

Adsorpcija transformacijskog produkta antiozonanta iz automobilskih guma na mikroplastiku u vodi

Kujavić, Martina

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

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:149:911612>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-03**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE

SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Martina Kujavić

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, rujan 2023.

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

Kandidatkinja **Martina Kujavić**

Predala je izrađen završni rad dana: 15. rujna 2023.

Povjerenstvo u sastavu:

prof. dr. sc. Hrvoje Kušić, Sveučilište u Zagrebu Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije

prof. dr. sc. Ana Lončarić Božić, Sveučilište u Zagrebu Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije

izv. prof. dr. sc. Dajana Kučić Grgić, Sveučilište u Zagrebu Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije

doc. dr. sc. Zvonimir Katančić, Sveučilište u Zagrebu Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije (zamjena)

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

Završni ispit održat će se dana: 20. rujna 2023.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Martina Kujavić

**ADSORPCIJA TRANSFORMACIJSKOG PRODUKTA ANTIOZONANTA IZ
AUTOMOBILSKIH GUMA NA MIKROPLASTIKU U VODI**

ZAVRŠNI RAD

Mentor: prof. dr. sc. Hrvoje Kušić

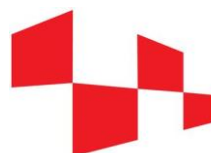
Članovi ispitnog povjerenstva: prof. dr. sc. Hrvoje Kušić

prof. dr. sc. Ana Lončarić Božić

izv. prof. dr. sc. Dajana Kučić Grgić

Zagreb, rujan 2023.

*Ovaj rad je izrađen u okviru projekta „**Mikroplastika u vodi; sudbina, ponašanje i uklanjanje**“ (ReMiCRO), šifra IP-2020-02-6033.*



HRZZ
Hrvatska zaklada
za znanost

SAŽETAK

Antiozonanti dodaju se automobilskim gumama tijekom vulkanizacije, radi sprječavanja i usporavanja degradacije gume uzrokovane ozonom, čime se pruža zaštita i sigurnost vozača i putnika tijekom vožnje automobilom. 6PPD standardni je antiozonant u automobilskim gumama, ali kada reagira s ozonom nastaje njegov transformacijski produkt N-(1,3-dimetilbutil)-N'-fenil-p-fenilendiamin-kinon (6PPD-Q). 6PPD kinon ispire se s automobilskih guma i cesta tijekom svakog hidrološkog ciklusa, što dovodi do njegove migracije u prirodne vode. Kada se nalazi u vodenome okolišu pokazuje toksičan utjecaj na razne ribice, račiće i mikroalge, ali uzrokuje i ugibanje određenih vrsta lososa. Mikroplastika pronalazi se u svakodnevno korištenim proizvodima, a zbog neadekvatnog zbrinjavanja njezinog otpada nakon uporabe, migrira u okoliš gdje također onečišćuje prirodne vode. Određeni vodeni organizmi, poput ribica i račića, neselektivno konzumiraju mikroplastiku što uzrokuje kratkotrajne i dugotrajne posljedice na njihov organizam. Budući da mikroplastika ima visoki stupanj adsorpcije, na površinu njezinih čestica mogu se adsorbirati organske onečišćujuće tvari iz okoliša. Adsorpcija je nagomilavanje (akumuliranje) čestica iz susjedne (plinovite ili kapljevite) faze na površinu krute faze, čemu je uzrok djelovanje privlačnih sila između čestica na krutoj površini i čestica iz susjedne faze. Testirana je adsorpcija 6PPD kinona u vodenoj otopini na mikroplastiku PP 0 (nestareni polipropilen) i PP UV 56 (UV stareni polipropilen). Uzorci su snimani na tekućinskom kromatografu visoke djelotvornosti (engl. *High Performance Liquid Chromatography*, HPLC) kojim je omogućeno određivanje koncentracije 6PPD kinona u vodenoj otopini prije i nakon adsorpcije. Također je testirana i toksičnost čistih otopina 6PPD kinona i mikroplastike te njihove mješavine 24 h nakon adsorpcije na slatkovodnim račićima *Daphnia Magna*. Rezultati su pokazali da adsorpcija 6PPD kinona na mikroplastiku u oba slučaja slijedi Langmuirov model, odvija se u monosloju te je raspodjela aktivnih mjesta na adsorbensu homogena. Starena mikroplastika (PP UV 56) ima veću adsorpcijsku ravnotežnu konstantu i samim time veći afinitet za adsorpciju 6PPD kinona, nego nestarena mikroplastika (PP 0). Također je ustanovljeno da je potrebna samo četvrtina uzorka čiste otopine 6PPD kinona da bi se postigla 50%-tna inhibicija račića *Daphnia Magna*. Iako je s usporedbom na navedenu otopinu potreban nešto veći udio uzorka vodene otopine 6PPD kinona s PP 0 i PP UV 56 24 h nakon adsorpcije, one i dalje pokazuju toksičan utjecaj na račiće.

Ključne riječi: adsorpcija, 6PPD kinon, mikroplastika, toksičnost

ABSTRACT

Antiozonants are added to car tires during vulcanization, in order to prevent and slow down the degradation of rubber caused by ozone, which enables the protection and safety of drivers and passengers while driving a car. 6PPD is a standard antiozonant in car tires, but when it reacts with ozone, its transformation by-product N-(1,3-dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine-quinone (6PPD-Q) is formed. 6PPD quinone is washed off of car tires and roads during each hydrologic cycle, leading to its migration into natural waters. When found in aquatic environment, 6PPD-Q shows a toxic effect on various fish, crayfish and microalgae, in addition it's deadly for certain types of salmon. Microplastics are found in everyday products, and due to inadequate disposal of their waste after use, they migrate into the environment where they also pollute natural waters. Certain aquatic organisms, such as fish and crayfish, indiscriminately consume it, which causes short-term and long-term consequences for their organisms. Since microplastics has a high value of adsorption capacity, organic pollutants from the environment can be adsorbed on the surface of its particles. Adsorption is accumulation of particles from a neighbouring (gas or liquid) phase on to the surface of the solid phase, which is caused by intermolecular forces of the particles on the solid surface and particles from the adjacent phase. Adsorption of 6PPD quinone in aqueous solution on microplastics PP 0 (unaged polypropylene) and PP UV 56 (UV aged polypropylene) was tested. The samples were recorded with high performance liquid chromatography (HPLC), which enabled the determination of the concentration of 6PPD quinone in the aqueous solution before and after adsorption. The toxicity of blank solutions of 6PPD quinone and microplastics and their mixtures 24 h after adsorption on the freshwater flea *Daphnia Magna* was also tested. The results showed that the adsorption of 6PPD quinone on microplastics in both cases follows the Langmuir model, takes place in a monolayer, and the distribution of active sites on the adsorbent is homogeneous. Aged microplastic (PP UV 56) has a higher adsorption equilibrium constant and thus a higher affinity for 6PPD quinone adsorption than unaged microplastic (PP 0). Also, it was shown that only a quarter of a sample of blank 6PPD quinone solution is needed to achieve 50% inhibition of water flea *Daphnia Magna*. Although a slightly larger fraction of the sample of the aqueous solution of 6PPD quinone with PP 0 and PP UV 56 24 h after adsorption is required compared to the blank solution, they still show a toxic effect on water fleas.

Key words: *adsorption, 6PPD quinone, microplastics, toxicity*

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	2
2.1. 6PPD kinon	2
2.1.1. Nastajanje	2
2.1.2. Migracija u okoliš	3
2.1.3. Toksikološki efekti	4
2.2. Mikroplastika	6
2.2.1. Nastajanje	6
2.2.2. Migracija u okoliš	7
2.2.3. Toksikološki efekti	8
2.3. Interakcija mikroplastike i 6PPD kinona	10
3. ESKPERIMENTALNI DIO	11
3.1. Materijali	11
3.1.1. Ispitivani transformacijski produkt antiozonanta	11
3.1.2. Kemikalije	11
3.1.3. Instrumenti, uređaji, pribor	11
3.2. Eksperimentalni postupak	12
3.2.1. Priprema mikroplastike	12
3.2.2. Priprema otopina za adsorpciju	12
3.2.3. Ispitivanje adsorpcijskog kapaciteta mikroplastike	12
3.2.4. Priprema organizama za ispitivanje toksičnosti	14
3.2.5. Priprema otopina za ispitivanje toksičnosti	15
3.2.6. Ispitivanje toksičnosti	15
3.3. Analitička metoda	16
3.4. Model opisa adsorpcije	17
4. RASPRAVA I REZULTATI	19
4.1. Adsorpcija 6PPD kinona na mikroplastiku u vodi	19
4.2. Toksičnost 6PPD kinona	21
5. ZAKLJUČAK	24
6. LITERATURA	25
7. ŽIVOTOPIS	27

