

Utjecaj TiO₂ na antibakterijska svojstva biorazgradljivih kompozita LDPE/rižine ljuskice

Kovačević, Antonija

Undergraduate thesis / Završni rad

2018

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:149:495811>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-04-02**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Antonija Kovačević

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, rujan 2018.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Antonija Kovačević

**Utjecaj TiO₂ na antibakterijska svojstva biorazgradljivih
kompozita LDPE/rižine ljuskice**

ZAVRŠNI RAD

Voditelj rada: prof. dr. sc. Emi Govorčin Bajsić

Članovi ispitnog povjerenstva:
prof. dr. sc. Emi Govorčin Bajsić
prof. dr. sc. Zlata Hrnjak Murgić
dr. sc. Dajana Kučić Grgić

Zagreb, rujan 2018.

Ovaj završni rad izrađen je na Zavodu za polimerno inženjerstvo i organsku kemijsku tehnologiju te Zavodu za industrijsku ekologiju Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom prof. dr. sc. Emi Govorčin Bajsić i dr.sc. Dajane Kučić Grgić, znan. sur. u akademskoj godini 2017/2018.

Zahvale

Veliko hvala mentorici prof. dr. sc. Emi Govorčin Bajsić te dr. sc. Dajani Kučić Grgić na pruženoj pomoći, motivaciji, svakom savjetu, stručnom mentorstvu i pozitivnom stavu prilikom izrade ovog rada.

Zahvaljujem se svim djelatnicima Zavoda za industrijsku ekologiju na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije na omogućenom radu u laboratoriju i ugodnoj atmosferi.

Hvala mojoj obitelji, Lovri te dragim ljudima na razumijevanju, strpljenju i bezuvjetnoj podršci.

SAŽETAK

Dugi niz godina razni sintetski polimeri kao što su polistiren (PS), polietilen (PE), polipropilen (PP) i polietilen tereftalat (PET) koriste se kao ambalažni materijali za pakiranje prehrambenih i ostalih proizvoda. Manje od 5 % svih plastičnih materijala se reciklira, što predstavlja veliki ekološki problem. Sintetskim polimerima potrebno je dugo vrijeme kako bi se razgradili u osnovne spojeve nakon njihove upotrebe te iz tog razloga njihovo odlaganje ima negativan utjecaj na onečišćenje okoliša i klimatske promjene. Kako bi se smanjila količina sintetskog plastičnog otpada koji se svakodnevno šalje na odlagališta te ovisnost o naftnim derivatima, u posljednjih nekoliko godina sve je veći interes za proizvodnju biorazgradljivih i obnovljivih materijala.

Polietilen niske gustoće (LDPE) jedan je od najčešće korištenih sintetskih polimera za izradu folija i drugih ambalažnih materijala, dok su rižine ljuskice biorazgradljiv materijal koji nastaje uslijed proizvodnje riže. Prilikom mljevenja, zrno riže odvoji se od ljuske te one postaju biootpad. Biorazgradljivi kompoziti polietilena niske gustoće i rižinih ljuskica imaju mogućnost potpuno zamijeniti sintetske ambalažne proizvode. Rižine ljuskice dodaju se kao punila u polimernu matricu LDPE. Kako bi se očuvala kvaliteta i sigurnost proizvoda u LDPE/RLJ biokompozite potrebno je dodati antimikrobni agens koji inhibira rast bakterija i time štiti proizvod.

Cilj ovog rada bio je odrediti da li TiO_2 kao antimikrobni agens posjeduje antibakterijska svojstva na ispitivane bakterijske kulture *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Bacillus subtilis*. Provedena su dva tipa pokusa, prvo se ispitaio utjecaj različitih masenih udjela TiO_2 (2, 3 i 5 mas %) u tekućem i čvrstom stanju na inhibiciju bakterija, te utjecaj TiO_2 pomiješanog u kompozit LDPE i RLJ. TiO_2 u tekućem stanju nije pokazao antibakterijska svojstva dok je u čvrstom stanju inhibirao rast ispitivanih bakterija. Prema dobivenim rezultatima dodatkom sve većih masenih postotaka TiO_2 (0,5 %; 1,0 %; 1,5 % te 2,0 mas %) u biokompozite LDPE/RLJ 60/40 broj stanica bakterijskih kultura se smanjivao iz čega se može zaključiti da TiO_2 inhibira rast bakterijskih kultura *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Bacillus subtilis*.

Ključne riječi: Polietilen niske gustoće (LDPE), rižine ljuskice (RLJ), biokompoziti, antimikrobni agensi, titanov dioksid (TiO_2)

ABSTRACT

For many years, various synthetic polymers such as polystyrene (PS), polyethylene (PE), polypropylene (PP) and polyethylene terephthalate (PET) have been used as packaging materials for food and other products. In general, less than 5 % of all plastic materials are recycled, which resulted in many ecological problems. After the use, synthetic polymers take a long time to break down into basic components. That is why their disposal has had a negative impact on environmental pollution and climate change. In order to reduce the amount of synthetic plastic waste that is sent to landfills every day, as well as the dependence on petroleum products, there has been an increasing interest in the production of biodegradable and renewable materials over the past few years. Biodegradable materials are associated with the use of renewable raw materials.

Low density polyethylene (LDPE) is one of the most commonly used synthetic polymer in the production of foils and other packaging materials. Rice husk (RH) is an inexpensive by-product of rice processing. It is separated from rice grain during the milling process. Biodegradable composites made from an LDPE polymeric matrix and reinforced with rice husks have the potential to completely replace synthetic packaging products. To ensure the quality and safety of the product, an antimicrobial agent should be added to these composites in order to inhibit the growth of bacteria and therefore preserve the product.

The aim of this thesis was to determine whether TiO₂, as an antimicrobial agent, has antibacterial properties. The tests included its reaction to *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus subtilis*. Two types of experiments were carried out. The first one served to examine how different mass fractions of TiO₂ (2, 3 and 5 wt %), in liquid and solid states, affect the inhibition of bacteria; as well as the effect of TiO₂ added into the composite of LDPE and RH. TiO₂ in liquid state showed no antibacterial properties, while in solid state it inhibited the growth of the investigated bacteria. According to the results, with the addition of higher content of TiO₂ (0.5 %, 1.0 %, 1.5 % and 2.0 wt %) into LDPE/ RH 60/40 bio-composites, the number of bacterial culture cells decreases. In conclusion, TiO₂ inhibits the growth of bacterial cultures of *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus subtilis*.

Key words: Low density polyethylene (LDPE), rice husks (RH), biocomposites, antimicrobial agents, titanium dioxide (TiO₂)

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. OPĆI DIO	2
2.1. Pakiranje prehrambenih proizvoda.....	2
2.2. Kompoziti.....	3
2.2.1. Svojstva kompozita.....	4
2.3. Biokompoziti.....	5
2.3.1. Rižine ljuskice (RLJ).....	6
2.3.2. Polietilen niske gustoće (LDPE).....	8
2.4. Biorazgradnja	9
2.4.1. Biorazgradnja polietilena niske gustoće	10
2.4.1.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12
2.4.1.2. <i>Bacillus</i> sp.....	12
2.4.1.3. <i>Escherichia coli</i>	13
2.5. Antimikrobni agensi.....	14
2.5.1. Titanov dioksid (TiO ₂).....	14
2.5.1.1. Dobivanje TiO ₂	15
2.5.1.2. Sinteza i morfologija TiO ₂	15
2.5.1.3. Antibakterijska svojstva TiO ₂	16
3. EKSPERIMENTALNI DIO	17
3.1. Materijali	17
3.1.1. Polietilen niske gustoće (LDPE).....	17
3.1.2. Rižine ljuskice (RLJ).....	17
3.1.3. Titanov dioksid (TiO ₂).....	18
3.1.4. Bakterijske kulture.....	18
3.1.5. Priprema hranjive podloge.....	18
3.2. Instrumenti i aparatura	18

3.3. Postupci provedenih ispitivanja	20
3.3.1. Priprema radnih otopina TiO ₂	20
3.3.2. Priprava suspenzija bakterija	21
3.3.3. Ispitivanje antibakterijskih svojstva TiO ₂	21
3.3.3.1. Određivanje prijenosa antimikrobnih sastojaka prema Normi EN ISO 846:1997	21
3.3.3.2. Određivanje prijenosa antimikrobnih sastojaka prema Normi ISO 22196.....	22
3.3.4. Priprema LDPE/RLJ filmova	23
3.3.5. Ispitivanje antibakterijskih svojstva LDPE/RLJ filmova	23
4. REZULTATI I RASPRAVA	25
4.1. Ispitivanje antibakterijskih svojstava TiO ₂	25
4.1.1. Određivanje prijenosa antimikrobnih sastojaka prema Normi EN ISO 846:1997 .	25
4.1.2. Određivanje prijenosa antimikrobnih sastojaka prema Normi ISO 22196.....	29
4.2. Ispitivanje antibakterijskih svojstva TiO ₂ u LDPE/RLJ filmovima.....	30
5. ZAKLJUČCI.....	33
6. LITERATURA.....	34
ŽIVOTOPIS	38

1. UVOD

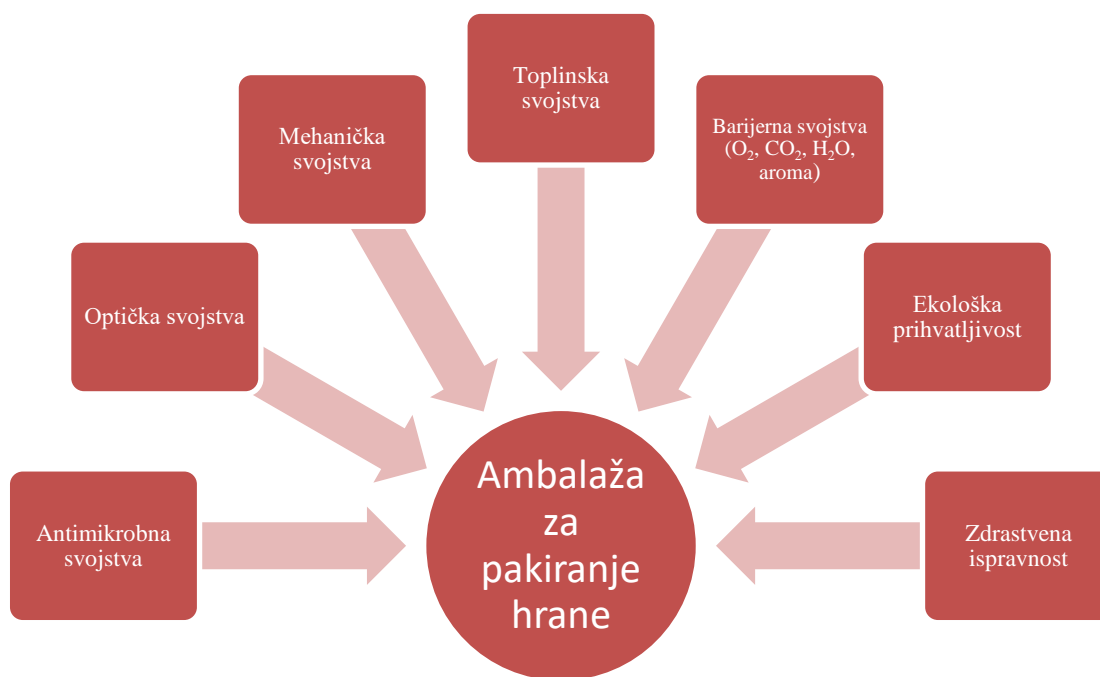
U posljednje vrijeme provode se istraživanja vezana za nove materijale koji imaju dobru kvalitetu te prihvatljivu cijenu. Uz rastuću svijest o zaštiti okoliša cilj je pronaći materijale prihvatljive za okoliš, a pojmovi poput „obnovljiv“, „reciklirajući“ te „održivi“ postali su glavni kriteriji u odabiru materijala. Zbog toga su kompozitni materijali, pripremljeni dodatkom prirodnih ojačavala i polimera postali najtraženiji materijali. Razvoj takvih materijala nije bio samo veliki motivirajući faktor za znanstvenike nego i važan uvjet za poboljšanje životnog standarda ljudi širom svijeta. Budući da se mnogi obnovljivi materijali temelje na poljoprivrednim proizvodima kao sirovini, to bi moglo pomoći gospodarskom razvoju ruralnih područja u zemljama u razvoju. Prvotno su se prirodna vlakna koristila u kompozitnim materijalima u cilju smanjenja njihove cijene, a ne zbog poboljšanja mehaničkih svojstava. Međutim, problemi onečišćenja okoliša povezani s proizvodnjom i upotrebom sintetskih materijala kao što su oslobađanje stakleničkih plinova te neobnovljivost, potaknuli su razvoj polimernih kompozita ojačanih prirodnim vlaknima koji mogu zamijeniti skupe sintetske materijale. Prirodna vlakna kao ojačavala u polimernim kompozitima, imaju mnoge prednosti u odnosu na sintetska vlakna kao što su niža cijena prerade, niska gustoća, otpornost na koroziju, visoka otpornost na puzanje i visoka čvrstoća, te su obnovljiva i imaju svojstva biorazgradljivog materijala.

