkom vremenu.

Dobivanjem informacije o morfološkoj površini i elementarnom sastavu mogli su utvrditi koja čestica je potencijalno bila plastika. Sve uzorke montirali su na dvostrane ljepljive karbonske pločice na aluminijskim SEM dijelovima.

U istraživanju, SEM/EDS tehnika bila je vrlo korisna tehnika za dobivanje strukture površine čestica visoke rezolucije karakteristične za materijal te informacija o elementarnom sastavu. Dobivene informacije koristili su za razdvajanje mikroplastike i nečistoća.

Referentne čestice PVC-a davale su jedinstvene karakteristike relativnog svijetlog intenziteta BSE (raspršeni elektroni), relativno glatkih i neravnih površina i jakih pikova klora u EDS spektrima. Te karakteristike iskorištene su za identifikaciju PVC mikroplastike u laboratorijskim crijevima. U EDS spektru vidjeli su još jaki pik ugljika koji potječe od ostalih plastičnih čestica (PE i PP).

SEM/EDS tehnikom također su detektirali PVC u uzorcima crijeva tretiranima deioniziranom vodom te u uzorcima prehrane tretiranima otopinom KOH. U uzorku ribljih crijeva tretiranima s otopinom KOH nisu pronađeni tragovi PVC-a. Za potonji tip površinski CI EDS „potpisi“ bili su vjerojatno maskirani zbog teških tkiva crijeva otopljenih u KOH. Sve identifikacije čestica PVC-a naknadno su provjerene od strane FTIR-a i RMS-a (*eng. root mean square*).



#### 4.4. Piroliza-GC-MS

Poli(vinilni alkohol) (PVA – *eng. polyvinyl alcohol*) prvi su pripremili Hermann i Haehnel 1924. hidroliziranjem poli(vinil acetata) s kalijevim hidroksidom u etanolu.<sup>58</sup> PVA se proizvodi komercijalno iz poli(vinil acetata), obično neprekidnim postupkom. Acetatne skupine hidroliziraju izmjenom estera s metanolom u prisutnosti bezvodnog natrijeva metilata ili vodenog natrijevog hidroksida. PVA je proziran, zrnat prah bijele ili krem boje bez mirisa i okusa. Topiv je u vodi, malo topljiv u etanolu, ali netopljiv u ostalim organskim otapalima.

PVA je podijeljen u dvije klase – djelomično hidrolizirani PVA i potpuno hidrolizirani PVA. Djelomično hidrolizirani PVA koristi se u hrani kao film za zaštitu od vlage, za tablete dodataka u prehrani i za suhu hranu s dodacima koje je potrebno zaštititi od unošenja vlage.

PVA ima razne primjene u prehrambenoj industriji kao sredstvo za vezanje i prevlačenje. PVA štiti aktivne sastojke od vlage, kisika i drugih sastavnih dijelova okoliša i istovremeno maskira njihov okus i miris. Ovaj se polimer koristi kao vodotopljivi film koristan za pakiranje. Primjer je omotnica koja sadrži deterdžent za rublje u tekućicama. PVA se koristi i kao materijal za pakiranje tableta za perilice posuđa.

Otpriblike 200 µg uzorka poli (vinil alkohola) izrezali su skalpelom i ubacili u provrt za ubrizgavanje krutih tvari bez daljnje pripreme, a zatim je stavljeno na kvarenu vunu kvarene cijevi pećnog pirolizatora Pyrojector II<sup>TM</sup> (SGE Analytical Science, Melbourne, Australia) s klipom. Pirolizator je radio na konstantnoj temperaturi od 700 °C.