1. UVOD

N-(1,3-dimetilbutil)-N'-fenil-p-fenilendiamin (6PPD) je antiozonant koji se dodaje kao zaštita automobilskim gumama tijekom vulkanizacije, radi sprječavanja ozonizacijske degradacije gume te održavanja njezine strukture i funkcije tijekom uporabe. Tijekom korištenja automobilskih guma, pa zapravo i kroz cijeli njihov životni ciklus, izložene su zraku, a samim time i konstantnim reakcijama oksidacije i ozonizacije. Reakcijom 6PPD-a i ozona nastaje transformacijski produkt N-(1,3-dimetilbutil)-N'-fenil-p-fenilendiamin-kinon (6PPD-Q) [1]. S razvojem automobilske industrije, dolazi do sve veće uporabe automobila, a posljedično i do većeg prijenosa 6PPD kinona u okoliš. Iako sami 6PPD ne pokazuje zabrinjavajući toksični utjecaj na žive organizme u okolišu, njegov transformacijski produkt 6PPD kinon, uz štetno djelovanje na razvoj embrija malih ribica, dokazano je smrtno za određene vrste lososa [2]. Mikroplastika pronalazi se u svakodnevnim proizvodima, a zbog neadekvatnog zbrinjavanja njezinog otpada nakon korištenja, mikroplastika migrira u okoliš i onečišćuje prirodne vode. Određeni vodeni organizmi, poput ribica i račića, neselektivno je konzumiraju što uzrokuje kratkotrajne i dugotrajne posljedice na njihov organizam. Osim toga, mogu biti izloženi i toksičnim aditivima koji su dodani mikroplastici, što ponovno ima štetno djelovanje na njihov sustav [3]. Mikroplastika ima visoki stupanj adsorpcije, pa se na površinu njezinih čestica mogu adsorbirati onečišćujuće tvari iz okoliša, i time postoji mogućnost smanjenja njihove koncentracije u vodenome okolišu, ali i toksičnog utjecaja na organizme u njemu [4].

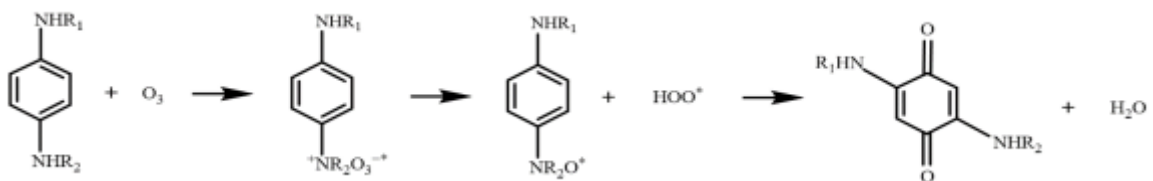
2. TEORIJSKI DIO

2.1. 6PPD kinon

2.1.1. Nastajanje

Automobilska guma podložna je oksidaciji i ozonizaciji, a tada postaje krta te pod utjecajem dinamičkog opterećenja, kao tijekom vožnje automobilom, stvaraju se pukotine u i na površini gume. Kako bi omogućili sigurnost i zaštitu vozača i putnika tijekom vožnje automobilom, automobilskim gumama potrebno je dodati antioksidanse i antiozonante [5]. Antiozonant štiti gumu od degradacije i pucanja do kojih dolazi prilikom izlaganja gume zraku (kisiku), ozonu i temperaturnim promjenama, a samim time povećava joj i izdržljivost [1].

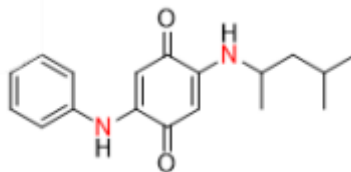
N-(1,3-dimetilbutil)-N'-fenil-p-fenilendiamin (6PPD) je antiozonant koji se dodaje automobilskim gumama tijekom njihove proizvodnje još od 1960-ih. Danas se još uvijek globalno upotrebljava u njihovoj proizvodnji, a po masi gume prisutan je od 0,4 do 2,0% [6]. 6PPD jedan je od mnogih p-fenilendiamin (PPD) aditiva koji se koriste za zaštitu gume. Smatra se vrlo optimalnim antiozonantom zbog svoje topljivosti i pokretljivosti u gumi, reaktivnosti s ozonom i kompatibilnosti s nizom kemikalija koje se koriste prilikom proizvodnje automobilskih guma [5]. 6PPD difundira kroz gumu do njezine površine, a navedeni proces difuzije mora se dogoditi dovoljno brzo da bi 6PPD ponudio zaštitu, ali i dovoljno sporo da bi zaštita trajala kroz cijeli životni ciklus gume. Nakon difuzije, ozon ponajprije reagira s 6PPD-om umjesto s automobilskom gumom, te tako prevenira ozon induciranu degradaciju gume i stvara zaštitni film na njezinoj vanjskoj površini koji štiti gumu od daljnjeg pucanja [5]. Kada 6PPD reagira s ozonom, dolazi do radikalne reakcije nastanka 6PPD amin-oksida gubitkom kisika, zatim se stvaraju bočni lanci i u konačnici disocira u 6PPD kinon [7].



Slika 2.1. Mehanizam ozonizacije PPD-a (* predstavlja radikal) [7]

Dakle, N-(1,3-dimetilbutil)-N'-fenil-p-fenilendiamin-kinon (6PPD-Q) ne dodaje se izravno automobilskim gumama nego nastaje kao transformacijski produkt reakcije antiozonanta 6PPD-a s ozonom. 6PPD kinon može nastati u automobilskim gumama tijekom njihovog

proizvođenja i uporabe, također može nastati u istrošenim česticama automobilskih guma koje zaostaju na cesti, i tijekom starenja guma ili njihovih čestica u okolišu [1].



Slika 2.2. Struktura 6PPD kinona [7]

2.1.2. Migracija u okoliš

Tijekom vožnje automobilom dolazi do trošenja automobilskih guma, a istrošene čestice guma zaostaju na cesti. Navedene čestice migriraju u vodu i tla pod utjecajem vjetra te tijekom svakog hidrološkog ciklusa (kiša, snijeg, oluja, ...). Tijekom padanja oborina dolazi do površinskog otjecanja, a čestice se s vodom nose do prirodnih voda ili se kasnije apsorbiraju u tla [1]. Na cesti također zaostaje i cestovna prašina, a te se čestice mogu prenositi na velike udaljenosti, pretvarati u nove i potencijalno kancerogene produkte i predstavljati rizik ako su udahnete od strane ljudi [8]. Budući da se 6PPD nalazi na površini automobilske gume, na istoj površini dolazi i do nastajanja transformacijskog produkta 6PPD kinona. Dakle, tijekom padanja kiše ili snijega, ili čak pranja automobila, 6PPD-Q ispire se s površine automobilskih guma i prelazi u okoliš. Također, primijećene su veće koncentracije onečišćujućih tvari iz automobilskih guma u okolišu blizu urbanih sredina (gradovi, autoceste i sl.).

Svaka urbana sredina ima sustav odvođenja otpadnih i oborinskih voda (kanalizacije), ali u kombiniranim kanalizacijskim sustavima površinsko otjecanje skuplja se s otpadnom vodom iz drugih izvora (kućanstva, industrija itd.) i pročišćava u postrojenjima za pročišćavanje otpadnih voda. No, Seiwart i suradnici [1] pokazali su da 6PPD i 6PPD kinon potječu iz površinskog otjecanja i iz istrošenih čestica automobilskih guma koje zaostaju na cesti, a ne iz drugih izvora otpadnih voda koji se prikupljaju u kombiniranim kanalizacijskim sustavima. Ali, koncentracija 6PPD kinona je niža u dotoku postrojenja za pročišćavanje otpadnih voda, u usporedbi s koncentracijom 6PPD kinona u vodi direktnog površinskog otjecanja na zemlji i cestama. To djelomično može biti posljedica razrjeđivanja otjecanja s cesta otpadnom vodom iz kućanstava i industrije u kombiniranim kanalizacijskim sustavima [1]. Također, koncentracija 6PPD-Q veća je na visoko prometnim cestama nego na onim uz stambena područja, što pokazuje kako količina prometa također ima utjecaj na oslobađanje transformacijskih produkata u okoliš [2].

Kao već spomenuto, tijekom korištenja automobilskih guma, 6PPD reagira s ozonom, a njegova količina u gumama se smanjuje, odnosno on se troši. Iako se sav 6PPD ne potroši, zbog sigurnosnih razloga pretpostavljeni životni vijek automobilskih guma je 1-5 godina. Takve stare i istrošene gume često se nalaze na tzv. "groblijima automobilskih guma" gdje i dalje dolazi do nastajanja 6PPD-Q, koji putem ocjernih voda iz guma odlazi u tla i podzemne vode [9].

2.1.3. Toksikološki efekti

Relativna koncentracija 6PPD kinona u vodi tijekom suhog vremena iznosi 0,01-0,5 $\mu\text{g L}^{-1}$, a tijekom jedne pojave kiše ta se koncentracija povećava 0,5-2,3 $\mu\text{g L}^{-1}$, pa je čak kod obilnog padanja kiše maksimalna zabilježena koncentracija 2,8 $\mu\text{g L}^{-1}$ [1]. Maksimalne koncentracije 6PPD-Q dosežu se u određenom vremenskom periodu nakon prestanka padanja oborina, ali ostat će relativno konstantne satima [1]. Kao ekološki relevantna koncentracija često se uzima i promatra 1 $\mu\text{g L}^{-1}$ (3,35 nM) [7].