Danas, kada smo okruženi sa stresom i nekvalitetnim načinom života vrlo je bitna kvaliteta i sigurnost hrane koju konzumiramo te očuvanje okoliša. Iz tog razloga sve se više istražuju filmovi biorazgradljivih kompozita kao na primjer, polietilena niske gustoće i rižinih ljuskica. Pakiranja za prehrambene proizvode na bazi biorazgradljivih polimera u kombinaciji s prirodnim antimikrobnim i/ili antioksidativnim spojevima predstavljaju važne materijale za blisku budućnost. Stoga su znanstvena istraživanja usmjerena na razvoj biorazgradljivih filmova kao ambalaže za održanje kvalitete hrane uz minimalan rast nepoželjnih mikroorganizama na površini hrane. U cilju sprječavanja kvarljivosti zapakiranih proizvoda u ambalažne materijale za pakiranje dodaju se aktivni spojevi, kao što su antioksidansi i antimikrobni agensi. Jedan od mogućih antimikrobnih agenasa je titanov dioksid koji u određenim količinama inhibira rast bakterija i time utječe na sigurnost i kvalitetu proizvoda.

2. OPĆI DIO

2.1. Pakiranje prehrambenih proizvoda

U današnje vrijeme, velika je potražnja za ambalažnim materijalima koji pružaju posebnu zaštitu upakiranom sadržaju, posebice u prehrambenoj industriji te pri odabiru ambalažnih materijala za pića. Farmaceutska industrija ne zaostaje puno za prehrambenom, ona svakodnevno pokušava poboljšati pakiranja kako bi sačuvala svojstva proizvoda, a njegovo pakiranje bilo ekološki što prihvatljivije. Sve se više u pitanje dovodi sposobnost plastičnih materijala koji se koriste kao ambalaža da spriječe difuziju para i plinova u proizvod, koji su odgovorni za kratki rok trajanja hrane.¹ Ambalažni materijali moraju štiti proizvod tj. osigurati da njegova kvaliteta ne opada, ali moraju biti i ugodni oku te sadržavati sve potrebne informacije o proizvodu. Na ambalažne materijale utječu vlaga, prisutnost mikroorganizama, razni plinovi, pare te sunce i mnogi drugi vanjski uvjeti koje je potrebno uzeti u obzir pri odabiru materijala (slika 2.1.).¹



Slika 2.1. Osnovna svojstva ambalažnih materijala.

U proteklom desetljeću, zahvaljujući raznim istraživanjima, materijali za pakiranje prehrambenih proizvoda postigli su značajni napredak zbog poboljšanja njihovih optičkih, mehaničkih, toplinskih i barijernih svojstava.¹

Napretku su pridonijela i otkrića u nanotehnologiji koja su ponudila novu generaciju inteligentnih sustava pakiranja, posebno namijenjenih hrani, koji mogu osjetiti, odrediti i snimiti promjene u kvaliteti proizvoda uzrokovane samim ambalažnim materijalom ili okolinom.

Većina ambalažnih materijala je bazirana na petrokemijskoj plastici kao što su poliolefini, poliesteri i poliamidi zbog njihovih pogodnih barijernih svojstava ali njihova velika mana je što nisu biorazgradivi što uzrokuje veliki ekološki problem.¹ Trenutni zahtjevi potrošača za što prirodnijom, kvalitetnijom i sigurnijom hranom širom svijeta promijenili su globalno tržište. Potrebni su ambalažni materijali koji ne povećavaju onečišćenje, nastali prirodnim putem i relativno niske cijene. Zbog toga je sve više istraživanja usmjereno na razvoj održivih i biorazgradljivih ambalažnih materijala koji održavaju kvalitetu hrane, osvježavaju je i brinu za njenu sigurnost.²

Kao zamjenu za tradicionalne (petrokemijske) ambalažne materijale počeli su se razvijati biopolimeri zbog mogućnosti dobivanja biorazgradljivih filmova koji se mogu koristiti za pakiranje hrane.² Najveću pažnju privukli su kompoziti ili višekomponentni filmovi koji poboljšavaju svojstva ambalažnih materijala smanjujući neželjena svojstva svake komponente.²

2.2. Kompoziti

Kompozitni materijali primjenjivali su se još u drevnim civilizacijama u obliku cigle (napravljene od blata) pojačane slamom. Kompozitnim materijalom smatra se i beton, danas jedan od najkorištenijih građevinskih materijala. Osim sintetskih kompozita postoje i prirodni kompoziti od kojih su najpoznatiji primjeri kosti, školjke i drvo.³ Prema tome, kompoziti se mogu definirati kao kombinacija dvaju ili više materijala koji su kemijski vezani te imaju jasno izraženu granicu faza.^{4,5}

Cilj proizvodnje kompozitnih materijala je dobivanje materijala sa svojstava kakva ne posjeduje niti jedna dodana komponenta sama za sebe ili poboljšanje postojećih svojstava dodanih komponenata. Kompozitni materijali sastoje se od dvije faze, kontinuirane faze ili matrice i diskontinuirane faze ili punila/ojačavala. Najvažnija prednost kompozita u odnosu na druge postojeće materijale (metal, plastika) su njihova fizikalna svojstva velika čvrstoća i krutost te niska gustoća.

U posljednjih četrdeset godina došlo je do brzog povećanja proizvodnje sintetskih kompozita. Predviđa se da potražnja za sintetskim polimerima neće jenjavati, upravo suprotno, potražnja za sintetskim polimerima kontinuirano će se povećavati.

Iz tog razloga potrebno pronaći način kako smanjiti udio sintetskog materijala u kompozitu, a povećati udio komponenata dobivenih iz prirode, zadržavajući pritom kvalitetu kompozita.³

2.2.1. Svojstva kompozita

Kompozit je mješavina dvaju ili više različitih komponenata (faza), međutim materijal mora zadovoljavati još dva kriterija kako bi se mogao smatrati kompozitom. Prvi kriterij je da oba sastojka moraju biti prisutna u količini većoj od 5 %, dok je drugi da svojstva kompozita moraju biti različita od početnih svojstava komponenata.³

Svojstva kompozita ovise o svojstvima komponenata (materijala) koji ga čine, odnosno o svojstvima matrice i punila/ojačala. Svojstva ovise i o veličini i raspodijeli čestica, volumnom udjelu, obliku komponenata te prirodi i jakosti veza između matrice i punila. Kompoziti imaju dvije (ili više) kemijski odvojene faze na mikroskopskoj razini. Komponenta koja je kontinuirana i često, ali ne uvijek, prisutna u većoj količini u kompozitu naziva se matrica.³ Svojstva matrice poboljšavaju se dodavanjem punila ili ojačala. Matrica okružuje punilo, drži ga zajedno i štiti od vanjskih utjecaja, prenosi opterećenja na punilo, daje vanjski oblik kompozitu, određuje njegovo ponašanje pod djelovanjem vanjskih utjecaja, npr. utjecaj atmosfere.⁶ Matrica posjeduje većinu željenih fizičkih, kemijskih i procesnih svojstava dok ojačalo poboljšava važnija svojstva poput vlačne čvrstoće, otpornosti prema puzanju ili pucanju. Punilo doprinosi povećanju čvrstoće, krutosti i otpornosti na trošenje.⁶ Punila se također mogu koristiti i u svrhu povećanja ekonomičnosti matrice (miješanjem s materijalom koji će poboljšati izgled ili smanjiti cijenu, održavajući ostala dobra svojstva matrice).⁶ Temeljna podjela kompozita je podjela prema vrsti materijala matrice na: polimerne (PMC, polymer matrix composite), metalne (MMC, metal matrix composite) ili keramičke (CMC, ceramic matrix composite), te prema obliku punila na: čestice, vlakna i laminate.⁷

Zbog ekonomskih i ekoloških čimbenika u novije se doba intenzivno radi na razvoju eko-kompozita iz recikliranih termoplasta i biokompozita, materijali koji pokazuju znatne prednosti s gledišta zaštite okoliša nad konvencionalnim kompozitima.

Biokompoziti se dobivaju kombinacijom prirodnih vlakana i sintetskih nerazgradljivih polimera, umjetnih vlakana i biopolimera (biorazgradljivi i nerazgradljivi), te kombinacijom prirodnih vlakana i biopolimera. U svrhu rješavanja problema zbrinjavanja otpada u sve većem obujmu koriste se i razvijaju biorazgradljivi polimerni materijali i biorazgradljivi polimeri.

Organska su punila počela privlačiti pozornost kao nova i prihvatljivija rješenja u termoplastici.

Njihova prednost u usporedbi s anorganskim punilima je njihova niska gustoća, niska abrazija, dostupnost iz obnovljivih izvora, niske cijene te mogućnost ekološki prihvatljivog odlaganja. Posebni interes bude celulozni materijali kao što su kora drveta, lanena vlakna te sama celuloza.

Nedostatci organskih punila na bazi celuloze, u usporedbi s anorganskim, su potreba za postupcima površinske obrade hidrofilnih punila kako bi se poboljšalo njihovo prianjanje na hidrofobne termoplastične matrice te raspadanje organskih punila pri visokim temperaturama.⁸

2.3. Biokompoziti

U današnje vrijeme, zbog velike potrošnje i rastuće cijene plastičnih materijala na bazi nafte koji negativno utječu na okoliš, sve je veća potražnja za ekološki prihvatljivim materijalima. Kompoziti nastaju kombinacijom dva ili više materijala koji svojim miješanjem poboljšavaju svojstva originalnih komponenata. Kada je jedan ili više upotrijebljenih materijala pri pripremi kompozita biološkog podrijetla, oni se definiraju kao biokompoziti.⁹ Novim materijalima želi se postići promjena od neobnovljivih, teško razgradljivih ili ne razgradljivih u obnovljive, lako razgradljive materijale.⁹ Iako su se biokompoziti koristili još u antička vremena⁹ njih su početkom 20-og stoljeća zamijenili sintetski polimeri koji su bili bazirani na sirovinama od jeftinog petroleja. Međutim, od 1990-ih ponovno raste potražnja za prirodnim kompozitima. Razlozi za to uključuju: rastući interes za smanjenje sintetskih materijala (polimera ili kompozita) zbog povećane svijesti o ekološkoj prihvatljivosti, smanjenje ovisnosti o naftnim proizvodima te potpuno iskorištavanje obnovljivih materijala. Ti su čimbenici uvelike povećali razvoj novih materijala kao što su biokompoziti. Sintetski polimerni kompoziti su dobro poznati u cijelom svijetu zbog njihove široke primjene, velike čvrstoće i krutosti te velike izdržljivosti u usporedbi s konvencionalnim materijalima kao što su metali i njihove legure. Međutim, korištenjem velike količine sintetskih kompozita (s polimernom matricom) u različitim područjima primjene, osim problema njihove velike cijene, doveli su i do problema odlaganja istih.⁹

Europska unija već je donijela zakon o smanjenju takvih onečišćivača okoliša te je time potaknula potražnju za prirodnim, biorazgradljivim materijalima.⁹ Kompozitnim materijalima izrađenim od biljnih vlakana trenutno se pridaje puno pažnje jer se smatraju ekološki prihvatljivim materijalima.

