

Umjetna inteligencija u analizi mikroplastičnih onečišćivala

Stipković, Katarina

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:149:676533>

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

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



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Katarina Stipković

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, rujan 2020.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU FAKULTET
KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Katarina Stipković

UMJETNA INTELIGENCIJA U ANALIZI MIKROPLASTIČNIH ONEČIŠĆIVALA

ZAVRŠNI RAD

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

Članovi ispitnog povjerenstva:

izv. prof. dr. sc. Šime Ukić

doc. dr. sc. Dajana Kučić Grgić

dr. sc. Matija Cvetnić

Zagreb, rujan 2020.

SAŽETAK

Sa sve većom upotrebom plastike dolazi i do nagomilavanja plastičnog otpada koji nerijetko završava u okolišu, a posebice u vodama. U zadnjih nekoliko godina istraživanja su usmjerena prema pronalasku načina detekcije i karakterizacije sićušnih čestica plastike pod nazivom mikroplastika koje predstavljaju globalni ekološki problem. Negativni utjecaj mikroplastike ogleda se u lakom ulasku u hranidbeni lanac te potencijalnoj toksičnosti. Dosadašnje metode detekcije su konvencionalne analitičke metode koje nažalost nemaju veliku učinkovitost. Veliki nedostatak takvih metoda je i dugo vrijeme provedbe analize kao i mogućnost ljudske pogreške. Kako bi se navedeni problemi izbjegli, sve češće se u karakterizaciji upotrebljava umjetna inteligencija.

Cilj ovog rada je dati pregled metode umjetne inteligencije koje se koriste u detekciji i karakterizaciji mikroplastičnih čestica.

Ključne riječi: mikroplastika, okoliš, analiza, umjetna inteligencija

SUMMARY

Increased use of plastics, characteristic for modern society, resulted with accumulation of plastic waste which often ends in the environment, especially water. In recent years, the researches have been focused on finding a way to detect and characterize small plastic particles called microplastics which have become a global eco-problem. Microplastics can infiltrate food chains very easy and is potentially toxic for organisms. Current detection are conventional analytical methods which do not provide high efficiency. Also, a major deficiencies of these methods are relatively long analysis time and the possibility of human error. Artificial intelligence (AI), whose application in characterization of microplastics is becoming frequent, might be a solution for these problems.

The aim of this paper is to present AI methods applied in detection and characterization of microplastic particles.

Key words: microplastics, environment, analysis, artificial intelligence

Zahvaljujem se izv. prof. dr. sc. Šimi Ukiću na mentorstvu te asistentu Matiji Cvetniću na pomoći i strpljenju prilikom pisanja ovog završnog rada.

Veliko hvala mojim prijateljicama i kolegicama na podršci, savjetima i pomoći prilikom pisanja završnog rada.

Zahvaljujem se svojoj obitelji, dečku i stricu za veliku podršku i razumijevanje tijekom ove tri godine studiranja, a najviše hvala mojim roditeljima bez kojih sve ovo nebi bilo moguće. Hvala što ste mi omogućili bezbrižno školovanje i uvijek bili tu za mene.

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.

SADRŽAJ

| | |
|--|----|
| 1. UVOD | 1 |
| 2. TEORIJSKI DIO | 2 |
| 2.1. Plastika..... | 2 |
| 2.2. Mikroplastika..... | 3 |
| 2.2.1. Raspodjela mikroplastike..... | 3 |
| 2.2.2. Negativni utjecaji mikroplastike | 4 |
| 2.3. Metode detekcije mikroplastike..... | 6 |
| 2.3.1. Optičke metode detekcije..... | 6 |
| 2.3.1.1. Upotreba bojila..... | 7 |
| 2.3.2. Spektroskopske metode | 7 |
| 2.3.2.1. Ramanova spektroskopija | 7 |
| 2.3.2.2. FTIR spektroskopija..... | 8 |
| 2.3.3. Termalna analiza..... | 8 |
| 2.3.3.1. Pyr-GC-MS | 8 |
| 3. UMJETNA INTELIGENCIJA U ANALIZI MIKROPLASTIČNIH ONEČIŠĆIVALA | 9 |
| 3.1. Detekcija mikroplastike koristeći hiperspektralne slike i računalni algoritam..... | 10 |
| 3.1.1. Princip provedbe mjerenja | 11 |
| 3.1.2. Učinkovitost metode | 12 |
| 3.2. Detekcija mikroplastike bazirana na uporabi fluorescencije i računalnog programa Image J..... | 12 |
| 3.2.1. Provedba mjerenja | 13 |
| 3.2.2. Bojenje uzorka | 13 |
| 3.2.3. Fluorescencija i fotografiranje uzorka | 14 |
| 3.2.4. Detekcija i kvantifikacija čestica u programu Image J..... | 14 |
| 3.2.5. Učinkovitost metode | 14 |
| 3.3. Detekcija mikroplastike pomoću poluautomatske mikro-Ramanove spektroskopije ... | 16 |
| 3.3.1. Provedba mjerenja | 16 |
| 3.3.2. Učinkovitost metode | 17 |
| 3.4. Hologrfska identifikacija plastike | 17 |

| | |
|--|----|
| 3.4.1. Provedba mjerenja | 17 |
| 3.4.2. Učinkovitost metode | 18 |
| 3.5. Detekcija i klasifikacija mikroplastike pomoću strojnog učenja..... | 19 |
| 3.5.1. Princip metode | 19 |
| 3.6. Detekcija i monitoring mikroplastike pomoću SmartIC sustava..... | 20 |
| 3.6.1. Princip metode | 20 |
| | |
| 4. ZAKLJUČAK | 22 |
| | |
| 5. LITERATURA..... | 23 |
| | |
| ŽIVOTOPIS | 28 |

1.UVOD

Proizvodnja plastike započela je 1950-ih.¹ Zbog svojih svojstava, praktične primjene i cijene, potražnja za plastičnim materijalom bivala je sve veća. Tako je u posljednjih nekoliko godina plastika postala jednim od najviše iskorištavanih resursa koji se koristi u gotovo svim sferama života. Zbog velike potražnje za plastičnim materijalom, industrija plastike doživjela je procvat te trend proizvodnje plastike i danas raste. Svake godine proizvede se oko 320 milijuna tona plastike te se dupli porast proizvodnje očekuje kroz sljedećih 20 godina.² Nažalost, upravo zbog povećanja proizvodnje i potrošnje plastičnog materijala, došlo je i do nagomilavanja velike količine plastičnog otpada. Samo jedan dio plastičnog otpada je recikliran ili zbrinut na pogodan način, dok veliki dio otpada završava u okolišu što predstavlja veliki globalni problem. Tek 1970-ih dolazi do spomena plastike kao zagađivača u oceanima.³ Upravo zbog svojstva plastike kao što je spora razgradnja, plastika predstavlja opasnost za okoliš.⁴ U posljednjem desetljeću, istraživanja povezana s plastičnim onečišćenjem, usmjerila su se prema istraživanju utjecaja mikroplastike. Općenito, mikroplastikom se smatraju svi plastični fragmenti manji od 5 mm.⁵ Zbog svoje veličine, mikroplastika predstavlja prijetnju jer vrlo lako dospijeva u okoliš, a ponajviše u mora i oceane te tlo, gdje se akumulira i ulazi u hranidbene lance uzrokujući pomor mnogih biljnih i životinjskih vrsta. Nedavne studije pokazale su kako je mikroplastika kroz lance dospijeva i do čovjeka te predstavlja potencijalnu opasnost za ljudsko zdravlje.⁶

Aktualna istraživanja su usmjerena na razvoj metoda detekcije, kvantifikacije te konačno samog uklanjanja mikroplastike iz okoliša, no isto tako na posljedice koje mikroplastika uzrokuje. Dosadašnji pristup detekciji i kvantifikaciji mikroplastike temeljio se na fizikalnoj karakterizaciji većih fragmenata mikroplastike koja se najčešće može provesti vizualnim putem uporabom optičkog mikroskopa, no problem predstavljaju one čestice manjih dimenzija koje se ne mogu tako lako detektirati.⁷ Još jedan od problema predstavlja što, u realnim uzorcima vode, a isto tako sedimenta, pojedine čestice mikroplastike ponekad teško razlikovati od nekih drugih vrsta čestica kao što razne vrste materijala kao što su organska vlakna ili razni organizmi kao što su primjerice alge i sl. Najveći nedostatak postojećih pristupa detekciji, u koju svrhu se koriste brojne analitičke metode, je što uzimaju dosta vremena. Radi lakše detekcije i kvantifikacije spomenutih čestica razvijaju se mnoge metode koje koriste umjetnu inteligenciju jer ona pojednostavljuje i ubrzava sam proces detekcije te smanjuje faktor ljudske pogreške.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Plastika

Plastika je jedan od najviše upotrebljivanih materijala u globalnoj ekonomiji. Veliku rasprostranjenost plastike možemo pripisati svojstvima kao što su⁴ žilavost, fleksibilnost, plastika je lagana i može se modelirati u bilo koju željenu formu⁸, a širokoj uporabi pridonosi i njezina niska cijena. Pod pojmom plastika smatra se grupa materijala koja može biti prirodnog, sintetičkog ili polusintetičkog podrijetla.⁹ Svojstva ovih polimera možemo pripisati strukturi polimernih molekula te kemijskom sastavu. Sirovina za proizvodnju plastičnih materijala potječe iz fosilnih goriva, ugljena, ulja te prirodnog plina.¹⁰

Najčešće korišteni polimeri u proizvodnji plastike, a samim time i polimeri koji su u velikom udjelu prisutni u okolišu su polietilen visoke gustoće (HDPE), polietilen niske gustoće (LDPE), poli(vinil-klorid) (PVC), polistiren (PS), polipropilen (PP) i poli(etilen-tereftalat) (PET).¹¹ Navedene vrste plastike koje najčešće susrećemo u okolišu te njihovo porijeklo iz raznih vrsta proizvoda možemo vidjeti u Tablici 1. Plastika koja se nalazi u okolišu podložna je vanjskim utjecajima, a posljedica njezine izloženosti je usitnjavanje i degradacija. Veliki dijelovi plastike mogu se fragmentirati na manje dijelove koji se po veličini dijele na makroplastiku (čestice > 25 mm), mezoplastiku (čestice veličine 5-25 mm), mikroplastiku (čestice veličine 0,1-5 mm) i nanoplastiku (čestice < 100 nm).¹²

Tablica 1. Vrste plastike koje najčešće susrećemo u morskom okruženju¹³

| Klasifikacija plastike | Kratice | Gustoća (g/L) | Porijeklo iz proizvoda |
|---------------------------|---------|---------------|--|
| Polietilen niske gustoće | LDPE | 0,91 – 0,93 | Plastične vrećice, boce, slamke |
| Polietilen visoke gustoće | HDPE | 0,94 | Kanistri za mlijeko i sokove |
| Polipropilen | PP | 0,83 – 0,85 | Čepovi od boca, mreže, uže |
| Polistiren | PS | 1,05 | Plastično posuđe, plastični spremnici za hranu |
| Poli(vinil-klorid) | PVC | 1,38 | Plastične boce, šalice, filtri za cigarete |
| Poli(etilen-tereftalat) | PET | 1,37 | Plastične boce za piće |

2.2. Mikroplastika

Iako podjela mikroplastike nije strogo definirana¹⁴ mikroplastika se prema veličini, prema jednom od izvora, može podijeliti u dvije kategorije, veliku mikroplastiku čija je veličina u rasponu 1-5 mm te malu mikroplastiku veličine 0,02-1 mm.¹⁵ Obzirom na način nastanka i primjenu pojedine vrste, mikroplastiku možemo podijeliti u dvije kategorije, primarnu i sekundarnu mikroplastiku.