6PPD kinon dokazano je štetan za vrstu srebrnog lososa iliti *coho* losos (lat. *Oncorhynchus kisutch*) pri medijanu smrtno koncentracije 0,79 ($\pm 0,16$) $\mu\text{g L}^{-1}$ [2], a u okolišu se zadržava dovoljno dugo i za ostale štetne učinke na druge vrste. Srebrnom lososu uzrokovan je niz zabrinjavajućih simptoma unutar nekoliko sati izloženosti vodi iz gradskog otjecanja koja sadrži 6PPD-Q. Simptomi su prvo ukazivali na nepravilno površinsko plivanje, raspršivanje peraja, gubitak orijentacije i ravnoteže, a daljnjim izlaganjem uzrokovan je akutni stres i hipoksija, poslije čega je uslijedila smrt [5]. Nadalje, sto posto potočne pastrve (lat. *Salvelinus fontinalis*) uginulo je unutar 3 sata pri koncentraciji 6PPD kinona od 4,4 $\mu\text{g L}^{-1}$, dok su sve kalifornijske pastrve (lat. *Oncorhynchus mykiss*) uginule nakon 60 h pri koncentraciji 1,4 $\mu\text{g L}^{-1}$. Osim toga, obje su vrste pokazale simptome teškog disanja, uspona kralježnice i gubitak ravnoteže prije smrti [2].

Iako pri ekološki relevantnoj koncentraciji od 1 $\mu\text{g L}^{-1}$, 6PPD kinon ne uzrokuje akutnu toksičnost odraslih jedinki ribica zebrice (lat. *Danio rerio*), određenih vrsta slatkovodnih račića (lat. *Daphnia magna*) i mikroalga (lat. *Selenastrum capricornutum*), te ostalih raznih vrsta ribica i račića [2], ali pri višim koncentracijama izaziva razvojnu i kognitivnu toksičnost te kardiotoksičnost [7]. Kada su u pitanju embriji i ličinke, pri koncentracijama neznatno višim od ekološki relevantne, 6PPD-Q ulazi u krvožilni sustav i posljedično utječe na živčani sustav i razvoj ličinke [2,7]. Općenito kinoni pokazuju veliku redoks aktivnost *in vivo* i formiraju reaktivne kisikove spojeve koji uzrokuju oksidacijski stres, oštećuju DNA, proteine, lipide i

ostale biomolekule [2]. Varshney i suradnici [7] smatraju da su hipoaktivnost i upalni procesi u ličinkama ribe zebrića posljedica djelovanja oksidacijskog stresa.

Pravilnikom o graničnim vrijednostima otpadnih voda propisuju se granične vrijednosti emisija onečišćujućih tvari u industrijskim otpadnim vodama prije njihova ispuštanja u sustav javne odvodnje. Također, propisuje granične vrijednosti emisija onečišćujućih tvari u svim pročišćenim ili nepročišćenim otpadnim vodama koje se ispuštaju u prirodne vode na području Republike Hrvatske [10]. S obzirom na njegovo štetno djelovanje na određene vrste lososa, ribica, račića i druge vrste vodenog života, u navedenom Pravilniku 6PPD kinon nije naveden kao onečišćujuća tvar. Na području Europe vrijedi Okvirna direktiva o vodama, a njome se uspostavljaju pravila za sprječavanje pogoršanja stanja vodnih tijela Europske unije (EU) i postizanje „dobrog stanja” europskih rijeka, jezera i podzemnih voda do 2015. [11], u kojoj 6PPD kinon također nije naveden kao onečišćujuća tvar.

2.2. Mikroplastika

2.2.1. Nastajanje

Plastika je kemijski inertna, a proces biorazgradnje joj je vrlo spor, pa njezinim neadekvatnim odlaganjem nakon korištenja od strane ljudi rezultira nakupljanjem plastičnog otpada u okolišu. U vodenom okolišu plastika prolazi kroz proces trošenja i degradacije koji razgrađuje makrokrhotine u manje mikro- i nanokrhotine. Takva degradacija plastike uzrokovana je kombinacijom mehaničkih sila, kao valova, ali i fotokemijskih procesa potaknutih sunčevom svjetlošću [12]. Dakle, mikroplastika time dobiva veličinu svega najviše 5 mm. Mikroplastika je najrasprostranjenija vrsta vodenog otpada koji se nalazi u oceanu, jezerima i rijekama, a njezina prisutnost u vodi zabilježena je od 1960.-ih [3].

Ovisno o izvorima i mehanizmima nastanka, mikroplastične čestice se dijele na "primarne" i "sekundarne". Pod primarnu mikroplastiku podrazumijevaju se proizvodi za osobnu njegu, industrijski ili komercijalni proizvodi i druge specijalne kemikalije s plastičnim mikrozrcima, popratni proizvodi drugih industrijskih aktivnosti, te mikroplastika nastala kao slučajno ili namjerno izlivanje industrijskih proizvoda. Sekundarna mikroplastika povezana je kao sekundarni izvor onečišćenja gdje se veći plastični predmeti razgrađuju, a naknadna degradacija dovodi do stvaranja manjih plastičnih komada i njihove daljnje razgradnje. Razgradnja manjih plastičnih komada može biti fotooksidativna, toplinska, kemijska i mehanička. Neki od najčešćih plastičnih polimera koji se pojavljuju u okolišu, kao polietilen, polistiren, polipropilen i poli(vinil-klorid), građeni su pretežito od C-C i C-H veza, ali često se uz navedene polimere pojavljuju još i polietilen tereftalat i poliuretanska plastika koje u glavnom lancu sadrže heteroatome [13].

Polietilen (PE) najčešća je vrsta polimera koja se koristi za izradu igračaka, plastičnih vrećica, ambalaže i spremnika za skladištenje [4]. Takvi se proizvodi vrlo često odbacuju nakon kratke uporabe zbog čega se gomilaju u okolišu. PE je podložan foto-iniciranoj oksidativnoj razgradnji, gdje pod utjecajem svjetlosti, topline ili kombinacije ta dva faktora u polaznom materijalu dolazi do "pucanja" veza između atoma u glavnom polimernom lancu i nastajanja slobodnih radikala. Nastali polimerni radikali reagiraju s kisikom i stvaraju peroksi-radikalne specije, čime započinje niz složenih radikalnih reakcija koje u konačnici dovode do autooksidacije materijala [13].

Polietilen tereftalat (PET) jedan je od najčešćih svjetski korištenih i svestranih materijala. Koristi se za ambalažu hrane, boca za piće, proizvodnju sintetičkih vlakana, također se koristi

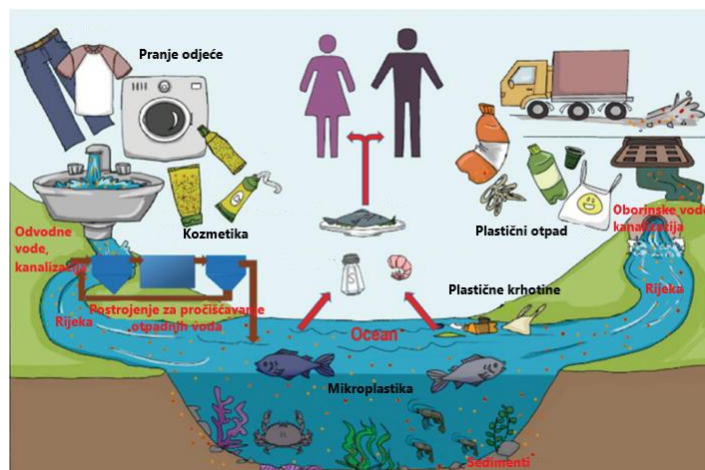
u poljoprivredi, građevini (kompoziti u kombinaciji s vlaknima) te ima i električnu primjenu [14]. Budući da u glavnom lancu sadrži heteroatome, u vodenome okolišu podložan je hidrolitičkoj razgradnji koja uzrokuje žutilo polimera, ali ponajviše na degradaciju PET-a utječe foto-inicirana oksidacija [13].

Polipropilen (PP) vrsta je termoplastike s najčešćom primjenom u prehrambenoj industriji gdje služi kao ambalaža za razne vrste proizvoda, ali primjena joj još seže u druge industrijske grane među kojima su automobilska i tekstilna [14]. Isto kao i PE, u vodenom okolišu degradacija polipropilena na veličinu mikroplastike zasnovana je na foto-iniciranoj oksidaciji, ali u glavnom lancu PP-a nalaze se tercijarni ugljikovi atomi zbog kojih je reaktivniji i podložniji navedenom procesu degradacije u usporedbi s polietilenom [13,15].

Tokom razgradnje PE, PP i PET polimera, molekularna težina materijala se smanjuje i postaje krhak te podložniji trošenju, a zbog povećanja specifične površine čestice, postaje reaktivniji na daljnju degradaciju i stvaranje PE, PP i PET mikroplastike [13].

2.2.1. Migracija u okoliš

Budući da se mikroplastika pronalazi u svakodnevnim proizvodima, najčešće kozmetici (sapuni, pasta za zube, pilinzi za lice i tijelo, losioni itd.), plikom upotrebe ispire se u vodovod i završi u postrojenju za pročišćavanje otpadnih voda gdje, zbog svoje veličine, rijetko biva otklonjena [3]. Većina mikroplastike u vodi potječe od sekundarnih čestica proizvedenih pranjem sintetičke odjeće, raspadom većih dijelova plastike (npr. stiropor, ambalaža od boca, plastične vrećice) te od čestica istrošenih dijelova automobilskih guma. Također, često se pronalazi u okolišu zbog onečišćenja i nepravilnog odlaganja otpada od strane ljudi, čime dopijeva do prirodnih voda putem vjetra i površinskog otjecanja [13]. PET je jedan od polimera koji se najčešće reciklira diljem svijeta, ali i dalje loše zbrinut gradski plastični otpad koji se najviše sastoji od polietilenskih i polipropilenskih ambalaža te PET boca za piće, dovodi do ogromnih količina otpada u površinskim vodama i na morskom dnu [16].