Općenito, biorazgradljivi kompoziti definiraju se kao kompozitni materijali, koji kao punilo sadrže prirodnu lignocelulozu ili različita vlakna (kao što su drvena vlakna i/ili brašno, kenaf vlakna, konoplja, sisal, rižine ljuskice) i termoplastični materijali PE, PP, PVC i PS).¹⁰

Trenutno postoji interes u cijelom svijetu za proizvodnju kompozitnih materijala iz industrijskih i poljoprivrednih sirovina zbog povećane potražnje za ekološki prihvatljivim materijalima.¹⁰ Neki od prihvatljivih materijala i način na koji bi se mogli upotrebljavati nalazi se u tablici 2.1. Postoje različiti izvori u svijetu koji mogu biti korisni za proizvodnju biorazgradljivih kompozita. Prirodno vlakno/PP kompoziti su korišteni u automobilske industriji te su nedavno istraživani za upotrebu u građevini.¹⁰

U posljednjih nekoliko godina, uporaba lignoceluloznih materijala u osnovi je značila uporabu vlakna dobivenih iz poljoprivrednih izvora kao što su juta, šećerna trska, kukuruz i riža. Primjena poljoprivrednih vlakana ima neke nedostatke kao što je razgradnja na relativno niskim temperaturama zbog prisustva celuloze i hemiceluloze. Ova rana toplinska razgradnja ograničava temperaturu prerade na temperature manje od 200 °C (temperature manje od temperature razgradnje lignoceluloznog punila) i ograničava vrstu termoplasta koji se mogu koristiti s prirodnim vlaknima na PE, PP, PVC i PS.¹⁰

Tablica 2.1. Vrste biootpada i njihova primjena u industriji.⁹

OTPAD	INDUSTRIJA	GODIŠNJA PROIZVODNJA^a / mt	KORIŠTENJE
Šećerna trska	Proizvodnja šećera	5,0	Izolacijske ploče
Kukuruzni klipovi i stabljike	Farme	14,0	Građevinske ploče
Kokosove ljuske i nusprodukti	Proizvodnja kokosa	3,0	Krovovi, kompoziti i cigle
Štapići i kora jute	Proizvodnja jute	5,0	Krovovi i kompoziti
Rižine ljuskice	Proizvodnja riže	25,0	Razne ploče, ambalaža za hranu, cement
Ljuske kikirikija	Frame, proizvodnja ulja od kikirikija	2,5	Kompoziti/izolacijske ploče
Pšenična i rižina vlakna	Farme	90,0 i 33,0	Kompoziti/ploče

2.3.1. Rižine ljuskice (RLJ)

Riža je primarni izvor hrane za milijarde ljudi i jedan od glavnih usjeva na svijetu. Prekriva oko 1 % površine zemlje. Statistike pokazuju da je u razdoblju od 2010. do 2013. prosječna godišnja globalna proizvodnja riže iznosila 725 milijuna tona, a Azija sama proizvodi više od 90 % ukupne svjetske riže.

^a Proizvodnja u 2000. godini

Rižine ljuskice (RLJ) (slika 2.2.) su jeftini nusprodukt prerade riže, a od zrna riže odvaja se tijekom postupka mljevenja riže, otporne su na razgradnju u tlu te teško probavljive i niske prehrambene vrijednosti za životinje.¹¹



Slika 2.2. Izgled rižinog zrna.¹²

Zabilježeno je da se za svaku tonu proizvedene riže stvara oko 0,23 tona RLJ. Mljevenje riže je jedna od najvažnijih industrija u zemljama poput Kine, Indije, Indonezije, Malezije i Bangladeša.¹³ Spaljivanje RLJ nije poželjno jer dolazi do stvaranja pepela, para te otrovnih plinova, što dovodi do ozbiljnog onečišćenja zraka.

Glavne komponente rižine ljuske su celuloza (25 do 35 %), hemiceluloza (18 do 21 %), lignin (26 do 31 %), silicijev dioksid (15 do 17 %), otapala (2 do 5 %) i sadržaj vlage od 5-10 % (tablica 2.2.).^{11, 13} Sadržaj lignina i hemiceluloze kod rižinih ljuskica niži je nego kod drveta, ali je sadržaj celuloze sličan. To omogućuje obradu rižinih ljuskica na višim temperaturama od drveta. Zbog toga upotreba rižinih ljuskica u proizvodnji polimernog kompozita privlači mnogo pozornosti. Silicijev dioksid (SiO_2), jedan od sastavnih komponenata RLJ, poboljšava mehanička svojstva kompozita.¹³

Prednosti upotrebe rižinih ljuskica u industriji su njihova visoka dostupnost, niska gustoća (90-150 kg m^{-3}), otpornost na abraziju, biorazgradljivost, niska cijena, otpornost na vremenske utjecaje i jedinstven sastav (tablica 2.2.).^{11, 13}

Tablica 2.2. Fizikalno-kemijska svojstva RLJ.¹¹

Veličina čestica / μm	26,64
Veličina površine / $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$	0,92
Gustoća / g cm^{-3}	1,00
Celuloza / %	25-35
Hemiceluloza / %	18-21
Lignin / %	26-31
SiO_2 / %	15-17
Otapalo / %	2-5
Vlaga / %	5-10

Glavno ograničenje uporabe rižinih ljuskica kao ojačavala je poteškoća dispergiranja čestica u polimernoj matrici uslijed slabe međufazne adhezije između polarnih hidrofilnih čestica rižinih ljuskica i nepolarnih hidrofobnih plastičnih polimernih lanaca. Također, prilikom korištenja velike količine rižinih ljuskica u terpolastu dolazi do stvaranja neželjenih aglomerata punila kao rezultat nedovoljne disperzije.

Mogu se dobiti kompoziti RLJ i polimera kao što su polietilen niske gustoće (LDPE), polietilen visoke gustoće (HDPE), polilaktidna kiselina (PLA), polipropilen (PP) i polivinil klorid (PVC). Dodatkom RLJ dobiveni kompoziti pokazuju poboljšana mehanička, toplinska, kemijska, fizikalna i druga svojstva. Međutim, pokazalo se da RLJ imaju različite stupnjeve ojačanja u različitim polimernim matricama.¹¹

2.3.2. Polietilen niske gustoće (LDPE)

Razvoj kemijskog procesa za proizvodnju sintetskih polimera (plastičnih) iz sirove nafte bio je početak proizvodnje jedne od najvećih skupina materijala. Polietilen niske gustoće (LDPE) primarno je pripremljen visokotlačnom polimerizacijom etilena. Kemijski LDPE nije reaktivan pri sobnoj temperaturi, iako na njega sporo utječu jaki oksidacijski agensi, a neka otapala uzrokuju omekšavanje. U kratkom vremenskom periodu može se koristiti na temperaturama do 95 °C ili do 80 °C, kontinuirano. Polietilen niske gustoće je semikristaličan polimer, sa stupnjem kristaliničnosti u rasponu od 50-60 %, što doprinosi svojstvima kao što su neprozirnost, vlačna čvrstoća, krutost, otpornost na kemikalije i fleksibilnost čak i pri niskoj temperaturi.

Najčešći tipovi LDPE su: linearni polietilen niske gustoće (LLDPE) i razgranati polietilen niske gustoće (BLDPE). Oni se razlikuju po svojoj gustoći, stupnju razgranatosti i reaktivnosti funkcionalnih skupina na površini. Zbog svojih svojstava najčešće se koristi polietilen niske gustoće (LDPE).

Budući da se uporaba plastičnih materijala postupno povećava, problem recikliranja tih materijala nakon korištenja postao je ključno pitanje zbog gospodarskih razloga i zaštite okoliša.¹⁴

Prekomjernom uporabom plastike, stavlja se sve veći pritisak na raspoložive kapacitete za odlaganje plastičnog otpada, a potreba za biorazgradljivom plastikom i biorazgradnjom plastičnog otpada u posljednjih je nekoliko godina stekla značajnu važnost. Prema nedavnoj procjeni Središnjeg odbora za kontrolu onečišćenja, New Delhi, Indija, svake se godine potroši 8 milijuna tona plastičnih proizvoda samo u Indiji.¹⁴ Studija o proizvodnji plastičnog otpada u 60 velikih indijskih gradova otkrila je da se u zemlji proizvodi oko 15 340 tona dnevnog plastičnog otpada.¹⁴

Transparentnost tankih folija, bez mirisa i toksičnosti, niska propusnost vodene pare i topline također su osobitosti LDPE. Koristi se za pakiranje prehrambenih proizvoda, izradu pladnja i plastičnih vrećica za hranu te za druge proizvode.¹⁴

2.4. Biorazgradnja

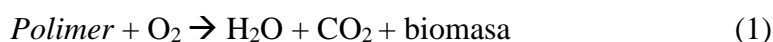
Polimerni materijali su tijekom svog životnog vijeka u stalnoj interakciji s okolišem i njegovim utjecajima te se pri tome postupno razgrađuju ili degradiraju. Razgradnjom ili degradacijom polimera smatra se slabljenje njegovih uporabnih svojstava (otvrdnjavanje, povećanje krhkosti, promjena boje, narušavanje mehaničkih svojstva itd.) kao posljedica promjena u molekulskoj i nadmolekulskoj strukturi izazvane kemijskim i/ili fizičkim utjecajima. Do razgradnje polimernih materijala dolazi već i prilikom same proizvodnje, prerade i uporabe materijala. Sklonost razgradnji, kao i brzina razgradnje, ovisi o specifičnosti svakog polimera i okolini u kojoj se oni koriste.

S obzirom na način razgradnje ona se može podijeliti na toplinsku, oksidacijsku, fotokemijsku, ionizacijsku, kemijsku, mehaničku, starenje i biorazgradnju. Kako uzroci razgradnje, poput mehaničkog naprezanja, izloženost materijala svjetlosti, kisiku, vlazi, mogu djelovati istodobno ili slijedno ovisno o okolini materijala tako se i vrste razgradnje mogu zbivati istovremeno ili uzastopno.⁷ Biološka razgradnja ili biorazgradnja je proces u kojem se razgradnja organskih tvari odvija pod enzimskim djelovanjem^b mikroorganizama poput gljiva (kvasci i plijesni), bakterija i algi. Tijekom razgradnje polimernih materijala prvo dolazi do procesa fragmentacije, prilikom čega se materijal mehanički raspada pod utjecajem živih i neživih čimbenika.

^b Enzim je protein koji katalizira kemijske reakcije u živom organizmu.¹⁵

Stupanj fragmentacija odvija se u svim vrstama razgradnje. Biorazgradnja je specifična po svom drugom procesu, tj. mineralizaciji materijala.

Procesom mineralizacije biorazgradljivi polimeri se razlažu na konačne produkte. Tijekom aerobne razgradnje pretvaraju se u vodu, ugljični dioksid i biomasu (1), a anaerobnom razgradnjom u metan, vodik i biomasu (2).



Brzina biorazgradnje ovisi o temperaturi, prisutnosti kisika i vlage, vrsti mikroorganizma aktivnih pod tim utjecajima, te o samim svojstvima polimernog materijala kao što su struktura, morfologija, kristalnost, topljivost te molekulska masa.

Djelovanje enzima ovisi o mogućnosti prodiranja enzima u strukturu polimera i iniciranja biokemijske reakcije s lako reaktivnim skupinama u molekuli polimera. Biorazgradljivim polimerom smatraju se polimeri koji se pod utjecajem mikroorganizama razgrade za 60 do 90 % tijekom 60 do 180 dana.⁷

2.4.1. Biorazgradnja polietilena niske gustoće

Biorazgradljivi plastični materijali razvijeni kako bi se riješili problemi otpada koji se odnose na poljoprivredne filmove ili prikupljanje i odvajanje otpada. Čvrsti dokazi o biorazgradnji dostupni su putem certificiranja od strane akreditiranih laboratorija i instituta za biorazgradljivu plastiku. Jedna od glavnih strategija za olakšavanje otapanja i naknadne razgradnja je izravnom razgradnjom LDPE mikroorganizmima, koristeći samo polimer kao jedini izvor ugljika. Važno je istaknuti da se LDPE često miješa s aditivima kao što su oksidansi ili škrob kako bi se poboljšala njegova biorazgradljivost. Prisutnost tih aditiva može povećati učinkovitost biorazgradnje različitim mikroorganizmima.¹⁴

Broj mikroorganizama koji mogu razgraditi LDPE do sada je ograničeno na 19 bakterija i 12 gljiva (tablica 2.3.). Nedavno je objavljeno nekoliko mikroorganizama koje razgrađuju plastične materijale.