U primarnu mikroplastiku spadaju dijelovi plastike koji se proizvode u mikroskopskoj veličini. Primarna mikroplastika se prvotno proizvodi u obliku granula, mikrogranula ili peleta¹⁶ koje se kasnije dodatno mogu obrađivati ili ostaju u izvornim oblicima i koriste se ponajviše u kozmetičkim proizvodima. Zbog svoje mekoće nalaze se u pastama za zube, kremama, kao abrazivna sredstva za ljuštenje kože (engl. *peeling*), dodaju se u proizvode za čišćenje u domaćinstvu i za mnoge druge svrhe.¹⁷ Takve čestice našle su primjenu osim u kozmetičkoj industriji i u medicini i industriji. Primarna mikroplastika najčešće dopijeva u okoliš industrijskim izlivanjem ili nepravilnim odlaganjem, a velike količine oslobađaju se svakodnevno u svakom ciklusu pranja sintetičkih tkanina.¹⁸

U sekundarnu mikroplastiku spadaju plastični fragmenti nastali razgradnjom većih dijelova plastike, odnosno plastičnog otpada. Uzrok fragmentacije može biti fizikalni, kemijski i biološki.⁵ Najčešći uzroci fragmentacije plastike su:¹²

- fotooksidacija pod utjecajem UV zračenja,
- hidroliza,
- termalna degradacija,
- mehanička abrazija
- biodegradacija.

Sekundarna mikroplastika potencijalno se proizvodi od svakog komada plastike koji završi u okolišu.

2.2.1. Raspodjela mikroplastike

Provedenim istraživanjima, zaključeno je da veliki udio mikroplastike možemo pronaći u vodenom okruženju što uključuje površinske morske vode, plaže, dubokomorski sediment, jezera te razne pritoke.¹⁴ Plastika, a tako i mikroplastika koja dopijeva u morsko okruženje najčešće potječe od kopnenih izvora koji čine čak 80% izvora zagađenja.¹⁹ Pod utjecajem valova i morskih struja mikroplastika biva nošena na morsku obalu, a dio

mikroplastike ostaje na površini mora i oceana te može biti pronađena i na većim dubinama.²⁰ Mikroplastične čestice različitih veličina nađenih u moru i morskoj obali možemo vidjeti na slici 1. Veliki dio zagađenja posljedica je i aktivnosti uz morsku obalu kao što su ilegalno odlaganje otpada ili bušenja na obali. Neki drugi putovi dopijeva plastike i mikroplastike su slučajno izlivanje otpada i njegova degradacija pod raznim utjecajima.¹⁹

Mikroplastika možemo pronaći u industrijskim i kućanskim odvodnim sustavima. Voda iz postrojenja ili kućanstva odvodi se na obradu, no zbog svoje veličine dio čestica mikroplastike izbjegnu pročišćavanje te, iako je stopa uklanjanja mikroplastike vrlo velika, čak 65 milijuna čestica mikroplastike svakodnevno dopijeva u okoliš prilikom ispuštanja takvih voda.²¹



Slika 1. Prikaz fragmenata plastike nađenim u morskom okruženju na Kanarskim otocima²²

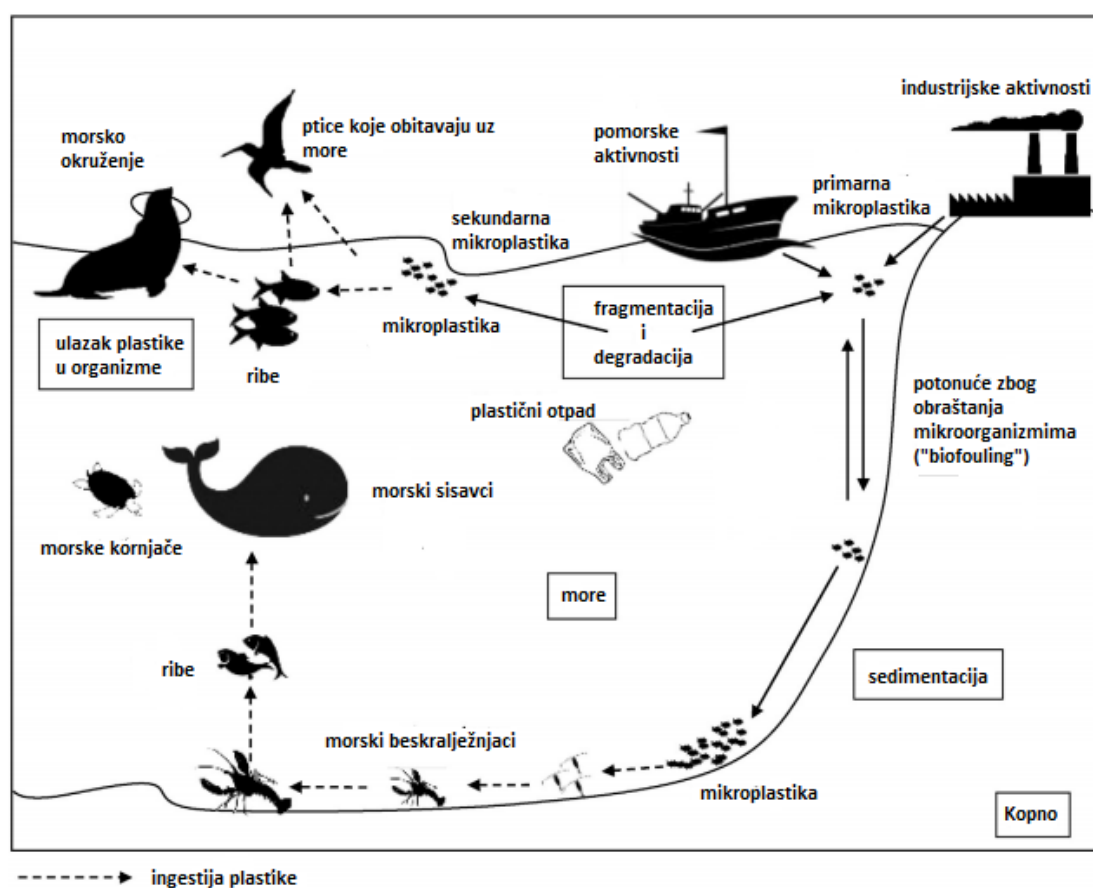
2.2.2. Negativni utjecaji mikroplastike

U posljednjih nekoliko godina došlo je do spoznaja da vrlo velik udio u onečišćenju plastikom, posebice u vodama i sedimentu, doprinosi mikroplastika. Dok se veća plastika generalno može ukloniti nekim prirodnim procesima ili procesima potpomognutim ljudskim faktorom, mikroplastika upravo zbog svoje veličine predstavlja problem u detekciji i konačno uklanjanju plastike takve veličine.

Kada mikroplastika jednom dopijeva u ovakve sustave ima vrlo štetan utjecaj na organizme koji obitavaju unutar ili blizu takve okoline. Zbog svoje veličine, mikroplastika vrlo lako ulazi u organizme, bilo preko vode ili hranjenjem drugim organizmima. Kada uđe u organizam, mikroplastika može uzrokovati patološki stres, lažnu sitost, reproduktivne komplikacije, blokiranu proizvodnju enzima, oksidativni stres te smanjenu stopu rasta, u

konačnici uzrokujući pomor brojnih vrsta.²³ Toksičnost mikroplastike ogleđa se u intrizičnoj toksičnosti koja nastaje od fizikalnih oštećenja i ispiranja kemikalija prisutnih u njoj. Također ima sposobnost adsorpcije postojećih organskih onečišćivala (POPs).²⁴ Upravo zbog većeg omjera površine nad volumenom, mikroplastika ima sposobnost brže akumulacije i otpuštanja kemikalije i mikrobe u okoliš u odnosu na veće dijelove plastike. Kada takva mikroplastika jednom uđe u hranidbeni lanac, vrlo lako dospije i do čovjeka gdje uzrokuje štetne učinke poput raka, oslabljene reproduktivne aktivnosti, smanjenog imunološkog odgovora i malformacija.¹⁴

Mogući procesi prijenosa plastike i mikroplastike u moru i u morskome okolišu te ulazak mikroplastike u organizme prikazani su na slici 2.