Tlak boce helija na ulazu u peć bio je 95 kPa. Pirolizator su povezali s plinskim kromatografom 7890A s četveropolnim masenim spektrometrom 5975C (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, Kalifornija, SAD) koji radi u elektronskoj udarnoj ionizaciji (EI – *eng. electron ionization*). Koristili su kapilarni stupac sa silicijem dugačak 60 m, unutarnjeg promjera 0,25 mm sa stacionarnom fazom DB 5-MS te filmom debljine 0,25 µm (J&W Scientific, Folsom, CA, SAD). GC-MS analitički uvjeti detaljno su opisani u drugoj publikaciji.<sup>53</sup> GC-MS podatke obradili su softverom ChemStation (Agilent Technologies) i bibliotekom masenih spektara NIST 05.

## 5. Zaključak

Mikroskopija je dobra metoda za mjerenje fizičkih karakteristika mikroplastike od čestice do čestice. Kada je meta samo velika mikroplastika, mikroskopija se kombinira s dodatnim testom za prepoznavanje vrste plastike. Kada je veličina mikroplastike  $<1$  mm i minimalna granična veličina je nekoliko desetaka mikrona, mikroskopska analiza kombinira se sa spektroskopskom ili termičkom analizom. Prednost mikroskopije jest ta da slike povećane mikroskopom daju detaljnu površinu teksture i strukturne informacije o objektima, što je neophodno za prepoznavanje nejasnih, plastičnih čestica.

Ukoliko je minimalna veličina granične vrijednosti nekoliko mikrona, preporučuje se Ramanova mikroskopija za dobivanje boljih spektara, dok se za identifikaciju sastava polimera koristi FTIR spektrofotometrija.

Kao novija metoda karakterizacije počela se primjenjivati termička analiza. Vršiti se analiza razgrađenog plina iz polimera. Dobiveni pirogrami uspoređuju se s poznatim referentnim pirogramima polimernih uzoraka. Termička analiza jest alternativa za spektroskopsku kemijsku identifikaciju određenog polimera. Unatoč tome, termička analiza je destruktivna metoda. Termička analiza zahtijeva dobro obučenog i iskusnog operatera i znatno više vremena i truda za izvođenje eksperimenta i obrade podataka u usporedbi s FTIR i Ramanovom spektroskopijom. Toplinska analiza i spektroskopija pogodne su za analizu uzoraka poznatih tipova polimera.

Mikroplastika se analizira u vodenim uzorcima kako bi se smanjio negativan utjecaj kako na morski okoliš i organizme tako i na zdravlje ljudi. Kontaminacija je izrazito povećana zbog sposobnosti mikroplastike da adsorbira organske nečistoće. Daljnja istraživanja trebalo bi usredotočiti na razvoj novih ili poboljšanje već postojećih analitičkih metoda koje bi omogućile laku identifikaciju i kvantifikaciju čestica mikroplastike u vodenim medijima.

## 6. Literatura

1. URL: <http://npe-leman.ch/wp-content/uploads/2018/10/%C3%89valuation-de-la-pollution-par-les-plastiques-des-eaux-de-surface-en-Suisse-de-1%E2%80%99EPFL.pdf> (pristupljeno 8. lipnja 2020.)
2. H.K. Imhof, J. Schmid, R. Niessner, N.P. Ivleva, C. Laforsch, *A novel, highly efficient method for the separation and quantification of plastic particles in sediments of aquatic environments*, *Limnology and Oceanography - Methods* **10** (2012) 524–537
3. M. Cole, P. Lindeque, C. Halsband, T.S. Galloway, *Microplastics as contaminants in the marine environment: a review*, *Marine Pollution Bulletin* **62** (2011) 2588–2597
4. J.P. da Costa, P.S.M. Santos, A.C. Duarte, T. Rocha-Santos, *(Nano)plastics in the Environment – Sources, Fates and Effects*, *The Science of the total environment* **566–567** (2016) 15–26
5. Eerkes-Medrano, R.C. Thompson, D. Aldridge, *Microplastics in Freshwater Systems: A Review of the Emerging Threats, Identification of Knowledge Gaps and Prioritisation of Research Needs*, *Water Research* **75** (2015) 63–82
6. V. Hidalgo-Ruz, L. Gutow, R.C. Thompson, M. Thiel, *Microplastics in the Marine Environment: A Review of the Methods Used for Identification and Quantification*, *Environmental Science & Technology* **46** (2012) 3060–3075
7. H.G. Lidell, R. Scott, *A Greek-English Lexicon*, 9. izd., Oxford University Press, UK, 1996.
8. M. Vert, Y. Doi, K.H. Hellwich, M. Hess, P. Hodge, P. Kubisa, M. Rinaudo, F. Schue', *Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC recommendations 2012)*, *Pure Appl. Chem.* **84** (2012) 377–410
9. J.P. da Costa, P.S.M. Santos, A.C. Duarte, T. Rocha-Santos, *(Nano)plastics in the Environment – Sources, Fates and Effects*, *The Science of the total environment* **566–567** (2016) 15–26
10. T. Gouin, J. Avalos, I. Brunning, K. Brzuska, J. de Graaf, J. Kaumanns, T. Konong, M. Meyberg, K. Rettinger, H. Schlatter, *Use of micro-plastic beads in cosmetic products in Europe and their estimated emissions to the North Sea environment*, *SOFW Journal* **141** (2015) 40–46
11. B. Stephens, P. Azimi, Z. El Orch, T. Ramos, *Ultrafine particle emissions from desktop 3D printers*, *Atmospheric Environment* **79** (2013) 334–339