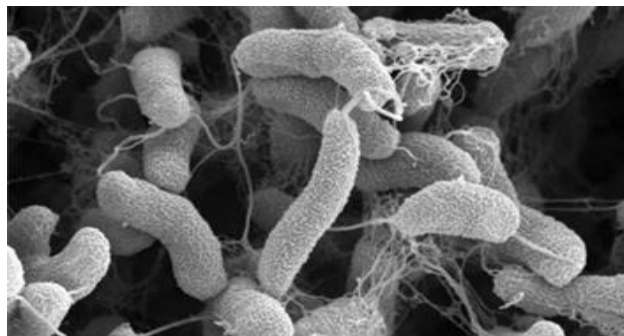
Tablica 2.3. Mikroorganizmi koji mogu razgraditi polietilen.

Bakterije	<i>Pseudomonas</i>	sp. ¹⁶ <i>aeruginosa</i> ¹⁷ <i>fluorescens</i> ¹⁸	
	<i>Paenibacillus</i>	<i>macerans</i> ¹⁸	
	<i>Rahnella</i>	<i>aquatilis</i> ¹⁸	
	<i>Ralstonia</i>	sp. ¹⁹	
	<i>Rhodococcus</i>	<i>erythropolis</i> ¹⁹ <i>rhodochrous</i> ²⁰ <i>ruber</i> ²⁴	
	<i>Staphylococcus</i>	<i>cohnii</i> ¹⁸ <i>epidermidis</i> ²⁵ <i>xylosus</i> ¹⁸	
	<i>Stenotrophomonas</i>	sp. ¹⁹	
	<i>Streptomyces</i>	<i>badius</i> ²⁶ <i>setonii</i> ²⁶ <i>viridosporus</i> ²⁶	
	<i>Bacillus</i>	<i>amyloliquefaciens</i> ¹⁸ <i>brevis</i> ²⁷ <i>cereus</i> ¹⁸ <i>circulans</i> ²⁷ <i>halodenitrificans</i> ²⁸ <i>mycoides</i> ¹⁸ <i>pumilus</i> ¹⁸ <i>sphericus</i> ²⁹ <i>thuringiensis</i> ¹⁸	
	<i>Brevibacillus</i>	<i>borstelensis</i> ³⁰	
	<i>Delftia</i>	<i>acidovorans</i> ¹⁹	
	<i>Flavobacterium</i>	sp. ¹⁹	
	<i>Micrococcus</i>	<i>luteous</i> ¹⁸ <i>lylae</i> ¹⁸	
	<i>Microbacterium</i>	<i>paraoxydans</i> ¹⁷	
	<i>Nocardia</i>	<i>asteroides</i> ³¹	
	<i>Acinetobacter</i>	<i>baumannii</i> ¹⁸	
	<i>Arthrobacter</i>	sp. ³² <i>paraffineus</i> ³³ <i>viscosus</i> ¹⁸	
	Gljive	<i>Aspergillus</i>	<i>niger</i> ²¹ <i>versicolor</i> ³⁴ <i>flavus</i> ²²
		<i>Cladosporium</i>	<i>cladosporiodes</i> ³¹
		<i>Chaetomium</i>	sp. ³⁵
<i>Fusarium</i>		<i>redolens</i> ³⁶	
<i>Glioclodium</i>		<i>virens</i> ²¹	
<i>Mucor</i>		<i>circinelloides</i> ²²	
<i>Penicillium</i>		<i>simplicissimum</i> ²³ <i>pinophilum</i> ³⁶ <i>frequentans</i> ³⁷	
<i>Phanerochaete</i>		<i>chrysosporium</i> ³⁶	
<i>Verticillium</i>		<i>lecanii</i> ³⁸	

Mikroorganizmi, odnosno bakterije koje imaju sposobnost biorazgradnje polietilenskih vrećica su: *Pseudomonas* sp.¹⁶, *Pseudomonas aeruginosa*¹⁷, *Pseudomonas fluorescens*¹⁸, *Stenotrophomonas* sp.¹⁹, *Rhodococcus rhodochrous*²⁰ i mnoge druge, te gljive: *Aspergillus niger*²¹, *Aspergillus flavus*²², *Penicillium simplicissimum*²³ i druge.¹⁴

2.4.1.1. *Pseudomonas aeruginosa*

Pripadnici roda *Pseudomonadaceae* bakterije su široko rasprostranjene u tlu, vodi, biljkama i životinjama. Zahtijevaju vlažno okruženje. Rod *Pseudomonas* obuhvaća gram-negativne^c, nefermentativne, pokretne, aerobne štapiće, od kojih neki stvaraju vodotopljive pigmente.³⁹ Većina sojeva proizvodi jedan ili više pigmenata, uključujući piocijanin (plavo-zeleni), pioverdin (žuto-zeleni i fluorescentni) i piorubin (smeđe-crveni).^{40,41} Rastu na temperaturi od 25 °C do 37 °C te su široko rasprostranjeni mikroorganizmi koji imaju mogućnost preživljavanja u različitim uvjetima.^{40,41} *Pseudomonas aeruginosa* (slika 2.3.) je najznačajnija vrsta roda *Pseudomonas*. Ona ima sposobnost naglog rasta, te posjeduje brojne čimbenike virulencije i toksičnosti. *Pseudomonas aeruginosa* najčešće uzrokuje infekcije kod osoba s oslabljenim imunološkim sustavom i infekcije respiratornog sustava, kože, oka i mokraćnog sustava.¹⁵ *Pseudomonas aeruginosa* je u mogućnosti razgraditi 50,5 % polietilena niske gustoće u vremenskom periodu od 2 mjeseca.⁴²



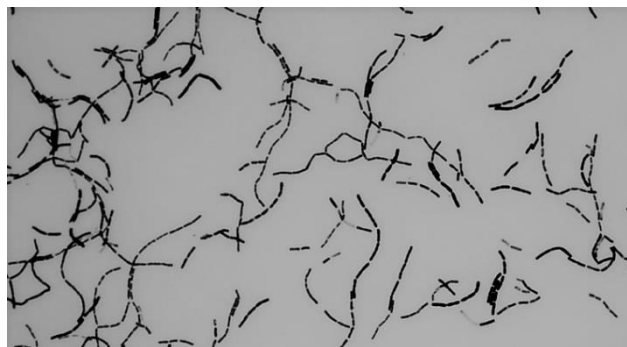
Slika 2.3. *Pseudomonas aeruginosa* pod elektronskim mikroskopom.⁴³

2.4.1.2. *Bacillus* sp.

U rodu *Bacillus* (slika 2.4.) obuhvaćen je veći broj gram pozitivnih, sporogenih, aerobnih štapića. Bakterije ovog roda često onečišćuju operacijske dvorane, bakteriološke uzorke, hranu i farmaceutske proizvode.

^c Bakterije koje imaju staničnu stjenku koja sadrži tanak sloj peptidoglikana, lipoproteine, lipopolisaharide, fosfolipide i proteine.¹⁵

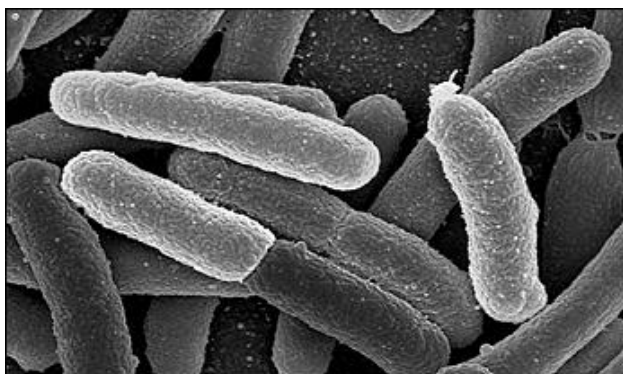
U rod *Bacillus* uvršteno je više od 40 aerobnih i fakultativno anaerobnih, katalaza pozitivnih vrsti. Većina je vrsti vezana za čovjeka nepatogena ili slabo patogena. Zbog težine infekcije koju uzrokuje najznačajniji je pripadnik roda *B. anthracis*, ali su danas najčešće infekcije uzrokovane *B. cereusom*. Zbog spora bakterije roda *Bacillus* veoma su otporne na djelovanje vanjskih činitelja te su izuzetno proširene u slobodnoj prirodi (zemlja, prašina, voda); često se nalaze na biljkama i životinjama. Lako kontaminiraju operacijske dvorane, farmaceutske proizvode i namirnice, kao i bakteriološke uzorke.³⁹ *Bacillus cereus* je u mogućnosti razgraditi 25 % kompozita LDPE i škroba u vremenskom periodu od 12 mjeseci te pri temperaturi 30 °C i pH vrijednosti 7,5.⁴⁴



Slika 2.4. *Bacillus* sp. pod elektronskim mikroskopom.⁴⁵

2.4.1.3. *Escherichia coli*

Escherichia coli (slika 2.5.) je gram-negativni, asporogeni, aerobni i fakultativno anaerobni štapić. Lako se kultivira na uobičajenim hranjivim podlogama. Ugljikohidrate fermentira uz proizvodnju plina. Većina sojeva brzo fermentira laktozu te proizvodi indol. *E. coli* prvi je izolirao Escherich 1885. godine te ju je nazvao *Bacterium coli commune*. Ona je široko rasprostranjena kao crijevni parazit sisavaca i ptica, ali ne živi samostalno u prirodi. Dobro raste na običnim hranjivim podlogama. Nakon inkubacije od 18 sati pri 37 °C na hranjivom agaru stvara velike, okrugle, lagano konveksne, glatke kolonije. Iako je obligatni parazit, *E. coli* može dugo preživjeti u vodi, zemlji, na različitim predmetima. Njena optimalna temperatura rasta je 35-37 °C, no podnosi i temperature ispod 0 °C, a 60 °C je ubija nakon 15 minuta.³⁹



Slika 2.5. *Escherichia coli* pod elektronskim mikroskopom.⁴⁶

2.5. Antimikrobni agensi

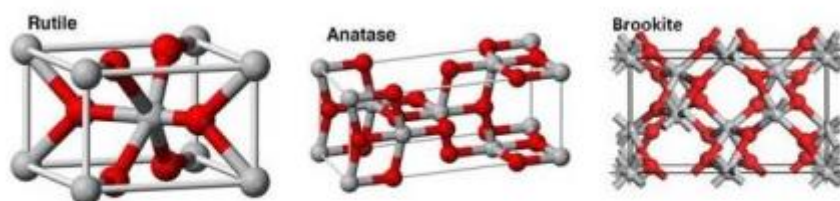
Antimikrobni agensi mogu biti različite molekule koje sprečavaju razmnožavanje i rast mikroorganizama kao što su bakterije, alge te gljive, ili ih potpuno uništavaju. Oni mogu biti sintetski, semisintetski ili prirodni. Točan mehanizam djelovanja nekih antimikrobnih agenasa je nepoznat, ali oni moraju u jednom trenutku biti u interakciji sa staničnom membranom kako bi imali učinak. Da li antimikrobni agensi djeluju štetno na određene proizvode teško je odrediti zbog složenosti stanične membrane. Proučavanje interakcija pomoću membranskih modela prvi je korak u dobivanju osnovnih informacija o učincima različitih agenasa.⁴⁷ Najkorišteniji antimikrobni agensi su metalni oksidi kao što su ZnO^{48} , CuO^{49} te TiO_2^{48} i Ag^{48} . Različiti nano materijali (kao što je TiO_2) postaju sve poznatiji zbog svoje sposobnosti da spriječe aktivaciju enzima u stanicama vezivanjem na elektron donorske skupine (kao što su amidi, indoli, hidroksidi, tioli itd.). Oni stvaraju pore u staničnim stijenkama bakterija što dovodi do povećane propusnosti te stanične smrti.⁵⁰

2.5.1. Titanov dioksid (TiO_2)

Titanij (IV) oksid je kemijski i biološki inertan, fotokatalitički stabilan materijal koji se relativno lako proizvodi i koristi. Učinkovito ubrzava reakcije, nije opasan po ljude ni okoliš, a cijenom je pristupačan. Zbog njegove dobre kompatibilnosti s ljudskim organizmom koristi se kao biomaterijal. Koristi se u katalitičkim reakcijama kao promotor, kao nosač metala i metalnih oksida, kao aditiv ili katalizator.⁵¹ Titanijev dioksid (TiO_2) pripada grupi oksida prijelaznih metala te ima tri kristalne strukture: anatas, rutil i brukit (Slika 2.6.). Početkom 20. stoljeća, započelo je korištenje titanovog dioksida (TiO_2) u industriji. Godišnja proizvodnja TiO_2 prelazi 4 milijuna tona, a koristi se kao bijeli pigment u bojama (51 % ukupne proizvodnje), plastici (19 %) i papiru (17 %).