Slika 2. Mogući putovi mikroplastike u moru i morskome okolišu¹¹

Mikroplastika utječe i na „učinak staklenika“ te proces fotosinteze. Prisutnost mikroplastike u morima i oceanima dovodi do promjene u zajednici fitoplanktona. Mikroplastika zaklanja te reflektira sunčevu svjetlost smanjujući prodor zraka fitoplanktonima te samim time uvelike utječe na proces fotosinteze. Isto tako ulaskom mikroplastike u

organizam zooplanktona, usporava im se rast te nerijetko dolazi do smrtnog ishoda, a smanjenjem populacije zooplanktona koji adsorbiraju ugljikov dioksid, koji se ovom slučaju dolazi na površinu vode te se otpušta u atmosferu, mikroplastika indirektno pridonosi „učinku staklenika“.²⁵

2.3. Metode detekcije mikroplastike

Mikroplastika se najčešće određuje iz vodenog uzorka ili uzorka sedimenta gdje se upravo i pronalazi najviše onečišćenja takve vrste. Kao što je već spomenuto jedan od najčešćih pristupa detekciji, a potom kvantifikaciji mikroplastike uključuje vizualnu detekciju pomoću optičkog mikroskopa te prebrojavanje mikroplastičnih čestica koje se provodi od strane stručne osobe. Ovaj pristup temelji se na određivanju boje, veličina i morfologije čestica. Uzorci sedimenta obično sadržavaju veći broj mikroplastičnih čestica te se zbog toga mikroplastika u takvim uzorcima određuje Ramanovom spektroskopijom ili FTIR (engl. *Fourier-transform infrared spectroscopy*) metodom.²⁶ Navedeni načini vrlo su dugotrajni te se kod detekcije mikroskopom često može dogoditi da čestice manje veličine ne budu zamijećene. Prilikom razvijanja metoda često se, u svrhu lakše detekcije, mikroplastika boji pomoću različitih boja koje čestice plastike imaju mogućnost adsorbirati, a omogućavaju lakšu vizualizaciju mikroplastike. Također u svrhu detekcije koristi se i metoda pirolize povezana s plinskom kromatografijom uz detekciju spektrometrijom masa (Pyr-GC-MS).²⁷

2.3.1. Optičke metode detekcije

Najviše upotrebljavane metode detekcije mikroplastike su optičke metode. Ove metode koriste se samostalno u detekciji ili kao prvi korak u kombinaciji s nekim drugim pristupima. Ovim načinom može se utvrditi boja, oblik, veličina, tekstura kao neke od karakteristika.

Kao što je već spomenuto, promatranje mikroplastike može se provoditi golim okom od strane stručne osobe te se na taj način najčešće detektiraju veći dijelovi mikroplastike, kao i obojena mikroplastika, ili pomoću optičkog mikroskopa.²⁸ Veliki nedostatak vizualne detekcije je što se većina čestica manjih dimenzija vrlo teško uočava i nerijetko se krivo kategorizira. Optičkim mikroskopom omogućava se detekcija manjih čestica mikroplastike. Prednost nad analizom golim okom je što mikroskopom možemo vidjeti detaljnije informacije

o teksturi i strukturi promatranog objekta. Ovakve vrste identifikacije imaju mnoge prednosti kao što su niska cijena i jednostavnost, no upravo zbog svoje jednostavnosti, ove metode imaju i niz ograničenja kao što su nemogućnost razlikovanja čestica mikroplastike od ostalih materijala te veliki postotak dobivanja „lažno pozitivnih“ rezultata. U detekciji mikroplastike, utvrđeno je da postotak dobivanja lažno pozitivnih rezultata ovakvom metodom je preko 20%, a za prozirne čestice mikroplastike i preko 70%.²⁹

2.3.1.1. *Upotreba bojila*

Za lakšu vizualizaciju čestica mikroplastike, koriste se boje koje imaju sposobnost adsorpcije na mikroplastiku. Takvu mikroplastiku možemo lakše uočiti zbog različitog obojenja ili češće korištene su neke od boja imaju sposobnost izazivanja fluorescencije koje se analiziraju pod fluorescentnim mikroskopom. Neke od boja koje se koriste u navedenu svrhu su *Nile red*, *Fluorescein isophosphate*, *Safranine T*³⁰, *Rose Bengal*³¹. Nedostaci pristupa su to što se molekule bojila vrlo lako mogu desorbirati s površine te sve vrste mikroplastike nemaju mogućnost adsorpcije određenih boja ili im je fluorescencija vrlo slaba što dovodi do toga da ne budu detektirane.³⁰

2.3.2. **Spektroskopske metode**

Spektroskopske metode, kao što su Ramanova i FTIR spektroskopija pružaju pouzdaniji pristup detekciji mikroplastike. Najčešće se koriste za identifikaciju čestica određujući njihovu kemijsku kompoziciju.

2.3.2.1. *Ramanova spektroskopija*

Ramanova spektroskopija je analitička metoda koja se može koristiti u detekciji mikroplastike u različitim uzorcima uzetih iz okoliša. Ova metoda temelji se na interakciji atoma ili molekula uzorka sa svjetlom lasera koji se koristi kao podražaj. Laser daje monokromatsku svjetlost u rasponu koji se najčešće kreće od 500 do 800 nm. Rezultat navedene interakcije je promjena u frekvenciji svjetlosti odbijene od uzorka u odnosu na frekvenciju laserske svjetlosti. Iz dobivene razlike u frekvenciji, na temelju dobivenih Ramanovih spektara za uzorak i već postojećih referentnih spektara za pojedine vrste polimera, polimerni materijali mogu se detektirati. Metoda se koristi za detekciju većih čestica plastike. Kako bi se identificirale čestice plastike ispod 1 μm koristi se mikro-Ramanova spektroskopija.³² Veliki nedostatak ove metode je što analiza zahtijeva duži vremenski period te se nerijetko analizira samo dio uzorka.³³

2.3.2.2. FTIR spektroskopija

FTIR spektroskopija također je jedna od vrsta za detekciju, odnosno identifikaciju čestica plastike prema karakterističnim spektrima. Metoda se temelji na tome da infracrveno zračenje prilikom interakcije sa uzorkom ekscitira molekule uzorka i uzrokuje vibracije. Jačina vibracije ekscitiranih molekula uvelike ovisi o valnoj duljini infracrvenog zračenja te o samoj strukturalnoj izvedbi molekule.³² FTIR spektroskopija poželjna je metoda u detekciji mikroplastike zbog niske cijene, pouzdanosti i jednostavnosti provedbe analize.³⁴ Nedostatak ove metode je što ima manju rezoluciju u odnosu na Ramanovu spektroskopiju, odnosno koristi se za identifikaciju nešto većih čestica, najčešće minimalne veličine 10-20 μm , no prednost u odnosu na Ramanovu spektroskopiju je to što na spektralnu kvalitetu ne utječe fluorescencija čestica kao što je to slučaj kod Ramana.³⁵

Uz standardnu FTIR spektroskopiju, podvrste FTIR spektroskopije koje se koriste u detekciji mikroplastike su: FTIR mikrospektroskopija (micro-FTIR) koja, kao što joj ime govori, objedinjuje FTIR tehniku s mikroskopijom³⁴ te ATR-FTIR (engl. *Attenuated total reflection*) koja pruža stabilne spektralne informacije i najveću preciznost analize.²¹

2.3.3. Termalna analiza

2.3.3.1. Pyr-GC-MS

Pyr-GC-MS tehnika je koja kombinira pirolizu, plinsku kromatografiju i masenu spektrometriju te se koristi u detekciji mikroplastike, a ponajviše za dobivanje strukturalnih informacija makromolekula odnosno kemijske kompozicije, u ovom slučaju polimernih molekula.³⁶ Princip ove metode temelji se na podvrgavanju uzorka visokoj temperaturi u inertnoj atmosferi ili u vakuum. Na taj način dolazi do degradacije molekula uzorka čiji se produkti odvajaju plinskom kromatografijom, a potom detektiraju pomoću masene spektrometrije.³⁷ U svrhu identifikacije mikroplastike, ovakva metoda se može koristiti u kombinaciji s elektronskom mikroskopijom.³⁶ Prednost metode je što na ovaj način mogu biti analizirani razne vrste polimera te isto tako organski polimerni aditivi, dok je nedostatak primjene ove tehnike destruktivnost uzorka.³⁸

3. UMJETNA INTELIGENCIJA U ANALIZI MIKROPLASTIČNIH ONEČIŠĆIVALA

Pod pojmom umjetne inteligencije podrazumijeva se područje znanosti koje se bavi razvojem inteligentnih alata, primjerice strojeva, aparata ili aplikacija koje reagiraju i „uče“ na sličan način kao i ljudi. Osnovni alat umjetne inteligencije su algoritmi, a metode kojima se umjetna inteligencija koristi su razne. Modeli se mogu koristiti kao samostalne aplikacije i softveri ili se nastali algoritmi mogu kombinirati s nekim drugim tehnikama. Sa razvitkom umjetne inteligencije, počela se sve više primjenjivati u raznim područjima znanosti te tako i u kemiji. Upotreba umjetne inteligencije u tu svrhu omogućuje klasifikaciju brojnih podataka, predviđanje ponašanja, korelacije te kreacije novih modela.³⁹

Umjetna inteligencija vrlo često se koristi u kemiji u svrhu predviđanja svojstava molekula, dizajniranja novih molekula, retrosintezi, predviđanju ishoda kemijske reakcije, predviđanju i optimizaciji uvjeta reakcije.⁴⁰ Vrlo često u sklopu metoda detekcije mikroplastike koristi se strojno učenje te se primjenjuju umjetne neuronske mreže.

Strojno učenje je tehnika koja se temelji na analizi podataka. Takvo učenje temelji se na iskustvu, odnosno računalni algoritmi koriste računske metode za „učenje“ novih informacija iz baze podataka. Povećanjem broja podataka dostupnih za učenje, algoritam poboljšava performanse te daje bolje rezultate. Strojno učenje često se koristi za obradu slika, prepoznavanje lica te detekciju objekata i pokreta.⁴¹

Vrlo važan dio umjetne inteligencije je razvitak umjetnih neuronskih mreža. Njihova uloga je otkrivanje veze koja povezuje uzorke ulaznih podataka sa uzorkom izlaznih podataka. Kada se takve mreže na pravilan način „istreniraju“ u mogućnosti su brzo rješavati razne operacije u slučajevima kada je broj podataka iznimno velik te je nemoguće klasičnim metodama odrediti korelaciju i napraviti model.³⁹

U svrhu analize, upravo se u posljednje vrijeme koriste razni računalni programi koji omogućavaju računalnu detekciju i kvantifikaciju odabranog objekta od interesa kada konvencionalne metode nisu više dovoljne.