12. C.J. Moore, *Synthetic polymers in the marine environment: a rapidly increasing, long-term threat*, Environmental Research **108** (2008) 131–139
13. A.L. Andrady, *Microplastics in the Marine Environment*, Marine Pollution Bulletin **62** (2011) 1596–1605
14. K. Duis, A. Coors, *Microplastics in the Aquatic and Terrestrial Environment: Sources (With a Specific Focus on Personal Care Products), Fate and Effects*, Environmental Sciences Europe **28** (2016) 1–25
15. C.J. Moore, G.L. Lattin, A.F. Zellers, *Quantity and type of plastic debris flowing from two urban rivers to coastal waters and beaches of Southern California*, Journal of Integrated Coastal Zone Management **11** (2011) 65–73
16. M. Zbyszewski, P.L. Corcoran, *Distribution and degradation of fresh water plastic particles along the beaches of Lake Huron, Canada*, Water, Air, & Soil Pollution **220** (2011) 365–372
17. M.R. Gregory, *Environmental Implications of Plastic Debris in Marine Settings – Entanglement, Ingestion, Smothering, Hangers-On, Hitch-Hiking and Alien Invasions*, Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences **364** (2009) 2013–2025
18. S.C. Gall, R.C. Thompson, *The Impact of Debris on Marine Life*, Marine Pollution Bulletin **92** (2015) 170–179
19. A. Bakir, S.J. Rowland, R.C. Thompson, *Transport of persistent organic pollutants by microplastics in estuarine conditions*, Estuarine, Coastal and Shelf Science **140** (2014) 14–21
20. V. Zitko, M. Hanlon, *Another source of pollution by plastics: skin cleaners with plastic scrubbers*, Marine Pollution Bulletin **22** (1991) 41–42
21. M.R. Gregory, *Plastic ‘scrubbers’ in hand cleansers: a further (and minor) source for marine pollution identified*, Marine Pollution Bulletin **32** (1996) 867–871
22. L.S. Fendall, M.A. Sewell, *Contributing to Marine Pollution by Washing Your Face: Microplastics in Facial Cleansers*, Marine Pollution Bulletin **58** (2009) 1225–1228
23. M.R. Gregory, *Accumulation and distribution of virgin plastic granules on New Zealand beaches*, New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research **12** (2010) 399–414
24. A. Lechner, H. Keckeis, F. Lamesberger-Loisl, B. Zens, R. Krusch, M. Tritthart, M. Glas, E. Schludermann, *The Danube so colourful: A potpourri of plastic litter*