Potrošnja TiO₂ kao pigmenta u posljednjih nekoliko godina porasla je u brojnim područjima kao što su tekstilno, prehrambeno (odobrena je uporaba TiO₂ u kontakt s hranom i kao aditiva za bojanje hrane) te farmaceutske (obloge za tabletiranje, zubne paste i kao UV apsorber u kremi za zaštitu od sunca).⁵²

Titanov dioksid poboljšava svojstva i/ili funkcionalnost materijala te ga se često koristi za dopiranje nekih elemenata, čime se na primjer mogu kontrolirati njegova poluvodička svojstva.⁵²



Slika 2.6. Tri kristalne strukture TiO₂.⁵²

2.5.1.1. Dobivanje TiO₂

TiO₂ može se dobiti ili sulfatnom ili klorovodičnom metodom. Na početku sulfatnog procesa, ilmenit (crni mineral koji se sastoji od željeza i TiO₂) prelazi u željezov i titanijev sulfat u reakciji sa sulfatnom kiselinom. Titanov hidroksid (TiOH) taloži se reakcijom hidrolize, filtrira te kalcira pri 900 °C. Za dobivanje rutila (crni ili crveno-smeđi mineral titanijevog dioksida) provodi se alkalna hidroliza titanijevog sulfata ili titanijevog tetraklorida uz dodavanje osnovnog kristala titanija. Ovom metodom dobiva se TiO₂ loše kvalitete te se zbog toga koristi klorovodična metoda.

Klorovodična metoda je dominantna metoda kod koje se koristi rutil, dobiven iz ilmenita koristeći Becher proces. Becher proces reducira željezni oksid ilmenita do metalnog željeza, a onda redoks reakcijom metalno željezo reducira do željezovog oksida izdvajajući TiO₂ kao sintetski rutil koji ima čistoću od 91-93 %.⁵¹

2.5.1.2. Sinteza i morfologija TiO₂

TiO₂ može se pripremiti u obliku praha, kristala ili tankih folija. Prah i film se može dobiti od kristalita veličine, svega, nekoliko nanometara do nekoliko mikrometara. Treba napomenuti da nanoionizirani kristaliti imaju tendenciju aglomerata. Dobiveni nanokristali su podložni aglomeraciji.⁵²

Jedna od najznačajnijih metoda sinteze tankih filmova je metoda s tekućom fazom. Za neke primjene, posebice sintezu tankog filma, obrada u tekućoj fazi je jedna od najprikladnijih metoda sinteze. Prednosti ove metode su stvaranje homogenih materijala, stvaranje složenih oblika i priprema kompozitnih materijala.⁵²

2.5.1.3. Antibakterijska svojstva TiO₂

Titanov dioksid (TiO₂) je fotokatalizator i ima veliko područje primjene, a zbog svoje netoksičnosti, foto-inducirane superhidrofobnosti i nekondenzacije ima veliku ulogu u pročišćavanju okoliša. Upravo ta svojstva se primjenjuju pri uklanjanju bakterija i štetnih organskih tvari iz vode i zraka, kao i na površinama materijala.⁵⁰ Inhibirajući učinak TiO₂ na bakterije iznimno je važan zbog sposobnosti patogenih bakterija da uđu u ekosustav hranidbenog lanca.⁵³ Antibakterijsko djelovanje TiO₂ proizlazi iz njegove sposobnosti za aktivacijom slobodnih hidroksilnih radikala (OH[•]). Da TiO₂ posjeduje inhibirajuća svojstva za bakterije i gljive pokazalo se u mnogim suvremenim istraživanjima.^{50, 53} TiO₂ inhibira rast *E. coli* čime pokazuje svoja antibakterijska svojstva.

U vremenskom periodu od 24 sata, najveći maseni postotak TiO₂ (1,5 %) stvara najveću zonu inhibicije, dok pri najmanjoj koncentraciji (0,01 %) stvara najmanju.⁵⁰ Također, TiO₂ inhibira rast *Staphylococcus aureus* pri svim koncentracijama od 0 do 100 μg cm⁻³.⁵³

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijali

3.1.1. Polietilen niske gustoće (LDPE)

Korišten je polietilen niske gustoće (LDPE) Dow 150E (slika 3.1.), proizvođača Dow Chemical Company, MFR = 2,3 g / min, gustoće 0,92 g cm⁻³.



Slika 3.1. Korišteni polietilen niske gustoće.

3.1.2. Rižine ljuskice (RLJ)

Kao punilo korištene su rižine ljuskice porijeklo/mjesto: Kočani/ Makedonija, tip riže: SANT ANDREA, Italija (slika 3.2.). Ljuska je biološki otpad dobiven nakon čišćenja riže specijalnim strojem.



Slika 3.2. Korištene rižine ljuskice.

3.1.3. Titanov dioksid (TiO₂)

Korišten je 99,8 % -tni titanov dioksid (TiO₂) proizvođača Aldrich (slika 3.3.), relativne molekulske mase 79,866 g mol⁻¹.



Slika 3.3. Korišteni titanov dioksid.

3.1.4. Bakterijske kulture

Korištene su bakterijske kulture *Escherichia coli* (3001), *Pseudomonas aeruginosa* (3011) i *Bacillus subtilis* (3020). Svi korišteni mikroorganizmi izolirani su iz okoliša.

3.1.5. Priprema hranjive podloge

Hranjiva podloga za uzgoj bakterija (hranjivi agar) priređena je u Erlenmeyer tikvici prema uputama proizvođača (Biolife Manual, second edition, Ingraf, Italija 1991.). 3,25 g bujona i 4,70 g agara otopljeno je u 250 cm³ deionizirane vode. Podloga je homogenizirana, zagrijana do vrenja i sterilizirana 15 minuta u autoklavu pri 120 °C i 1,1 atm.

3.2. Instrumenti i aparatura

- Za vlažnu sterilizaciju hranjivih podloga te čistog i nečistog staklenog posuđa korišten je autoklav Sutjeska, Jugoslavija (slika 3.4.).



Slika 3.4. Autoklav Sutjeska.

- Suspenzije su se homogenizirale homogenizatorom REAX top, Heidolph, Njemačka (slika 3.5.).



Slika 3.5. Homogenizator REAX top.

- Za umješavanje rižinih ljuskica i titan dioksida u polietilena niske gustoće koristila se Brabender gnjetilica (slika 3.6.).



Slika 3.6. Brabender gnjetilica.

- Za prešanje epruveta za ispitivanje koristila se preša Fontune SRB 140 (slika 3.7.)



Slika 3.7. Preša Fontune SRB 140.

3.3. Postupci provedenih ispitivanja

3.3.1. Priprema radnih otopina TiO₂

U tikvicama od 50 cm³ pripremljene su otopine TiO₂ udjela 2 %, 3 % i 5 mas % (slika 3.8.). Tikvice su se nadopunile do oznake destiliranom vodom.



Slika 3.8. Priređene otopine TiO₂, $w(\text{TiO}_2) = 2 \%$, 3% i $5 \text{ mas } \%$.

3.3.2. Priprava suspenzija bakterija

Dan prije postavljanja pokusa potrebno je bakterije *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Bacillus subtilis* uzgojiti na kosoj hranjivoj podlozi te ih staviti na inkubaciju na temperaturu od 37 °C 24 sata. Sterilnom mikrobiološkom ušicom potrebno je ostrugati malu količinu izrasle bakterijske kulture s podloge te ju prenijeti u 10 cm³ sterilne fiziološke vode i dobro ju homogenizirati. Početan broj stanica bakterija *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Bacillus subtilis* iznosio je 10⁶ st cm⁻³.

3.3.3. Ispitivanje antibakterijskih svojstva TiO₂

3.3.3.1. Određivanje prijenosa antimikrobnih sastojaka prema Normi EN ISO 846:1997

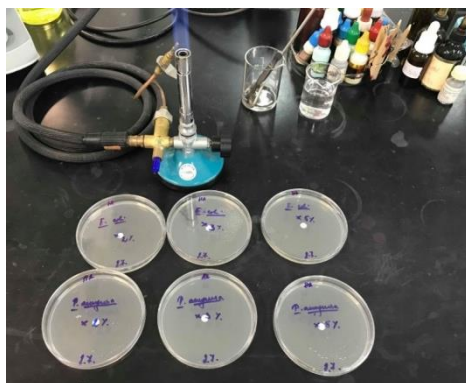
Određivanje prijenosa antimikrobnih sastojaka TiO₂ u tekućem stanju odredilo se prema Normi EN ISO 846:1997⁵⁴ na dva načina:

(P1) pipetiranjem priređene otopine TiO₂ na sterilne diskove odnosno suspenzije na izlivenoj hranjivoj podlozi i

(P2) pipetiranjem TiO₂ i suspenzije u praznu Petrijevu zdjelicu te zalijevanjem s hranjivim agarom.

Prije postavljanja oba pokusa bilo je potrebno osigurati sterilne uvjete rada.

U pokusu P1 se na prethodno izlivenu hranjivu podlogu (hranjivi agar) u Petrijevoj zdjelici otpipetiralo 0,1 cm³ priređene suspenzije ispitivane bakterije (10⁶ st cm⁻³), homogeniziralo pomoću štapića po Drigalskom te se na sredinu Petrijeve zdjelice stavio disk (slika 3.9.). Na svaki disk se poluautomatskom pipetom pipetiralo 0,02 cm³ prethodno pripremljene otopine TiO₂ udjela 2, 3 ili 5 mas %. Petrijeve zdjelice stavile su se na inkubaciju na temperaturu od 37 °C, 24 sata.



Slika 3.9. Određivanje prijenosa antimikrobnih sastojaka prema Normi EN ISO 846:1997⁵⁴ u pokusu P1

Prije postavljanja pokusa P2, bilo je potrebno priređene suspenzije bakterijskih kultura (10^6 st cm^{-3}) razrijediti kako bi se kolonije izraslih kultura mogle izbrojati. Priređena su razrjeđenja do 10^{-6} . U praznu Petrijevu zdjelicu otpipetiralo se $0,1 \text{ cm}^3$ prethodno pripremljenog razrjeđenja 10^{-6} i otopine TiO_2 određenog postotka i zatim se zalilo s hranjivim agarom i homogeniziralo 7-10 puta u obliku broja osam (slika 3.10.). Također je napravljena i slijepa proba, odnosno u tri Petrijeve zdjelice nije dodan TiO_2 nego samo priređeno razrjeđenje ispitivanih bakterijskih kultura *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Bacillus subtilis*. Sve Petrijeve zdjelice stavljene su na inkubaciju na temperaturu od $37 \text{ }^\circ\text{C}$, 24 sata.



Slika 3.10. Određivanje prijenosa antimikrobnih sastojaka prema Normi EN ISO 846:1997⁵⁴ u pokusu P2

3.3.3.2. Određivanje prijenosa antimikrobnih sastojaka prema Normi ISO 22196

Određivanje prijenosa antimikrobnih sastojaka TiO_2 u čvrstom stanju odredilo se prema Normi ISO 22196⁵⁵. Prije početka provedbe pokusa priredila se mješovita suspenzija ispitivanih bakterijskih kultura *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Bacillus subtilis* s početnim brojem stanica 10^6 st cm^{-3} . U praznu Petrijevu zdjelicu jednoliko se po cijeloj površini posuo prah TiO_2 , zalio s hranjivim agarom i nakon što se podloga skrutila otpipetiralo se $0,1 \text{ cm}^3$ priređene suspenzije i štapićem po Drigalskom homogeniziralo (P3). U drugu Petrijevu zdjelicu otpipetiralo se 1 cm^3 priređene suspenzije, zalilo s hranjivim agarom, homogeniziralo u obliku broja osam i nakon što se podloga skrutila na sredinu je stavljen TiO_2 (P4). Obje Petrijeve zdjelice stavljene su na inkubaciju na temperaturu od $37 \text{ }^\circ\text{C}$, 24 sata.