Slika 2.3. Migracija mikroplastike u okoliš i utjecaj na hranidbeni lanac [3]

Jedan od faktora koji utječe na rasprostranjenost mikroplastike u vodenom okolišu jest gustoća polaznog materijala. Materijali čija je gustoća manja od gustoće vode ($\sim 1,02 \text{ kg dm}^{-3}$), nalaze se na njezinoj površini, dok materijali čija je gustoća veća od gustoće vode nalaze se na vodenom dnu. PE ima gustoću $0,91\text{-}0,94 \text{ kg dm}^{-3}$ i PP $0,89\text{-}0,92 \text{ kg dm}^{-3}$ te zbog toga plutaju na površini vode, a PET s gustoćom $1,34\text{-}1,39 \text{ kg dm}^{-3}$ tone pa se često može pronaći na dnu rijeka, jezera, mora i oceana. Također, kolonizacija mikroplastike s mikroalgama i drugim mikroorganizmima na površini mikroplastike utječe na gustoću materijala pa tako i na njegov transport u vodenom okolišu i na dugoročnu distribuciju [13].

2.2.2. Toksikološki efekti

Vodeni organizmi poput malih ribica, račića i mikroalgi, neselektivno konzumiraju mikroplastiku, što uzrokuje kratkotrajnu i dugotrajnu toksičnost za vodene organizme. Moguće su unutarnje abrazije, vanjske i unutarnje rane, prestanak rada pojedinih funkcija, pa čak i smrt. Organizmi mogu biti izloženi i toksičnim aditivima koje sadrži mikroplastika kao stabilizatorima, pigmentima, plastifikatorima i njihovim mogućim kancerogenim svojstvima [12]. Kemikalije za koje se povijesno zna da potiču štetne učinke na funkcije endokrinog sustava, uključujući teške metale, organoklorne pesticide i naftne ugljikovodike, pronađene su vezane za mikroplastični otpad diljem svijeta [12]. Proizvodi od PE, PP i PET mikroplastike imaju dodane aditive i plastifikatore, koje su u većini slučajeva toksične kemikalije. One nisu kovalentno povezane s polimerom i stoga se mogu isprati iz mikroplastike tijekom procesa

degradacije zbog čega lako ulaze u vodeni okoliš i štetno djeluju na organizme koji žive u njima [13].

Mikroplastika ima visoki stupanj adsorpcije, pa se na površinu njezinih čestica mogu adsorbirati ili akumulirati i druge onečišćujuće tvari iz okoliša. Samim time, vodeni organizmi mogu različito reagirati na kombiniranu izloženost mikroplastike i onečišćujuće tvari u odnosu na njihovo pojedinačno djelovanje. Kemijski onečišćujuće tvari i čestice mikroplastike zajedničkim djelovanjem uzrokuju značajne promjene na jetri, homeostazu mozga, mišića i crijeva vodenih organizama [4]. Konzumacija tj. gutanje mikroplastike događa se kod životinja s različitim strategijama hranjenja i može negativno utjecati na aktivnost hranjenja i nutritivnu vrijednost, naročito kod vrsta koje ne mogu mijenjati svoj izvor hrane. Jedna je od posljedica opstrukcija i oštećenje probavnog sustava pa čak i izgladnjivanje, zatim i smrt životinja zbog želudaca ispunjenih mikroplastikom. Zbog svoje male veličine, čestice mikroplastike mogu biti konzumirane od bilo koje strane vodenog organizma bez obzira na njihov mehanizam hranjenja, čime ulaze u njihov krvožilni sustav i nakupljaju se u različitim vrstama tkiva [12].

2.3. Interakcija mikroplastike i 6PPD kinona

Budući da mikroplastika i 6PPD kinon migriraju u isti okoliš, za smanjenje koncentracije 6PPD-Q-a u njemu možemo promatrati njegovu interakciju s mikroplastikom. Mikroplastika ima izraženo svojstvo lipofilnosti koje olakšava adsorbiranje onečišćujućih tvari u vodenome okolišu na njezinu površinu [17]. Kada je koncentracija onečišćujućih tvari u okolišu niska, do adsorpcije dolazi zbog jakih interakcija između sila na površini mikroplastike i onečišćujuće tvari. Nasuprot, pri višim koncentracijama onečišćujućih tvari, adsorpcija se uglavnom događa zbog velikog volumena molekula koje se trebaju istaložiti. Organske onečišćujuće tvari na površinu mikroplastike mogu se adsorbirati pomoću hidrofobnih interakcija, razdiobe, elektrostatskih interakcija i pomoću raznih međumolekulskih odnosno nekovalentnih interakcija. Tijekom procesa adsorpcije, više navedenih adsorpcijskih mehanizama djeluje zajedno [18].

Struktura i hidrofobnost ključni su čimbenici onečišćujuće tvari koji utječe na stupanj njihove adsorpcije na mikroplastiku. Ako funkcionalna skupina, ali i sama struktura molekule organske onečišćujuće tvari ukazuje na njezinu hidrofobnost, bit će veći adsorpcijski afinitet za adsorpciju na hidrofobnu mikroplastiku. U suprotnome, ako struktura molekule ukazuje na njezinu hidrofilnost, bit će veći adsorpcijski afinitet za adsorpciju organske onečišćujuće tvari na hidrofilnu mikroplastiku. Općenito, hidrofobne mikroplastike, kao PE i PP, imaju veći adsorpcijski kapacitet za razliku od polarnih odnosno hidrofilnih mikroplastika. Mikroplastika prolazi kroz proces degradacije tijekom kojeg neke od C-H i C-C veza u lancu polimera oksidiraju. Ako se u polimernom lancu mikroplastike nalaze funkcionalne skupine koje sadrže kisik, takva čestica povećava svoju hidrofilnost ili jačaju vodikove veze između mikroplastike i onečišćujuće tvari. Samim time, povećava se adsorpcijski kapacitet mikroplastike za hidrofilne, a smanjuje za hidrofobne organske onečišćujuće tvari. Također je tijekom adsorpcije bitna veličina specifične površine mikroplastike. Tijekom procesa degradacije nastaju nove i manje čestice mikroplastike. Generalno vrijedi da što je veličina čestice manja, to je njezina specifična površina veća. Mikroplastika s većom specifičnom površinom ima veći broj mjesta za adsorpciju, a time i izraženije svojstvo adsorpcije onečišćujuće tvari na svoju površinu. Ali zbog male veličine čestica mikroplastike, može doći do njihove aglomeracije, čime se smanjuje specifična površina čestice i mogućnost adsorpcije [18].

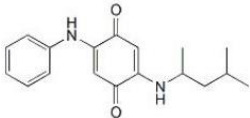
3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijali

3.1.1. Ispitivani transformacijski produkt antiozonanta

U Tablici 1. prikazani su osnovni podatci o transformacijskom produktu antiozonanta korištenog u radu.

Tablica 1. Fizikalno-kemijska svojstva 6PPD kinona.

naziv	Kemijska formula	struktura	Log K_{ow}	topljivost	M, g mol ⁻¹
6PPD kinon	C ₁₈ H ₂₂ N ₂ O ₂		5,4	metanol	298,38

3.1.2. Kemikalije

U Tablici 2. prikazane su korištene kemikalije prilikom rada.

Tablica 2. Popis kemikalija korištenih u radu

Naziv	Molekulska formula	Čistoća	Proizvođač
Metanol	CH ₃ OH	HPLC čistoća	Fisher Chemical, Velika Britanija
Acetonitril	CH ₃ CN	HPLC čistoća	VWR Chemicals, Francuska
6PPD kinon	C ₁₈ H ₂₂ N ₂ O ₂	≤99%	HPC Standards GmbH, Njemačka

3.1.3. Instrumenti, uređaji, pribor

Instrumenti i uređaji korišteni prilikom rada navedeni su u Tablici 3.

Tablica 3. Popis instrumenata i uređaja korištenih u radu

Naziv	Proizvođač
Kriomlin (CryoMill)	Retsch, Njemačka
Sito-tresilica (AS 2000 Basic)	Retsch, Njemačka
Analitička vaga (ATX serija)	Shimadzu, Japan
Termostatirana vodena kupelj sa tresilicom	Grant Instruments, UK

Tablica 3. (nastavak) Popis instrumenata i uređaja korištenih u radu

Naziv	Proizvođač
tekućinski kromatograf visoke djelotvornosti (engl. <i>High Performance Liquid Chromatography</i> , HPLC) LC-20	Shimadzu, Japan

3.2. Eksperimentalni postupak

3.2.1. Priprema mikroplastike

Mikroplastika se priprema usitnjavanjem većih zrna plastike PP 0 i PP UV 56. PP 0 je mikroplastika polipropilena koja nije starena ni reciklirana, dok je PP UV 56 mikroplastika polipropilena koja je UV starena 56 dana. Usitnjavanje se provodi pomoću kriomlina (Retsch, Njemačka) koji se sastoji od čeličnog mlina i spremnika s tekućim dušikom (Slika 3.1.).