- outnumbers fish larvae in Europe's second largest river*, *Environmental Pollution* **188** (2014) 177–181
25. M. Zbyszewski, P.L. Corcoran, A. Hockin, *Comparison of the distribution and degradation of plastic debris along shorelines of the Great Lakes, North America*, *Journal of Great Lakes research* **40** (2014) 288–299
26. M.A. Browne, P. Crump, S.J. Niven, E. Teuten, A. Tonkin, T. Galloway, R. Thompson, *Accumulation of Microplastic on Shorelines Worldwide: Sources and Sinks*, *Environmental Science Technologies* **45** (2011) 9175–9179
27. A.L. Andrady, *Assessment of Environmental Biodegradation of Synthetic Polymers: A Review*, *Journal of Macromolecular Science* **34** (2006) 25–75
28. G. Pritchard, *Plastics Additives*, 1. izd., Springer, Dordrecht, Nizozemska, 1998
29. D. Habib, D.C. Locke, L.J. Cannone, *Synthetic fibers as indicators of municipal sewage sludge, sludge products, and sewage treatment plant effluents*, *Water, Air, & Soil Pollution* **103** (1998) 1–8
30. URL:  
[https://www.plasticseurope.org/application/files/7815/1689/9295/2013plastics\\_the\\_facts\\_PubOct2013.pdf](https://www.plasticseurope.org/application/files/7815/1689/9295/2013plastics_the_facts_PubOct2013.pdf) (pristupljeno 28. lipnja 2020.)
31. URL: <https://omnexus.specialchem.com/selection-guide/polyethylene-plastic> (pristupljeno 8. lipnja 2020.)
32. Wiley-VCH, *Ullmann's Polymers and Plastics: Products and Processes*, 1. izd., Wiley, Weinheim, Njemačka, 2016
33. URL: <https://omnexus.specialchem.com/selection-guide/polypropylene-pp-plastic> (pristupljeno 8. lipnja 2020.)
34. URL: <https://omnexus.specialchem.com/selection-guide/polyvinyl-chloride-pvc-plastic> (pristupljeno 8. lipnja 2020.)
35. URL: <https://essentialchemicalindustry.org/polymers/polyurethane.html> (pristupljeno 8. lipnja 2020.)
36. URL: <https://www.pslc.ws/macrog/styrene.htm> (pristupljeno 9. lipnja 2020.)
37. URL: <https://omnexus.specialchem.com/selection-guide/polyethylene-terephthalate-pet-plastic> (pristupljeno 9. lipnja 2020.)
38. C.V. Raman, K. S. Krishnan, *A New Type of Secondary Radiation*, *Nature* **121** (1928) 501–502
39. E. Smith, G. Dent, *Modern Raman Spectroscopy: A Practical Approach*, 1. izd., Wiley, Chichester, Engleska, 2005

