

Ispitivanje razgradnje komercijalnih biorazgradivih vrećica u okolišu

Fileš, Martina

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:060624>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-10**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Martina Fileš

**Ispitivanje razgradnje komercijalnih
biorazgradivih vrećica u okolišu**

Diplomski rad

Zagreb, 2022.

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Martina Fileš

**Testing the degradation of commercial
biodegradable bags in environment**

Master thesis

Zagreb, 2022.

Ovaj rad je izrađen na Zoologijskom zavodu Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta te na Zavodu za materijale, vlakna i ispitivanje tekstila, Tekstilno-tehnološkog fakulteta, Sveučilišta u Zagrebu, pod voditeljstvom doc. dr. sc. Sandre Hudine i izv. prof. dr. sc. Sanje Ercegović Ražić. Rad je predan na ocjenu Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu radi stjecanja zvanja Magistar/magistra ekologije i zaštite prirode.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Diplomski rad

Ispitivanje razgradnje komercijalnih biorazgradivih vrećica u okolišu

Martina Fileš

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Biorazgradive vrećice izrađene su od biorazgradivih polimera, a razvile su se kao alternativa plastičnim vrećicama. Međutim, njihova razgradnja u okolišnim uvjetima nije u potpunosti istražena te je često nepotpuna ili gotovo neprimjetna. U ovome radu ispitana je razgradnja tri tipa biorazgradivih i jednog tipa plastičnih vrećica komercijalno dostupnih u Hrvatskoj, u različitim okolišima. Uzorci vrećica izlagani su šest tjedana u vodi, tlu, kompostu i na zraku, dok su kontrolni uzorci bili skladišteni u sobnim uvjetima. Svi tipovi vrećica uzorkovani su dva puta, pri čemu su mjerene promjene mehaničkih svojstava vrećica te razlike u mikrobnim zajednicama između (gnojivom i pesticidima) tretiranog i netretiranog tla. Istraživanjem su zabilježene velike razlike u mehaničkim promjenama između različitih tipova biorazgradivih vrećica, pri čemu su najbolji potencijal razgradnje pokazale „bijela“ i „smeđa“ vrećica. U kompostu je očekivano zabilježena najveća promjena strukture i mehaničkih svojstava svih tipova vrećica, dok je na zraku i u vodi zabilježena najmanja promjena. Tretirano i netretirano tlo pokazali su značajnu razliku u abundanciji i raznolikosti mikrobnih zajednica. Veća raznolikost mikrobnih zajednica tretiranog tla potencijalno je doprinijela izraženoj razgradnji dva analizirana tipa vrećica ('bijela' i 'smeđa'), što indicira da bi razgradnja biorazgradivih vrećica mogla biti sporija u prirodnim staništima.

(55 stranica, 31 slika, 8 tablica, 45 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Ključne riječi: (okoliš, biorazgradivi polimeri, mehanička svojstva, mikrobne zajednice tla, oštećenja površinske strukture)

Voditelj: Doc. dr. sc. Sandra Hudina

Suvoditelj: izv. prof. dr. sc. Sanja Ercegović Ražić

Ocjenitelji:

Doc. dr. sc. Sandra Hudina

Izv. prof. dr. sc. Tomislav Ivanković

Izv. prof. dr. sc. Ana Previšić

Rad prihvaćen: (07. rujna, 2022.)

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Master Thesis

Testing the degradation of commercial biodegradable bags in different environments

Martina Fileš

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Biodegradable bags were developed as an alternative to plastic bags. However, their degradation in environmental conditions has not been fully investigated and is often incomplete. Here, the decomposition of three types of biodegradable and one type of plastic bags commercially available in Croatia was analysed in different environments. Bags were exposed for six weeks in water, soil, air and compost, while the control groups were stored in room conditions. All types of bags were sampled twice, and different parameters of changes in mechanical properties were measured. Also, mechanical properties of the bags and microbial communities exposed in treated (pesticides and manure) and untreated soil were analysed. The research established significant differences in changes in mechanical properties between different types of biodegradable bags, with 'white' and 'brown' bags showing the best decomposition potential. As expected, the largest change in the structure and mechanical properties of all types of bags was recorded in compost, and the lowest in air and water. Treated and untreated soil showed a significant difference in the abundance and diversity of microbial communities. Higher diversity of microbial communities of the treated soil potentially contributed to the higher degradation of the two analyzed types of bags („white“ and „brown“), which indicates that the degradation of biodegradable bags could be slower in natural habitats.

(55 pages, 31 figures, 8 tables, 45 references, original in: Croatian)

Thesis is deposited in Central Biological Library.

Keywords: (environment, biodegradable polymers, mechanical properties, microbial communities in soil, damage of surface structure)

Supervisor: Assist. Prof. dr. sc. Sandra Hudina

Co-supervisor: Assoc. Prof. dr. sc. Sanja Ercegović Ražić

Reviewers:

Assist. Prof. dr. sc. Sandra Hudina

Assoc. Prof. dr. sc. Tomislav Ivanković

Assoc. Prof. dr. sc. Ana Previšić

Thesis accepted: (07.09.2022.)

SADRŽAJ

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | UVOD | 1 |
| 1.1 | POVIJEST UPORABE PLASTIKE | 1 |
| 1.2 | PLASTIKA – UMJETNI MATERIJALI IZ SINTETSKIH POLIMERA | 2 |
| 1.2.1 | Podjela plastike | 2 |
| 1.3 | PLASTIKA I OKOLIŠ | 4 |
| 1.4 | SUSTAV GOSPODARENJA PLASTIČNIM OTPADOM | 6 |
| 1.4.1 | Sustav gospodarenja otpadom u EU | 7 |
| 1.5 | BIORAZGRADIVA PLASTIKA | 9 |
| 2 | CILJEVI ISTRAŽIVANJA | 10 |
| 3 | MATERIJALI I METODE | 11 |
| 3.1 | ODABIR VREĆICA ZA ISTRAŽIVANJE | 11 |
| 3.2 | IZLAGANJE VREĆICA U OKOLIŠU | 11 |
| 3.2.1 | Izlaganje u tlu | 12 |
| 3.2.2 | Izlaganje u kompostu | 14 |
| 3.2.4 | Izlaganje u slatkovodnom okolišu | 15 |
| 3.2.5 | Izlaganje na zraku | 15 |
| 3.3 | MJERENJE PARAMETARA RAZGRADNJE (MEHANIČKIH KARAKTERISTIKA VREĆICE) | 16 |
| 3.3.1 | Promjene boje i oblika, analiza strukture površine te oštećenja površinske strukture | 16 |
| 3.3.2 | Plošna masa uzorka | 17 |
| 3.3.3 | Vlačna prekidna sila i prekidno istežanje (elongacija) | 18 |
| 3.3.4 | Određivanje tališta uzoraka | 18 |
| 3.5 | ANALIZA RAZNOLIKOSTI MIKROBNIH ZAJEDNICA U UZORCIMA TLA | 20 |
| 3.6 | STATISTIČKA OBRADA PODATAKA | 22 |
| 4 | REZULTATI | 24 |
| 4.1 | PROMJENE BOJE I OBLIKA, ANALIZA STRUKTURE POVRŠINE TE OŠTEĆENJA POVRŠINSKE STRUKTURE MIKROSKOPOM | 24 |
| 4.2 | USPOREDBE IZMEĐU RAZLIČITIH TIPOVA VREĆICA | 32 |
| 4.3 | USPOREDBE PROMJENA MEHANIČKIH SVOJSTAVA RAZLIČITIH TIPOVA VREĆICA TIJEKOM IZLAGANJA ŠEST TJEDANA U RAZLIČITIM TIPOVIMA OKOLIŠA | 34 |
| 4.3.1 | <i>Bijela vrećica</i> | 34 |
| 4.3.2 | <i>Zelena vrećica</i> | 35 |

| | | |
|-------|--|----|
| 4.3.3 | <i>Smeđa vrećica</i> | 35 |
| 4.3.4 | <i>Plava vrećica</i> | 38 |
| 4.4 | KORELACIJE S OKOLIŠNIM PARAMETRIMA | 40 |
| 4.5 | RAZLIKE U RAZGRADNJI VREĆICA I RAZNOLIKOSTI MIKROBNIH ZAJEDNICA IZMEĐU DVA RAZLIČITA TRETIRANA TIPRA TLA | 42 |
| 5 | RASPRAVA | 46 |
| 6 | ZAKLJUČAK | 49 |

LITERATURA

ŽIVOTOPIS

KRATICE

CD – engl. *Cross direction*

DNA - Deoksiribonukleinska kiselina

HAOP – Hrvatska agencija za okoliš i prirodu

HDPE - polietilen visoke gustoće (engl. *High-density polyethylene*)

LDPE - polietilen niske gustoće (engl. *Low-density polyethylene*)

MD - engl. *Machine direction*

PET - polietilen tereftalat (engl. *Polyethylene terephthalate*)

PP - polipropilen (engl. *Polypropylene*)

PS - polistiren (engl. *Polystyrene*)

PVC- polivinil klorid (engl. *Polyvinyl chloride*)

RH – Republika Hrvatska

rRNA – Ribosomska ribonukleinska kiselina

SE - Sekundarni elektroni

1 UVOD

1.1 POVIJEST UPORABE PLASTIKE

Povijest razvoja umjetnih materijala veže se uz 1862. godinu kada je na Velikoj međunarodnoj izložbi u Londonu, Alexander Parkes demonstrirao prvu umjetnu „plastiku“. Materijal „Parkesine“ je organski materijal dobiven iz celuloze koji se zagrijavanjem može oblikovati i zadržati oblik kada se ohladi (Rasmussen, 2021.). Nešto kasnije, točnije 1868. godine, John Wesley Hyatt izumio je celuloid koji se koristio kao zamjena za bjelokost u proizvodnji biljarskih kugli. Kako bi napravio biljarske kugle najprije je pokušao iskoristiti prirodnu tvar koja se zove kolodion, međutim, nespretnim slučajem, boca u kojoj se čuvao kolodion se razbila te se tekućina osušila i pretvorila u čvrst i fleksibilan materijal (Meikle, 1995.). Obzirom da masa nije bila dovoljno jaka i čvrsta za izradu kugli za biljar dodao joj je kamfor te je dobio derivat koji se uz prikladnu temperaturu i tlak mogao oblikovati u trajni materijal. Nakon tog izuma, celuloid je postao poznat i kao fleksibilni fotografski film korišten za fotografije i filmove (Davis, 2015.).

Daljnijim unaprjeđenjem tehnologija proizvodnje umjetnih materijala (plastike) 1897. došlo je do izuma kazeinske plastike na način da su se mješali mliječni proteini s formaldehidom. Prvi patent za obradu formaldehidne smole, Arthur Smith dobio je 1899. godine kao zamjenu za ebonit u električnoj izolaciji. Do prekretnice dolazi 1907. godine kada je belgijski kemičar Leo Hendrik Baekeland poboljšanjem tehnika reakcije s fenol-formaldehidom izumio prvu potpuno sintetičku smolu koja je postala komercijalno uspješna pod trgovačkim imenom Bakelite. Karakterizirala ju je otpornost na vodu, otapala te činjenica da nije provodila struju (Meikle, 1995.).

Istraživanja su nastavljena i u sljedećim godinama tako da je 1920. godine, Hermann Staudinger sintetizirao prvi polistiren i objasnio od čega se sastoji polimerizacija, a 1933. godine kemičari Reginald Gibson i Eric Fawcett stvorili su termoplastičan polimer nazvan polietilen. Postepenim daljnjim istraživanjima u sljedećim desetljećima razvijen je polipropilen (Davis, 2015.).

Plastika općenito danas predstavlja nezamjenjiv i sveprisutan materijal, a njezina upotreba je izrazito široka i važna je u proizvodnji ambalaže, transportu, građevini, medicini, itd. Njezine su prednosti što je široko primjenjiva, cjenovno prihvatljiva, lagana, a istovremeno izdržljiva (Barić, 2015.). Prednosti i nedostaci plastike nikada nisu bile očitije suprotstavljene, nego tijekom

pandemije COVID-19, u kojoj plastika ima vrlo važnu ulogu u detekciji i sprječavanju širenja virusa, dok je istovremeno došlo do značajnog povećanja plastičnog otpada (Horton, 2022.).

Više riječi o samoj plastici, njezinom sastavu i svojstvima bit će rečeno kroz iduća poglavlja.

1.2 PLASTIKA – UMJETNI MATERIJALI IZ SINTETSKIH POLIMERA

Plastične mase su u pravilu polimeri, odnosno materijali dobiveni povezivanjem istih ili sličnih molekula u dugi lanac. Osnovne sirovine koje se koriste za sintezu polimera su sirova nafta, ugljen i zemni plin (Šola i sur., 2014.).

Mnogi polimeri predstavljaju sintetičke, odnosno umjetne materijale, međutim postoje i neki koje se nalaze u prirodi kao što je primjerice celuloza koja se pojavljuje u staničnim stjenkama biljaka (Hrvatska enciklopedija, 2018.).

1.2.1 Podjela plastike

Plastika je često višeslojna i sadrži različite vrste plastičnih materijala uz razne primjese te ljepljiva. Sukladno navedenom potrebne su posebne metode reciklaže ovisno o materijalu. Kako bi se takvi postupci olakšali definirane su brojčane oznake i kratice za polimerne materijale koje će biti prikazane u nastavku, a vrste plastike prema kratlici i identifikacijskom kodu prikazane su slikom 1.



Slika 1. Vrste plastike prema kratlici i identifikacijskom kodu (izvor: mrežna stranica Gradsko komunalno poduzeće Komunalac, Koprivnica).

Postoji sedam različitih tipova plastike te su oni prikazani na Slici 1, a to su:

1. PET - polietilen tereftalat (engl. *Polyethylene terephthalate*)

Predstavlja najčešće korištenu vrstu termoplastičnog polimernog materijala i u pravilu je namijenjena za jednokratnu upotrebu. Vrlo se lako može reciklirati, a produkt reciklaže su materijali za nove PET boce, te poliesterska vlakna koja se koriste za proizvodnju tekstila. Višekratna upotreba ove vrste plastike nije preporučljiva s obzirom da postoji mogućnost bakterijske kontaminacije.

2. HDPE - polietilen visoke gustoće (engl. *high-density polyethylene*)

Predstavlja termoplastični polimerni materijal koji se najčešće reciklira te se ujedno smatra i najsigurnijom vrstom umjetnog materijala pa je sukladno tome preporučljiva njezina višekratna upotreba. Radi se o izdržljivoj vrsti plastičnog materijala koji se koristi u proizvodnji predmeta široke upotrebe kao što su primjerice igračke te kante za otpad koje zahtijevaju dugotrajnu izdržljivost i otpornost na vremenske uvjete.

3. LDPE - polietilen niske gustoće (engl. *low-density polyethylene*)

Predstavlja relativno sigurnu vrstu termoplastičnog polimernog materijala za upotrebu, koja se može reciklirati, iako se u praksi do sada, to slabo provodilo. Najčešća upotreba ove vrste umjetnih polimera je za izradu plastičnih boca, vrećica, tkanina i namještaja.

4. PVC- polivinil klorid (engl. *polyvinyl chloride*)

Predstavlja vrstu termoplastičnog polimernog materijala koji se vrlo rijetko reciklira obzirom da su nusprodukti proizvodnje dioksidi koji su toksični kemijski spojevi. Obzirom na navedeno nije preporučljivo niti zagrijavanje hrane koja je pakirana u PVC ambalažu kako ne bi došlo do otpuštanja ovih spojeva. PVC ima široku primjenu pa se tako često upotrebljava za izradu ambalaže, namještaja, igračaka, auto dijelova, medicinskih pomagala pa sve do građevinskih materijala.

5. PP - polipropilen (engl. *polypropylene*)

Polipropilen ima dobra mehanička svojstva. Predstavlja čvrstu, laganu, otpornu vrstu termoplastičnog polimernog materijala otpornog na toplinu. Zbog navedenih svojstava ima široku

primjenu. Najčešće se upotrebljava za proizvodnju cijevi, laboratorijskog posuđa, kontejnera, armatura, kućišta, jednokratnih pelena, slamki i sl. Iako se može reciklirati, podaci pokazuju da se danas reciklira jako malo ove vrste plastike (Bagherzadeh i sur., 2012.).

6. PS - polistiren (engl. *polystyrene*)

Jedna od najčešće korištenih vrsta plastike. Pri zagrijavanju se otpušta stiren koji je štetan. Može se reciklirati, no recikliranje ove vrste plastike se slabo provodi (Wünsch, 2000.). Najčešća upotreba ove vrste plastike je za proizvodnju plastičnog posuđa, kartona za jaja, CD i DVD kućišta, kućišta za detektore dima, izolaciju i dr.