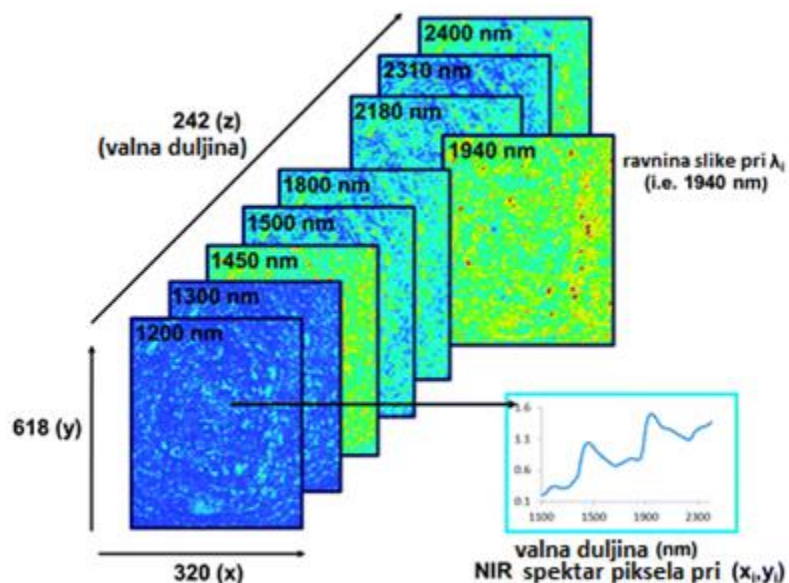
U mikrobiologiji, neurobiologiji i sličnim znanstvenim disciplinama znanstvenici se često služe računalnim programima koji su razvijeni za analizu te obradu slika mikroorganizama te različitih vrsta organizama, primjerice zooplanktona⁴², kao i za analizu dijelova stanice. Sukladno time, znanstvenici takav pristup iskorištavaju upravo i za detekciju i kvantifikaciju različitih uzoraka mikroplastike, bilo da se radi već o postojećim programima

za analizu ili novo razvijenim programima namijenjenim za navedenu svrhu. U potrazi za novim metodama koje olakšavaju detekciju, umjetna inteligencija postala je neizbježan alat današnjice.

Uporabom umjetne inteligencije pokušava se pronaći metoda koja će omogućiti bržu, jednostavniju i točniju detekciju mikroplastike. Ovaj način razvijanja metoda još uvijek je u fazi istraživanja te su u tu svrhu provedeni brojni eksperimenti. Većina ovih metoda su poluautomatizirane te se koriste u kombinaciji s već postojećim instrumentalnim metodama detekcije. Neke od predloženih novih metoda navedene su u sljedećim odlomcima.

3.1. Detekcija mikroplastike koristeći hiperspektralne slike i računalni algoritam

Hiperspektralno snimanje⁴³ je tehnika koja objedinjuje digitalno snimanje slika i spektroskopiju. Na taj način dobivaju se trodimenzionalne slike uzorka koje nose naziv „*hypercube*“. Princip nastanka slika sastoji se od slaganja velikog broja nastalih, najčešće crno-bijelih slika ili RGB (engl. *red, green, blue*) slika, jedne iza druge. Spomenuti princip možemo vidjeti prikazan na slici 3.



Slika 3. Ilustracija NIR hiperspektralne slike⁴⁴

Matrica nastala u bliskom infracrvenom spektru (engl. *near infrared spectra*, NIR) hiperspektralne slike sastoji se od apscise i ordinate kojima su definirane koordinate pojedinog piksela te predstavljaju prostornu dimenziju te osi aplikate z koja predstavlja spektralnu dimenziju, odnosno valnu duljinu piksela.⁴⁴ Ova tehnika omogućava dobivanje spektralnih i prostornih informacija za pojedini piksel na snimljenoj hiperspektralnoj slici analiziranog uzorka. Kombinacijom navedenih metoda lako se može doći do kemijskih i fizikalnih značajki ispitivanoga.⁴⁵ Pokazala se vrlo prikladnom u analizi heterogenih uzoraka upravo zbog velikog broja spektara dobivenih sa pojedinog piksela koji se međusobno razlikuju.⁴⁴

Metoda koristi HSI (engl. *Hyperspectral imaging*) tehniku sa SVM (engl. *Support Vector Machine*) algoritmom. Nedostatak HSI tehnike je dobivanje velike količine podataka koji su međusobno korelirani te samim time uvelike utječu na točnost procesa. Upravo iz tog razloga koristi se SVM algoritam koji se vrlo dobro pokazao u obradi visokodimenzioniranih, nelinearnih skupova podataka. Tehnika je primijenjena za detekciju mikroplastike u morskoj vodi.

3.1.1. Princip preovedbe mjerenja

Hiperspektralne slike snimaju se na NIR hiperspektralnom spektrografu u rasponu 900-1700 nm. U sklopu spektrografa nalazi se kamera i programski paket za akviziciju dobivenih slika. Akviziciju slike, tj. digitalnu prezentaciju vizualnih karakteristika uzorka poželjno je provoditi u zatvorenoj metalnoj kutiji radi sprječavanja interferencije s nekim neželjenim izvorima svjetlosti. Kao izvor svjetlosti za snimanje NIR spektara koristi se kvarcna halogena žarulja. SVM model koristi se kako bi na temelju poznatih podataka, odnosno podataka pomoću kojih je model „istreniran“ bio u mogućnosti detektirati ciljani objekt dotad neviđenom uzorku. Pošto se detekcija mikroplastike provodi na filtarskom papiru, potrebno je pomoću za to predviđenog računalnog programa provesti izračun srednje vrijednosti svih piksela koje čine područje od interesa, a to uključuje filtarski papir, organske čestice i mikroplastiku. Dobiveni spektri uvrštavaju se u SVM model. O uspješnosti razvijenog klasifikacijskog modela govore dvije značajke, *P*- i *R*- vrijednost. *P*-vrijednost govori o postotku točnih pozitivnih rezultata, a *R*-vrijednost daje informaciju o postotku svih dobivenih pozitivnih vrijednosti.

3.1.2. Učinkovitost metode

Preliminarnim ispitivanjima ove nove predložene metode detekcije utvrđeno je kako veličina čestica mikroplastike utječe na rezultate analize, kao i prisutnost vode te velik broj različitih vrsta mikroplastike. Ispitivanjima je pokazano da je stopa oporavka mikroplastike najveća kada su *P*- i *R*-vrijednosti stopostotne. To je moguće postići u slučaju kada su čestice mikroplastike veće od 1 mm, odnosno tada se ne nalaze lažno pozitivni rezultati. Smanjenjem veličine čestica ispod 1 mm, vrijednosti padaju na ispod 80%. Ispitivanje je provedeno u uzorku vode koja sadrži čestice mikroplastike i na filtarskom papiru bez prisutnosti vode. Kada su spektri dobiveni snimanjem u oba uvjeta uspoređeni, zaključilo se kako apsorpcijska vrpca vode preklapa s vrpčama u područjima koji su karakteristična za pojedine vrste mikroplastike. Snimajući hiperspektralne slike na samom filtarskom papiru, uvidjelo se da se donja granica detekcije pomaknula na 0,4 mm što je vrlo značajno pri detekciji, a *P*- i *R*-vrijednosti značajnije su padale tek ispod veličine čestica od 0,2 mm. Ispitivanje je provedeno i s više vrsta plastičnih čestica. Pokazalo se da je SVM model prikladan pri takvoj analizi, a smanjenu učinkovitost pokazuje u slučajevima kao što je to već prije navedeno.

3.2. Detekcija mikroplastike bazirana na uporabi fluorescencije i računalnog programa Image J

Kao jedan od pristupa u detekciji mikroplastike koristi se bojanje mikroplastike fluorescirajućim bojama. Kombinacijom bojanja, analize fluorescentnim mikroskopom i primjenom računalnog programa za analizu slike Image J, razvijena je nova metoda koja se preliminarnim ispitivanjima pokazala vrlo učinkovitom pri detekciji određenih vrsta mikroplastike. Ovom metodom određuju se male čestice mikroplastike. Pomoću navedene metode detektiraju se čestice na temelju fluorescencije koja je zabilježena pomoću mikroskopa i kamere te se dalje analizira pomoću Image J računalnog programa. Na taj način provodi se poluautomatska detekcija i kvantifikacija uzorka mikroplastike.

Nađeno je nekoliko radova koji problematiku detekcije mikroplastičnih čestica rješavaju njihovim obilježavanjem pomoću fluorescirajućih boja te potom analizirajući tako snimljene slike pomoću alata Image J.^{31,46,47}

Image J je računalni program namijenjen obradi slika u znanstvene svrhe te se koristi u više istraživanja usko povezanih s detekcijom i kvantifikacijom upravo mikroplastike.⁴³

Omogućuje procesiranje i analizu danog problema u vidu snimljene fotografije. Image J osmišljen je u sklopu platforme Java te se može koristiti u više operacijskih sustava: Windows, Linux i Mac OS X. Korištenje ovog alata vrlo je rašireno upravo iz razloga što je javno dostupan, besplatan te ne zahtijeva nikakvu licencu za korištenje.⁴⁹

3.2.1. Provedba mjerenja

Metoda zahtijeva korak pročišćavanja uzorka. Pošto se ovom metodom detektiraju čestice manje veličine potrebno ih je odvojiti od ostalih čestica uzorka. Uzorci koji mogu biti ispitivani mogu biti iz sedimenta ili vodeni uzorci. Nakon uzorkovanja, vodeni uzorak se filtrira kroz sita određene veličine pora kako bio odvojili veće dijelove mikroplastike. U uzorcima sedimenta najčešće se provodi postupak flotacije u kojem se na temelju gustoće odvajaju čestice mikroplastike od ostatka sedimenta.⁵⁰ Ovako preliminarno odvojeni uzorci podvrgavaju se filtraciji vakuumom kroz PCTE filtre. U realnim uzorcima mogu se naći razne vrste čestica različitih materijala te razni mikroorganizmi. Najveći problem predstavljaju prirodni polimeri koji se nerijetko nalaze u navedenim uzorcima zbog mogućnosti davanja lažno pozitivnih rezultata prilikom detekcije. Kako bi se izbjegle smetnje, filtrirani uzorci se podvrgavaju procesu digestije pomoću kemijskih reagensa. Iako ne postoji reagens koji će ukloniti sve organske materijale osim plastike iz vodenih uzoraka⁵¹, dobre rezultate pokazuje digestija s otopinom H₂O₂ koja uspješno uklanja polimere organskog podrijetla, a najčešće upotrebljavani sintetički polimeri su rezistentni prema otopini.⁴⁶