Slika 3.1. Kriomlin

Kriomlin sadrži integrirani sustav hlađenja koji kontinuirano hladi posudu za mljevenje tekućim dušikom prije i tijekom procesa usitnjavanja. Do usitnjavanja dolazi tijekom tri faze: prethlađenje, treskanje i međuhlađenje. Za svaku fazu postavlja se određeno vrijeme trajanja, frekvencija odnosno broj titraja mlina u jedinici vremena, te određeni broj ciklusa kroz koje će se navedene faze izmjenjivati. Tablica 4. prikazuje postavljene uvjete za usitnjavanje PP 0.

Tablica 4. Primjer uvjeta usitnjavanja PP 0 na kriomlinu (Retsch, Njemačka)

PP 0		
	t/min	f/s ⁻¹
PRETHLAĐENJE	20 – 1. put (ostali 10)	5
TRESKANJE	30 s	25
MEĐUHLAĐENJE	2	5

9 ciklusa

Dobivene frakcije mikroplastike stavljaju se na sito-tresilicu (Retsch, Njemačka) (Slika 3.2.) radi izdvajanja mikroplastike reda veličine 100 – 500 μm . Usitnjena mikroplastika nalazi se na situ od 500 μm , podešavanjem amplitude i vremena trajanja trešnje, dolazi do razdvajanja čestica mikroplastike po veličini. Ispod sita od 500 μm nalazi se sito od 100 μm , te sve čestice mikroplastike koje nakon separacije zaostanu na navedenom situ imaju raspon veličine od 100 do 500 μm i prikupljaju se u željenu frakciju.



Slika 3.2. Sito-tresilica

3.2.2. Priprema otopina za adsorpciju

Vodena otopina 6PPD kinona ($c=10 \mu\text{M}$) pripremljena je razrjeđenjem iz temeljne standardne otopine (TSO) 6PPD kinona ($c=100,54 \mu\text{M}$, u čistom metanolu). 50 mL dobivene radne otopine doda se u bočice sa zatamnjenim staklom. U iste bočice dodaju se i odvage mikroplastike (PP0, PP UV 56; 100-500 μm , $\gamma=100$; 250; 500; 750; 1000 mg L^{-1}). pH otopine je 7.

3.2.3. Ispitivanje adsorpcijskog kapaciteta mikroplastike

Bočice s pripremljenim otopinama stavljaju se u termostatiranu vodenu kupelj s tresilicom (Grant Instruments, UK) pri temperaturi od 20°C (Slika 3.3.).



Slika 3.3. Termostatirana vodena kupelj s tresilicom

Uzorkovanje se provodilo nakon 30, 60, 90, 120, 180 min te 24 h pomoću PE šprice i filtriranjem kroz PTFE filter (0,45 μm) u posebnu čistu čašu. U prethodno označene vialo dodano je 300 μL acetonitrila i 700 μL profiltriranog uzorka. Za svaki uzorak uzeti su duplikati. Snimanje uzoraka provedeno je na tekućinskom kromatografu visoke djelotvornosti (engl. *High Performance Liquid Chromatography*, HPLC) Shimadzu LC-20, Japan.

3.2.4. Priprema organizama za ispitivanje toksičnosti

U svrhu ispitivanja toksičnosti korišten je Daphtoxkit F magna (Microbiotest, Belgija). Medij za uzgoj račića je slatka voda koja je dobivena odvagom natrijevog hidrogenkarbonata ($m=129,5$ mg), kalcijevog klorida ($m=588$ mg), magnezijevog sulfata ($m=246,5$ mg) i kalijevog klorida ($m=11,5$ mg) otopljenih u 2 L ultračiste vode. Jajašca račića se ispiru vodovodnom vodom i stavljaju u petrijevu zdjelicu u 15 mL slatke vode. Kako bi aktivirali jajašca, odnosno kako bi se izleglo otprilike 120 račića, potrebno je pripremljene Petrijeve zdjelice staviti u inkubator na 25°C, 72 h prije provedbe eksperimenta toksičnosti (Slika 3.4.).



Slika 3.4. Jajašca račića *Daphnia magna*

Prije pripreme serije razrjeđenja potrebno je u petrijevke dodati spiruline kako bi nahranili račiće.

3.2.5. Priprema otopina za ispitivanje toksičnosti

Priprema geometrijskog niza razrjeđenja u čašama koje su označene od 0 do 5. Oznaka 0 predstavlja referentni uzorak, 1 nerazrijeđeni uzorak u koji se dodaje slatka voda, a 5 najveće razrjeđenje. Kako bi se napravilo prvo razrjeđenje pola sadržaja iz čaše 1 doda se u čašu 2 (1:1) u koju je prethodno dodano 50 mL slatke vode. Zatim se isto ponavlja za čašu 3, 4 i 5.

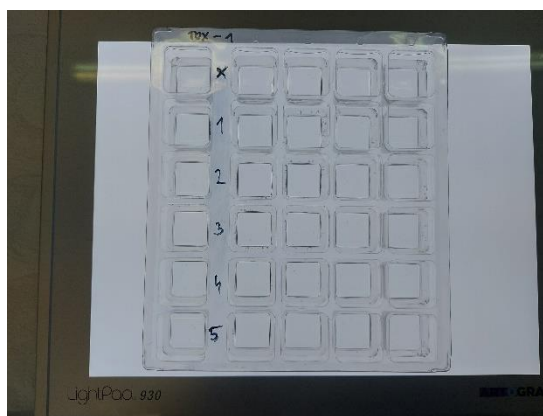
3.2.6. Ispitivanje toksičnosti

Mjerenja i izračuni toksičnosti u vodi provedeni su sukladno međunarodnoj normi ISO 6341. U tu svrhu testirale su se otopine navedene u Tablici 5. Najprije je određena toksičnost pojedinih komponenti, 6PPD kinona, metanola te PP 0 i 56 (veliĉine ĉestica 100-500 μm) (Tablica 5., uzorci 1, 2, 5, 6) nakon ĉega je istražen uĉinak kombinirane toksiĉnosti (Tablica 5., uzorci 3, 4).

Tablica 5. Popis uzoraka korištenih u svrhu provedbe ispitivanja toksiĉnosti.

naziv	Opis	c(6PPD kinon), μM	γ (PP 0 i PP 56), mgL^{-1}
TOX 1	10% MeOH u ultraĉistoj H_2O	-	-
TOX 2	6PPD kinon (10 μM u 10% MeOH)	10	-
TOX 3	PP 0 (1 g L^{-1}) + 6PPD kinon (10 μM u 10% MeOH)	10	1000
TOX 4	PP UV 56 (1 g L^{-1}) + 6PPD kinon (10 μM u 10% MeOH)	10	1000
TOX 5	PP 0 (1 g L^{-1})	-	1000
TOX 6	PP UV 56 (1 g L^{-1})	-	1000

Svako pripremljeno razrjeđenje od svih otopina mora biti analizirano 4 puta pa se pripremljene serije razrjeđenja prebacuju u testne lađice od 15 mL (za svaku koncentraciju 4 lađice) (Slika 3.5.). U svaku lađicu stavlja se 10 mL otopine, poĉevši od reda s oznakom X u koju se dodaje medij odnosno slatka voda, a postupak se ponavlja za ostale lađice, krećući od najrazrjeđenijeg pripremljenog razrjeđenja do najkoncentriranijeg (od 5 do 1).



Slika 3.5. Lađice sa serijom razrjeđenja.

U prvu lađicu u prvom stupcu, kapalicom se stavlja oko 20 račića *Daphnia Magna* iz petrijeve zdjelice. Zatim se 5 račića opet kapalicom prenosi u svaku lađicu u istom redu. Postupak se ponavlja za svaki red, krećući se od najrazrjeđenije otopine do najkoncentriranije. Pripremljene lađice prekriju se parafilmom i poklopcem, te stavljaju na inkubaciju dva dana pri temperaturi od 25 °C. Brojanje uginulih račića se provodi nakon 24 i 48 sati.

3.3. Analitička metoda

Uzorci uzimani tijekom ispitivanja adsorpcijskog kapaciteta mikroplastike snimani su na tekućinskom kromatografu visoke djelotvornosti (*High Performance Liquid Chromatography*, HPLC) LC-20 (Shimadzu, Japan) (Slika 3.6.) kojim je omogućeno određivanje koncentracije 6PPD kinona u vodenoj otopini. HPLC sastoji se od dvije LC-20AD binarne pumpe, CBM-20ALite kontrolera, CTO-20A termostat kolone, SIL-10AF automatskog uzorkivača, te Rf-20A fluorescencijskog detektora.



Slika 3.6. HPLC

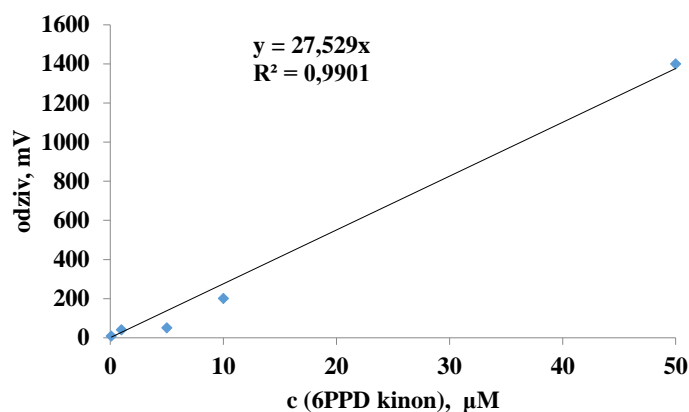
Kao nepokretna faza korištena je kolona ShimPack Gist C18 (Shimadzu, Japan), dimenzija: 150 mm x 2.1 mm, 3 μm pri čemu je kolona termostatorirana na 40 °C, a pokretna faza je eluirana gradijentnim načinom rada (Tablica 6.) te se sastojala od otapala acetonitrila (HPLC čistoće, VWR Chemicals, Francuska) i ultračiste vode (pripremljena upotrebom MiliPore Sigma sustava za pročišćavanje vode, Fischer Scientific, SAD), s ukupnim protokom pokretne faze 0,2 mL min⁻¹.