7. Ostale vrste polimernih materijala (BPA, polikarbonat, LEXAN...)

Ovoj kategoriji pripada sva plastika koja nije obuhvaćena prethodnim skupinama. Predstavlja vrlo heterogenu skupinu za koju ne postoji generalno pravilo o recikliranju. U ovu skupinu spada i nova generacija lako razgradive plastike, napravljene od bio-polimera (npr. škroba), koja obično dolazi s oznakom „PLA” ili natpisom „biorazgradivo” pored simbola s brojem 7 (Gradsko komunalno poduzeće Komunalac Koprivnica, 2019.).

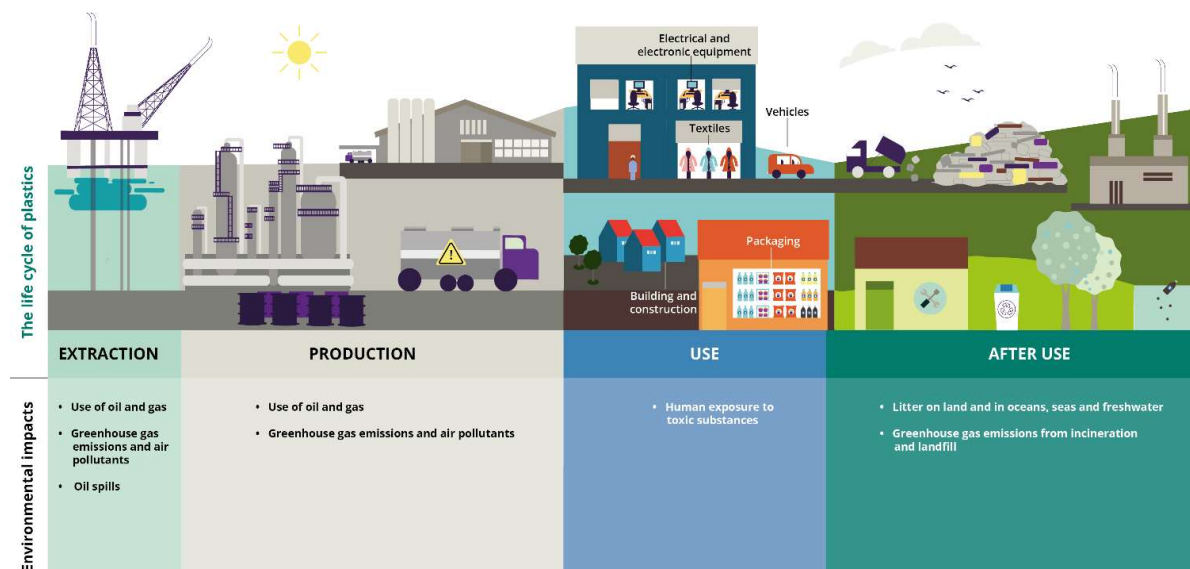
1.3 PLASTIKA I OKOLIŠ

Obzirom na prethodno poglavlje, jasno je kako je zbog svoje široke primjene i ekonomske isplativosti, proizvodnja plastike u stalnom porastu. Svake se godine u svijetu proizvede, ali i potroši sve više plastičnih materijala. Unatoč sve raširenijoj svijesti da prekomjerna uporaba i loše upravljanje plastikom dovode do globalne kontaminacije i štete za okoliš, proizvodnja plastike i dalje raste. Kumulativno, između 2005. i 2017. godine proizvedeno je više plastike nego u prethodnih 50 godina (Geyer i sur., 2017.). Na globalnoj razini, sustavi gospodarenja otpadom teško se nose s nastalim priljevom otpada, a procijenjeno je da je samo u 2016. godini preko 23 milijuna tona plastike dospjelo u vodene ekosustave (Borrelle i sur., 2020.). Čak i uz ambiciozne ciljeve smanjenja upotrebe, predviđa se da će se do 2030. godine ovaj iznos udvostručiti (Borrelle i sur., 2020.), s predviđenim povećanjem od 300-400% do 2050. godine (Geyer i sur., 2017.).

Proporcionalno rastu proizvodnje plastike raste i onečišćenje okoliša kao posljedica neadekvatnog gospodarenja. Negativni utjecaji plastike na okoliš u značajnom su porastu, a plastika je pronađena

u oceanima, na obalama i u šumama, planinama, špiljama, u slatkim vodama i sličnim ekosustavima.

Onečišćenje plastikom ugrožava oceane, sigurnost i kvalitetu hrane, zdravlje ljudi, turizam (Slika 2), te utječe na klimatske promjene. Odbačena ili loše pohranjena plastika u biosferi se putem oborina prenosi te najčešće završava u morima i oceanima. Ona se razgrađuje u sve manje djeliće – mikroplastiku. Plastika ima vrlo negativan utjecaj na okoliš te biljni i životinjski svijet. Mikroplastika predstavlja posebnu opasnost, pogotovo ako završi u vodoopskrbnom sustavu zbog poteškoća u njenom filtriranju i uklanjanju. Osim što je proces uklanjanja mikroplastike iz voda tehnički zahtjevan i skup proces, mikroplastiku jednom kada je ispuštena u jezera i mora teško je pratiti (Travaši sur., 2021.).



Slika 2. Utjecaji na okoliš prilikom proizvodnje i korištenja plastike (izvor:EAA, 2020.).

Povećanjem koncentracije mikroplastike u okolišu postoji i veća vjerojatnost njezine akumulacije u prehrambenim mrežama. Kao i kod makroplastike i makrofaune, mikroplastika može dovesti do zaplitanja i fizičkih smetnji organizama, a ukoliko se proguta može dovesti do zaplitanja crijeva, a time i do gladovanja kod nekih organizama (Cole i sur., 2011.; Wright i sur., 2013.; Ziajahromi i sur., 2017.). Nadalje, plastika se sastoji od mnoštva različitih kemikalija koji uključuju polimere, boje i plastifikatore, a većina njih ima toksična svojstva (Rochman i sur., 2019.; Zimmermann i sur., 2021.).

Kemijska i fizikalna svojstva usitnjenih čestica se ne mijenjaju već ostaju ista kao i kod ishodišnog materijala. Prema tome, mikroplastika ima dug životni vijek kao i plastika. Kako je plastika postala sastavni dio života ljudi, mogućnost unosa mikroplastike u organizam znatno je povećana. Unesene čestice mikroplastike mogu sedimentirati u respiratornim organima te izazvati intersticijske bolesti pluća, kronični bronhitis i oksidativni stres. Ukoliko se mikroplastika unosi dulji period, moguća je promjena kromosoma, neplodnost, pretilost i u krajnjem slučaju pojava tumora (Rist i sur., 2018.).

Reakcije organizma na plastiku su složene i ovise o karakteristikama plastičnog predmeta (kemijska struktura i aditivi, veličina, oblik, starost), veličini i načinu izlaganja te vrsti, životnom stadiju i osobinama organizma. Uvjeti okoliša također mogu igrati veliku ulogu u odgovorima organizma i ekosustava na plastiku kao rezultat djelovanja višestrukih stresora, kao što su zakiseljavanje oceana, zagrijavanje ili šira kontaminacija (Horton i Barnes, 2020.). S obzirom na nedostatak dosljednosti u istraživanjima učinaka mikroplastike među vrstama, nedostatak standardiziranih eksperimentalnih i istraživanja, te višestrukih načina izlaganja, ne možemo reći da još uvijek razumijemo dugoročne implikacije na okoliš ili ekološke učinke mikroplastike, posebno u kontekstu višestrukih različitih stresora.

Istraživanja plastike koja su u tijeku, posebno kada su preventivna (tj. ispitivanje materijala u razvoju ili ispitivanje ekološke opasnosti prema mogućim budućim scenarijima onečišćenja), pružit će nam znanje u sprječavanju stvaranja novih problema (Horton, 2022.).

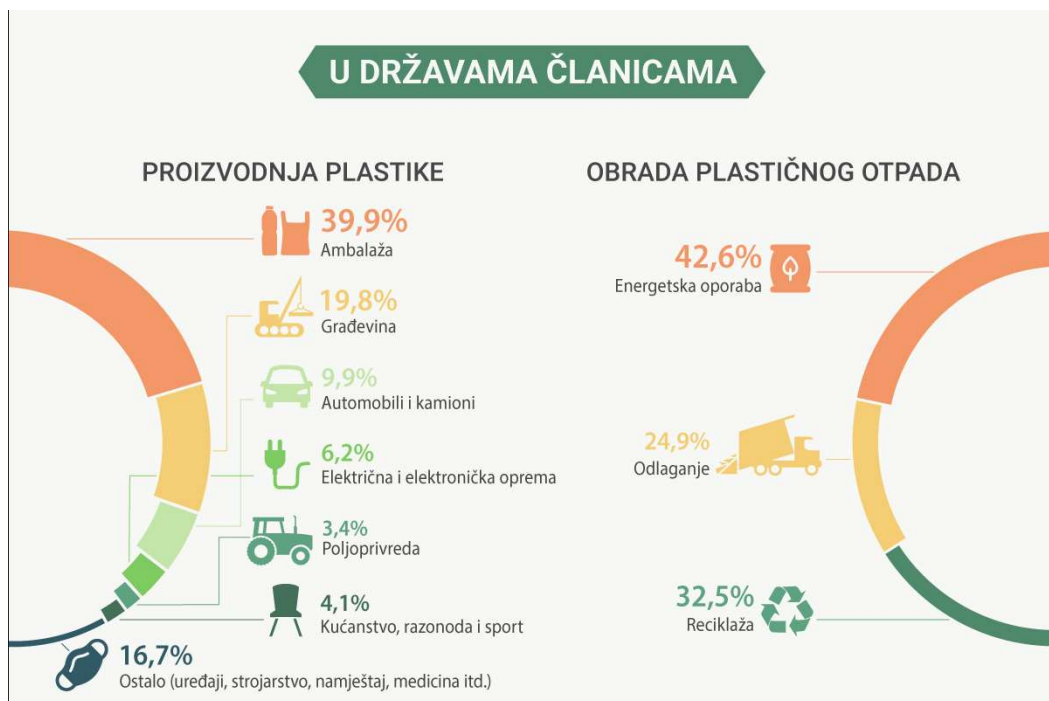
1.4 SUSTAV GOSPODARENJA PLASTIČNIM OTPADOM

Obzirom na prethodno navedeno te izuzetno široku primjenu, ali i posljedice koje upotreba plastike nosi, gospodarenje plastičnim otpadom od izuzetne je važnosti i potrebno je na njega gledati kao na posebnu kategoriju gospodarenja otpadom.

Sustav gospodarenja plastičnim otpadom podrazumijeva proces koji traje od njegova prikupljanja do obrade. Tri najpoželjnije metode zbrinjavanja polimernog otpada su smanjenje nastanka otpada (redukcija), ponovna upotreba i recikliranje (oporaba), te spaljivanje i odlaganje sukladno propisanoj hijerarhiji (Ptiček, 2012.), te uvođenje alternativa kao što je npr. biorazgradiva plastika.

1.4.1 Sustav gospodarenja otpadom u EU

Otpadna se plastika sve do nedavno iz zemalja Europske unije izvozila na Daleki Istok, navise na područje Kine, a manji se dio takvog otpada nakon upotrebe koristio unutar EU kao sirovina u određenim industrijama (Kružna ekonomija, 2019.). Obzirom da Kina te ostale zemlje Dalekog Istoka takav otpad više ne uvoze, zbog postavljenih restrikcija na uvoz otpada koje su uvedene u 2018. godini, otpadna plastika danas ostaje tamo gdje i nastaje (Kružna ekonomija, 2019.). S obzirom na navedeno, svaka država članica EU, što je prikazano na slici 3, ima relativno velike količine takvog otpada koji nema krajnjeg korisnika. Na takav način dolazi do problema nastanka tzv. „nezbrinute plastike“.



Slika 3. Proizvodnja i obrada plastike u državama članicama EU (izvor: Eurostat, Europska agencija za okoliš, 2018.).

Plastična ambalaža predstavlja vrstu ambalaže koja ima najnižu prijavljenu stopu recikliranja u EU-u, svega 42% u usporedbi s drugim materijalima. Primjerice, za metale (76%), papir i karton (83%) te staklenu ambalažu (73%) prijavljene su znatno više stope recikliranja (Europska komisija, 2018.).

Gospodarenje plastičnim otpadom regulirano je kroz nekoliko EU direktiva i strategija koje će biti prikazane u nastavku.

Kako bi se EU približila kružnom gospodarstvu te samim time doprinijela i postizanju UN-ovih ciljeva održivog razvoja (UN, The sustainable development goals), Europska komisija odobrila je u siječnju 2018. strategiju za plastiku (Europska strategija za plastiku u kružnom gospodarstvu, 2018.). Navedenom strategijom predložene su mjere za povećanje mogućnosti recikliranja te za poboljšanje prikupljanja, razvrstavanja, reciklaže i recikliranog sadržaja plastičnih proizvoda. Također, izmjenom EU Direktive o ambalaži i ambalažnom otpadu iz 2018. utvrđene su nove ciljne vrijednosti za recikliranje plastične ambalaže za 2025. (50%) i 2030. godinu (55%) (Europski revizorski sud, 2020.). Smatra se da bi se takvim novim i strožim pravilima o izvješćivanju vjerojatno omogućilo smanjenje prosječne prijavljene stope recikliranja plastične ambalaže u EU-u, a prema procjenama iz relevantnih sektora to bi moglo značiti pad ukupnog udjela plastičnog otpada s 41% na 32% – 29% (Europski revizorski sud, 2020.).

Sustav gospodarenja otpadom u Hrvatskoj temeljen je na EU aktima te nacionalnim strateško-planskim dokumentima. Zakonski okvir za područje gospodarenja otpadom na području Republike Hrvatske čine strateško-planski dokumenti, međunarodni ugovori i akti Europske unije i nacionalni propisi za područje gospodarenja otpadom. Sve navedeno zajedno čini zakonski okvir koji se odnosi na gospodarenje otpadom u RH, dakle sve ono što je samostalno doneseno na nacionalnoj razini zajedno sa zakonskim okvirom koje nalaže Europska unija, a koje RH mora implementirati i provesti kroz zakonodavstvo i u praksi (MINGOR, 2021.).

U 2014. godini ukupno evidentirane količine proizvedenog otpada (komunalnog i proizvodnog) iznosile su oko 3,7 milijuna tona što je za 10,5% više u odnosu na 2012. godinu (MINGOR, 2020.). U ukupnoj količini otpada proizvedenog u Hrvatskoj, 97% čini neopasni otpad, dok preostalih 3% čini opasni otpad (MINGOR, 2020.). Dugogodišnji rast količina proizvedenog komunalnog otpada u RH zaustavljen je 2008. godine, nakon čega do 2010. godine slijedi smanjenje prijavljenih količina, koje nadalje uglavnom stagniraju, s izuzetkom 2013. godine, kada se uslijed sanacije divljih odlagališta bilježe ipak nešto veće količine proizvedenog komunalnog otpada (MINGOR, 2020.). Od 2011. godine nadalje u ukupne količine komunalnog otpada ubrajaju se i količine koje potječu iz uslužnog sektora, a koji se smatraju komunalnim otpadom (otpadni papir i karton, ambalažni otpad itd.) (MINGOR, 2020.).

Stanje po pitanju gospodarenja otpada na području Republike Hrvatske je nezadovoljavajuće. Osim manjka truda kako vladajućih tako i stanovnika problemi koji onemogućavaju uspostavu

učinkovitog sustava gospodarenja otpadom su i financijski problemi, prostorni problemi, ilegalna odlagališta, loše provedbe Europskog zakonodavstva i sl. (MINGOR, 2020.).

U svrhu ispunjenja ciljeva gospodarenja otpadom, podružnica Čistoća u 2018. godini nabavila je nove komplete podzemnih spremnika s hidrauličkom platformom za odvojeno prikupljanje otpada; te započela podijelom i sakupljanjem „žutih vrećica“ za odvajanje plastičnog otpada. (Zagrebački holding d.o.o., 2021). Prema Izvješću o održivosti Grupe Zagrebački holding d.o.o. tijekom 2020. godine sakupljeno je 97,26% više plastičnog otpada nego u 2019. godini, na što je značajno utjecala i pandemija COVID-19 virusa te je smanjen broj javnih i privatnih okupljanja kao i društvenih događanja.