3.2.2. Bojenje uzorka

Bojenje se provodi raznim vrstama boja od kojih je najbolje karakteristike, kao što su adsorpcija na mikroplastiku i intenzitet fluorescencije, pokazala boja pod nazivom Nile Red (NR).³¹ NR je solvatokromna boja što uzrokuje razlike u intenzitetu fluorescencije pojedinih obojanih čestica mikroplastike koji se razlikuju po polarnosti. Upravo zbog te karakteristike bojenje ovakvom bojom nam daje mogućnost klasifikacije vrsta mikroplastičnih čestica. NR boju potrebno je razrijediti u pogodnom otapalu kao što je aceton³¹ ili metanol⁴⁶. Prije postupka bojenja potrebno je odrediti optimalnu koncentraciju i vrijeme inkubacije kako bi bojenje bilo uspješno. Vrlo je važno odrediti optimalnu koncentraciju jer u slučaju, primjerice, previsoke koncentracije dolazi do ispiranja boje. Optimalan raspon koncentracija boje iznosi 0,1-2,0 µg/mL.⁴⁶

3.2.3. Fluorescencija i fotografiranje uzorka

Fluorescencija obojanih mikroplastičnih čestica izaziva se LED lampom ili nekim drugim izvorom svjetlosti odgovarajuće valne duljine. Ekscitiranje se može potići različitim valnim duljinama svjetlosti izazivajući fluorescenciju različitog obojenja. Kao najbolja pokazala se zelena fluorescencija iz razloga što organski polimeri ne fluoresciraju u tom području te pozadinski signali filtra, na kojem je smješten uzorak, su u tom slučaju smanjeni.⁴⁶ Mikroskopsko snimanje fotografija provodi se pomoću kamere.

U svojem istraživanju, Maes i suradnici³¹ snimali su fotografije mikroplastike izazivajući fluorescenciju plavom svijetlošću te fotografiju snimili kamerom koja se nalazi u sklopu fluorescentnog mikroskopa koristeći narančasti filter.

3.2.4. Detekcija i kvantifikacija čestica u programu Image J

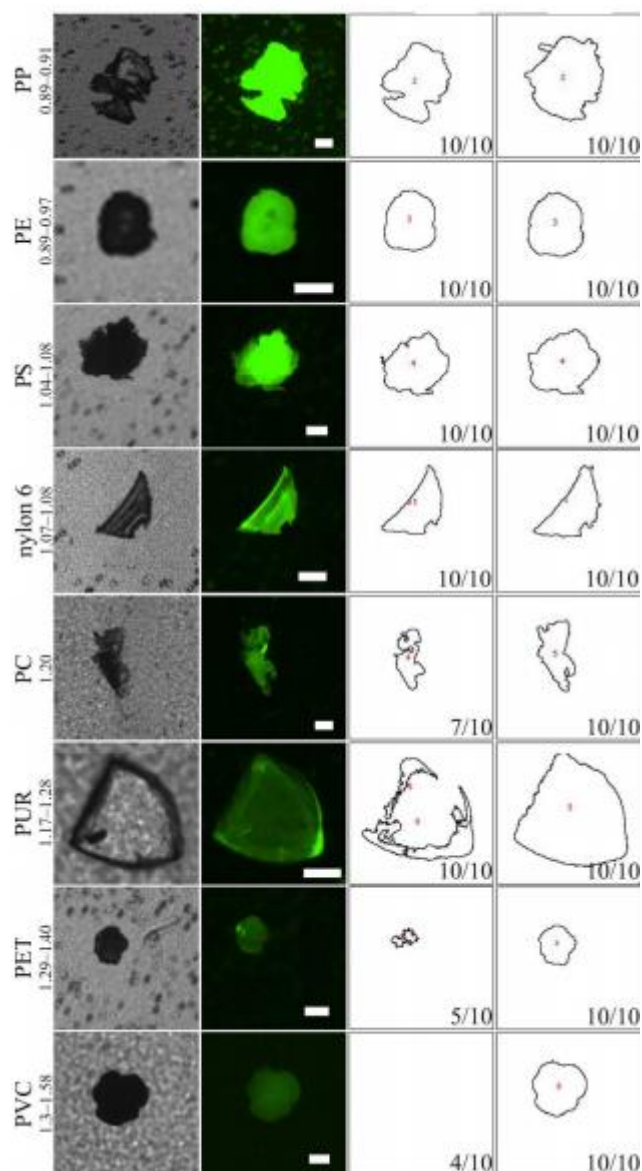
Pomoću Image J programa, vrši se automatizirano prepoznavanje čestica mikroplastike te njezina kvantifikacija na temelju fluorescentnih fotografija. U navedenom programu moguće je napraviti programski kod koji omogućuje detekciju i kvantifikaciju na način da se postavlja odgovarajuća skala te pozadina, sliku je potrebno pretvoriti u određeni format, prilagoditi crno-bijele pragove koristeći odgovarajuće vrijednosti svjetline piksela i na kraju postaviti kvantificiranje čestice na temelju površine uz odgovarajuću granicu detekcije.

3.2.5. Učinkovitost metode

Učinkovitost metode ispitana je preliminarnim ispitivanjima na deset različitih vrsta sintetskih polimera. Pojedini uzorak sadržava 10 vrsta polimernih čestica, a uspješnost detekcije možemo vidjeti i na slici 4 gdje je prikazan broj detektiranih čestica naspram ukupnog broja. Na slici 4 prikazane su dijelovi snimljenih fotografija uzorka snimljenog na filtarskom papiru. Uzorak je sniman, s lijeva na desno: pri normalnom osvjetljenju mikroskopa, pri zelenoj fluorescenciji te obrađenim fotografijama u programu Image J pri postavkama veće i manje osjetljivosti.⁴⁶ Metoda se najbolje pokazala prilikom određivanja određenih vrsta plastike, a to su PE, PP, PS i najlon tip 6. Metoda je brza, pouzdana kada se radi o određivanju prethodno navedenih polimernih vrsta i pristupačne cijene uz svoja ograničenja. Ograničenje metode je to što je manje efektivna za manje hidrofobne polimere zbog slabije fluorescencije takvih čestica.

Ovakav pristup detekciji pokazao se efektivnim te sukladno tome postoje brojna istraživanja koja koriste bojenje mikroplastike u svrhu identifikacije i kvantifikacije. Isto tako već postojeće prihvaćene metode, kao prethodno opisana metoda Cassolia i suradnika⁴⁶,

nastoje se unaprijediti. Nađeno je da⁴⁷ ukoliko se analiza koja se provodi pomoću fluorescirajućih boja ne provede unutar dva tjedna, dolazi do slabljenja intenziteta fluorescencije mikroplastike što je posebno izraženo kod mikroplastike manjih dimenzija. Sam proces bojenja pokazuje dobru efikasnost i kada se vrijeme postupka smanji s optimalnih trideset minuta na pet minuta. Iako bi smanjena koncentracija bojila donijela uštedu, njezino smanjenje ispod 0,01 µg/mL uzrokuje gubitak fluorescencije mikroplastike. Tretman za uklanjanje organskih čestica je poželjan, no potrebno je posvetiti pažnju prilikom korištenja acetona i Fentonovog reagensa koji imaju sposobnost ispiranja boje s mikroplastike. Prilikom snimanja uzorka, preporučljivo je koristiti izvor svjetlosti optimalne jačine iznad 1600 lx.



Slika 4. Uzorci različitih vrsta mikroplastike obojeni bojom *Nile Red* snimljeni pod mikroskopskim osvjetljenjem, pod zelenom fluorescencijom te uzorci obrađeni u programu Image J pri postavci manje (lijevo) i veće (desno) osjetljivosti.⁴⁶

3.3. Detekcija mikroplastike pomoću poluautomatske mikro-Ramanove spektroskopije

Metoda koja će u nastavku biti opisana je poluautomatska te koristi kombinaciju analize slika čestica mikroplastike zajedno s automatiziranom mikro-Ramanovom spektroskopijom.

3.3.1. Provedba mjerenja

Detekcija se provodi pomoću opreme koja se sastoji od Ramanovog mikrospektrometra koji je povezan s računalnim programom, video kamerom, regulatorom položaja uzorka te modulom *ParticleFinder* koji vrši detekciju mikroplastike. Uzorak se stavlja na mikroskopski klizač koji je prekriven zlatom kako bi se spriječile moguće interferencije prilikom snimanja spektra od strane materijala od kojeg je klizač načinjen. Pomoću opreme snimaju se slike uzorka te pomoću računalnog programa automatski računaju morfološke karakteristike i lokaciju snimljenog. Pomoću opreme se osim samog lokaliziranja i prebrojavanja čestica određuju morfološke karakteristike koje su bitne za prepoznavanje čestica mikroplastike. Morfološke karakteristike, u koje spadaju dijametar, perimetar, veličina, površina, omjer elipse i kružnost čestice, izračunavaju se pomoću korištenog računalnog programa za sve prisutne čestice u uzorku.³³

Slijedi automatizirana Ramanova analiza uzorka gdje je snimljen spektar u središtu svake pojedine čestice koja se analizirala. Kao izvor svjetlosti koristi se laserska dioda valne duljine 785 nm. Računalni program omogućuje automatizirani monitoring i analizu snimljene čestice. Prilikom analize važno je odabrati parametre mjerenja kao što su valna duljina izvora svjetlosti kako bi se dobio što prikladniji omjer fluorescencije i jačine signala. Ono je vrlo važno jer se pravilnim odabirom smanjuje mogućnost interferencije svih čestica uzorka i za smanjenje pozadinskog šuma. Isto tako ostali parametri moraju biti odabrani kako bi zadovoljili optimalno vrijeme provedbe analize te isto tako kvalitetu dobivenog snimka. Identifikacija čestica provodi se pomoću već postojeće baze podataka Ramanovih spektara.