Tablica 6. Gradijent pokretne faze.

t, min	M-A, %	M-B, %
0	90	10
3	10	90
6	10	90
12	90	10

Fluorescencijska detekcija kinona zahtijevala je dvije valne duljine, ekscitacijsku pri 306 nm te emisijsku na 420 nm, pri čemu je vrijeme zadržavanja iznosilo 5,3 min. Svaki uzorak analiziran je u duplikatima. Volumen injektiranja uzoraka je 50 μL .

Kalibracijska krivulja određena je za 5 točaka odnosno standardnih otopina kinona poznatih koncentracija, 50; 10; 5; 1; 0,1 μM (Slika 3.7.).



Slika 3.7. Kalibracijska krivulja

3.4. Model opisa adsorpcije

Snimanjem uzoraka na HPLC-u dobivene su koncentracije 6PPD kinona u vodenoj otopini 30, 60, 90, 120, 180 min i 24 h nakon adsorpcije. Doseg adsorpcije izračunat je kao razlika koncentracije 6PPD kinona u početnoj otopini te u uzorcima u određenom vremenskom

periodu. Budući da su ispitivanja provedena u izotermnim uvjetima (pri 20°C), cijeli proces adsorpcije 6PPD kinona na čestice mikroplastike može se prikazati adsorpcijskim izotermama. Adsorpcijske izoterme računane su primjenom Langmuirovog modela koji je prikazan jednadžbom (1):

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{q_m \cdot K_L} + \frac{C_e}{q_m} \quad (1)$$

C_e (mg L⁻¹) – koncentracija molekula u ravnoteži

q_e (mg g⁻¹) - količina adsorbiranih molekula na površini adsorbenta u bilo kojem trenutku

q_m (mg g⁻¹) - maksimalni adsorpcijski kapacitet

K_L (mg g⁻¹) – Langmuirova konstanta povezana s adsorpcijskim kapacitetom

Langmuirova adsorpcija koja je prvenstveno osmišljena za opisivanje adsorpcije plin-kruta faza također se koristi za kvantificiranje i usporedbu adsorpcijskog kapaciteta različitih adsorbenta. Langmuirov model pretpostavlja da je površina adsorbenta homogena, a adsorbat se može vezati za površinu na određenim mjestima i pod određenim uvjetima pri čemu uspostavlja vezu s adsorbentom, ali nema interakcije između adsorbata i adsorbenta (prisutne van der Waalove privlačne sile). Druga pretpostavka je da se adsorpcija odvija u jednom sloju na vanjskoj površini adsorbenta (jednoslojna adsorpcija, stvara se monosloj). Mjesta na površini adsorbenta su energetska jednaka, a molekule koje su već adsorbirane ne utječu na daljnju adsorpciju jer nema interakcija s ostalim molekulama adsorbata. Kada je pokrivenost površine adsorbenta potpuna, uspostavljena je ravnoteža. Langmuirova konstanta, K_L , može se povezati s adsorpcijskim kapacitetom tj. varijacijom područja i poroznosti adsorbenta, što bi značilo da velika površina i volumen pora rezultira većim adsorpcijskim kapacitetom.

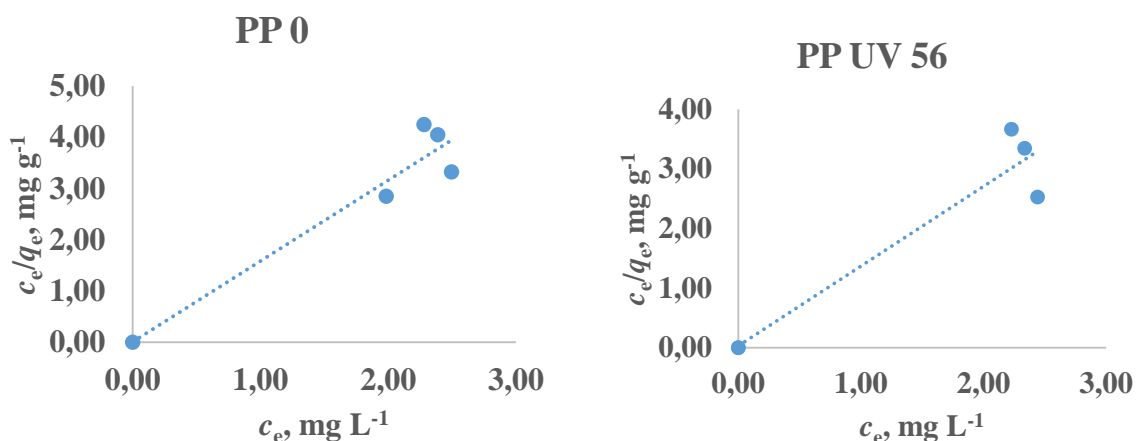
4. RASPRAVA I REZULTATI

4.1. Adsorpcija 6PPD kinona na mikroplastiku u vodi

Adsorpcija 6PPD kinona u oba slučaja slijedi Langmuirov model kojim se mogu opisati karakteristične izoterme (Slika 4.1.), a iz danih jednačbi pravca računaju se parametri i konstante (Tablica 7). U skladu s pretpostavkama Langmuirovog modela, adsorpcija na mikroplastici se odvija u monosloju, te je raspodjela aktivnih mjesta na adsorbensu homogena. Konstanta k_L je adsorpcijska ravnotežna konstanta koja se odnosi na energiju adsorpcije.

Tablica 7. Parametri Langmuirovog modela za nestarene i starene uzorke PP-a i 6PPD kinona.

MP	Langmuirov model		
	k_L	q_m (mg g ⁻¹)	R ²
PP 0	4,9492	0,1282	0.9179
PP UV 56	24,4413	0,0306	0.9176



Slika 4.1. Prikaz Langmuirove adsorpcijske izoterme adsorbiranog 6PPD kinona na PP0 (lijevo) i PP UV 56 (desno), pri temperaturi od 20 °C.

Langmuirove adsorpcijske izoterme adsorbiranog 6PPD kinona na PP 0 i PP UV 56 prikazuju ovisnost količine adsorbiranih molekula po masi adsorbenta, c_e/q_e , o koncentraciji molekula u ravnoteži, c_e , u obliku linearnog pravca. Iz njegovog nagiba, $1/q_m$, moguće je izračunati maksimalni adsorpcijski kapacitet, q_m . Iz prikaza Langmuirovih adsorpcijskih izoterma vidi se kako su koncentracije molekula u ravnoteži tijekom adsorpcije približno jednake, ali ipak se može primijetiti njihovo smanjenje s porastom količine adsorbiranih molekula po masi adsorbenta. Ravnoteža se uspostavlja kada je pokrivenost površine adsorbenta potpuna. Dakle,

možemo zaključiti da dolazi do adsorpcije 6PPD kinona na starenu i nestarenu mikroplastiku, a ravnoteža se uspostavlja što se više molekula adsorbira na mikroplastiku tijekom vremena, dok se koncentracija molekula 6PPD kinona u vodenoj otopini smanjuje.

U Tablici 7. navedene su dobivene vrijednosti parametra i konstante. Maksimalni adsorpcijski kapacitet, q_m , odnosi se na moguću maksimalnu količinu koju adsorbat može zauzeti na adsorbentu po jedinici mase adsorbenta. Za nestarenu mikroplastiku odnosno PP 0 iznosi $0,1282 \text{ mg g}^{-1}$, dok za starenu mikroplastiku tj. PP UV 56 iznosi četiri puta manje, $0,0306 \text{ mg g}^{-1}$. Prema tome, nestarena mikroplastika može adsorbirati veću količinu molekula 6PPD kinona po jedinici mase. Gijsman [19] je objasnio kako UV starenjem mikroplastike dolazi do kidanja C-H veza u lancu polimera i strukturne transformacije molekule, gdje nastali radikali reagiraju s kisikom iz zraka ili vode, ovisno u kojem su okruženju starenj. Tako PP UV 56 ima veću koncentraciju karbonilne skupine u svojoj strukturi u usporedbi s PP 0 koji je uopće nema. Starena mikroplastika postaje manje hidrofobna, a na neka moguća adsorpcijska mjesta na njezinoj površini adsorbira se voda zbog čega joj se maksimalni adsorpcijski kapacitet za 6PPD kinon smanjuje.