1.5 BIORAZGRADIVA PLASTIKA

Kao odgovor na onečišćenje plastikom i velikim količinama ambalažnog otpada koji nastaje u svijetu razvijene su biorazgradive vrećice. Raznolikost biorazgradivih materijala i njihova različita svojstva otežavaju izradu jednostavnih, generičkih procjena kao što su: biorazgradivi proizvodi svi su „dobri“ ili su svi proizvodi na bazi petrokemije „loši“ (Song i sur., 2009.). Nakon rane faze pilot-postrojenja u 1990-ima, naknadno povećanje proizvodnje biorazgradive (bio)plastike od strane malih specijaliziranih i etabliranih tvrtki od 2000. godine je doseglo industrijsku razinu, a značajan udio nove biorazgradive plastike sada je obnovljivog, a ne petrokemijskog podrijetla. Ovisno o podrijetlu, biorazgradivi polimeri se mogu klasificirati ili na biološkoj ili petrokemijskoj bazi (Song i sur., 2009.). Biorazgradivi polimeri su uglavnom biorazgradivi po prirodi i proizvedeni od tvari prirodnog podrijetla (biljke, životinje ili mikroorganizmi) kao što su polisaharidi (npr. škrob, celuloza, lignin i hitin), proteini (npr. želatina, kazein, pšenični gluten, svila i vuna) i lipidi (npr. biljna ulja i životinjske masti), dok biorazgradivi polimeri petrokemijskog podrijetla kao što su alifatski poliesteri (npr. PLA i PCL), aromatski kopoliesteri (npr. PHB) i poli(vinil alkohol) proizvode se sintezom iz monomera dobivenih petrokemijskom rafinacijom, koji posjeduju određene stupnjeve esencijalne biorazgradivosti (Song i sur., 2009.). Biorazgradive vrećice su ekološki prihvatljiv proizvod koji je stabilan pri različitim atmosferskim uvjetima, a u tlu i prilikom kompostiranja se potpuno razgrađuje na CO₂ i vodu za u prosjeku šest tjedana (ASTM standard D5338). Za razgradnju vrećica potrebne su određene bakterije kojih nema u uvjetima klasičnog skladištenja vrećica kod kuće, u tvornici ili na klasičnom skladištu tako da ne postoji mogućnost

da se vrećice počnu razgrađivati ili gubiti na čvrstoći dok su u uporabi (Sorrentino i sur., 2007.). Osnovna sirovina koja se najčešće koristi je poliester dobiven iz dekstroze kukuruza. Proizvod je iznimno elastičan i nema negativnih učinaka na ljudsko zdravlje (ASTM standard D5338). Osim performansi i cijene, biorazgradiva plastika mora ponuditi prednosti za sustave gospodarenja otpadom kako bi ostvarila opću korist, te bi mogla poslužiti kao moguće rješenje za pretrpana odlagališta otpada.

Brojni polimeri na tržištu dizajnirani su tako da budu razgradivi, tj. fragmentiraju se na manje dijelove i mogu se čak razgraditi do ostataka nevidljivih golim okom. Iako se pretpostavlja da će se proizvodi razgradnje na kraju biorazgraditi, nema podataka koji bi dokumentirali potpunu biorazgradljivost u razumno kratkom vremenskom razdoblju. Stoga hidrofobni plastični ostaci velike površine potencijalno mogu migrirati u vodu i druge dijelove ekosustava (Song i sur., 2009.). Utjecaj biorazgradive mikroplastike na okoliš gotovo je u potpunosti neistražen (Qin i sur., 2021.).

2 CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Cilj istraživanja bio je ispitati razgradivost nekoliko različitih vrsta deklariranih biorazgradivih vrećica koje su dostupne na tržištu na području Republike Hrvatske, u različitim realnim okolišnim uvjetima. Uzorci odabranih biorazgradivih vrećica, te plastične vrećice izloženi su u tlu, u kućnom kompostu, u slatkovodnoj vodi te na zraku. Izabrani okolišni uvjeti odgovaraju onim uvjetima u kojima se pretpostavlja da komercijalne jednokratne plastične i/ili biorazgradive vrećice najčešće mogu završiti obzirom na načine odlaganja i gospodarenje ovim tipom otpada.

Uz navedeno, cilj istraživanja je ispitati razgradnju vrećica u različitim uzorcima tla: 1) u gnojnom i herbicidima tretiranom tlu i 2) u netretiranom tlu, čime se želi vidjeti pospješuje li tretiranje tla gnojidom i herbicidima te sam sastav mikrobnih zajednica razgradnju materijala.

Hipoteze istraživanja su sljedeće:

- H1: postoje značajne razlike u promjeni mehaničkih svojstava različitih tipova vrećica prilikom izlaganja u različitim tipovima okoliša, pri čemu izlaganje u kompostu i tlu dovodi do najbrže razgradnje (tj. najveće promjene mehaničkih svojstava).

- H2: promjena mehaničkih svojstava vrećica značajno je brža u tretiranom tlu naspram netretiranog tla.
- H3: raznolikost i abundancija mikrobnih zajednica značajno se razlikuje između tretiranog i netretiranog tipa tla.

3 MATERIJALI I METODE

3.1 ODABIR VREĆICA ZA ISTRAŽIVANJE

Za potrebe istraživanja odabrane su tri vrste biorazgradivih vrećica komercijalno dostupnih na hrvatskom tržištu, a čija će promjena mehaničkih svojstava biti uspoređena s komercijalno dostupnom plastičnom vrećicom. Za potrebe istraživanja, kao uzorci korištene su:

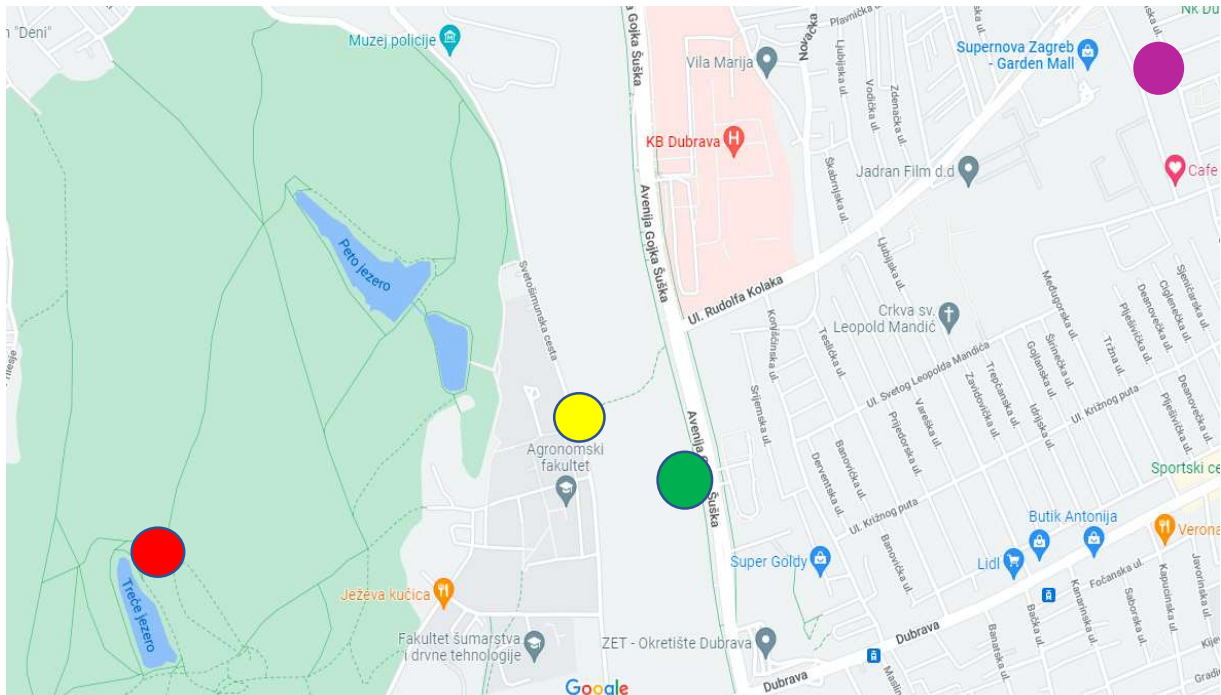
- Biorazgradiva vrećica Zagrebačkog holdinga
- SPAR biorazgradiva vrećica
- Profissimo biorazgradiva vrećica (DM)
- Plastična vrećica koja će se koristiti kao kontrola

Korištene biorazgradive vrećice imaju oznaku kompostabilnih vrećica prema normama Europske unije (Choe i sur., 2021.). U daljnjem tekstu navedene vrećice nazivamo 'bijela', 'zelena', 'smeđa' i 'plava', kako ne bismo isticali njihov identitet. Za potrebe istraživanja vrećice su nabavljene u trgovinama.

3.2 IZLAGANJE VREĆICA U OKOLIŠU

Istraživanje promjena mehaničkih svojstava (razgradnje) navedena četiri tipa vrećica provedeno je u ukupno pet različitih tipova okoliša i okolišnih uvjeta. Sva izlaganja obavljena su istovremeno, u razdoblju od 28.05.2021. do 09.07.2021. godine (6 tjedana), i bila su locirana unutar radijusa od 5 km od parka Maksimir (Slika 4). Izlaganja u svim tipovima okoliša trajala su ukupno 6 tjedana, pri čemu je ukupno bilo izloženo 6 uzoraka vrećica svakog tipa (bijela, zelena, smeđa i plava) prema procedurama opisanim u slijedećim poglavljima. Po 3 uzorka vrećice svakog tipa (triplikati) uzorkovane su nakon tri tjedna izlaganja te preostala 3 uzorka vrećica svakog tipa šest tjedana nakon početka izlaganja, što smartamo periodom poluraspada biorazgradive vrećice (ASTM standard D5338). Također, kod nekih korištenih vrećica period od 6 tjedana je izričito naveden

kao period njihove razgradnje. Kao kontrolne skupine 2 uzorka svakog tipa vrećice držane su u sobnim uvjetima.



Slika 4. Lokacije vrećica postavljenih za uzorkovanje – crvena (u vodi), žuta (netretirano tlo), zelena (tretirano tlo) i ljubičasta (kompost i zrak.)

3.2.1 Izlaganje u tlu

Uzorci svakog tipa vrećica su izloženi na pokušalištu Agronomskog fakulteta u Maksimiru u tlo koje je bilo redovito tretirano mineralnim gnojivima i herbicidima (Tablica 1) za potrebe uzgoja kukuruza (u daljnjem tekstu tretirano tlo), te između redova aromatičnog i ljekovitog bilja u tlu koje se ne tretira nikakvim pesticidima i ne gnoji mineralnim gnojivima (u daljnjem tekstu netretirano tlo). Obje plohe (tretirana i netretirana) nalaze se unutar istog pokušališta. Ukupno 6 komada svakog tipa vrećica postavljeno je u „kaveze“ promjera okca 0,5 mm kako bi uzorci bili zaštićeni od većih kukaca i malih glodavaca (Slika 5.), sukladno prijašnjim istraživanjima (Napper i Thompson, 2019.). Svaki kavez bio je dimenzija 20x50x100 cm, za koji je najprije iskopana jama odgovarajuće dimenzije i zatim su u nju posloženi uzorci vrećica i zatrpani zemljom. Na ovaj način svaki uzork vrećice bio je izložen na istoj dubini od 20 cm.



Slika 4. Postavljenje uzoraka u tretirano(lijevo) i netretirano (desno) tlo (izvor: Martina Fileš, 2021.).

Tablica 1 Dodane količine mineralnih gnojiva i herbicida 2019. – 2021.

| | Trgovačko ime | Aktivna tvar | Doza |
|---------------------|----------------------|--|-------------|
| Godina 2021. | | | |
| Mineralno gnojivo | KAN | 27% N | 200 kg/ha |
| Mineralno gnojivo | NPK | 7%N:20%P:30%K | 400 kg/ha |
| Herbicid | ADENGO SC 250 ml | Tienkarbazon-metil 90 g/L, Izoksaflutol 225 g/L | 0,44 l/ha |
| Godina 2020. | | | |
| Mineralno gnojivo | KAN | 27% N | 200 kg/ha |
| Mineralno gnojivo | NPK | 7%N:20%P:30%K | 400 kg/ha |
| Herbicid | ADENGO SC 250 ml | Tienkarbazon-metil 90 g/L, Izoksaflutol 225 g/L | 0,44 l/ha |
| Godina 2019. | | | |
| Mineralno gnojivo | KAN | 27% N | 200 kg/ha |

| | | | |
|-------------------|-----------------|-------------------------------------|-----------|
| Mineralno gnojivo | NPK | 7%N:20%P:30%K | 400 kg/ha |
| Herbicid | HERKULES 480 SL | glifosat 480 g/l | 8 l/ha |
| Herbicid | Dual Gold 960EC | 960 g/l S-metolaklor | 0,75 l/ha |
| Herbicid | SENCOR SC 600 | Metribuzin, 600 g/l (52,17 %w/w) | 0,45 l/ha |

3.2.2 Izlaganje u kompostu

Uzorci svih tipova vrećica su postavljeni u staklene akvarije dimenzija 30x30x50 cm koji su bili ispunjeni kompostom te pokriveni zaštitnom folijom (Slika 6.). Kako bi se stvorili uvjeti odnosno imitacija uvjeta kompostera akvariji s uzorcima čuvani su u vanjskim okolišnim uvjetima (na terasi obiteljske kuće).



Slika 5. Uzorci izloženi u kompostu (izvor: Martina Fileš, 2021.).

3.2.4 Izlaganje u slatkovodnom okolišu

Uzorci svakog tipa vrećica su postavljeni u treće jezero u Maksimiru u mrežaste vrećice potopljene pod težinom kamenja, također postavljenog unutar mrežaste vrećice (Slika 7). Vrećice su u jezero postavljene u dogovoru i uz nadzor djelatnika javne ustanove Maksimir.



Slika 6. Treće Maksimirsko jezero - uzorci izloženi u slatkovodnom okolišu (Izvor: Martina Fileš, 2021.).

3.2.5 Izlaganje na zraku

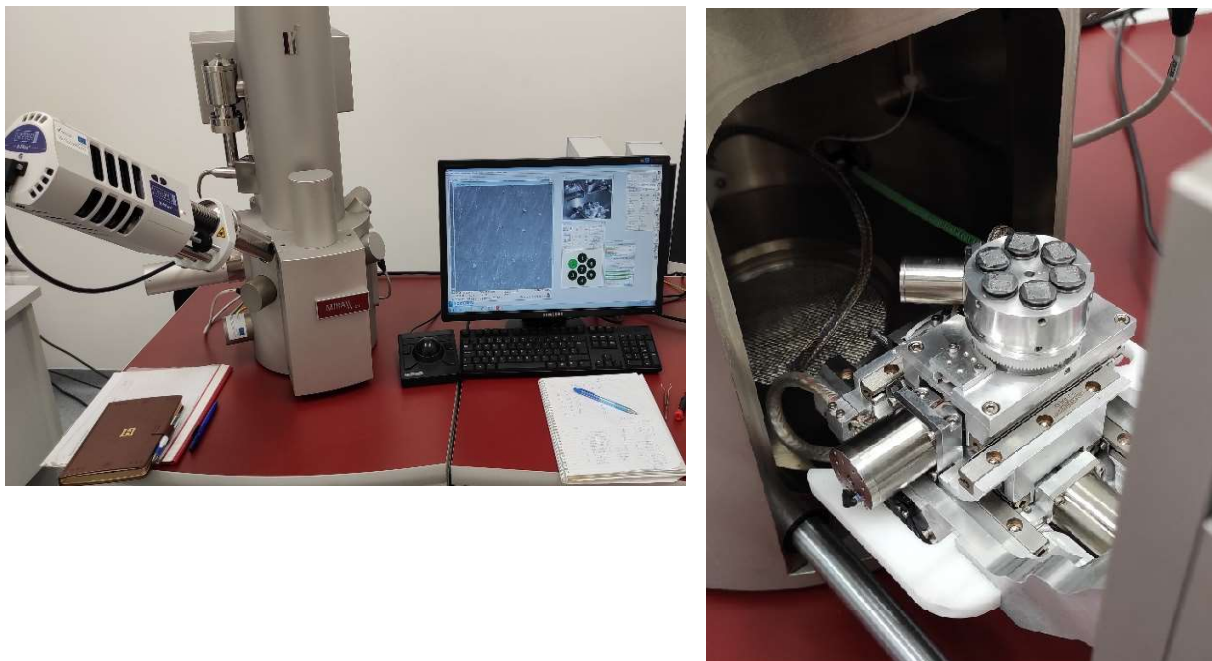
Uzorci su izloženi na zapadnoj terasi obiteljske kuće koja se nalazi u radijusu od 5 km od parka Maksimir na konopu za sušenje rublja.