3.3.4. Priprema LDPE/RLJ filmova

Pripremljen je jedan film čistog polietilena niske gustoće i četiri LDPE/RLJ filma u omjeru 60/40 s različitim udjelom TiO_2 . Prije same izrade filmova, potrebno je izvagati određenu količinu rižinih ljuskica, polietilena niske gustoće te titanovog dioksida. U LDPE/RLJ 60/40 kompozit dodalo se 0,5 %, 1,0 %, 1,5 % te 2,0 mas % TiO_2 .

Izvagane količine LDPE, RLJ i TiO_2 umješane su u Brabender gnjetilici na temperaturi od 135 °C do 140 °C u vremenskom periodu od 5 minuta te na 45 o/min (slika 3.11.). U komoru se prvo stavlja polietilen niske gustoće. Kada se on rastali dodaju se rižine ljuskice i titan dioksid. Nakon što se materijal dobro homogenizirao, bilo ga je potrebno izrezati na što tanje i sitnije komade. 6 g tako izrezanog materijala stavilo se između dvije folije te dvije ploče u prešu na temperaturu od 135 do 140 °C. Materijal se na toj temperaturi zadržao oko 5 minuta, a zatim se temperatura spustila na sobnu (25 °C). Kada je preša dosegla sobnu temperaturu ploče su se izvadile iz preše i odvojio se dobiveni film.



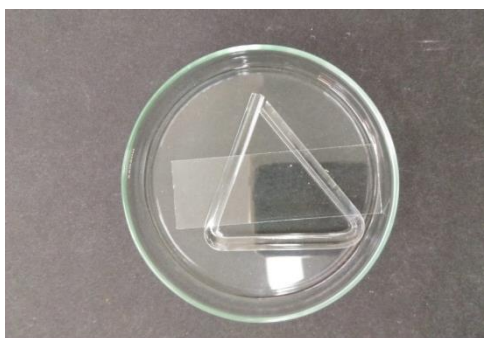
Slika 3.11. Priprema LDPE/RLJ kompozita u Brabender gnjetilici.

3.3.5. Ispitivanje antibakterijskih svojstva LDPE/RLJ filmova

Određivanje prijenosa antimikrobnih sastojaka LDPE i LDPE/RLJ s različitim udjelom TiO_2 odredilo se prema Normi ISO 22196⁵⁵. Prije postavljanja pokusa bilo je potrebno osigurati sterilne uvjete rada. Posuđe koje je pritom korišteno sterilizirano je vlažnom sterilizacijom u autoklavu pri 121 °C i 1 atmosfere predtlaka, 30 minuta.

Prije postavljanja pokusa napravila se mješovita suspenzija ispitivanih bakterijskih kultura i odredio se početni broj stanica u cm^3 . U Petrijevu zdjelicu izliveno je 10 cm^3 sterilne fiziološke vode, stavljen je trokut i na trokut predmetnica na koju se stavio uzorak kako je prikazano na slici 3.12. Na postavljeni uzorak filma LDPE/RLJ 60/40 s određenim masenim postotkom TiO_2 otpipetiralo se 0,1 cm^3 mješovite suspenzije (slika 3.13.).

Petrijeve zdjelice stavljene su na inkubaciju na temperaturu od 37 °C, 24 sata. Nakon 24 sata uzorak se prenio sterilnom tehnikom rada u 10 cm³ sterilne fiziološke vode, priređena su razrjeđenja do 10⁻⁶, te se 1 cm³ priređenih razrjeđenja 10⁻⁴, 10⁻⁵ i 10⁻⁶ zalio s hranjivim agarom, homogenizirao i stavio na inkubaciju na temperaturu od 37 °C, 24 sata. Nakon 24 sata izbrojale su se izrasle kolonije i odredio broj izraslih stanica u cm³.



Slika 3.12. Određivanje prijenosa antimikrobnih sastojaka prema Normi ISO 22196⁵⁵.



(a)

(b)

Slika 3.13. Postavljeni uzorak u Petrijevoj zdjelici (a) za različite udjele TiO₂ u filmovima LDPE/RLJ 60/40 (b).

4. REZULTATI I RASPRAVA

Zbog ekološke sigurnosti sve više znanstvenika okreće se istraživanju prirodnih materijala koji nastaju kao nusprodukt u okolišu, a njihovo korištenje je skoro pa nezatno. Zbog toga se sve više prirodnih materijala koristi u kompozitima sa sintetskim materijalima kako bi se smanjila njihova cijena, ali i poboljšala mehanička svojstva te smanjili ekološki problemi. Također, korištenje prirodnih materijala omogućava zemljama u razvoju da koriste vlastite resurse i time razvijaju svoju industriju. Osiguranje kvalitete jedan je od glavnih zadataka novih, ambalažnih materijala. Kako bi zaštitili proizvod od negativnih utjecaja i zadržali originalnu kvalitetu proizvoda, ambalažni materijal mora imati određena antibakterijska svojstva.

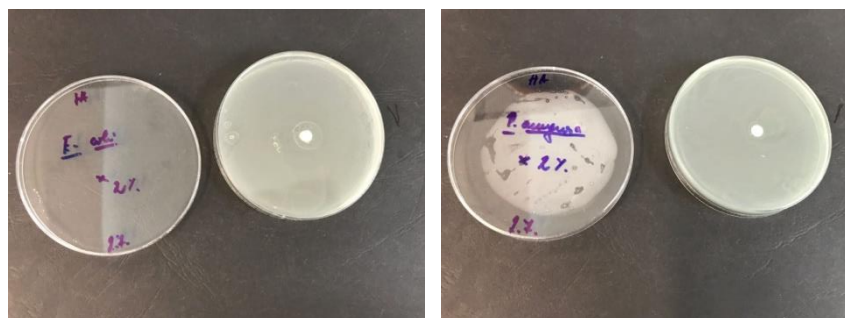
Cilj ovog rada bio je istražiti da li titanov dioksid ima inhibirajuća svojstva prema bakterijskim kulturama *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Bacillus subtilis* te koliki je njegov optimalan udio u biokompozitima polietilena niske gustoće i rižinih ljuskica kako bi se njihovi filmovi mogli koristiti kao ambalažni materijal.

4.1. Ispitivanje antibakterijskih svojstava TiO₂

Antibakterijska svojstva TiO₂ ispitana su na tri bakterijske kulture: *Escherichiu coli*, *Pseudomonas aeruginosu* i *Bacillus subtilis*. Primijenjene su dvije različite metode ispitivanja prijenosa antimikrobnih sastojaka, Norma EN ISO 846:1997⁵⁴ i Norma ISO 22196⁵⁵. Također se ispitao utjecaj agregatnog stanja TiO₂ na suzbijanje rasta odabranih bakterijskih kultura.

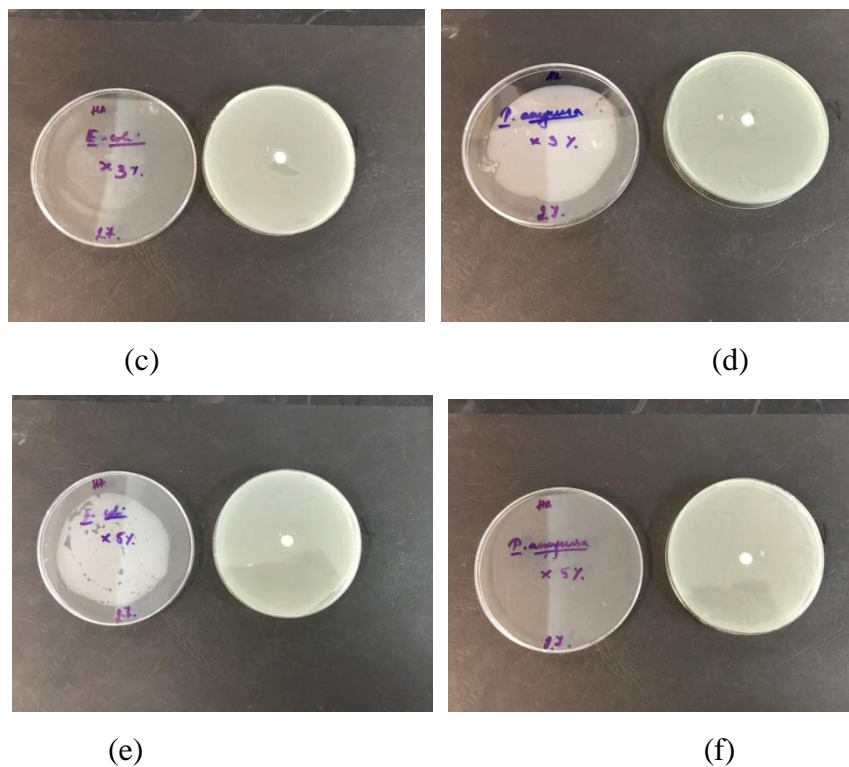
4.1.1. Određivanje prijenosa antimikrobnih sastojaka prema Normi EN ISO 846:1997

Na slici 4.1. prikazani su rezultati ispitivanja antibakterijskih svojstva TiO₂ u tekućem stanju prema Normi EN ISO 846:1997⁵⁴ za pokus P1.



(a)

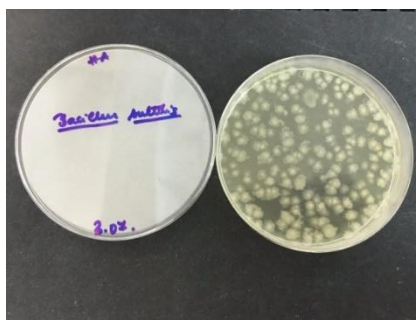
(b)



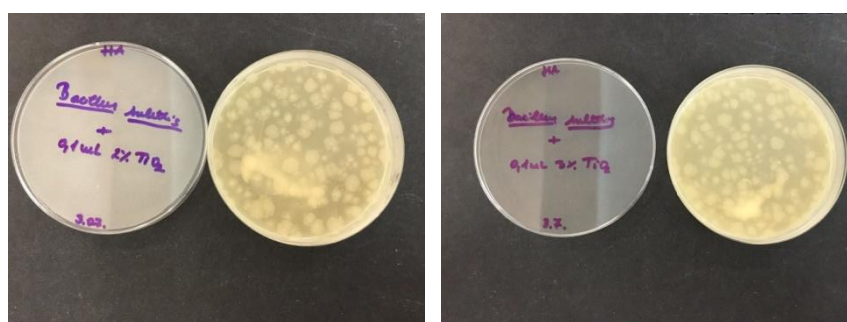
Slika 4.1. Određivanje prijenosa antimikrobnih sastojaka TiO₂ u tekućem stanju na *Escherichiu coli* i *Pseudomonas aeruginosu* pri masenom postotku TiO₂ 2 % (a,b), 3 % (c,d) te 5 % (e,f) prema Normi EN ISO 846:1997⁵⁴.

Ispitivanjem antibakterijskih svojstva TiO₂ u tekućem stanju u pokusu P1, slika 4.1., može se vidjeti da TiO₂ nije inhibirao rast bakterija *Escherichie coli*, *Pseudomonas aeruginose* i *Bacillus subtilis* pri ni jednom masenom udjelu TiO₂. Prema literaturi, TiO₂ pokazuje inhibicijsko djelovanje na *Escherichiu coli* i raste povećanjem masene koncentracije TiO₂.⁴⁹ U ovom pokusu P1, TiO₂ otpipetiran je na postavljeni disk na hranjivoj podlozi i prema dobiveni rezultatima može se zaključiti da TiO₂ nema sposobnost difuzije oko ni ispod diska. Stoga je provedeno dodatno istraživanje bez primjene sterilnog diska da se ustanovi djelovanje TiO₂ na odabrane bakterijske kulture.

Na slikama 4.2. - 4.7. prikazani su rezultati ispitivanja antibakterijskih svojstva TiO₂ u tekućem stanju prema Normi EN ISO 846:1997⁵⁴ za pokus P2.



Slika 4.2. Bakterijska kultura *Bacillus subtilis* na hranjivom agaru bez dodatka TiO_2 .