Adsorpcijska ravnotežna konstanta, k_L , odnosi se na energiju adsorpcije. Za nestarenu mikroplastiku tj. PP 0 iznosi 4,9492, a za PP UV 56 iliti starenu mikroplastiku iznosi 24,4413. Pretpostavka bi bila da ona vrsta mikroplastike s većim maksimalnim adsorpcijskim kapacitetom ima i veću adsorpcijsku ravnotežnu konstantu, odnosno adsorbirati će više adsorbata, ali vidljivo je ono suprotno, da starena mikroplastika ima skoro pet puta veći k_L od one za nestarenu. Znači da je afinitet između starene mikroplastike i 6PPD kinona veći od onog između nestarene mikroplastike i 6PPD kinona, te da je PP UV 56 mikroplastika na svoju površinu adsorbirala veću količinu 6PPD kinona iz vodene otopine. Iako PP UV 56 ima smanjenu hidrofobnost u usporedbi s PP 0, kao ranije navedeno, ona očito nema značajan utjecaj na druge aspekte adsorpcije osim na smanjenje maksimalnog adsorpcijskog kapaciteta. Razlog tako velike adsorpcijske ravnotežne konstante moguće je pronaći u specifičnoj površini i veličini pora starene mikroplastike. Starenjem mikroplastike dolazi do stvaranja lokalnih mikropukotina na njezinoj površini. Zbog toga nastaju male pore na starenoj mikroplastici, pa se posljedično povećava i specifična površina PP UV 56, koju su Zang, Liu i suradnici [20] naveli kao ključan razlog veće adsorpcije hidrofobnih organskih onečišćujućih tvari na UV starenu mikroplastiku. Između mikroplastike i 6PPD kinona postoje Van der Waalsove interakcije, pa s obzirom na navedeni tip veze proces se klasificira kao fizikalna adsorpcija.

Koeficijent korelacije, R^2 , za obje vrste mikroplastike iznosi približno 0,918, što označava dobro slaganje između eksperimentalnih podataka i Langmuirovog modela te sugerira da pojava adsorpcije pripada monoslojnoj adsorpciji na uniformnoj površini mikroplastike.

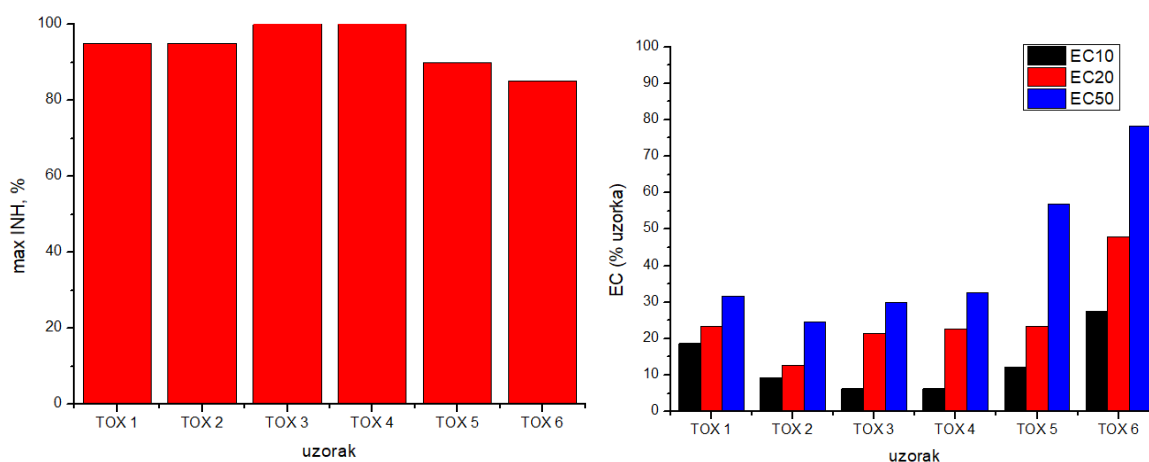
4.2. Toksičnost 6PPD kinona

U svrhu analize i interpretacije toksičnih efekata, pomoću izmjerenih inhibicija izračunate su efektivne koncentracije koje uzrokuju 50 (EC50), 20 (EC20) te 10 (EC10) posto inhibicije ispitivanih slatkovodnih račića (Slika 4.1.). Pritom su, u svrhu obrade podataka i računanja EC₁₀, EC₂₀ i EC₅₀ vrijednosti, upotrebljena matematička funkcija doza-odgovor (rastuća/sigmoidalna) prikazana je jednadžbom (2):

$$y = a_1 + (a_2 - a_1) / (1 + 10^{((\log x_0 - x) * p)}) \quad (2)$$

gdje su 3a_1 - donja asimptota, 3a_2 - gornja asimptota, $^3\log x_0$ - centar, 3p - nagib krivulje.

Matematička funkcija doza-odgovor uključuje prilagođavanje matematičkog modela mjerenjima poduzetim za svaku koncentraciju i korištenje toga za procjenu odnosa između koncentracije i mjerenja.



Slika 4.1. Vrijednosti maksimalne izmjerene inhibicije (lijevo) i efektivne koncentracije uzoraka (desno) 6PPD kinona i mikroplastike određene nakon 48 h izloženosti na *Daphnia Magna*

Inhibicija podrazumijeva kočenje, zaustavljanje prijenosa živčanih impulsa i fizioloških procesa organizma, u ovom slučaju slatkovodnog račića *Daphnia Magna*. Maksimalnu vrijednost inhibicije od 100% postižu uzorci TOX 3 i TOX 4, odnosno otopine 6PPD kinona s PP 0 i PP UV 56 nakon 24 h. Najmanju maksimalnu inhibiciju, između 80 i 95%, pokazuje uzorak TOX 6 iliti PP UV 56. TOX 1, TOX 2 i TOX 5, koji su redom 10%-tna otopina MeOH

u ultračistoj H₂O, otopina 6PPD kinona (10 μM u 10% MeOH), i uzorak PP 0, pokazuju maksimalnu inhibiciju od 95%.

Generalno kod svakog uzorka najveća efektivna koncentracija postiže se kod 50% inhibicije (EC₅₀), zatim 20 (EC₂₀) i onda 10 (EC₁₀) posto inhibicije. Najveće efektivne koncentracije koje uzrokuju 50, 20 i 10% inhibicije slatkovodnih račića *Daphnia Magna* ima uzorak PP UV 56 (TOX 6). On postiže EC₅₀ kod čak 80% uzorka, EC₂₀ kod 50% uzorka, a EC₁₀ kod 25% uzorka. EC₅₀ također je dosta izražen kod PP 0 (TOX 5) gdje kod 55% uzorka postiže 50% inhibicije. Najmanju vrijednost EC₅₀ ima TOX 2 (otopina 6PPD kinona (10 μM u 10% MeOH)) koja iznosi 25% uzorka. EC₂₀ se kod ostalih uzoraka toksičnosti kreće između 20 i 25% uzorka, jedino kod TOX 2 (otopina 6PPD kinona) između 10 i 15% uzorka. EC₁₀ najmanja je za TOX 3 i TOX 4 (mješavina otopine 6PPD kinona i PP 0 te PP UV 56 nakon 24 h) gdje iznosi 5%, dok je za ostale uzorke između 10 i 20% uzorka. Navedene vrijednosti prikazane su i tablično (Tablica 8.)

Tablica 8. Prikaz vrijednosti efektivne koncentracije uzorka 6PPD kinona i mikroplastike određene nakon 48 h izloženosti na *Daphnia Magna*

naziv	opis	EC ₁₀ (% uzorka)	EC ₂₀ (% uzorka)	EC ₅₀ (% uzorka)
TOX 1	10% MeOH u ultračistoj H ₂ O	15-20	20-25	30-35
TOX 2	6PPD kinon (10 μM u 10% MeOH)	10	10-15	25
TOX 3	PP 0 (1 g L ⁻¹) + 6PPD kinon (10 μM u 10% MeOH)	5	20-25	30
TOX 4	PP UV 56 (1 g L ⁻¹) + 6PPD kinon (10 μM u 10% MeOH)	5	20-25	30-35
TOX 5	PP 0 (1 g L ⁻¹)	10-15	20-25	55-60
TOX 6	PP UV 56 (1 g L ⁻¹)	25-30	50	80

Iz navedenog može se zaključiti kako je za otopinu 6PPD kinona (10 μL u 10% MeOH) potrebna najmanja količina (≥25%) uzorka da bi se postigla efektivna koncentracija kod 50% inhibicije *Daphnie Magne*, dok su za uzorke starene i nestarene mikroplastike potrebne veće količine (>50%) uzorka kako bi se postigla efektivna koncentracija od 50% inhibicije. Dakle, sama otopina 6PPD kinona pokazuje isti toksični utjecaj pri manjim koncentracijama kao i uzorci mikroplastike pri većim koncentracijama. To pokazuje kako PP 0 i PP UV 56 nemaju značajan toksični utjecaj, ali zato 6PPD kinon (10 μL u 10% MeOH) pokazuje značajne toksikološke efekte pri malim koncentracijama. Ovim putem se također može dokazati kako je došlo do adsorpcije 6PPD kinona na mikroplastiku usporedbom EC₅₀ uzoraka TOX 2, TOX 3