3.3 MJERENJE PARAMETARA RAZGRADNJE (MEHANIČKIH KARAKTERISTIKA VREĆICE)

Prikupljeni uzorci (3 komada svakog tipa vrećica) izvađeni su iz okoliša nakon 3 tjedna, te nakon 6 tjedana i preneseni u klimatizirani Laboratorij za fizikalno-mehanička ispitivanja Sveučilišta u Zagrebu Tekstilno-tehnološkog fakulteta gdje su mjereni razni parametri mehaničke razgradnje vrećica, opisani niže u tekstu.

3.3.1 *Promjene boje i oblika, analiza strukture površine te oštećenja površinske strukture*

Sukladno prijašnjim istraživanjima (Ruggero i sur., 2019.; Napper i Thompson, 2019.), ovi su parametri promatrani vizualno i kvalitativno, fotografiranjem vizualnih promjena materijala korištenjem Dino-Lite AM 413 ZT mikroskopa s polarizacijskim filterom (povećanje 60x), te mikroskopiranjem skenirajućim elektronskim (SEM mikroskopom) pri povećanju od 100, 500, 1500 i 3000 puta kako bi se dobio detaljniji uvid u nastala oštećenja polimernog materijala. Za potrebe skeniranja elektronskim mikroskopom odabrane su zelena i smeđa vrećica, obzirom da su na smeđoj vrećici golim okom bile jasno vidljive promjene nakon izlaganja, dok na zelenoj vrećici (unatoč tome što je navedena kao biorazgradiva vrećica), niti nakon 6 tjedana nisu bile vidljive promjene. Postupak analize površine biorazgradivih testiranih uzoraka odrađen je od strane dr. sc. Zorane Kovačević sa Zavoda za tekstilnu kemiju i ekologiju, Sveučilišta u Zagrebu Tekstilno-tehnološkog fakulteta. Za potrebe analize, uzorci su izrezani na oblik trokuta i kvadrata te nasumično postavljani na obostrano ljepljivu karbonsku traku. Nakon toga, uzorci su neparivani kromom u uređaju QUORUM Q150Tes u trajanju od 2 minute. S obzirom da polimeri nemaju provodnost bilo je potrebno provesti postupak neparavanja kako bi dobili jasnu i dobro vidljivu SEM sliku. Nakon pripreme uzorci su postavljeni u 7 kalupa, a ukupno je analizirano 14 uzoraka pod SEM mikroskopom Mira II LMU – FE-SEM MIRA II LMU (Tescan, Češka.). Sam mikroskop (Slika 8.) pomoću kojeg se može napraviti slika povećana do 1000000 puta. Međutim za potrebe diplomskog rada napravljena su povećanja fotografije pri povećanju od 100, 500, 1500 i 3000 puta, a iznimno je smeđi uzorak koji je nakon šest tjedana izvađen iz komposta snimljen i na povećanju od 10000 puta obzirom na jasno vidljive i velike degradacije na površini. U rezultatima ovog rada prikazane su samo odabrane snimke pri povećanju od 500 i 3000 puta.



Slika 7. Mikroskopiranje SEM mikroskopom (izvor: Martina Fileš, 2021.)

3.3.2 Plošna masa uzorka

Plošna masa (gm^{-2}) uzorka određena je rezanjem dijela svake vrećice pomoću kružnog rezača promjera od 10 cm koji množenjem sa 100 daje površinu od 1 m^2 (Slika 9). Masu sam mjerila na svakom tipu vrećice na kontrolnoj vrećici i te na istom tipu vrećice nakon izlaganja, sukladno normi ISO 17554:2014 ranijim istraživanjima (Napper i Thompson, 2019.).



Slika 8. Priprema uzorka za određivanje plošne mase (izvor: Martina Fileš, 2021.)

3.3.3 Vlačna prekidna sila i prekidno istezanje (elongacija)

Vlačna prekidna sila (F) i prekidno istezanje (E) izmjerena je za svaki tip uzorka i svako uzorkovanje prema normi ISO 527-1:2019 pomoću TensoLab 3000 dinamometra. TensoLab dinamometar je uređaj koji mjeri maksimalne sile i istezanja pri maksimalnoj sili. Ovim smom uređajem pratili promjene u kvaliteti i čvrstoći pojedinih vrećica te na koji je način izlaganje u raznim tipovima okoliša utjecalo na mehanička svojstva vrećica. Prema ISO normi, uzorke za ispitivanje vlačne čvrstoće vrećica sam izrezala na dimenziju 250×1.000 mm po 5 uzoraka uzdužno (engl. *Machine direction*; MD) i 5 uzoraka poprečno (engl. *Cross direction*; CD) (Slika 10) te sam ih zatim postavila u stezaljke dinamometra. Brzina istezanja postavljena je na 300 mm/min sukladno gore navedenoj ISO normi. Uzorkovanje i ispitivanje je provedeno uz uz nadzor asistentice mag. ing. techn. text. Anje Ludaš, na Zavodu za materijale, vlakna i ispitivanje tekstila na Sveučilištu u Zagrebu Tekstilno-Tehnološkom fakultetu.



Slika 9. Priprema uzoraka za ispitivanje prekidne sile i prekidnog istezanja metodom trake (izvor: Martina Fileš, 2021.).

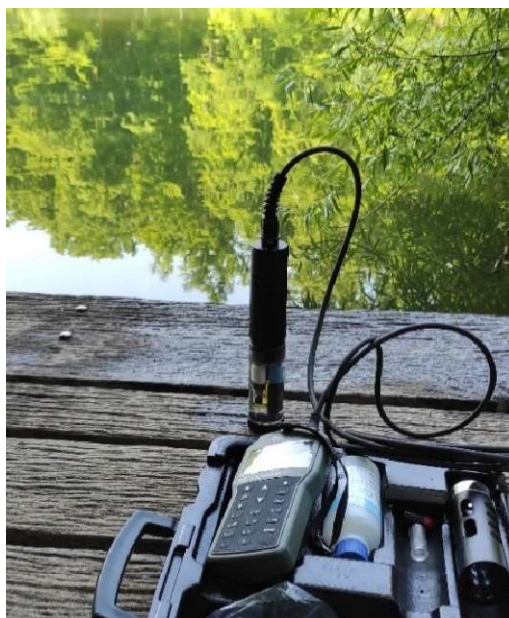
3.3.4 Određivanje tališta uzoraka

Taljenje termoplastičnih polimera svojstvo je koje ovisi o strukturi, a s obzirom da se kod polimera obično ne javlja jasna temperatura tališta, kao kod na primjer tvari male molekularne mase prilikom zagrijavanja opaža se raspon temperature taljenja (ASTM standard D5338). Raspon temperature opaža se od prve promjene oblika do promjene u viskoznu ili tekuću tvar. Sam raspon taljenja ovisi o brojnim parametrima, kao što su molekularna masa, raspodjela molekularne mase, postotak kristalnosti i termodinamička svojstva. Prema određenom rasponu temperature tališta moguće je odrediti sirovinski sastav. U laboratoriju za fizikalno-mehanička ispitivanja Sveučilišta u Zagrebu

Tekstilno-tehnološkog fakulteta provedeno je taljenje svih uzoraka u početnom stanju (kontrolna skupina, držana na sobnoj temperaturi) te nakon šestotjednog izlaganja u kompostu, u kojem su očekivane najveće promjene s obzirom na razgradnju, prema normi ISO 3146:2000. Taljenje sam provela primjenom mikroskopa za određivanje tališta (uz povećanje 100x), postavljanjem uzorka trokutastog oblika na zagrijanu podlogu (na određenu temperaturu), kako bi taljenje bilo uočljivije. Sastavni dio mikroskopa je termometar pomoću kojeg se bilježi temperatura pri kojoj je uočena promjena odnosno pri kojoj dolazi do taljenja termoplastičnog polimera.

3.4 PRIKUPLJANJE OKOLIŠNIH PODATAKA

Tijekom izlaganja vrećica prikupljala sam okolišne podatke jednom tjedno. Pomoću termometra, mjerila sam temperaturu vode i tla; a pomoću pH metra HI9813, pH vode i tla (Slika 11). Od DHMZ-a sam zatražila meteorološke podatke sa meteorološke postaje u Maksimiru za razdoblje 28.05.2021. - 09.07.2021. Od dobivenih podataka koristila sam one koje sam smatrala najznačajnijima za potrebe izrade diplomskog rada, odnosno one za koje sam pretpostavljala da najznačajnije mogu utjecati na razgradnju vrećica: srednja dnevna temperatura, srednja dnevna naoblaka, srednji dnevni tlak zraka u postaji, dnevna suma sijanja sunca, dnevna količina isparavanja, dnevne vrijednosti temperature tla na dubini od 2 cm, dnevne vrijednosti temperature tla na dubini od 20 cm.








Slika 10. Određivanje pH vode (izvor: Martina Fileš, 2021.).

3.5 ANALIZA RAZNOLIKOSTI MIKROBNIH ZAJEDNICA U UZORCIMA TLA

Pri zadnjem uzorkovanju prikupljeni su i uzorci tla s površine svakog tipa vrećice u tretiranom i netretiranom tlu te iz dijela tla u kojem nisu bile izložene vrećice. Uzorke sam uz pomoć doc. dr. sc. Sandre Hudina i kolegice Sare Šariri prikupila pomoću sterilne žlice, te su uzorci tla sa svakog tipa vrećice iz istog tipa tla (tretirano ili netretirano) pomiješani u kompoziti uzorak, te pohranjeni na -20 °C do daljnih analiza. Zatim sam iz svakog kompozitnog uzorka, uzela po dva uzorka od odprilike 500 mg (replikati) iz kojih sam izolirala DNA (ukupno 20 uzoraka; Slika 12). Izolacija DNA provedena je u laboratoriju na Zavodu za istraživanje mora i okoliša pri Institutu Ruđer Bošković, korištenjem NucleoSpin Soil kitom (Macherey-Nagel, Njemačka) prema protokolu opisanom na slici 13. Kvaliteta izolirane DNA provjerena je elektroforezom u 1%-tnom agaroznom gelu. Koncentracija dobivenih uzoraka mjerena je u laboratoriju Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta u Zagrebu na uređaju: Quantus™ Fluorometar (Promega, SAD). Uzorci s adekvatnom koncentracijom ukupne DNA (Tablica 2) poslani su na sekvenciranje na Illumina MiSeq platformi u komercijalni servis (MR DNA), gdje je sekvenciran V4 amplicon 16S rRNA gena.



Slika 11. Postupak izolacije DNA iz uzorka (Izvor: Martina Fileš, 2021.).

| | | | |
|-----------|---|---|---|
| 1 | Priprema uzorka | | MN Kiveta sa staklenim kuglicama A 250–500 mg uzorak 700 µL SL1 or SL2 |
| 2 | Prilagodba uvjeta lize | | 150 µL pojačivač SX |
| 3 | Liza uzorka | | Horizontalno vorteksirajte 5 min na sobnoj temperaturi |
| 4 | Precipitirati kontaminante |  | 11,000 x g, 2 min 150 µL SL3 Vorteksirati 5 s 0–4 °C, 5 min 11,000 x g, 1 min |
| 5 | Filtracija lizata |  | Napunite supernatant u NucleoSpin® kiveta za uklanjanje inhibitora (crveni prsten) 11,000 x g, 1 min |
| 6 | Prilagodba uvjeta vezanja | | 250 µL SB Vorteksirati 5 s |
| 7 | Vežanje DNA |  | Napuniti 550 µL uzorka NucleoSpin® Soil kiveta (zeleni prsten) 11,000 x g, 1 min Napuniti ostatkom uzorka 11,000 x g, 1 min |
| 8 | Ispriranje silicijevom membranom | | 1st 500 µL SB 11,000 x g, 30 s 2nd 550 µL SW1 11,000 x g, 30 s 3rd 650 µL SW2 11,000 x g, 30 s Vorteksirati 2 s 4th 650 µL SW2 11,000 x g, 30 s Vorteksirati 2 s |
| 9 | Sušenje silicijeve membrane |  | 11,000 x g, 2 min |
| 10 | Eluirati DNA |  | 30–100 µL SE RT, 1 min 11,000 x g, 30 s |

Slika 12. Protokol izolacije DNA korišten za potrebe izrade diplomskog rada (Izvor: Machery-Nagel GmbH & Co.KG

Tablica 2 Popis uzoraka za koje je provedena izolacija DNA i koji su odabrani za sekvenciranje s obzirom na koncentraciju DNA

| Broj uzorka | Opis | Masa uzorka zemlje (g) | Koncentracija DNA nakon izolacije (ng/uL) |
|-------------|------------------------------------|------------------------|---|
| S1 | Kontrola - tretirano tlo 1 | 0,51 | 15 |
| S2 | Kontrola - netretirano tlo 1 | 0,51 | 22 |
| S3 | Tretirano tlo – Bijela vrećica 1 | 0,53 | 14 |
| S4 | Tretirano tlo – Bijela vrećica 2 | 0,53 | 17 |
| S5 | Netretirano tlo – Bijela vrećica 1 | 0,52 | 22 |
| S6 | Netretirano tlo – Bijela vrećica 2 | 0,51 | 20 |
| S7 | Tretirano tlo – Smeđa vrećica 1 | 0,54 | 14 |
| S8 | Tretirano tlo – Smeđa vrećica 2 | 0,50 | 19 |
| S9 | Netretirano tlo – Smeđa vrećica 1 | 0,52 | 20 |
| S10 | Netretirano tlo – Smeđa vrećica 2 | 0,54 | 28 |
| S11 | Tretirano tlo – Zelena vrećica 1 | 0,51 | 14 |
| S12 | Tretirano tlo – Zelena vrećica 2 | 0,50 | 11 |
| S13 | Netretirano tlo – Zelena vrećica 1 | 0,49 | 20 |
| S14 | Netretirano tlo – Zelena vrećica 2 | 0,50 | 20 |
| S15 | Tretirano tlo – Plava vrećica 1 | 0,54 | 8,7 |
| S16 | Tretirano tlo – Plava vrećica 2 | 0,53 | 11 |
| S17 | Netretirano tlo – Plava vrećica 1 | 0,49 | 21 |
| S18 | Netretirano tlo – Plava vrećica 2 | 0,50 | 30 |
| S19 | Kontrola – tretirano tlo 2 | 0,50 | 15 |
| S20 | Kontrola - netretirano tlo 2 | 0,51 | 24 |

3.6 STATISTIČKA OBRADA PODATAKA

Razlike u izmjerenim parametrima fizikalno-mehaničkih svojstava (prekidna sila i prekidno istežanje (elongacija), te plošna masa) u uzdužnom (engl. *machine direction*, MD) i poprečnom (engl. *cross direction*, CD) smjeru, ispitane su korištenjem neparametrijskih metoda s obzirom da je veličina uzorka bila mala (5 mjerenja po tipu vrećice u svakom okolišu). Usporedbe između različitih tipova vrećica i izlaganja u različitim okolišima, te kroz tjedne izlaganja napravljena su

korištenjem neparametrijskog test Kruskal-Wallis ANOVA, te post-hoc Dunn testa. U slučajevima kada je neki uzorak nedostajao (npr. zbog velikog stupnja razgradnje uzorak bijele i smeđe vrećice nakon 6 tjedana u kompostu) usporedba između kontrolne i izložene skupine (nakon 3 tjedna izlaganja) napravljena je korištenjem Mann-Whitney U testa. Korelacije između mjerenih parametara mehaničke razgradnje vrećica i okolišnih varijabli ispitane su korištenjem Spearman korelacije.