Kao što je već spomenuto, u svrhu detekcije koristi se *Particle Finder* računalni program proizvođača HORIBA. Takav jedan modul omogućuje vođenje kroz proces lokalizacije čestica, određujući veličinu i oblik čestica, odabire čestice na temelju nekih njihovih značajki te konačno provodi analize Ramanovih spektara. Njegova upotreba uvelike povećava učinkovitost procesa te pojednostavljuje i umanjuje vrijeme provedbe analize.⁵²

3.3.2. Učinkovitost metode

Preliminarno ispitivanje metode provedeno je tri puta te je 74-75% mikroplastičnih čestica uspješno detektirano.³³

Ovakva automatizirana analiza pomoću Particle Finder-a smanjila je vrijeme potrebno za obradu slike tj. za izračunavanje morfoloških karakteristika i namještanje pragova u svrhu bolje lokalizacije čestica. Također, prednost metode je što se analizirati može cijeli uzorak u optimalnom vremenskom periodu.

3.4. Holografška identifikacija plastike

U posljednje vrijeme digitalna holografija (DH) upotrebljava se za snimanje uzoraka mikroplastike. Znanstvenici s Instituta primijenjenih znanosti i inteligentnih sustava predložili su novi pristup identifikaciji mikroplastike u realnim vodenim uzorcima pod nazivom holografška identifikacija plastike (engl. *holographic plastics identification*, HPI).⁵³ Digitalna holografija kombinira se s umjetnom inteligencijom, točnije strojnim učenjem za identifikaciju mikroplastike u heterogenim vodenim uzorcima. Navedeni pristup detekciji mikroplastike uključuje holografsko koherentno 3D snimanje uzorka u kombinaciji sa strojnim učenjem. Cilj ovog pristupa je identificirati mikroplastične čestice od svih ostalih prisutnih čestica, diatomeja i drugih mikroorganizama u vodenom uzorku, prema tome metoda se koristi za čestice raspona veličine 20 μm -1 mm pošto je to raspon veličine mikroplastike koja je teže uočljiva te raspon svih ostalih prisutnih objekata.⁵⁴ Takav raspon određuje na početku procesa prilikom uzorkovanja koristeći odgovarajuću veličinu pora mreža ili filtracijom.

Metoda se temelji na fizikalnom principu skalarne difrakcije koji opisuje fenomen difrakcije svjetlosti i propagacije od objekta poznatog oblika.

3.4.1. Provedba mjerenja

Snimanje se provodi pomoću holografškog mikroskopa u koji je ukomponirana CCD kamera koja snima holografšku sliku uzorka. Kao izvor svjetlosti koristi se laser. Holografška fotografija snimljena je koristeći interferencijske uzorke dvaju ili više snopa svjetlosti.⁵³ Nakon snimanja uzoraka, prvi dio uključuje holografsko otkrivanje objekata i automatsko ponovno fokusiranje za rekonstrukciju složenih valnih fronta svakog objekta u vidnom polju.

Iz snimljenih holografskih fotografija ekstrapoliraju se značajke objekata. Značajke moraju biti dovoljno informativne da uzmu u obzir veliku različitost populacije čestica, u pogledu oblika, veličina i sastava materijala te također i svojstva apsorpcije svjetlosti. Ovaj odabir značajka izvršava se pomoću deskriptora. Posljednji dio procesa koristi ekstrahirane značajke za razvrstavanje objekata. Za klasifikaciju objekta koristi se H-SVM koji je u suštini binarni identifikator mikroplastike koji se koristi da/ne tvrdnjama prilikom prilikom ispitivanja vrste čestica u otopini dajući 100%-tnu učinkovitost. Klasifikator je mreža. Sam proces klasifikacije može biti pod nadzorom i tada se koriste setovi podataka za treniranje ili mogu biti bez nadzora u čijem slučaju ne postoje podaci za treniranje mreže.⁵⁵ U svrhu treniranja neuronske mreže, pregledava se velika količina mikroplastike i ostalih odabranih čestica i mikroorganizama iz uzorka, te kao što je prethodno navedeno, dolazi do izvlačenja značajki proučavanih objekata. Neuronske mreže „hrane“ se tim karakterističnim značajkama za pojedini objekt i na temelju značajki kasnije su u mogućnosti prepoznavati svaku klasu objekta, primjerice razlikovati mikroplastične čestice od mikroalgi i tome slično.⁵⁴ Nakon uspješnog treniranja mreže stvorena je „knjižnica“ koja sadržava holografske fotografije svih snimljenih objekata iz realnog uzorka koji služe za detekciju mikroplastike u dosad neviđenim uzorcima na temelju sličnosti pojedinih segmenata značajki.

3.4.2. Učinkovitost metode

Proces je prilagođen za karakterizaciju holografskih značajki mikroplastike na taj način dostižući točnost veću od 99% pri razvrstavanju 1000 čestica.⁵³ Omogućeno je prepoznavanje mikroplastike bez obzira na njenu morfologiju, veličinu i kemijski sastav. Koherentna priroda snimaka snimljenim pomoću holografskog mikroskopa omogućava dobivanje velikog broja informacija koje možemo karakterizirati kao holografske značajke te će te značajke biti upravo svojevrsan „otisak prstiju“ za populaciju mikroplastike. Velika prednost metode je što digitalna holografija omogućava snimanje cijelog volumena ispitivane otopine i snimanje vodenih uzorka u pokretu bez gubitka informacija zahvaljujući holografskom fleksibilnom refokusiranju.⁵⁶ Kombinacijom ovakvog nedestruktivnog i neintruzivnog načina snimanja uzorka s umjetnom inteligencijom poboljšava se točnost i učinak metode.⁵⁴ Problem prilikom detekcije u vodenim uzorcima su neki mikroorganizmi kao fitoplanktoni koji se uobičajenim vizualnim pristupom mogu vrlo često zamijeniti mikroplastikom što ova metoda uspješno rješava.

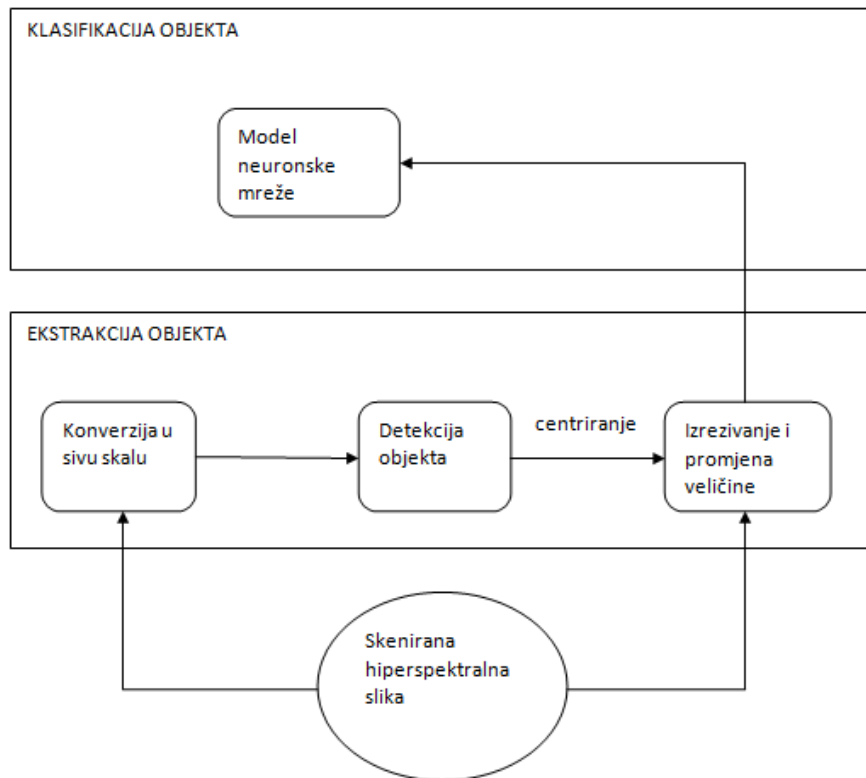
3.5. Detekcija i klasifikacija mikroplastike pomoću strojnog učenja

S ciljem detekcije objekta od interesa, u ovom slučaju mikroplastičnih čestica, i njihove klasifikacije sa svrhom potvrđivanja prethodne identifikacije čestica u raznim uzorcima, Chaczko i suradnici⁵⁷ predložili su novu metodu koja se temelji na strojnom učenju, točnije na uporabi neuronskih mreža. Neuronske mreže zahtijevaju bazu podataka za učenje, no pošto je za mikroplastiku nema, u tu svrhu može se koristiti baza hiperspektralnih slika mikroplastike.⁵⁷

3.5.1. Princip metode

Metoda se temelji na snimanju hiperspektralnih slika u određenoj veličini pri različitim valnim duljinama u rasponu od 400 do 780 nm. Za simulaciju mikroplastike u realnim uvjetima, odnosno kada ona bude fragmentirana na manje dijelove, iz snimljenih slika uzimaju se samo dijelovi određene veličine sa sredine slike te su ti dijelovi također dodatno deformirani kako bi što više nalikovali stvarnim uzorcima peleta mikroplastike. Jedan dio slike koristi se za strojno učenje, tj. treniranje neuronske mreže, a drugi manji dio slike za testiranje. Važnost ove podjele leži u tome što se testira pomoću dijelova slike različitih od slika za treniranje kako bi se na taj način ispitalo funkcioniranje sustava sa stvarnim, neviđenim uzorcima iz okoliša. U svrhu treniranja primijenjene neuronske mreže postupak je potrebno ponoviti 100 puta sa svakom datotekom te potom još 10 puta kako bi se dobiveno testiralo. Treniranje neuronske mreže provodi se pomoću slika na koje je prethodno primijenjena funkcija za određivanje kontura objekta kao i za određivanje graničnog okvira objekta po kojem se slike izrezuju te im se dodatno obrađuje veličina kako bi odgovarale specifikacijama koje zahtijeva neuronska mreža. Upravo prema funkciji za konture neuronska mreža ima sposobnost prepoznavanja objekta. Navedene funkcije kontura i graničnog okvira izračunate su iz koordinata objekta na hiperspektralnim slikama.⁵⁷ Hiperspektralne slike sastavljene su od nekoliko slika tj. slojeva koji predstavljaju spektralne valne duljine te se još nazivaju i kanalima. Te slike, odnosno slojevi reprezentiraju se potom u sivim tonovima gdje pojedini piksel slike predstavlja intenzitet vala svjetlosti korespondentnim sa spektralnim kanalima.