i TOX 4. Mješavina otopina 6PPD kinona i mikroplastike imat će veću vrijednost efektivne koncentracije za 50% inhibicije nego sama otopina 6PPD kinona zbog procesa adsorpcije. Adsorbiranjem 6PPD-Q na mikroplastiku smanjuje se koncentracija 6PPD kinona u otopini te je potrebna veća količina uzorka za postizanje inhibicije. Između dva uzorka otopine 6PPD kinona sa starenom i nestarenom mikroplastikom nakon 24h, vidljivo je potrebna veća količina uzorka ($\approx 35\%$) 6PPD kinona sa starenom mikroplastikom (PP UV 56) da bi se postigla efektivna koncentracija kod 50% inhibicije *Daphnie Magne*, nego od one otopine 6PPD kinona sa nestarenom mikroplastikom (PP 0). Dakle, 6PPD kinon bolje adsorbira na površinu starene mikroplastike, PP UV 56, a posljedično uzrokuje veće smanjenje koncentracije 6PPD kinona u vodenoj otopini, čime donekle smanjuje i njegov toksični efekt. Varshney i suradnici [7] promatrali su toksični utjecaj 6PPD kinona na ličinke ribica *Danio Rerio*, te su zaključili kako 10 μM otopina 6PPD kinona uzrokuje upalu probanog sustava, smanjenje veličine očiju, usporeni rad srca i smanjenu aktivnost kretanja. Također su Brinkmann i suradnici [21] testirali toksičnost 6PPD kinona na različitim vrstama slatkovodnih riba. Ustanovili su da koncentracije od 4 nM (0,004 μM) uzrokuju smrt kod dvaju vrsta pastrve nakon 96 h, a sve koncentracije više od 10 nM (0,01 μM) uzrokuju inhibitorne procese kod ostale dvije vrste ispitivanih riba. Dakle, otopina 6PPD kinona ne uzrokuje inhibiciju samo u račićima *Daphnie Magne*, nego i u raznim drugim slatkovodnim organizmima.

ZAKLJUČAK

Testirana je adsorpcija 6PPD kinona u vodenoj otopini na dvije vrste mikroplastike, PP 0 i PP UV 56. Adsorpcija 6PPD kinona u oba slučaja slijedi Langmuirov model, adsorpcija na mikroplastici se odvija u monosloju te je raspodjela aktivnih mjesta na adsorbensu homogena. Kao rezultat dobivene su karakteristične Langmuirove adsorpcijske izoterme, a iz danih jednadžbi i pravca računaju se parametri i konstante adsorpcije. Maksimalni adsorpcijski kapacitet, q_m , PP 0 veći je od maksimalnog adsorpcijskog kapaciteta PP UV 56. Starena mikroplastika sadrži kisikov atom u svojoj strukturi, pa na neka moguća mjesta adsorpcije na njezinoj površini može doći do adsorpcije vode umjesto 6PPD kinona, rezultirajući manjim maksimalnim adsorpcijskim kapacitetom. Nasuprot tome, PP UV 56 ima veću adsorpcijsku ravnotežnu konstantu, k_L , u odnosu na PP 0. Starena mikroplastika ima manje pore i veću specifičnu površinu zbog lokalnih mikropukotina uzrokovanih UV starenjem, što pogoduje većoj adsorpciji 6PPD kinona na njezinu površinu. Dakle, 6PPD kinon ima veći afinitet za adsorpciju na starenu mikroplastiku. Riječ je o fizikalnoj adsorpciji zbog prisutnih Van der Waalsovih interakcija između adsorbata i adsorbenta.

Također je testiran i toksični efekt 6PPD kinona i mikroplastike. Pokazano je kako PP 0 i PP UV 56 ne pokazuju znatan toksičan utjecaj na slatkovodne račiče *Daphnie Magne*, dok otopina 6PPD kinona (10 μM u 10% MeOH) pokazuje kako je dovoljna samo četvrtina uzorka da bi se postigla 50%-tna inhibicija račića. Vodena otopina 6PPD kinona sa PP 0 i PP UV 56 24h nakon adsorpcije i dalje pokazuje toksičan utjecaj na *Daphnie Magne*, ali potreban je veći udio uzorka za postizanje 50%-tne inhibicije u usporedbi s otopinom 6PPD kinona (10 μM u 10% MeOH).

6. LITERATURA

- [1] Seiwert, B., Nihemaiti, M., Troussier, M., Weyrauch, S., Reemtsma, T., Abiotic oxidative transformation of 6-PPD and 6-PPD quinone from tires and occurrence of their products in snow from urban roads and in municipal wastewater, *Water Res.*, **212** (2022) 118122
- [2] Xu, J., Hao, Y., Yang, Z., Li, W., Xie, W., Huang, Y., Wang, D., He, Y., Liang, Y., Matsiko, J., Rubber Antioxidants and Their Transformation Products: Environmental Occurrence and Potential Impact, *Int. J. Environ. Res. Public Health*, **19** (2022) 14595
- [3] Westphalen, H., Abdelrasou, A., Challenges and Treatment of Microplastics in Water, u: Glavan, M., Water Challenges of an Urbanizing World, IntechOpen, 2018.,
- [4] Ammar, E., Mohamed M.S., Sayed, A.E.D.H., Polyethylene microplastics increases the tissue damage caused by 4-nonylphenol in the common carp (*Cyprinus carpio*) juvenile, *Front. Mar. Sci.*, **9** (2022) 1041003
- [5] Department of toxic substances control, Product - Chemical Profile for Motor Vehicle Tires Containing N-(1,3-Dimethylbutyl)-N'-phenyl-p-phenylenediamine (6PPD), https://dtsc.ca.gov/scp/motor_vehicle_tires_containing_6ppd/ (Pristup 17. prosinca 2022.)
- [6] Johannessenl, C., Helm, P., Lashuk, B., Yargeau, V., Metcalfe, C.D., The Tire Wear Compounds 6PPD-Quinone and 1,3-Diphenylguanidine in an Urban Watershed, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **82** (2022) 171-179
- [7] Varshney, S., Gora, A.H., Siriyappagouder, P., Kiron, V., Olsvik, P.A., Toxicological effects of 6PPD and 6PPD quinone in zebrafish larvae, *J. Hazard. Mater.*, **424** (2022) 127623
- [8] Johannessen C., Saini A., Zhang X., Harner T., Air monitoring of tire-derived chemicals in global megacities using passive samplers, *Environ. Poll.*, **314** (2022) 120206
- [9] Wagner, S., Klöckner, P., Reemtsma T., Aging of tire and road wear particles in terrestrial and freshwater environments – A review on processes, testing, analysis and impact, *Chemosphere* **288** (2022) 132467
- [10] Pravilnik o graničnim vrijednostima emisija otpadnih voda, Narodne novine, NN 26/2020
- [11] Direktiva 2000/60/EZ, Službeni list Europske zajednice, L 327/1

- [12] Espinosa, C., Esteban, M.A., Cuesta, A., Microplastics in Aquatic Environments and Their Toxicological Implications for Fish, u: Larramendy, M.L., Soloneski, S., Toxicology – New Aspects to This Scientific Conundrum, IntechOpen, 2016.
- [13] Gomiero, A., Strafella, P., Fabi, G., From Macroplastic to Microplastic Litter: Occurrence, Composition, Source Identification and Interaction with Aquatic Organisms. Experiences from the Adriatic Sea, u: Gomiero, A., Plastics in Environment, IntechOpen, 2019.
- [14] Kaushal, J., Khatri, M., Arya, S.K., Recent insight into enzymatic degradation of plastics prevalent in the environment: A mini - review, *Clean. Eng. and Technol.*, **2** (2021) 100083
- [15] Phan, S., Padilla-Gamiño, J.L., Luscombe, C.K., The effect of weathering environments on microplastic chemical identification with Raman and IR spectroscopy: Part I. polyethylene and polypropylene, *Polym. Test.*, **116** (2022) 107752
- [16] Lionetto, F., Corcione, C.E., An Overview of the Sorption Studies of Contaminants on Poly(Ethylene Terephthalate) Microplastics in the Marine Environment, *J. Mar. Sci. Eng.*, **9** (2021) 445
- [17] Joo, S.H., Liang, Y., Kim, M., Byun, Y., Choi, H., Microplastics with adsorbed contaminants: Mechanisms and Treatment, *Environ. Chall.*, **3** (2021) 100042
- [18] Fu, L., Li, J., Wang, G., Luan, Y., Dai, W., Adsorption behavior of organic pollutants on microplastics, *Ecotoxicol. and Environ. Saf.*, **217** (2021) 112207
- [19] Gijssman, P., Polymer Stabilization, u: Kutz, M., Handbook of Environmental Degradation of Materials, 3rd ed., William Andrew, 2018 369-395.
- [20] Zhang, M., Liu, N., Hou, L., Li, C., Adsorption behaviors of chlorpyrifos on UV aged microplastics, *Mar. Pollut. Bull.*, **190** (2023) 114852
- [21] Brinkmann, M., Montgomery, D., Selinger, S., Miller, J. G. P., Stock, E., Alcaraz, A. J., Challis, J. K., Weber, L., Janz, D., Hecker, M., Wiseman, S., Acute Toxicity of the Tire Rubber-Derived Chemical 6PPD-Quinone to Four Fishes of Commercial, Cultural, and Ecological Importance, *Environ. Sci. Technol. Lett.* **9** (2022) 333–338

7. ŽIVOTOPIS

Martina Kujavić, [REDACTED] Završila sam Osnovnu školu Davorina Trstenjaka u Zagrebu, nakon koje upisujem Žensku opću gimnaziju Družbe sestara milosrdnica s pravom javnosti. Maturirala sam 2019. godine te iste upisujem Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, smjer Kemija i inženjerstvo materijala. Stručnu praksu odradila sam u tvrtki The Bird d.o.o. u Zagrebu.