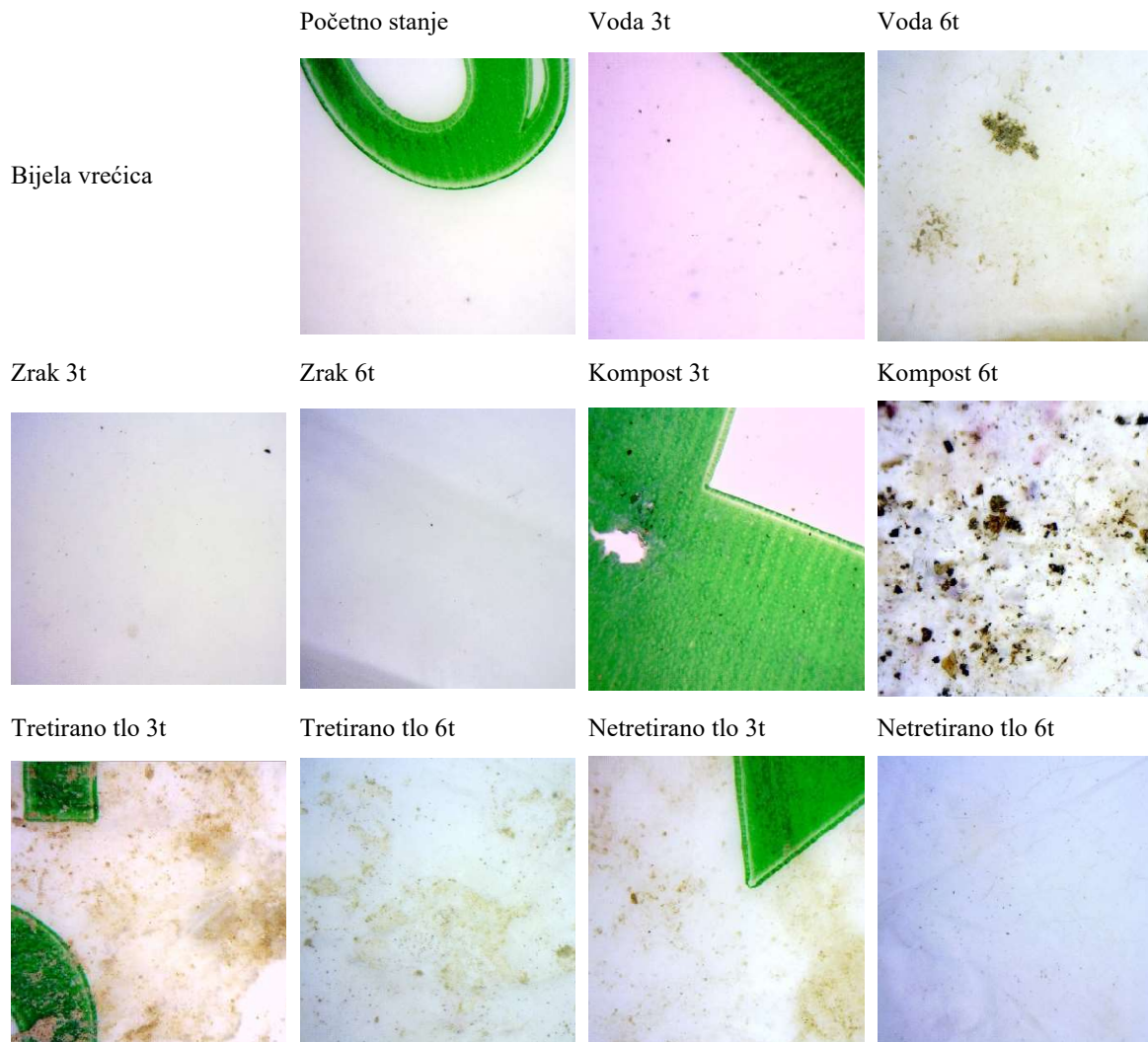
Bioinformatička predobrada sekvenci sastojala se od filtriranja sekvenci na temelju kvalitete, uklanjanja kimera, kao i sekvenci koje se pojavljuju samo jednom u uzorcima. S obzirom da se radi o uparenom sekvenciranju krajeva (engl. paired-end sequencing), uparene sekvence spojene su u jednu na temelju preklapajućih baza. Dubina uzorkovanja od 184.945 sekvenci određena je za analize alfa i beta raznolikosti na temelju alfa rarefakcijske krivulje. Analizom alfa i beta raznolikosti uspoređena je raznolikost između tretiranog i netretiranog tla, te između uzoraka tla (kontrola) i uzoraka tla koje se nalazilo između samih vrećica. Analize alfa raznolikosti temeljile su se na broju uočenih različitih varijanti amplikonskih sekvenci (engl. amplicon sequence variant, ASV), Shannon-ovom indeksu raznolikosti, te Pielou-ovom indeksu ujednačenosti, pri čemu 1 znači najveću ujednačenost, a niske vrijednosti indeksa ukazuju na dominaciju određenih ASV-ova u uzorcima. Analize beta raznolikosti temeljile su se na netežinskoj UniFrac metodi koja uzima u obzir prisustvo ili odsustvo određenog ASV-a u uzorku, te na težinskoj UniFrac metodi koja u obzir uzima filogenetske udaljenosti između različitih ASV-ova unutar ukorijenjenog filogenetskog stabla sa svim uzorcima. Rezultati beta raznolikosti prikazani su metodom glavnih koordinata (engl. *principal coordinates analysis*, PCoA) u matricama UniFrac udaljenosti.

Analize razlika u mjerenim mehaničkim parametrima razgradnje vrećica tijekom vremena i u različitim okolišima, te korelacije s mjerenim okolišnim varijablama napravljene su korištenjem programskog paketa Statistica (verzija 13.5.017. TIBCO software inc.), dok su bioinformatičke analize napravljene korištenjem bioinformatičke platforme QIIME2 2021.2, putem računalng klastera Isabella. U svim statističkim analizama korištena je razina značajnosti 5% ($p < 0.05$).

4 REZULTATI

4.1 PROMJENE BOJE I OBLIKA, ANALIZA STRUKTURE POVRŠINE TE OŠTEĆENJA POVRŠINSKE STRUKTURE MIKROSKOPOM

Slike snimljene mikroskopom DINO-LITE AM 413 ZT s polarizacijskim filterom, svih tipova vrećica tijekom razgradnje prikazane su na Slikama 14 - 17. Vizualnom inspekcijom i inspekcijom pod mikroskopom pri povećanju 60 puta svih tipova vrećica (Slike 14 - 17) ustanovljena je najjača mehanička razgradnja kod smeđe vrećice u kompostu te u oba tipa tla. Također, kod svih tipova vrećica nisu zabilježene značajne promjene ni oštećenja površinske strukture prilikom izlaganja na zraku i u vodi.

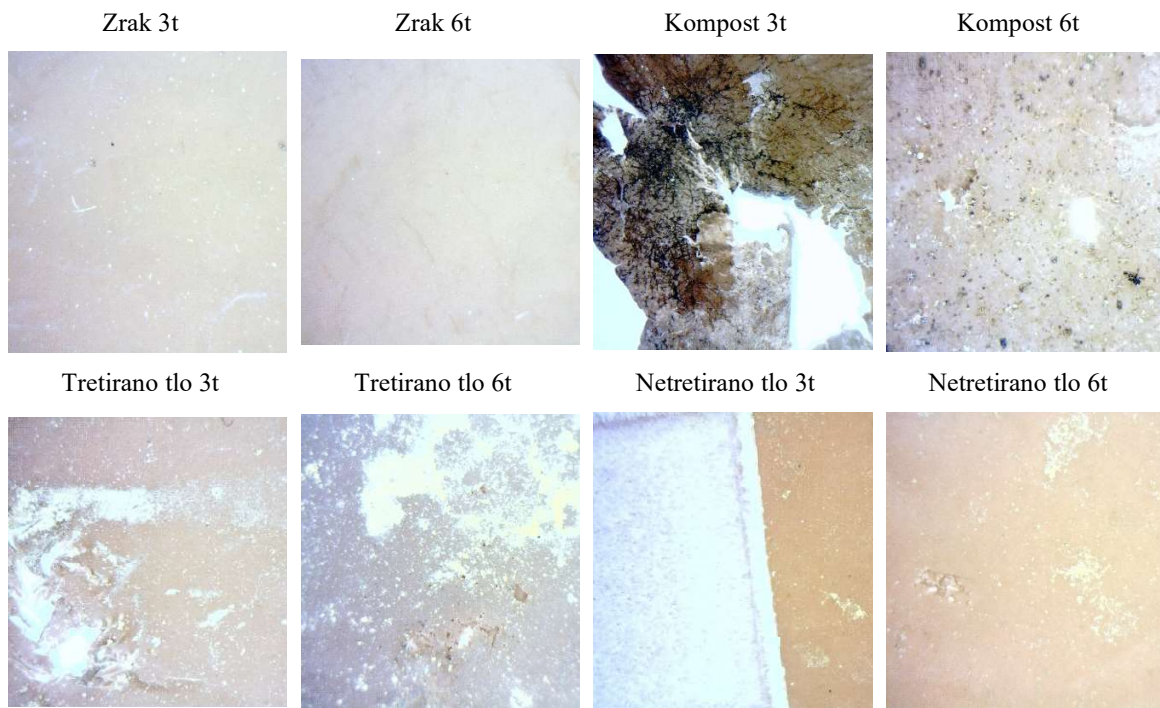


Slika 14. Uzorci bijele vrećice u svim tipovima okoliša i kroz 3 i 6 tjedana izlaganja snimljeni pomoću Dino-Lite mikroskopa pri povećanju od 60x. 3t= nakon 3 tjedna izlaganja, 6t=nakon 6 tjedana izlaganja.

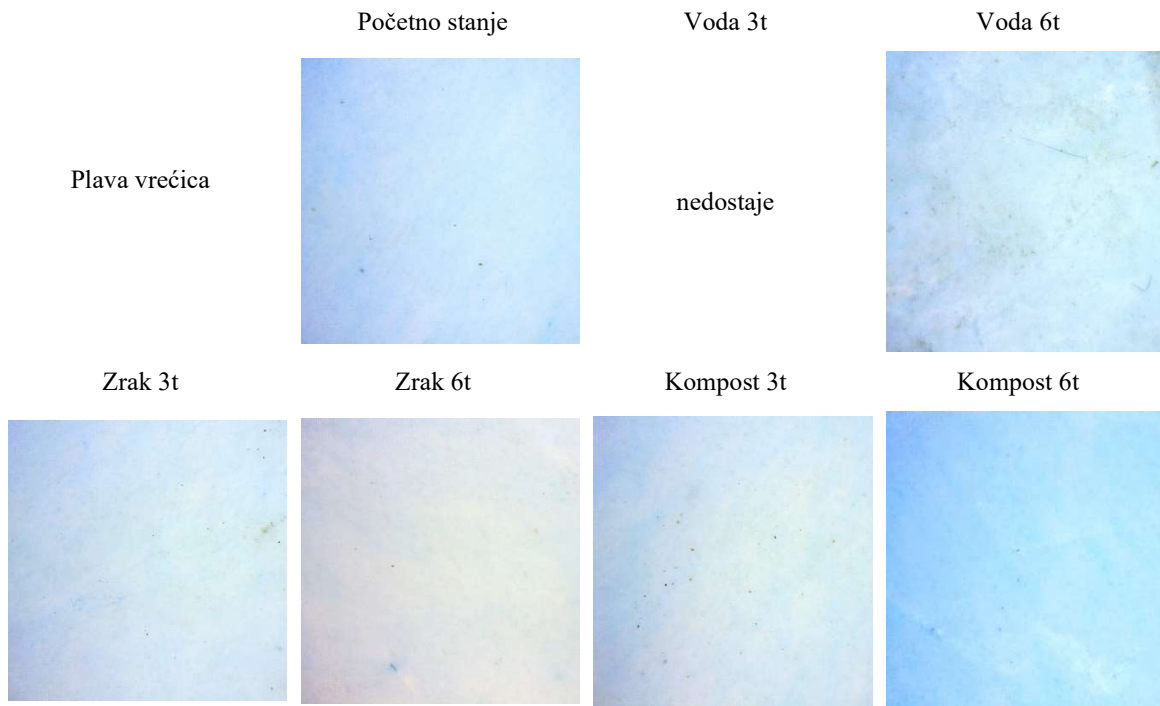


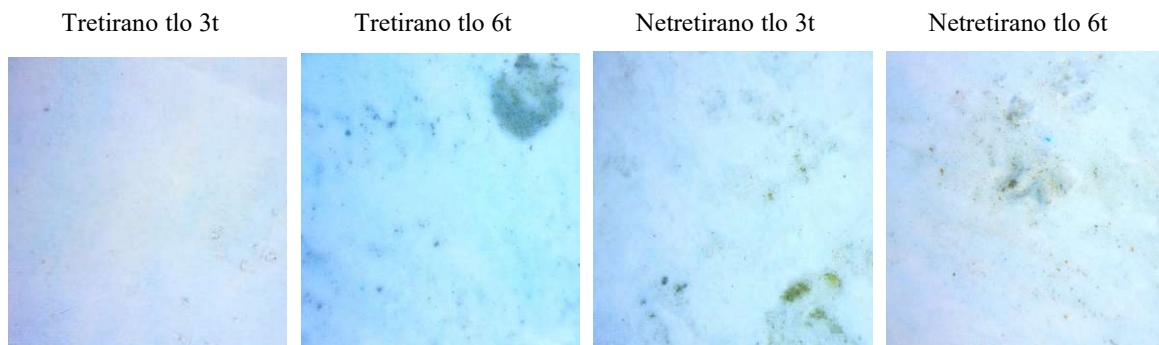
Slika 15. Uzorci zelene vrećice u svim tipovima okoliša i kroz 3 i 6 tjedana izlaganja snimljeni pomoću Dino-Lite mikroskopa pri povećanju od 60x. 3t= nakon 3 tjedna izlaganja, 6t=nakon 6 tjedana izlaganja.





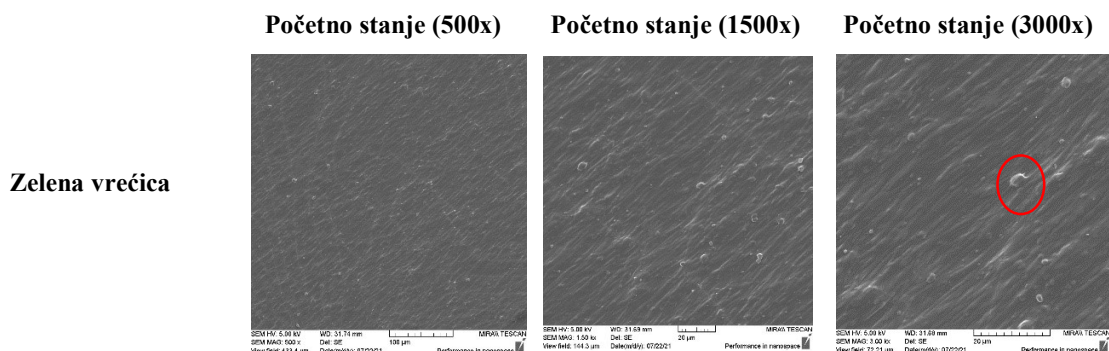
Slika 16. Uzorci smeđe vrećice u svim tipovima okoliša i kroz 3 i 6 tjedana izlaganja snimljeni pomoću Dino-Lite mikroskopa pri povećanju od 60x.. 3t= nakon 3 tjedna izlaganja, 6t=nakon 6 tjedana izlaganja.



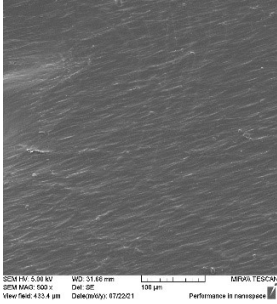


Slika 17. Uzorci plave vrećice u svim tipovima okoliša i kroz 3 i 6 tjedana izlaganja snimljeni pomoću Dino-Lite mikroskopa pri povećanju od 60x. 3t= nakon 3 tjedna izlaganja, 6t=nakon 6 tjedana izlaganja.

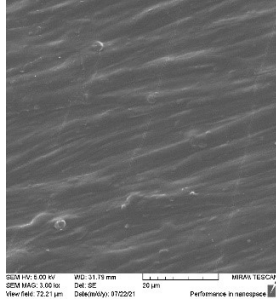
Na SEM snimkama (Slike 18. – 20.) su prikazane površine uzoraka biorazgradivih polimera prije i nakon izlaganja u ispitivanom okolišu (zrak, tretirano tlo, netretirano tlo, kompost i voda) u vremenu od 3 i 6 tjedana. Tijekom mikroskopske analize provedena su ispitivanja u različitim povećanjima radi utvrđivanja promjena površinske strukture polimera, ali su za potrebe prikaza rezultata odabrana povećanja od 500 i 3000x. Analizom uzoraka zelene vrećice (Slika 18.) koja je izlagana u različitim tipovima okoliša i usporedbom s početnim uzorkom uočene su određene promjene površinske strukture u vidu fragmenata (ostataka) polimera koji su izraženiji kod izlaganja uzoraka tretiranom i netretiranom tlu te u manjoj mjeri izraženi kod izlaganja uzoraka zraku. Uzorci polimera izlagani u kompostu i vodi u usporedbi s početnim uzorkom pokazuju prisutnu veliku količinu aglomerata po površini polimera koja može biti posljedica ostataka okoliša, ali i načina djelovanja tipa okoliša na razgradnju ispitivanog polimera, ovisno o vremenu izlaganja.