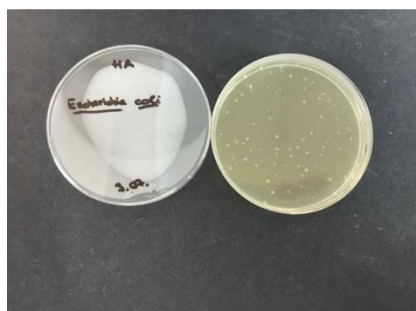
(a)

(b)

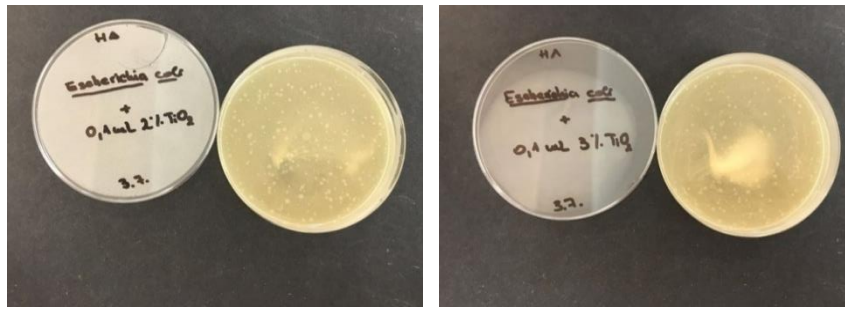


(c)

Slika 4.3. Rast kolonija bakterijske kulture *Bacillus subtilis* na hranjivom agaru uz dodatka TiO_2 : 2 % (a), 3 % (b) i 5 mas % (c).

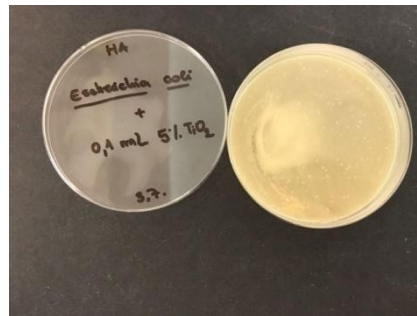


Slika 4.4. Bakterijska kultura *Escherichia coli* na hranjivom agaru bez dodatka TiO_2 .



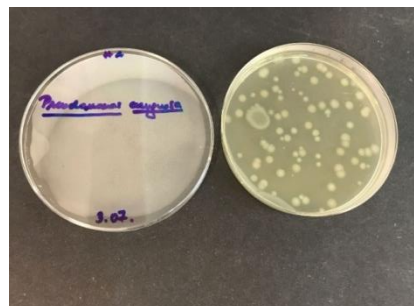
(a)

(b)



(c)

Slika 4.5. Rast kolonija bakterijske kulture *Escherichia coli* na hranjivom agaru uz dodatka TiO_2 : 2 % (a), 3 % (b) i 5 mas % (c).



Slika 4.6. Bakterijska kultura *Pseudomonas aeruginosa* na hranjivom agaru bez dodatka TiO_2 .



(a)



(b)



(c)

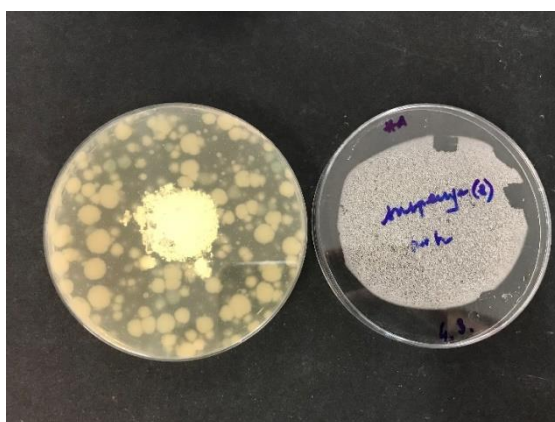
Slika 4.7. Rast kolonija bakterijske kulture *Pseudomonas aeruginosa* na hranjivom agaru uz dodatka TiO₂ različitih masenih postotaka: 2 % (a), 3 % (b), 5 % (c).

U pokusu P2 gdje su se suspenzija i određeni udio TiO₂ stopili i zalili hranjivim agarom i homogenizirali također nije dokazano inhibicijsko svojstvo TiO₂. Broj izraslih kolonija bakterija je bio svugdje isti u usporedbi sa slijepom probom (slike 4.2. do 4.7.). S obzirom na to da u tekućem stanju TiO₂ nije pokazao odgovarajuće inhibicijsko djelovanje provedena su ispitivanja TiO₂ u čvrstom stanju.

4.1.2. Određivanje prijenosa antimikrobnih sastojaka prema Normi ISO 22196

U pokusu P3 gdje je čvrsti TiO₂ dodan u praznu Petrijevu zdjelicu i zaliven hranjivim agarom te je naknadno nanesa suspenzija nije također pokazao inhibicijsko djelovanje TiO₂, a razlog tomu može biti da TiO₂ nema sposobnost difundiranja kroz čvrstu hranjivu podlogu.

Na slici 4.8. prikazan je rezultat ispitivanja antibakterijskih svojstva TiO₂ u čvrstom stanju prema Normi ISO 22196⁵⁵.



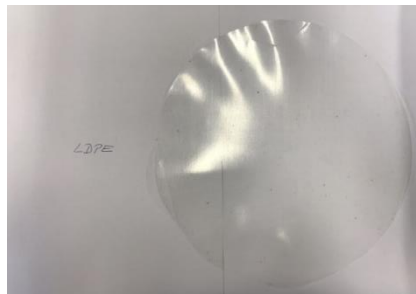
Slika 4.8. Određivanje prijenosa antimikrobnih sastojaka prema Normi ISO 22196⁵⁵ u pokusu

P4.

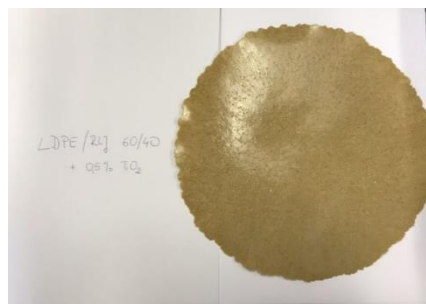
U pokusu P4 TiO_2 je pokazao inhibicijsko djelovanje na sve tri ispitivane bakterijske kulture (slika 4.8), što znači da samo tamo gdje se TiO_2 u prahu stavi samo tamo će inhibirati rast bakterija, što potvrđuje da nema sposobnost difuzije u području oko njega.

4.2. Ispitivanje antibakterijskih svojstva TiO_2 u LDPE/RLJ filmovima

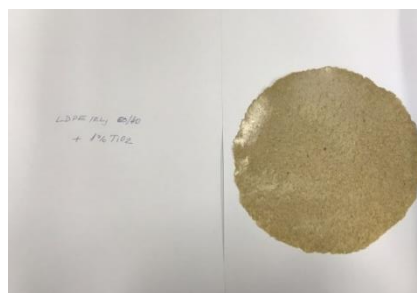
Na slikama 4.9. – 4.13. prikazani su LDPE i LDPE/RLJ/ TiO_2 filmovi izrađeni u omjeru 60/40 uz dodatak različitog masenog postotka TiO_2 .



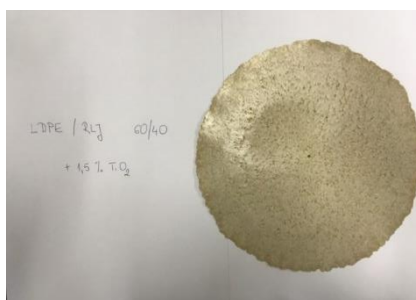
Slika 4.9. Film izrađen od čistog polietilena niske gustoće.



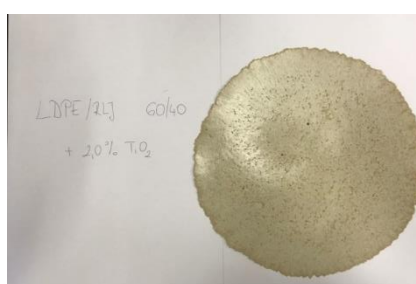
Slika 4.10. Film izrađen od polietilena niske gustoće i rižinih ljuskica u omjeru 60/40 uz dodatak 0,5 mas % TiO_2 .



Slika 4.11. Film izrađen od polietilena niske gustoće i rižinih ljuskica u omjeru 60/40 uz dodatak 1,0 mas % TiO_2 .



Slika 4.12. Film izrađen od polietilena niske gustoće i rižinih ljuskica u omjeru 60/40 uz dodatak 1,5 mas % TiO_2 .



Slika 4.13. Film izrađen od polietilena niske gustoće i rižinih ljuskica u omjeru 60/40 uz dodatak 2,0 mas % TiO_2 .

U tablici 4.1. prikazani su dobiveni rezultati prijenosa antimikrobnih sastojaka LDPE, LDPE/RLJ i LDPE/RLJ/ TiO_2 kompozite.

Prema dobivenim rezultatima može se primijetiti da se pri udjelu od 1,5 i 2,0 mas % TiO_2 broj stanica bakterija smanjio u odnosu na 0. dan što ukazuje na inhibicijsko djelovanje TiO_2 , dok se pri manjim udjelima TiO_2 ne vidi neka značajnija promjena ukupnog broja stanica bakterija. Također se može primijetiti da se kod samog LDPE bez TiO_2 broj stanica bakterija značajno smanjio, a razlog tomu može biti da bakterije nisu imale hrane, dok se kod mješavine LDPE/RLJ broj stanica bakterija nije promijenio jer su bakterijama RLJ djelovale kao izvor hrane.

Tablica 4.1. Određivanje prijenosa antimikrobnih sastojaka LDPE, LDPE/RLJ i LDPE/RLJ/TiO₂ kompozita.

Uzorci	CFU st cm ⁻³
0. dan	$5,94 \cdot 10^7$
LDPE (slijepa proba)	$2,26 \cdot 10^7$
LDPE + RLJ	$5,83 \cdot 10^7$
LDPE + RLJ + 0,5 % TiO ₂	$5,60 \cdot 10^7$
LDPE + RLJ + 1,0 % TiO ₂	$5,48 \cdot 10^7$
LDPE + RLJ + 1,5 % TiO ₂	$3,90 \cdot 10^7$
LDPE + RLJ + 2,0 % TiO ₂	$3,54 \cdot 10^7$

5. ZAKLJUČCI

U današnje vrijeme sve je veća potraga za što ekonomičnijim i ekološki prihvatljivijim materijalima u svim aspektima života. Smanjenje udjela skupog i teško razgradljivog polietilena u ambalažnim materijalima moguće je uz dodatak biološkog otpada koji nastaje kao nusprodukt. Na primjer dodatkom rižinih ljuskica, nastalih kao nusprodukt u proizvodnji riže, smanjuje se udio polietilena ali je potrebno osigurati jednaku kvalitetu i zaštitu proizvoda. Zbog toga su provedena ispitivanja da li bi dodatkom titanovog dioksida LDPE/RLJ filmovi imali odgovarajuća antibakterijska svojstva. Ispitivanja su provedena pomoću vodenih otopina TiO_2 različitog masenog udjela te praha titanovog dioksida. LDPE/RLJ filmovi izrađeni su u omjeru 60/40 uz dodatak različitog udjela čvrstog TiO_2 (0,5 %; 1,0 %; 1,5 %; 2,0 mas %) te su dobiveni sljedeći zaključci:

- (1) Vodena otopina titanovog dioksida ne inhibira rast bakterijskih kultura *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Bacillus subtilis*.
- (2) Titanov dioksid u čvrstom stanju inhibira rast bakterijskih kultura *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Bacillus subtilis*, ali samo na mjestu na kojem se nalazi. Njegovo antibakterijsko djelovanje ne širi se na mjesta gdje se on ne nalazi.
- (3) Dodatkom sve većeg masenog postotka TiO_2 u biokompozite LDPE/RLJ 60/40, biokompoziti postaju sve žilaviji.
- (4) Dodatkom TiO_2 u biokompozite LDPE/RLJ 60/40 dolazi do inhibicije bakterijskih kultura *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Bacillus subtilis*.
- (5) Povećanjem masenog udjela TiO_2 u biokompozitima smanjuje se broj stanica bakterijskih kultura, tj. inhibicijsko djelovanje je veće. Pri masenom udjelu TiO_2 od 2,0 mas % inhibicijsko djelovanje je najveće.