Takva jedna istrenirana neuronska mreža isto tako ima mogućnost klasifikacije prema različitim nijansama pojedinog objekta. Dizajn sustava može se shematski prikazati kao na slici 5.



Slika 5. Dizajn sustava temeljenom na strojnom učenju za detekciju mikroplastike⁵⁷

U razvijanju ove metode, korišteni su brojni softveri i alati koji su međusobno integrirani, a kao glavni programski jezik korišten je *Python*.

Python je vrlo često upotrebljavani programski paket koji sadrži preko tisuću različitih modula te se koristi u razne svrhe kao što su pristup podacima, razvijanje Interneta i weba, u znanstvene i numeričke svrhe i dr.⁵⁸

3.6. Detekcija i monitoring mikroplastike pomoću SmartIC sustava

3.6.1. Princip metode

U svrhu pronalaska metode za detekciju i monitoring mikroplastike koja je prisutna u moru i morskom okolišu, Chaczko i suradnici⁵⁹ razvili su još jedan sustav za detekciju i monitoring mikroplastike u realnim sustavima pod nazivom SmartIC. To je sustav koji uključuje „pametne“ senzore i inteligentno računanje.⁵⁹ Navedeni sustav koristi takozvani IoT (engl. *Internet of Things*), tj. mrežnu infrastrukturu koja omogućuje povezivanje uređaja preko Interneta u kojem su virtualni i fizički objekti nevidljivo povezani i integrirani.⁶⁰ Također koristi i algoritme strojnog učenja koji su vrlo bitni u provedbi monitoringa i

detekcije. Sustav isto tako uključuje skup podataka koji se sastoji od fotografija, računalne sheme i upravljačkog sustava. Fotografije koje se nalaze u bazi podataka uključuju veliki spektralni raspon te su snimane u vidljivom, ultraljubičastom i infracrvenom području kako bi se fizikalna i kemijska svojstva iz njih što lakše ekstrahirala i obradila. Sustav u svojoj izvedbi koristi kameru i senzore koji prikupljaju informacije o promatranom objektu.

Ovakav sistem za monitoring i detekciju predviđen je da se upotrebljava in situ. Prema tome postoje dvije mogućnosti detekcije i analize dobivenog signala. Navedeno se može provesti na samom mjestu analize ili se dobiveni signal može prenijeti na server koji je smješten na nekoj drugoj lokaciji. U ovom slučaju detekcija i analiza se radi provode na licu mjesta što omogućuje provedbu analize u širokom geografskom području.⁵⁹

Kako bi se poboljšala točnost detekcije koriste se metode optimiranja kao što je primjerice genetski algoritam. U slučaju mikroplastike, za razvitak što prikladnijeg algoritma za detekciju mikroplastike veoma je važno u obzir uzeti neke od glavnih karakteristika mikroplastike kao što je veličina, oblik, boja i tekstura. Prema definiciji mikroplastike, stvoreni algoritam mora detektirati čestice manje od 5 mm. Problem kao i do sada predstavlja oblik mikroplastike koji može varirati od pravilnih geometrijskih pa sve do nepravilnih oblika. U ovom slučaju problem boje, odnosno prozirnosti mikroplastike je riješen na način da su uzorci kao što je prethodno spomenuto snimani u širokom spektru zračenja.⁵⁹ Prednost mikroplastike je upravo njezina tekstura koja može biti obrađena industrijski te se vrlo lako može izmjeriti iz snimljenih digitalnih fotografija.

Modeli korišteni za detekciju i identifikaciju mikroplastičnih čestica temeljeni su na računalnoj inteligenciji, odnosno koristi se „fuzija odluka“ (engl. *decision fusion*). To je tehnika koja kombinira nekoliko umjetnih neuronskih mreža prilikom donošenja „odluka“ na način da izlazni podaci svake umjetne neuronske mreže tvore jedno predviđanje za promatrani sustav. Pošto se pomoću ovakvog jednog sustava dobije veliki broj informacija, za njihovu obradu koristi se HyMuDS sustav (engl. *Hybrid Multimodal Data Acquisition System*) koji se sastoji od četiri „sloja“.⁵⁹ Oni služe za prevođenje dobivenih informacija u za to računalu poznat format, za ekstrakciju značajki, za pohranu informacija te konačno njihov prijenos. Za detekciju mikroplastike koriste se razni algoritmi klasifikatora koji omogućuju pretvorbu već postojećih podataka o značajkama mikroplastike u realne attribute u svrhu mjerenja karakteristika promatranih čestica. Uz navedene algoritme koristi se i algoritam koji se temelji na fenotipovima tj. biraju se samo određene značajke koje opisuju mikroplastične čestice. Navedeni sustav dobar je prijedlog za monitoring i detekciju mikroplastike u realnim sustavima, no zbog svoje kompleksnosti i rada na velikom području potrebno ga je usavršiti.⁵⁹

4. ZAKLJUČAK

U ovom radu dana je teorijska podloga o mogućim metodama detekcije pri analizi mikroplastičnih onečišćivala koje uključuju umjetnu inteligenciju. Isto tako, prema dobivenim rezultatima proučavanja istraživanja, dana je i učinkovitost pojedine metode. Ovakav pristup detekciji još uvijek je u fazi istraživanja te iz tog razloga ne postoji velik broj radova koji se bavi navedenom tematikom. Navedene tehnike detekcije većinom se temelje na različitom snimanju uzoraka koji sadrži mikroplastične čestice. Umjetna inteligencija upravo ima ulogu obrade snimljenih fotografija te konačno ulogu detekcije čestica na temelju fotografija koristeći razne računalne programe ili treniranjem umjetnih neuronskih mreža.

Detekcija mikroplastičnih čestica upotrebom fluorescencije i računalnog programa Image J temelji se na prepoznavanju fluorescirajućih čestica u uzorku iz snimljenih fotografija. Ograničenja metode javljaju se već prilikom bojenja mikroplastike gdje se niža efikasnost očituje u slučaju manje hidrofobnih vrsta polimera, no ograničenja postoje i obzirom na veličinu čestica. U ostalim navedenim metodama detekcije čestica u obzir se uzimaju njihove morfološke karakteristike koje se pomoću umjetne inteligencije na različit način interpretiraju. Obradom takvih karakteristika razvijaju se algoritmi ili se treniraju umjetne neuronske mreže s ciljem prepoznavanja čestica mikroplastike. Nedostaci ovih vrsta pristupa mogu biti razni, no problemi koji se najčešće javljaju mogu biti zbog kompleksnosti izvedbe, dobivanja lažno pozitivnih rezultata zbog pozadinskih šumova te ostalih prisutnih čestica u uzorku te ponekad problem stvara sama priroda mikroplastike čija veličina, oblik i tekstura variraju.

Uporaba umjetne inteligencije veliki je korak naprijed u cilju rješavanja globalnog problema koji predstavlja mikroplastika. Ona omogućava točnije rezultate detekcije, veću učinkovitost, ubrzava sam proces analize i smanjuje mogućnost unosa pogrešaka uzrokovanih vanjskim faktorima. U budućnosti, očekuje se sve veći utjecaj i napredak u vidu uporabe umjetne inteligencije u analizi mikroplastičnih čestica.

5. LITERATURA

1. <https://advances.sciencemag.org/content/3/7/e1700782> (pristupljeno 30. svibnja 2020.)
2. Wright, S. L., Kelly, F. J. (2017) *Plastic and Human Health: A Micro Issue?* Environmental Science & Technology, 51(12), 6634–6647.
3. Jambeck, J. R., Geyer, R., Wilcox, C., Siegler, T. R., Perryman, M., Andrady, A., Law, K. L. (2015) *Plastic waste inputs from land into the ocean.* Science, 347, 768–771.
4. Ganesh Kumar A., Anjana K., Hinduja M., Sujitha K., Dharani G. (2019) *Review on plastic wastes in marine environment – Biodegradation and biotechnological solutions.* Marine Pollution Bulletin, 150, 110733.
5. Law, K. L., Thompson, R. C. (2014) *Microplastics in the seas.* Science, 345, 144–145.
6. Klingelhöfer, D., Braun, M., Quarcoo, D., Brüggmann, D., Groneberg, D. A. (2019) *Research landscape of a global environmental challenge: Microplastics.* Water Research, 170, 115358.
7. Fu, W., Min, J., Jiang, W., Li, Y., Zhang, W. (2020) *Separation, characterization and identification of microplastics and nanoplastics in the environment.* Science of The Total Environment, 721, 137561.
8. Urban-Malinga, B., Zalewski, M., Jakubowska, A., Wodzinowski, T., Malinga, M., Pałys, B., Dąbrowska, A. (2020) *Microplastics on sandy beaches of the southern Baltic Sea.* Marine Pollution Bulletin, 155, 111170.
9. <https://www.sciencehistory.org/science-of-plastics> (pristupljeno 18. kolovoza 2020.)
10. Cole, M., Lindeque, P., Halsband, C., Galloway, T. S. (2011) *Microplastics as contaminants in the marine environment: A review.* Marine Pollution Bulletin, 62(12), 2588–2597.
11. Li, W. C., Tse, H. F., Fok, L. (2016) *Plastic waste in the marine environment: A review of sources, occurrence and effects.* Science of The Total Environment, 566-567, 333–349.
12. Alimi, O. S., Farner Budarz, J., Hernandez, L. M., Tufenkji, N. (2018) *Microplastics and Nanoplastics in Aquatic Environments: Aggregation, Deposition, and Enhanced Contaminant Transport.* Environmental Science & Technology, 52(4), 1704–1724.
13. Andrady, A. L. (2011) *Microplastics in the marine environment.* Marine Pollution Bulletin, 62(8), 1596–1605.