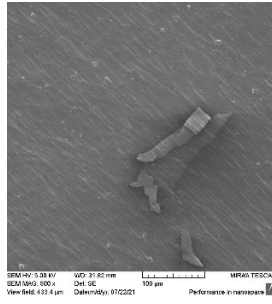
Zrak 3t (500x)



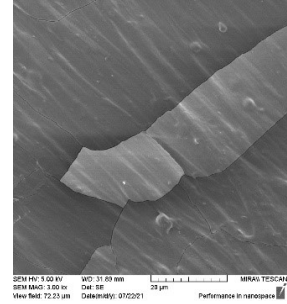
Zrak 3t (3000x)



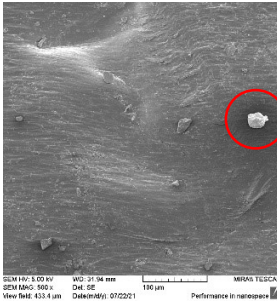
Zrak 6t (500x)



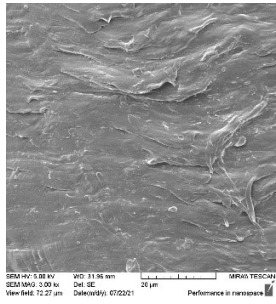
Zrak 6t (3000x)



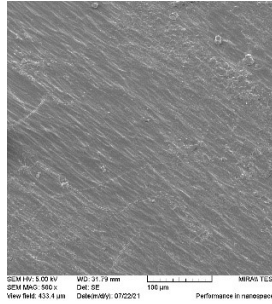
Tretirano tlo 3t (500x)



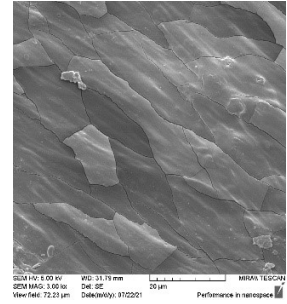
Tretirano tlo 3t (3000x)



Tretirano tlo 6t (500x)



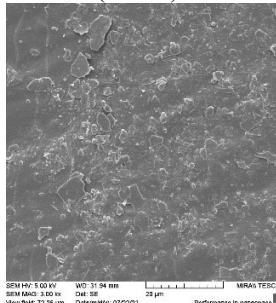
Tretirano tlo 6t (3000x)



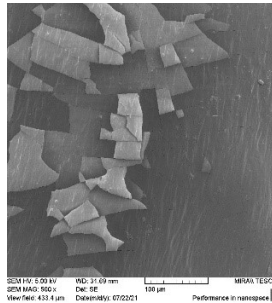
Netretirano tlo 3t (500x)



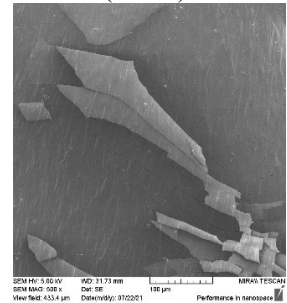
Netretirano tlo 3t (3000x)



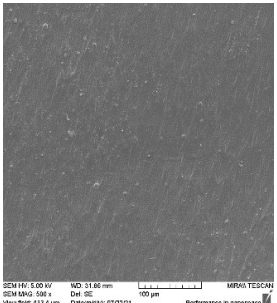
Netretirano tlo 6t (500x)



Netretirano tlo 6t (3000x)



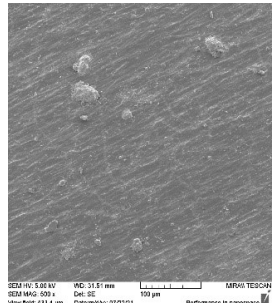
Kompost 3t (500x)



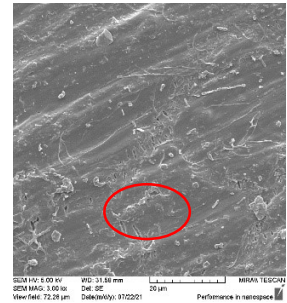
Kompost 3t (3000x)

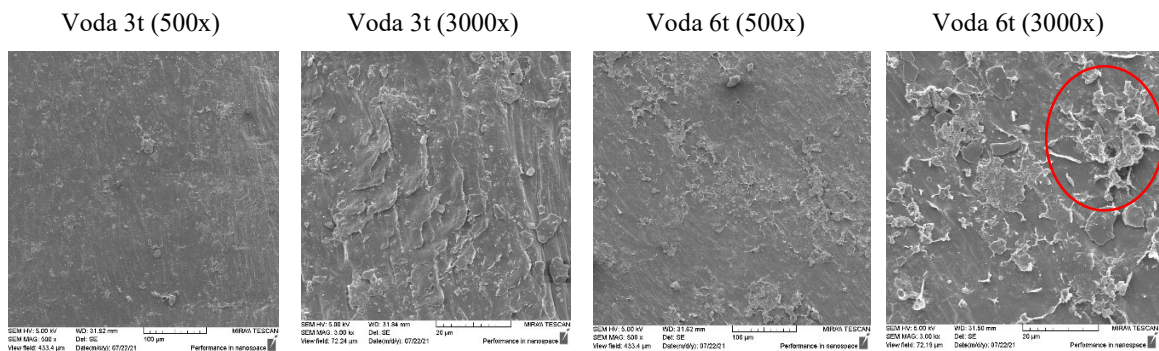


Kompost 6t (500x)



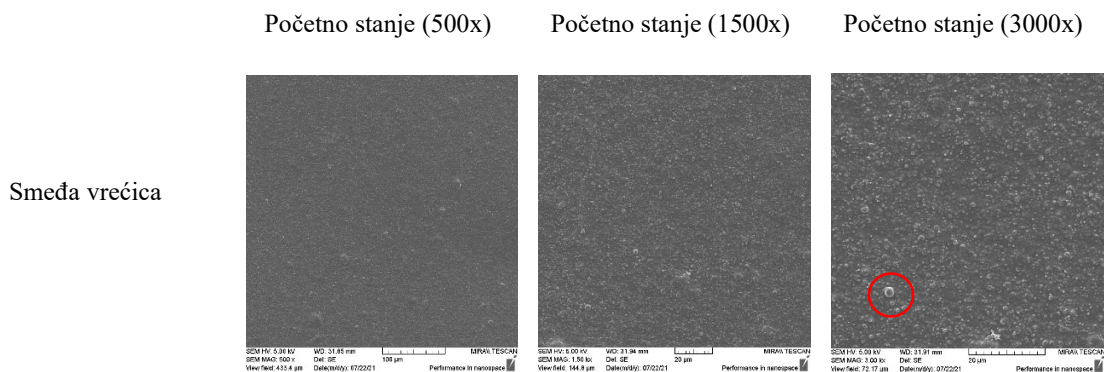
Kompost 6t (3000x)



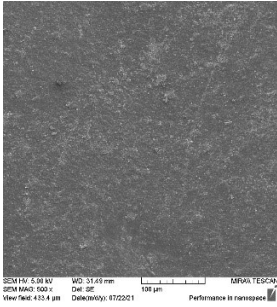


Slika 18. Uzorci zelene vrećice u svim tipovima okoliša i kroz 3 i 6 tjedana izlaganja snimljeni pomoću SEM mikroskopa. 3t= nakon 3 tjedna izlaganja, 6t=nakon 6 tjedana izlaganja, 500x i 3000x = odabrana povećanja. Crvenim kružnicama označeni su mogući ostaci okoliša u kojem su vrećice izlagane.

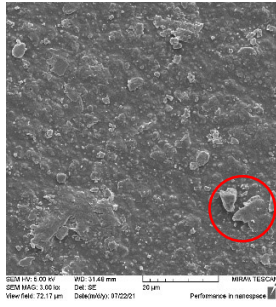
Analizom SEM snimki uzoraka smeđe vrećice (Slika 19.) vidljive su značajne promjene i oštećenja strukturne površine polimera uvjetovane različitim tipovima okoliša i vremenu izlaganja, u usporedbi s početnim uzorkom. Najveće promjene i vidljiva oštećenja površinske strukture uočena su kod uzoraka polimera izloženih u kompostu te netretiranom tlu, već nakon 3 tjedna izlaganja, dok su najmanja vidljiva oštećenja u vidu aglomerata uočena na površini uzoraka izlaganih na zraku i u vodi. Uzorci polimera izlagani u tretiranom tlu pokazuju prisutnu veću količinu zaostalog tipa okoliša (i/ili aglomerata razgrađenog polimera), što je posebno izraženo nakon 6 tjedana izlaganja. Dobiveni rezultati promjene površinske strukture u vidu razgradnje nisu u potpunosti u korelaciji s rezultatima ispitivanja mehaničkih svojstava kojima je dokazana potpuna degradacija ispitivanog polimera nakon izlaganja u tretiranom tlu nakon 6 tjedana, što može biti uvjetovano mjestom oduzimanja i veličinom uzorka za SEM analizu.



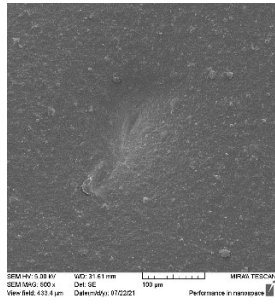
Zrak 3t (500x)



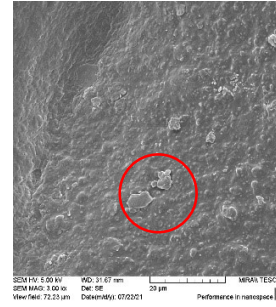
Zrak 3t (3000x)



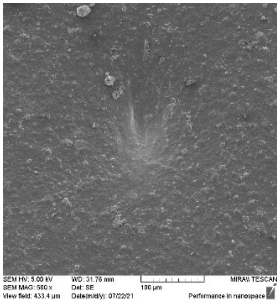
Zrak 6t (500x)



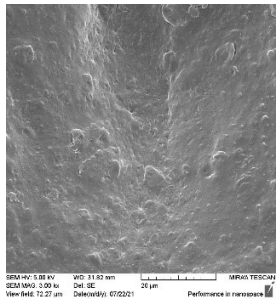
Zrak 6t (3000x)



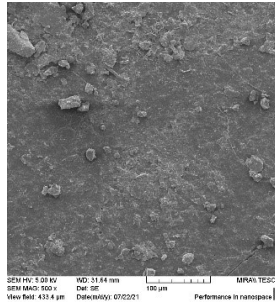
Tretirano tlo 3t (500x)



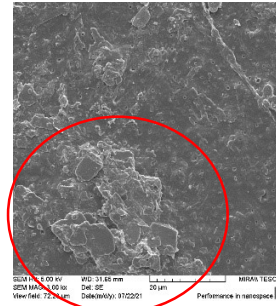
Tretirano tlo 3t (3000x)



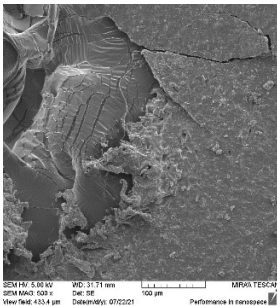
Tretirano tlo 6t (500x)



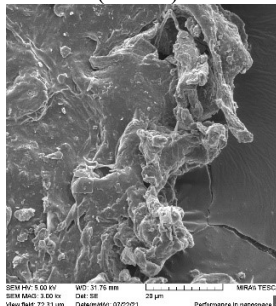
Tretirano tlo 6t (3000x)



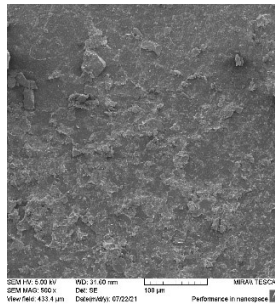
Netretirano tlo 3t (500x)



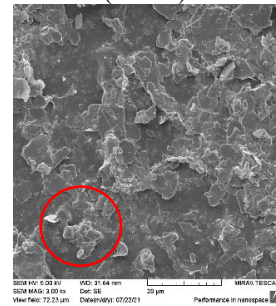
Netretirano tlo 3t (3000x)



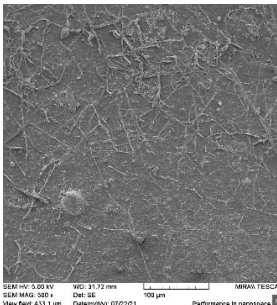
Netretirano tlo 6t (500x)



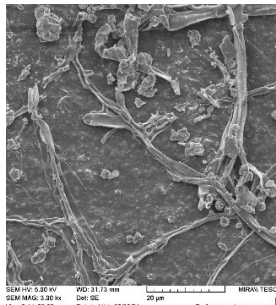
Netretirano tlo 6t (3000x)



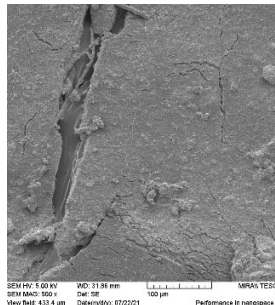
Kompost 3t (500x)



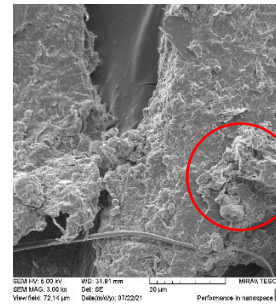
Kompost 3t (3000x)

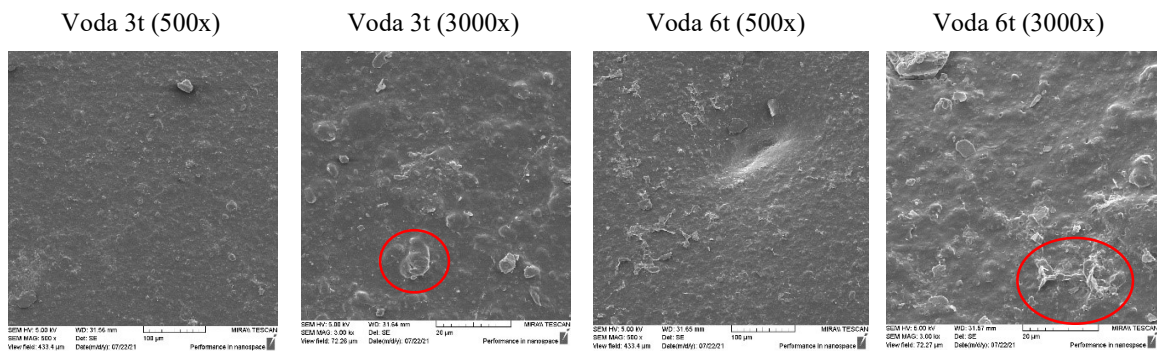


Kompost 6t (500x)



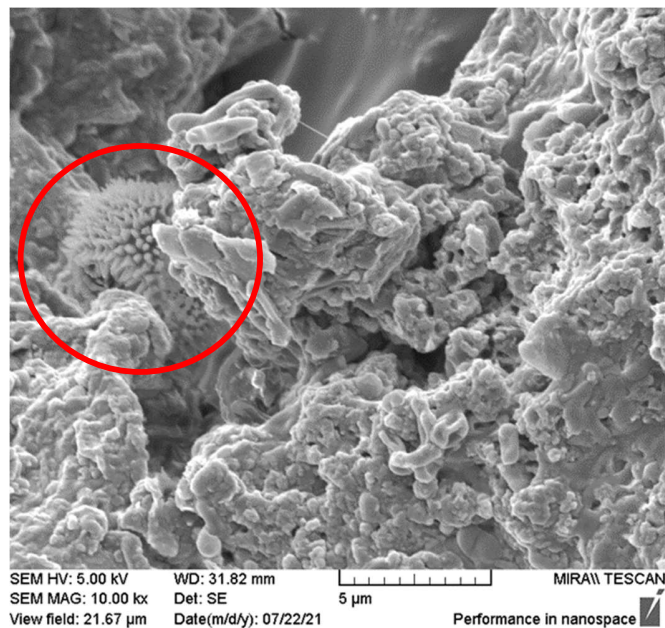
Kompost 6t (3000x)





Slika 19. Uzorci smeđe vrećice u svim tipovima okoliša i kroz 3 i 6 tjedana izlaganja snimljeni pomoću SEM mikroskopa. 3t= nakon 3 tjedna izlaganja, 6t=nakon 6 tjedana izlaganja, 500x i 3000x = odabrana povećanja. Crvenim kružnicama označeni su mogući ostaci okoliša u kojem su vrećice izlagane.

Na Slici 20., SEM analizom uzoraka smeđe vrećice nakon izlaganja u kompostu pri povećanju od 10000x vidljiv je nepoznati organizam za koji se pretpostavlja da je bakterija (označen crvenim krugom).



Slika 20. Uzorci smeđe vrećice snimljeni pomoću SEM mikroskopa pri povećanju od 10000 puta.