40. URL: <https://www.edinst.com/blog/what-is-raman-spectroscopy/> (pristupljeno 12. lipnja 2020.)
41. URL: [https://www.horiba.com/en\\_en/raman-imaging-and-spectroscopy/](https://www.horiba.com/en_en/raman-imaging-and-spectroscopy/) (pristupljeno 12. lipnja 2020.)
42. M.A. Mohamed, J. Jaafar, A.F. Ismail, M.H.D. Othman, M.A. Rahman, *Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy. Membrane Characterization*, 1. izd., Elsevier Inc., Johor, Malazija, 2017
43. M.A. Mohamed, W.N.W. Salleh, J. Jaafar, A.F. Ismail, M. Abd. Mutalib, S.M. Jamil, *Feasibility of recycled newspaper as cellulose source for regenerated cellulose membrane fabrication*, Journal of Applied Polymer Science **132** (2015) 1–10
44. M.A. Mohamed, W.N.W. Salleh, J. Jaafar, Z.A. Mohd Hir, M.S. Rosmi, M. Abd. Mutalib, A.F. Ismail, M. Tanemura, *Regenerated cellulose membrane as bio-template for in-situ growth of visible-light driven C-modified mesoporous titania*. Carbohydrate Polymers **146** (2016) 166–173
45. URL: [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical\\_and\\_Theoretical\\_Chemistry\\_Textbook\\_Maps/Supplemental\\_Modules\\_\(Physical\\_and\\_Theoretical\\_Chemistry\)/Spectroscopy/Vibrational\\_Spectroscopy/Infrared\\_Spectroscopy/How\\_an\\_FTIR\\_Spectrometer\\_Operates](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_(Physical_and_Theoretical_Chemistry)/Spectroscopy/Vibrational_Spectroscopy/Infrared_Spectroscopy/How_an_FTIR_Spectrometer_Operates) (pristupljeno 13. lipnja 2020.)
46. URL: <https://www.nts.com/services/testing/electrical/sem-eds-analysis/> (pristupljeno 13. lipnja 2020.)
47. S.E. Andria, M. Fulcher, M.R. Witkowski, S.F. Platek, *The use of SEM/EDS and FT-IR analyses in the Identification of Counterfeit Pharmaceutical Packaging*, American Pharmaceutical Review **15** (2012)
48. V.S. Kulkarni, C. Shaw, *Microscopy Techniques, Essential Chemistry for Formulators of Semisolid and Liquid Dosages*, 1. izd., Elsevier Inc., SAD, 2016
49. P.C. Uden, *Nomenclature and terminology for analytical pyrolysis (IUPAC recommendations)*, Pure and Applied Chemistry **65** (2009) 2405–2409
50. R.A. Meyers, *Encyclopedia of Analytical Chemistry: Applications, Theory and Instrumentation, Pyrolysis in the pulp and paper industry*, 1. izd., Wiley, Chichester, Ujedinjeno Kraljevstvo, 2011
51. R.E. Majors, *Sample Preparation Fundamentals for Chromatography*. 1. izd., Agilent Technologies Inc., Wilmington, Delaware, SAD, 2013

52. K. Dettmer-Wilde, W. Engewald, *Practical Gas Chromatography, Pyrolysis-gas chromatography*, 1. izd., Springer – Verlag, Berlin, Heidelberg, Njemačka, 2014
53. P. Kusch, *Pyrolysis-Gas Chromatography/Mass Spectrometry of Polymeric Materials*, 9. izd., World Scientific Europe, London, Ujedinjeno Kraljevstvo, 2018
54. L. Lv, L. He, S. Jiang, J. Chen, C. Zhou, J. Qu, Y. Lu, P. Hong, S. Sun, C. Li, *In Situ Surface - Enhanced Raman Spectroscopy for Detecting Microplastics and Nanoplastics in Aquatic Environments*, *The Science of the Total Environment* **728** (2020) 2–3
55. A.B.D. Nandiyanto, A. Suhendi, T. Ogi, T. Iwaki, T. Okuyama, *Synthesis of additive-free cationic polystyrene particles with controllable size for hollow template applications*, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **396** (2012) 96–105
56. URL: [https://www.agilent.com/cs/library/applications/5991-8271EN\\_microplastics\\_ftir\\_application.pdf](https://www.agilent.com/cs/library/applications/5991-8271EN_microplastics_ftir_application.pdf) (pristupljeno 12. lipnja 2020.)
57. Z.-M. Wang, J. Wagner, S. Ghosal, G. Bedi, S. Wall, *SEM/EDS and Optical Microscopy Analyses of Microplastics in Ocean Trawl and Fish Guts*, **603–604** (2017) 616–626
58. URL: <http://www.fao.org/fileadmin/templates/agns/pdf/jecfa/cta/61/PVA.pdf> (pristupljeno 12. lipnja 2020.)

## Životopis

Ida Kveder [REDACTED] Pohađala je II. Osnovnu školu Varaždin i III. Osnovnu školu Varaždin. 2013. upisuje Prvu gimnaziju Varaždin. Gimnaziju završava 2017. te iste godine upisuje Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu.

Tijekom treće godine studija odradila je stručnu praksu u kompaniji Fidelta d.o.o.