14. Westphalen, H., Abdelrasoul, A. (2018) *Challenges and Treatment of Microplastics in Water*. U: M. Glavan (ur.) *Water Challenges of an Urbanizing World*, IntechOpen. DOI: 10.5772/intechopen.71494
15. MSFD Technical Subgroup on Marine Litter (2013) *Guidance on Monitoring of Marine Litter in European Seas*, European Commission. (<https://mcc.jrc.ec.europa.eu/documents/201702074014.pdf>, pristupljeno 27. kolovoza 2020.)
16. Triebkorn, R., Braunbeck, T., Grummt, T., Hanslik, L., Huppertsberg, S., Jekel, M., Köhler, H. R. (2018) *Relevance of nano- and microplastics for freshwater ecosystems: a critical review*. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 110, 375-392.
17. Klarić, A. (2019) *Karakterizacija mikroplastike iz sedimenta plaže*, diplomski rad, PMF, Zagreb.
18. Galafassi, S., Nizzetto, L., Volta, P. (2019) *Plastic sources: A survey across scientific and grey literature for their inventory and relative contribution to microplastics pollution in natural environments, with an emphasis on surface water*. *Science of The Total Environment*, 693, 133499.
19. Coyle, R., Hardiman, G., Driscoll, K. O. (2020) *Microplastics in the marine environment: A review of their sources, distribution processes and uptake into ecosystems*. *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*. (in press) DOI: 10.1016/j.cscee.2020.100010
20. Q. Yu, X. Hu, B. Yang, G. Zhang, J. Wang, W. Ling (2020.) *Distribution, abundance and risks of microplastics in the environment*. *Chemosphere*, 249, 126059.
21. Gong, J., Xie, P. (2020) *Research progress in sources, analytical methods, eco-environmental effects, and control measures of microplastics*. *Chemosphere*, 254, 126790.
22. Herrera, A., Asensio, M., Martínez, I., Santana, A., Packard, T., Gómez, M. (2018) *Microplastic and tar pollution on three Canary Islands beaches: An annual study*. *Marine Pollution Bulletin*, 129(2), 494–502.
23. Auta, H. S., Emenike, C., Fauziah, S. (2017) *Distribution and importance of microplastics in the marine environment: A review of the sources, fate, effects, and potential solutions*. *Environment International*, 102, 165–176.
24. Pico, Y., Alfarhan, A., Barcelo, D. (2018) *Nano And Microplastic Analysis: Focus On Remediation Technologies And Occurrence In Freshwater Ecosystems*. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 113, 409–425.

25. Shen, M., Huang, W., Chen, M., Song, B., Zeng, G., Zhang, Y. (2020) *(Micro)plastic crisis: Un-ignorable contribution to global greenhouse gas emissions and climate change*. Journal of Cleaner Production, 254, 120138.
26. Lorenzo-Navarro, J., Castrillon-Santana, M., Santesarti, E., De Marsico, M., Martinez, I., Raymond, E., Herrera, A. (2020) *SMACC: A System for Microplastics Automatic Counting and Classification*. IEEE Access, 8, 25249–25261.
27. Prata, J. C., da Costa, J. P., Duarte, A. C., Rocha-Santos, T. (2018) *Methods for sampling and detection of microplastics in water and sediment: a critical review*. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 110, 150-159.
28. Wang, W., Wang, J. (2018) *Investigation of microplastics in aquatic environments: An overview of the methods used, from field sampling to laboratory analysis*. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 108, 195-202.
29. Shim, W. J., Hong, S. H., Eo, S. E. (2017) *Identification methods in microplastic analysis: a review*. Analytical Methods, 9(9), 1384–1391
30. Lv, L., Qu, J., Yu, Z., Chen, D., Zhou, C., Hong, P., Li, C. (2019) *A simple method for detecting and quantifying microplastics utilizing fluorescent dyes - Safranin T, fluorescein isophosphate, Nile red based on thermal expansion and contraction property*. Environmental Pollution, 255, 113283.
31. Maes, T., Jessop, R., Wellner, N., Haupt, K., Mayes, A. G. (2017) *A rapid-screening approach to detect and quantify microplastics based on fluorescent tagging with Nile Red*. Scientific Reports, 7(1), 44501.
32. Elert, A. M., Becker, R., Duemichen, E., Eisentraut, P., Falkenhagen, J., Sturm, H., Braun, U. (2017) *Comparison of different methods for MP detection: What can we learn from them, and why asking the right question before measurements matters?* Environmental Pollution, 231, 1256–1264.
33. Frère L., Paul-Pont I., Moreau J., Soudant P., Lambert C., Huvet A., Rinnert E. (2016) *A semi-automated Raman micro-spectroscopy method for morphological and chemical characterizations of microplastic litter*. Marine Pollution Bulletin, 113(1-2), 461–468.
34. Tagg, A. S., Sapp, M., Harrison, J. P., Ojeda, J. J. (2015) *Identification and Quantification of Microplastics in Wastewater Using Focal Plane Array-Based Reflectance Micro-FT-IR Imaging*. Analytical Chemistry, 87(12), 6032–6040.
35. Cabernard, L., Roscher, L., Lorenz, C., Gerdt, G., Primpke, S. (2018) *Comparison of Raman and Fourier Transform Infrared Spectroscopy for the Quantification of*

- Microplastics in the Aquatic Environment*. Environmental Science & Technology, 52, 22, 13279-13288.
36. Fries, E., Dekiff, J. H., Willmeyer, J., Nuelle, M.-T., Ebert, M., Remy, D. (2013) *Identification of polymer types and additives in marine microplastic particles using pyrolysis-GC/MS and scanning electron microscopy*. Environmental Science: Processes & Impacts, 15(10), 1949.
37. https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007%2F978-3-642-11274-4_1316 (pristupljeno 2. srpnja 2020.)
38. Qiu, Q., Tan, Z., Wang, J., Peng, J., Li, M., Zhan, Z. (2016) *Extraction, enumeration and identification methods for monitoring microplastics in the environment*. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 176, 102–109.
39. H. Cartwright (2008) *Using Artificial Intelligence in Chemistry and Biology: A Practical Guide*, CRC Press, Boca Raton.
40. <https://chemintelligence.com/ai-for-chemistry> (pristupljeno 3. srpnja 2020.)
41. <https://www.mathworks.com/discovery/machine-learning.html> (pristupljeno 24. lipnja 2020.)
42. Gorsky, G., Ohman, M. D., Picheral, M., Gasparini, S., Stemmann, L., Romagnan, J.-B., Prejger, F. (2010) *Digital zooplankton image analysis using the ZooScan integrated system*. Journal of Plankton Research, 32(3), 285–303.
43. Shan, J., Zhao, J., Zhang, Y., Liu, L., Wu, F., Wang, X. (2018) *Simple and Rapid Detection of Microplastics in Seawater using Hyperspectral Imaging Technology*. Analytica Chimica Acta, 1050, 161–168.
44. Manley, M. (2014) *Near-infrared spectroscopy and hyperspectral imaging: non-destructive analysis of biological materials*. Chem. Soc. Rev., 43(24), 8200–8214.
45. Kamruzzaman, M., ElMasry, G., Sun, D.-W., Allen, P. (2011) *Application of NIR hyperspectral imaging for discrimination of lamb muscles*. Journal of Food Engineering, 104(3), 332–340.
46. Erni-Cassola, G., Gibson, M. I., Thompson, R. C., Christie-Oleza, J. A. (2017) *Lost, but Found with Nile Red: A Novel Method for Detecting and Quantifying Small Microplastics (1 mm to 20 µm) in Environmental Samples*. Environmental Science & Technology, 51(23), 13641–13648.
47. Prata, J. C., Alves, J. R., da Costa, J. P., Duarte, A. C., Rocha-Santos, T. (2020) *Major factors influencing the quantification of Nile Red stained microplastics and improved*

- automatic quantification (MP-VAT 2.0)*. Science of The Total Environment, 719, 137498.
48. Mukhanov, V. S., Litvinyuk, D. A., Sakhon, E. G., Bagaev, A. V., Veerasingam, S., Venkatachalapathy, R. (2019) *A new method for analyzing microplastic particle size distribution in marine environmental samples*. Ecologica Montenegrina, 23, 77–86.
 49. <https://imagej.nih.gov/ij/features.html> (pristupljeno 13. srpnja 2020.)
 50. Prata, J. C., da Costa, J. P., Duarte, A. C., Rocha-Santos, T. (2018) *Methods for sampling and detection of microplastics in water and sediment: a critical review*. TrAC Trends in Analytical Chemistry.
 51. Shim, W. J., Song, Y. K., Hong, S. H., Jang, M. (2016) *Identification and quantification of microplastics using Nile Red staining*. Marine Pollution Bulletin, 113(1-2), 469–476.
 52. <https://www.labbulletin.com/articles/HORIBA-launches-Particle-Finder-Raman-software> (pristupljeno 3. srpnja 2020.)
 53. Bianco, V., Memmolo, P., Carcagnì, P., Merola, F., Paturzo, M., Distanto, C., Ferraro, P. (2019) *Microplastics Identification via Holographic Imaging and Machine Learning*. Advanced Intelligent Systems, 2, 1900153.
 54. <https://www.advancedsciencenews.com/machine-learning-scopes-out-previously-invisible-microplastics/> (pristupljeno 19. srpnja 2020.)
 55. https://computervision.fandom.com/wiki/Classifiers_and_Discriminants (pristupljeno 13. srpnja 2020.)
 56. Merola, F., Memmolo, P., Bianco, V., Paturzo, M., Mazzocchi, M. G., Ferraro, P. (2018) *Searching and identifying microplastics in marine environment by digital holography*. The European Physical Journal Plus, 133, 350.
 57. Chaczko, Z., Wajs-Chaczko, P., Tien, D., Haidar, Y. (2019) *Detection of Microplastics Using Machine Learning*. 2019 International Conference on Machine Learning and Cybernetics (ICMLC), IEEE, Kobe. DOI: 10.1109/ICMLC48188.2019.8949221
 58. <https://www.python.org/about/> (pristupljeno 13. srpnja 2020.)
 59. Chaczko, Z., Kale, A., Santana-Rodriguez, J. J., Suarez-Araujo, C. P. (2018) *Towards an IOT Based System for Detection and Monitoring of Microplastics in Aquatic Environments*. 2018 IEEE 22nd International Conference on Intelligent Engineering Systems (INES). IEEE, Las Palmas. DOI: 10.1109/INES.2018.8523957
 60. https://hr.wikipedia.org/wiki/Internet_stvari (pristupljeno 4. lipnja 2020.)

ŽIVOTOPIS

Katarina Stipković [REDACTED] Pohađala je Osnovnu školu „Ljubo Babić“ u Jastrebarskom, a 2013. upisuje Opću gimnaziju u Jastrebarskom. Maturirala je 2017. nakon čega upisuje studij Primijenjene kemije na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu.

Po završetku druge godine studija, odradila je stručnu praksu u tvrtki Jamnica plus d.o.o.