S obzirom na tip okoliša, vrijeme razgradnje, vrstu polimera kao i promjenu mehaničkih svojstava (t. 4.3.), SEM daje samo vizualni prikaz morfoloških promjena površine uvjetovanih izlaganjem u različitim tipovima okoliša i različitim periodima (nakon 3 i 6 tjedana), stoga se i analiza nastalih

promjena uvjetovanih različitim tipovima okoliša treba sagledati sa aspekta svih ispitivanih svojstava.

4.2 USPOREDBE IZMEĐU RAZLIČITIH TIPOVA VREĆICA

Analize razlika u izmjerenim mehaničkim svojstvima pokazale su statistički značajne razlike između različitih tipova vrećica u MD i CD za prekidnu silu (F) i za prekidno istezanje (E), te statistički značajne razlike u plošnim masama između svih tipova vrećica (Tablica 3) . Stoga su sve vrećice u daljnjim analizama tretirane zasebno. Talište nije pokazivalo značajnu razliku između različitih tipova vrećica te je isključeno iz daljnjih analiza.

Tablica 3 Razlike u vlačnoj prekidnoj sili (F) i prekidnom istezanju (E) između različitih tipova vrećica u poprečnom (CD) i uzdužnom smjeru (MD), te plošnoj masi (g/m²) i talištu (°C), analizirane korištenjem Kruskal-Wallis testa. Statistički značajne razlike prikazane su zvjezdicom *

| Mjereni svojstvo | Smjer djelovanja sile (MD/CD) | Df / N | H | p |
|-------------------------------------|-------------------------------|--------|--------|----------------|
| F / N | CD | 3 / 20 | 14.874 | 0.0019* |
| F / N | MD | 3 / 20 | 8.600 | 0.0351* |
| E / % | CD | 3 / 19 | 13.528 | 0.0036* |
| E / % | MD | 3 / 20 | 16.590 | 0.0009* |
| m _A / g / m ² | / | 3 / 40 | 34.780 | 0.0000* |

F – vlačna prekidna sila (N); E – prekidno istezanje (%); m_A - plošna masa (g/m²); (Df/N– stupnjevi slobode/veličina uzorka; H - vrijednost Kruskal- Wallis testa; p - p-vrijednost, razina značajnosti

Isto tako, za svaki tip vrećica zabilježena je značajna razlika u mjerenim parametrima prekidne sile i elongacije između različitih tipova okoliša (Tablica 4), stoga su promjene u navedenim mehaničkim svojstvima vrećica analizirane za svaki tip vrećice zasebno po svakom tipu okoliša. Plošna masa nije se značajno razlikovala među okolišima niti kod jednog tipa vrećica (Tablica 4)

Tablica 4 Razlike u vlačnoj prekidnoj sili (F) i prekidnom istezanju (E) u poprečnom (CD) i uzdužnom smjeru (MD), te plošnoj masi (g/m²) između različitih tipova okoliša a prema pojedinom tipu vrećice, analizirani Kruskal-Wallis ANOVA testom. Statistički značajne razlike su podebljane i označene zvjezdicom (*).

| Tip vrećice | Parametar | MD/CD | Df / N | H | p |
|-------------|-----------------------------|-------|--------|--------|----------------|
| Bijela | Vlačna prekidna sila (F/ N) | CD | 4 / 40 | 22.352 | 0.0002* |

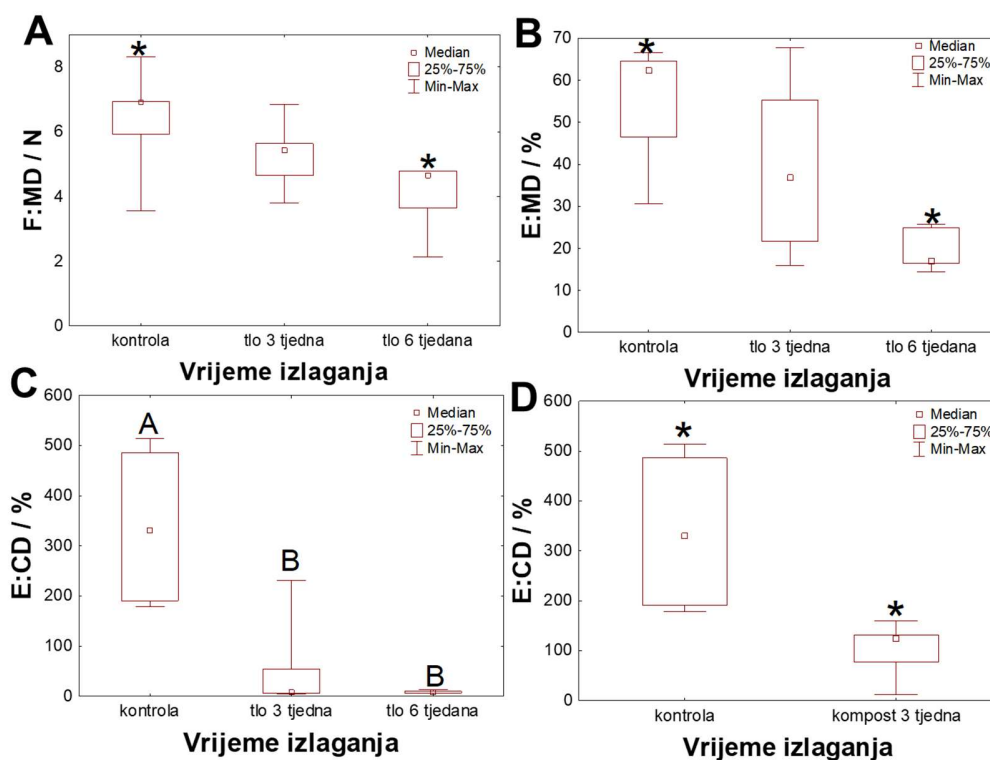
| Tip vrećice | Parametar | MD/CD | Df / N | H | p |
|-------------|-----------------------------------|-------|--------|--------|----------------|
| | Vlačna prekidna sila (F / N) | MD | 4 / 40 | 16.427 | 0.0025* |
| | Elongacija (%) | CD | 4 / 39 | 24.166 | 0,0001* |
| | Elongacija (%) | MD | 4 / 39 | 16.442 | 0,0025* |
| | Plošna masa (g/m ²) | / | 4 / 9 | 5.133 | 0.2739 |
| Zelena | Vlačna prekidna sila (F / N) | CD | 4 / 55 | 26.618 | 0.0000* |
| | Vlačna prekidna sila (F / N) | MD | 4 / 54 | 9.828 | 0.0434* |
| | Elongacija (%) | CD | 4 / 54 | 26.822 | 0.0000* |
| | Elongacija (%) | MD | 4 / 54 | 15.007 | 0.0047* |
| | Plošna masa (g / m ²) | / | 4 / 12 | 8.408 | 0.0777 |
| Smeđa | Vlačna prekidna sila (F / N) | CD | 4 / 45 | 31.535 | 0.0000* |
| | Vlačna prekidna sila (F / N) | MD | 4 / 45 | 33.962 | 0.0000* |
| | Elongacija (%) | CD | 4 / 45 | 31.535 | 0.0000* |
| | Elongacija (%) | MD | 4 / 45 | 29.705 | 0.0000* |
| | Plošna masa (g / m ²) | / | 4 / 10 | 5.155 | 0.2718 |
| Plava | Vlačna prekidna sila (F / N) | CD | 4 / 50 | 26.745 | 0.0000* |
| | Vlačna prekidna sila (F / N) | MD | 4 / 50 | 3.606 | 0.4620 |
| | Elongacija (%) | CD | 4 / 50 | 11.576 | 0.0208* |
| | Elongacija (%) | MD | 4 / 50 | 4.240 | 0.3744 |
| | Plošna masa (g / m ²) | / | 4 / 10 | 5.864 | 0.2096 |

F – vlačna prekidna sila (N); E – prekidno istezanje (%); m_A - plošna masa (g/m²); (Df/N– stupnjevi slobode/veličina uzorka; H - vrijednost Kruskal- Wallis testa; p - p-vrijednost, razina značajnosti

4.3 USPOREDBE PROMJENA MEHANIČKIH SVOJSTAVA RAZLIČITIH TIPOVA VREĆICA TIJEKOM IZLAGANJA ŠEST TJEDANA U RAZLIČITIM TIPOVIMA OKOLIŠA

4.3.1 Bijela vrećica

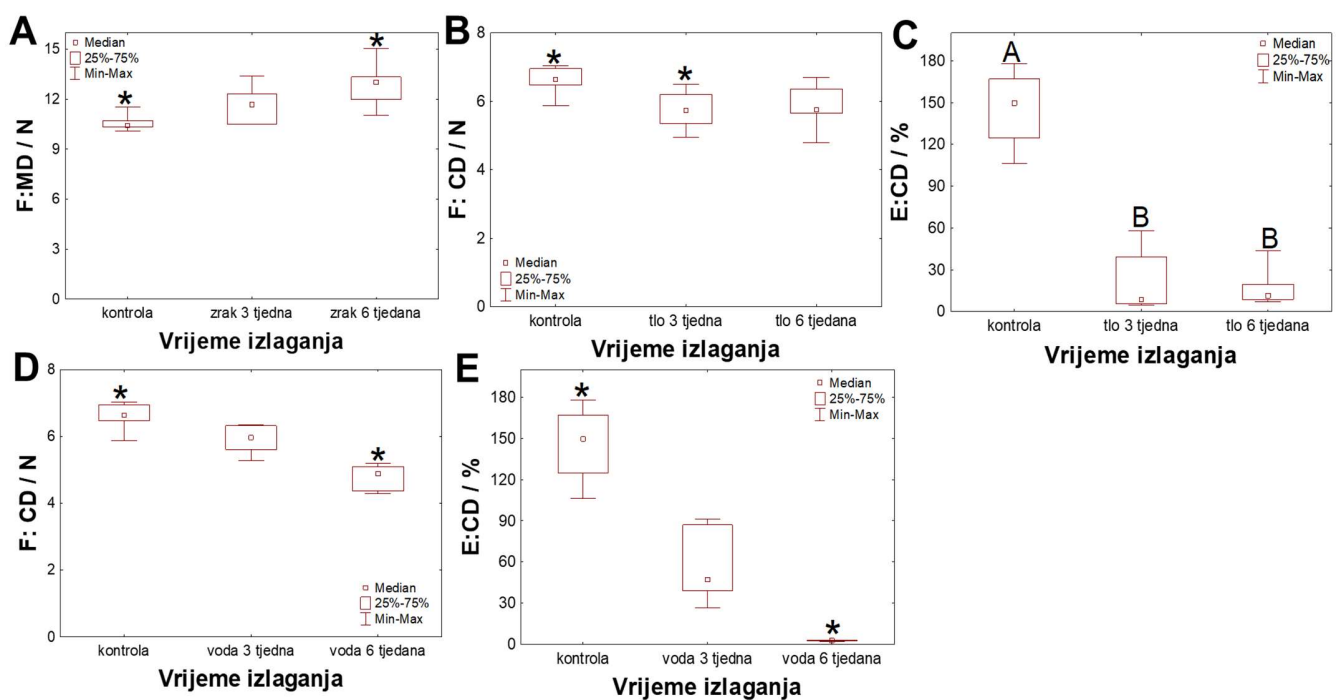
Izlaganje bijele vrećice na zraku i u vodi nije rezultiralo značajnim mehaničkim promjenama u vlačnoj sili ili elongaciji (Kruskal-Wallis ANOVA i Mann-Whitney U test, $p > 0.05$). Izlaganje u tlu rezultiralo je značajnim smanjenjem vlačne sile u uzdužnom smjeru (F:MD - $H_{(2,20)} = 6.253$, $p = 0.0439$), te značajno smanjenom elongacijom u uzdužnom (E:MD - $H_{(2,19)} = 8.335$, $p = 0.0155$) i poprečnom smjeru (E:CD - $H_{(2,19)} = 8.053$, $p = 0.0178$), pri čemu je u najviše slučajeva zabilježena značajna razlika između kontrole i izlaganja nakon 6 tjedana (Slika 21 A-C). Izlaganje u kompostu rezultiralo je smanjenjem elongacije u poprečnom smjeru (E:CD - $Z = 2.327$, $p = 0.02$; Slika 21 D), pri čemu je razgradnja nakon 6 tjedana bila takva da nije bilo moguće uzeti uzorak vrećice neophodan za testiranje navedenih parametara sukladno opisanoj metodi u poglavlju 3.3.3.



Slika 21. Razlike u a) vlačnoj prekidnoj sili u uzdužnom smjeru (MD), te elongaciji u b) uzdužnom (MD) c) i poprečnom (CD) smjeru prilikom izlaganja u tlu i e) izlaganjem u kompostu. Statistički značajne razlike između grupa označene su zvjezdicom (*) ili različitim slovima

4.3.2 Zelena vrećica

Izlaganje zelene vrećice u kompostu nije rezultiralo značajnim mehaničkim promjenama u vlačnoj prekidnoj sili ili elongaciji (Kruskal-Wallis ANOVA, $p > 0.05$). Suprotno očekivanjima, zelena vrećica pokazala je statistički značajno povećanje vlačne prekidne sile u uzdužnom smjeru tijekom izlaganja na zraku ($H_{(2,15)} = 6.980$, $p = 0.0305$; (Slika 22 A), dok je izlaganje u vodi i tlu rezultiralo statistički značajnim smanjenjem vlačne prekidne sile i elongacije u poprečnom smjeru (F:CD tlo - $H_{(2,25)} = 6.803$, $p = 0.0333$; E:CD tlo - $H_{(2,25)} = 11.187$, $p = 0.0037$; F:CD voda - $H_{(2,15)} = 11.180$, $p = 0.0037$; E:CD voda - $H_{(2,15)} = 11.180$, $p = 0.0037$, Slika 22 B-D).

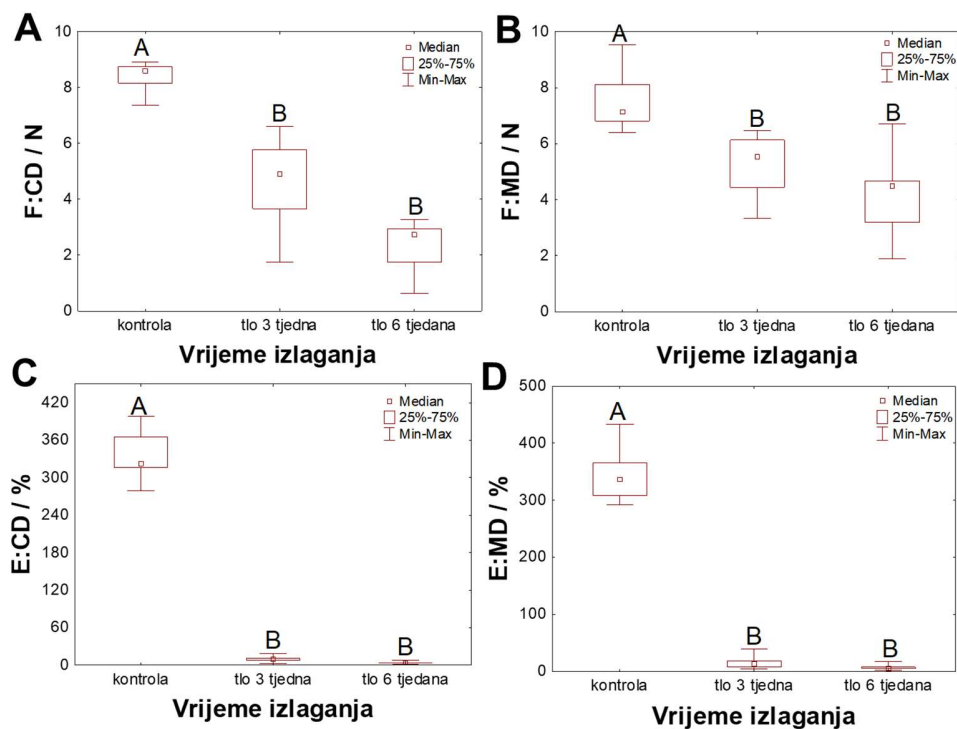


Slika 22. Razlike u a) vlačnoj prekidnoj sili u uzdužnom smjeru (MD) na zraku, te u vlačnoj sili i elongaciji u poprečnom smjeru prilikom izlaganja zelene vrećice u tlu (b-c) i vodi (d-e). Statistički značajne razlike između grupa označene su zvjezdicom (*)

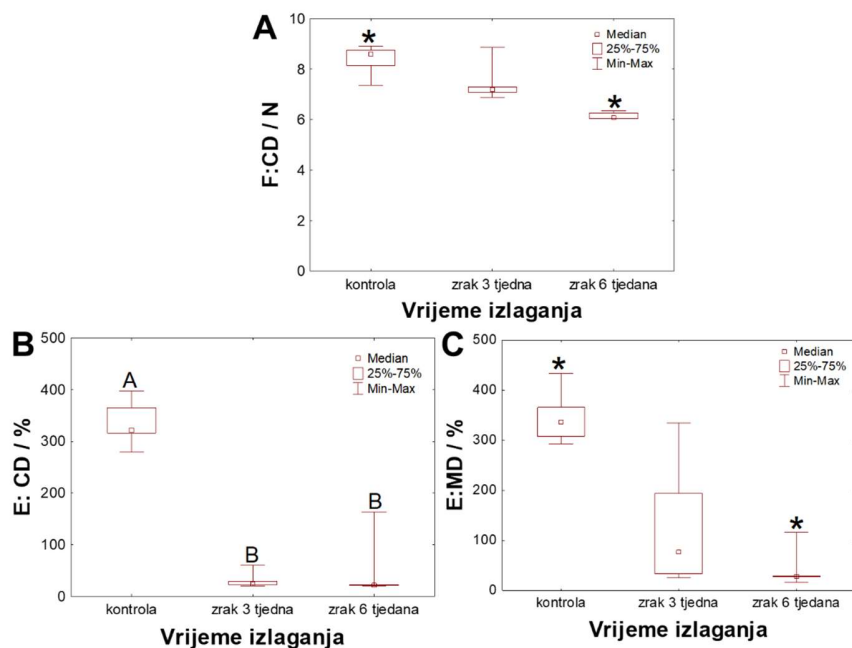
4.3.3 Smeđa vrećica

Izlaganje smeđe vrećice rezultiralo je statistički značajnim smanjenjem vlačne prekidne sile i elongacije u barem jednom smjeru (uzdužnom i/ili poprečnom) u svim tipovima okoliša (Slika 23). Izlaganje smeđih vrećica u tlu rezultiralo je značajnim smanjenjem vlačne prekidne sile i elongacije u poprečnom i uzdužnom smjeru (Kruskal-Wallis ANOVA, $p < 0.05$ u svim slučajevima), pri čemu je zabilježena značajna razlika kontrolne naspram grupa izlaganih tri i šest tjedana (Slika 23 A-D).