6. LITERATURA

1. Grumezescu, A.M., Food packaging, Nanotechnology in the Agri-Food Industry, Volume 7, Academic Press, Elsevier Inc., 2017, 74-85
2. Grumezescu, A.M., Holban, A.M., Food Packaging and Preservation, Volume 9, Academic Press, Elsevier Inc., 2018, 31.
3. Matthews, F.L., Rawlings, R.D., Composite Materials: Engineering and Science, Woodhead Publishing, 1999., 1-22,
4. Asthana, R., Kumar, A., Dahotre, N.B., Materials Processing and Manufacturing Science, Elsevier Inc, 2005., 397.
5. Husak, A., Sinteza i karakterizacija nanokompozita polipirol/cinkov oksid, Diplomski rad, Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, 2016.
6. Abramovich, H., Stability and Vibrations of Thin-Walled Composite Structures, Elsevier Ltd., 2017., 1-17
7. Mršić, I., Priprava i karakterizacija PLA kompozita, Diplomski rad, Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, 2015.
8. Čatić, I., Materijali i tehnološki razvoj, Akademija tehničkih znanosti Hrvatske, Zagreb, 2002., 130-137
9. Satyanarayana, K.G., Arizaga, G.G.C., Wypych, F., Biodegradable composites based on lignocellulosic fibers, Progress in Polymer Science, 34, 2009., 982–1021
10. Mohammed, M., Ansari, M.N.M., Pua, G., Jawaid, M., Islam, M.S., A Review on Natural Fiber Reinforced Polymer Composite and Its Applications, International Journal of Polymer Science, 2015.
11. Arjmandi, R., Hassan, A., Majeed, K., Zakaria, Z., Rice Husk Filled Polymer Composites, International Journal of Polymer Science, 2015, 1-25
12. Kos, A., Priprava i karakterizacija biokompozita na osnovi LDPE-a i lignoceluloze, Diplomski rad, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb, 2016.
13. Kwon, J.H., Ayrilmis, N., Han, T.H., Combined Effect of Thermoplastic and Thermosetting Adhesives on Properties of Particleboard With Rice Husk Core, *Materials Research*. 2014; 17(5), 1309-1315
14. Sen, S.K., Raut, S., Microbial degradation of low density polyethylene (LDPE), J. Environ. Chem. Eng., 2015

15. Duraković, S., *Primjenjena mikrobiologija, Prehrambeno tehnološki inženjering*, Zagreb, 1996.
16. Tribedi, P., Sil, A.K., Low-density polyethylene degradation by *Pseudomonas* sp. AKS2 biofilm, *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, 20 (6), 2013., 4146–4153
17. Rajandas, H., Parimannan, S., Sathasivam, K., Ravichandran, M., Su Yin, L., A novel FTIR-ATR spectroscopy based technique for the estimation of low-density polyethylene biodegradation, *Polym. Test.*, 31 (8), 2012., 1094–1099
18. Nowak, B., Pajak, J., Drozd-Bratkowicz, M., Rymarz, G., Microorganisms participating in the biodegradation of modified polyethylene films in different soils under laboratory conditions, *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, 65 (6), 2011., 757–767
19. Koutny, M., Amato, P., Muchova, M., Ruzicka, J., Delort, A., Soil bacterial strains able to grow on the surface of oxidized polyethylene film containing prooxidant additives, *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, 63 (3), 2009., 354–357
20. Fontanella, S., Bonhomme, S., Koutny, M., Husarova, L., Brusson, J.M., Courdavault, J.P., Pitteri, S., Samuel, G., Pichon, G., Lemaire, J., Delort, A., Comparison of the biodegradability of various polyethylene films containing pro-oxidant additives, *Polym. Degrad. Stab.*, 95, 2010., 1011–1021
21. Manzur, A., Limón-González, M., Favela-Torres, E., Biodegradation of physicochemically treated LDPE by a consortium of filamentous fungi, *J. Appl. Polym. Sci.*, 92 (1), 2004., 265–271
22. Pramila, R., Ramesh, K., Biodegradation of low density polyethylene (LDPE) by fungi isolated from marine water e a SEM analysis, *Afr. J. Microbiol. Res.*, 5 (28), 2011., 5013–5018.
23. Yamada-Onodera, K., Mukumoto, H., Katsuyaya, Y., Saiganji, A., Tani, Y., Degradation of polyethylene by a fungus, *Penicillium simplicissimum* YK, *Polym. Degrad. Stab.*, 72 (2), 2001., 323–327
24. Santo, M., Weitsman, R., Sivan, A., The role of the copper-binding enzymelaccase – in the biodegradation of polyethylene by the actinomycete *Rhodococcus ruber*, *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, 208, 2012., 1–7.
25. Chatterjee, S., Roy, B., Roy, D., Banerjee, R., Enzyme-mediated biodegradation of heat treated commercial polyethylene by *Staphylococcal* species, *Polym. Degrad. Stab.*, 95 (2), 2010., 195–200
26. Pometto, A.L., Lee, B.T., Johnson, K.E., Production of an extracellular polyethylene-degrading enzyme(s) by *Streptomyces* species, *Appl. Environ. Microbiol.*, 58 (2), 1992., 731–733.

27. Watanabe, T., Ohtake, Y., Asabe, H., Murakami, N., Furukawa, M., Biodegradability and degrading microbes of low-density polyethylene, *J. Appl. Polym.Sci.* 111 (1), 2009., 551–559
28. Roy, P.K., Titus, S., Surekha, P., Tulsi, E., Deshmukh, C., Rajagopal, C., Degradation of abiotically aged LDPE films containing pro-oxidant by bacterial consortium, *Polym. Degrad. Stab.*, 93 (10), 2008., 1917–1922
29. Sudhakar, M., Doble, M., Murthy, P.S., Venkatesan, R., Marine microbe-mediated biodegradation of low- and high-density polyethylenes, *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, 61 (3), 2008., 203–213
30. Hadad, D., Geresh, S., Sivan, A., Biodegradation of polyethylene by the thermophilic bacterium *Brevibacillus borstelensis*, *J. Appl. Microbiol.*, 98 (5), 2005., 1093–1100
31. Koutny, M., Sancelme, M., Dabin, C., Pichon, N., Delort, A., Lemaire, J., Acquired biodegradability of polyethylenes containing pro-oxidant additives, *Polym. Degrad. Stab.*, 91 (7), 2006., 1495–1503
32. Balasubramanian, V., Natarajan, K., Hemambika, B., Ramesh, N., Sumathi, C.S., Kottaimuthu, R., Rajesh Kannan, V., High-density polyethylene (HDPE)- degrading potential bacteria from marine ecosystem of Gulf of Mannar, India, *Lett. Appl. Microbiol.*, 51 (2), 2010., 205–211
33. Albertsson, A.C., Erlandsson, B., Hakkarainen, M., Karlsson, S., Molecular weight changes and polymeric matrix changes correlated with the formation of degradation products in biodegraded polyethylene, *J. Environ. Polym. Degrad.*, 6, 1998., 187–195
34. Pramila, R., Ramesh, K.V., Biodegradation of low density polyethylene (LDPE) by fungi isolated from municipal landfill area, *J. Microbiol. Biotechnol. Res.*, 1 (4), 2011., 131–136
35. Sowmya, H.V., Ramalingappa, M., Krishnappa, M., Degradation of polyethylene by *Chaetomium* sp. and *Aspergillus flavus*, *Int. J. Recent Sci. Res.*, 3, 2012., 513–517
36. Albertsson, A.C., Karlsson, S., The influence of biotic and abiotic environments on the degradation of polyethylene, *Prog. Polym. Sci.*, 15 (2), 1990., 177–192
37. Seneviratne, G., Tennakoon, N., Nandasena, K., Polyethylene biodegradation by a developed *Penicillium–Bacillus* biofilm, *Curr. Sci.*, 90, 2006., 20–21
38. Karlsson, S., Ljungquist, O., Albertsson, A., Biodegradation of polyethylene and the influence of surfactants, *Polym. Degrad. Stab.*, 21 (3), 1988., 237–250
39. Kalenić, S., Mlinarić-Missoni, E., *Medicinska bakteriologija i mikologija*, Merkur A.B.D, Zagreb (2001)
40. Wu, W., Jin, Y., Bai, F., Jin, S., *Molecular Medical Microbiology*, Academic press, (2015) 753-767

41. Prince, A.S., Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases, 2012., 842-846
42. Rajandas, H., Parimannan, S., Sathasivam, K., Ravichandran, M., Yin L.S., A novel FTIR ATR spectroscopy based technique for the estimation of low-density polyethylene biodegradation, Polymer Testing, 31, 2012., 1094–1099
43. https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/c/cf/Pseudomonas_aeruginosa_SEM.jpg (pristup 30.lipnja, 2018.)
44. Sudhakara, M., Doblea, M.P., Sriyutha Murthyb, P., Venkatesan, R., Marine microbe-mediated biodegradation of low- and high-density polyethylenes, Int. Biodeterior. Biodegrad., 61, 2008, 203–213
45. https://c1.staticflickr.com/7/6101/6414374677_86b1c87604_b.jpg (pristup 30. lipnja, 2018.)
46. <https://3c1703fe8d.site.internapcdn.net/newman/gfx/news/hires/2009/2-ecoli.jpg>, (pristup 30. lipnja, 2018.)
47. Musumeci T., Puglisi, G., Drug-Biomembrane, Interaction Studies The Application of Calorimetric Techniques, Woodhead Publishing, 10, 2013., 305-333
48. Pant, H.R., Bishweshwar, P.R., Sharma, K., Amarjargal, A., Kim, H.J., Park, C.H., Tijing, L.D., Kim, C.S., Antibacterial and photocatalytic properties of Ag/TiO₂/ZnO nano-flowers prepared by facile one-pot hydrothermal process, Elsevier Ltd., 39, 2, 2013., 1503-1510
49. Aruoja, V., Dubourguier, H.C., Kasemets, K., Kahru, A., Toxicity of nanoparticles of CuO, ZnO and TiO₂ to microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata*, Elsevier Ltd, 407, 4, 2009., 1461-1468
50. Haghi, M., Hekmatafshar, M., B. Janipour, M., Seyyed gholizadeh, S., kazem Faraz, M., Sayyadifar, F., Ghaedi, M., Antibacterial effect of TiO₂ nanoparticles on pathogenic strain of *E. Coli*, International Journal of Advanced Biotechnology and Research, Vol 3, 3, 2012, 621-624
51. Puljić, D., Priprema PCL/n TiO₂ vlakana tehnikom elektropredenja, Diplomski rad, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, 2015.
52. Bijelić, V., Razgradnja PP/PCL mješavina bez i s dodatkom nTiO₂, Završni rad, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, 2015.
53. Saba A. Mahdy, Wasnaa H. Mohammed, Hamsa Emad, The Antibacterial Activity of TiO₂ Nanoparticles, Journal of Babylon University/Pure and Applied Sciences, 3, Vol 25, 2017
54. <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:846:ed-2:v1:en> (pristup: 26. srpnja, 2018.)
55. http://www.poudrox.com/poudrox/wp-content/uploads/norme_ISO221961.pdf (pristup: 26. srpnja, 2018.)

ŽIVOTOPIS

Antonija Kovačević, [REDACTED]. Svoje obrazovanje započinje u Osnovnoj školi Dugo Selo te ga nastavlja upisom u opću gimnaziju "Tituš Brezovački" u Zagrebu. S položenom državnom maturom, 2015. godine upisuje se na preddiplomski studij Kemija i inženjerstvo materijala na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu. Stručnu praksu preddiplomskog studija odradila je u Klinici za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević" na Zavodu za kliničku mikrobiologiju (Odjel za virusologiju) pod vodstvom doc.dr.sc. Oktavije Đaković Rode, prim. dr. med. Dobitnica je Rektorove nagrade za akademsku godinu 2017/2018 za rad „Biorazgradnja bisfenola A u vodi“. Godine 2018., posterskim izlaganjem na temu „Biorazgradnja bisfenola A“ sudjeluje na ISU Green konferenciji.