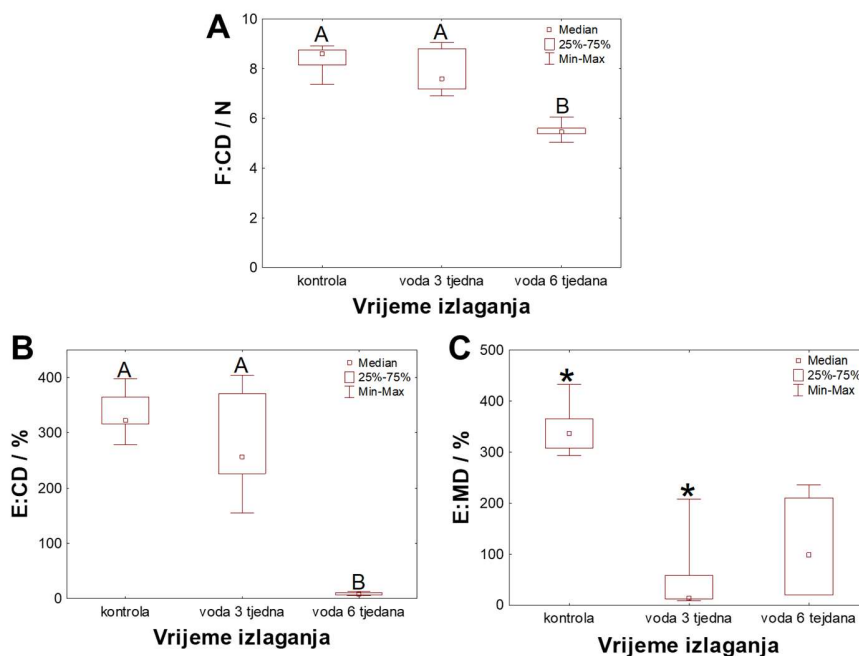
Izlaganje smeđih vrećica na zraku rezultiralo je značajnim smanjenjem vlačne prekidne sile i elongacije u poprečnom smjeru ($F:CD - H_{(2,15)}=10.82, p=0.0087$; $e:CD - H_{(2,15)}=9.572, p=0.0083$) nakon 3 i 6 tjedana izlaganja (Slika 24 A i B), dok je elongacija bila statistički značajno smanjena i u uzdužnom smjeru, nakon 6 tjedana ($e:CD - H_{(2,15)}=9.076, p=0.0107$; Slika 23 C). Izlaganje smeđih vrećica u vodi rezultiralo je značajnim smanjenjem vlačne prekidne sile i elongacije u poprečnom smjeru ($F:CD - H_{(2,15)}=9.5, p=0.0045$; $E:CD - H_{(2,15)}=9.62, p=0.0081$) nakon 6 tjedana izlaganja (Slika 25 A i B). Izlaganje u kompostu rezultiralo je vrlo jakom razgradnjom vrećica nakon 6 tjedana izlaganja, zbog čega nije bilo moguće prikupiti adekvatne uzorke vrećica neophodne za testiranje sukladno opisu u poglavlju 3.3.3. u metodama). Izlaganje smeđih vrećica u kompostu rezultiralo je značajnim smanjenjem vlačne sile i elongacije u poprečnom i uzdužnom smjeru (Slika 26; Mann-Whitney U test, $N1=N2=5$; $p<0.05$ u svim slučajevima).



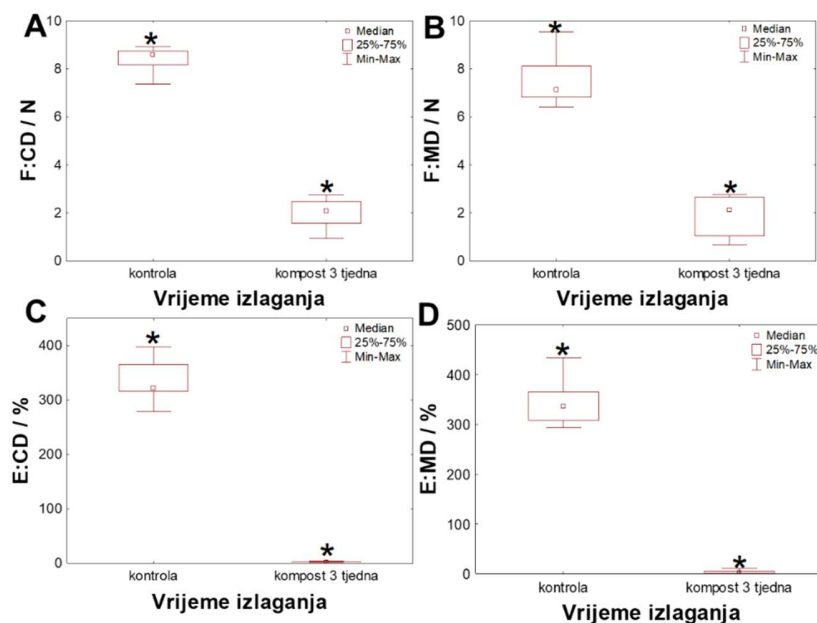
Slika 13. Razlike u a) vlačnoj prekidnoj sili u poprečnom (CD) i b) uzdužnom smjeru (MD), te elongaciji u c) poprečnom (CD), te d) uzdužnom (MD) smjeru prilikom izlaganja smeđe vrećice u tlu tijekom vremena. Statistički značajne razlike između grupa označene su različitim slovima i zvjezdicom*



Slika 24. Razlike u a) vlačnoj prekidnoj sili u poprečnom smjeru (CD), te elongaciji u b) poprečnom (CD) i c) uzdužnom (MD) smjeru prilikom izlaganja smeđe vrećice na zraku tijekom vremena. Statistički značajne razlike između grupa označene su različitim slovima i zvjezdicom*



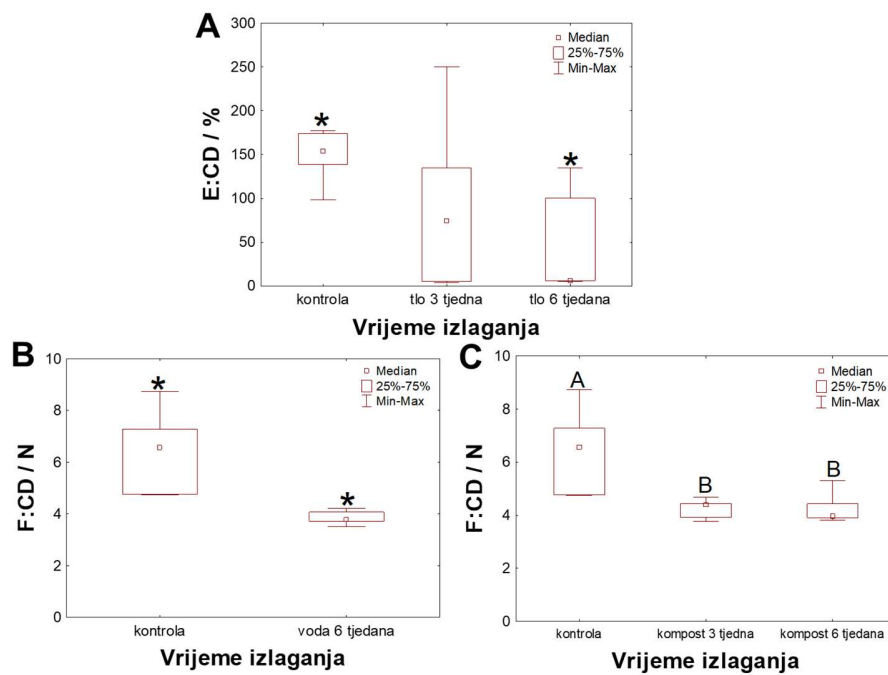
Slika 25.14 Razlike u a) vlačnoj prekidnoj sili u poprečnom smjeru (CD), te elongaciji u b) poprečnom (CD) i c) uzdužnom (MD) smjeru prilikom izlaganja smeđe vrećice u vodi tijekom vremena. Statistički značajne razlike između grupa označene su različitim slovima i zvjezdicom*



Slika 26. Razlike u a) vlačnoj prekidnoj sili u poprečnom (CD) i b) uzdužnom smjeru (MD), te elongaciji u c) poprečnom (CD), te d) uzdužnom (MD) smjeru prilikom izlaganja smeđe vrećice u kompostu tijekom vremena. Statistički značajne razlike između grupa označene su zvjezdicom*

4.3.4 Plava vrećica

Izlaganje plave vrećice rezultiralo je uz zelenu vrećicu najmanjim brojem promjena mjerenih parametara u različitim tipovima okoliša. Izlaganje na zraku nije rezultiralo statistički značajnim promjenama vlačne prekidne sile i elongacije niti u jednom smjeru, dok je izlaganje tlu dovelo do statistički značajnog smanjenja elongacije u poprečnom mjeru nakon 6 tjedana (Slika 27 A; $E: CD - H_{(2,25)}=6.778, p=0.0337$). Kod izlaganja u vodi zabilježena je statistički značajna razlika u vlačnoj sili u poprečnom smjeru između kontrolne vrećice i one izložene 6 tjedana ($Z=2.507, p=0.0012, N1=N2=5$; Slika 27 B), pri čemu je uzorak izlaganja nakon 3 tjedna nedostajao zbog gubitka jednog dijela vrećica. Kod izlaganja kompostu uočeno je statistički značajno smanjenje vlačne sile u poprečnom smjeru kod vrećica izloženih u kompostu 3 i 6 tjedana naspram kontrolnih vrećica (Slika 27 C).



Slika 27. Razlike u a) elongaciji u poprečnom smjeru prilikom izlaganja plave vrećice u tlu (CD), te vlačnoj prekidnoj sili u poprečnom (CD) smjeru prilikom izlaganja plave vrećice u b) vodi i c) kompostu tijekom vremena. Statistički značajne razlike između grupa označene su zvjezdicom*

4.4 KORELACIJE S OKOLIŠNIM PARAMETRIMA

Dobiveni podaci o srednjoj dnevnoj temperaturi, naoblaci, tlaku zraka, dnevnoj sumi sijanja sunca i isparavanja, te temperature tla na dubinama od 2 i 20 cm korelirani su sa dobivenim vrijednostima vlačne prekidne sile i elongacije u poprečnom i uzdužnom smjeru za svaki tip vrećice zasebno.

Bijela vrećica nije pokazivala statistički značajne korelacije mjerenih mehaničkih parametara prekidne sile i elongacije u poprečnom smjeru s okolišnim parametrima (Spearman-ova korelacija; $p > 0.05$), dok je u uzdužnom smjeru pokazivala značajnu negativnu korelaciju sa srednjom dnevnom temperaturom, pozitivnu sa srednjom relativnom vlažnosti zraka, srednjom naoblakom i tlakom te negativnu sa dnevnim temperaturama tla na 2 i 20 cm dubine (Tablica 5).

Kod zelene vrećice nije zabilježena niti jedna statistički značajna korelacija s okolišnim parametrima (Tablica 6), dok je smeđa vrećica pokazivala statistički značajnu pozitivnu korelaciju mjerenih mehaničkih parametara vlačne sile i elongacije u poprečnom smjeru sa srednjom dnevnom temperaturom, dnevnom količinom isparavanja te dnevnom temperaturom tla na dubini od 2 i 20 cm, te negativnu sa srednjom dnevnom naoblakom i dnevnim tlakom (Tablica 7). U uzdužnom smjeru, smeđa vrećica pokazivala je statistički značajnu negativnu korelaciju s maksimalnim dnevnim udarom vjetrova (Tablica 8).

Plava vrećica pokazala je značajnu negativnu korelaciju elongacije u poprečnom smjeru s temperaturom na dubini tla od 2 i 20 cm, te značajnu pozitivnu korelaciju sa vlačnom prekidnom silom u poprečnom smjeru na dubini tla od 20 cm (Tablica 7). U uzdužnom smjeru nisu zabilježene statistički značajne korelacije mjerenih parametara mehaničkih svojstava plave vrećice s parametrima okoliša.

Tablica 5 Korelacije vlačne sile (F) i elongacije (E) bijele vrećice sa dobivenim meteorološkim parametrima, analizirani Spearman rank korelacijom. Stupci prikazuju vrijednosti Spearmanovog koeficijenta korelacije (r). Statistički značajne vrijednosti su označene podebljano i sa zvjezdicom*

| Varijabla | MD | | CD | |
|-------------------------------------|-------------------|-------------------|-----------|-----------|
| | F | E | F | E |
| Srednja dnevna temperatura | -0,497365* | -0,509789* | -0,020591 | -0,120859 |
| Srednja dnevna naoblaka | 0,627173* | 0,366039 | 0,045658 | -0,041182 |
| Srednji dnevni tlak zraka u postaji | 0,455096* | 0,413209 | 0,289803 | 0,468694 |
| Dnevna suma sijanja sunca | -0,616108* | -0,365826 | -0,067979 | 0,118068 |

| | | | | |
|--|-------------------|-------------------|-----------|-----------|
| Dnevna količina isparavanja | -0,209872 | -0,268275 | -0,318711 | -0,312444 |
| Dnevne vrijednosti temperature tla na dubini od 2cm | -0,548739* | -0,566052* | -0,289168 | -0,270367 |
| Dnevne vrijednosti temperature tla na dubini od 20cm | -0,458788* | -0,468197* | -0,356631 | -0,334230 |

F – vlažna prekidna sila (N); E – prekidno istežanje (%)

Tablica 6 Korelacije vlačne sile (F) i elongacije (E) zelene vrećice sa dobivenim meteorološkim parametrima, analizirani Spearman rank korelacijom. Stupci prikazuju vrijednosti Spearmanovog koeficijenta korelacije (r). Statistički značajne vrijednosti su označene podebljano i sa zvjezdicom*

| Varijabla | MD | | CD | |
|--|-----------|------------------|-----------|-----------|
| | F | E | F | E |
| Srednja dnevna temperatura | 0,311864 | 0,314409 | -0,248659 | 0,041145 |
| Srednja dnevna naoblaka | -0,019253 | -0,352982 | 0,093023 | -0,042934 |
| Srednji dnevni tlak zraka u postaji | -0,226501 | -0,161768 | 0,134048 | 0,252011 |
| Dnevna suma sijanja sunca | 0,065512 | 0,313528 | -0,084004 | 0,323503 |
| Dnevna količina isparavanja | 0,251414 | 0,482661* | -0,003578 | 0,067979 |
| Dnevne vrijednosti temperature tla na dubini od 2cm | 0,365587 | 0,349762 | -0,382827 | -0,076923 |
| Dnevne vrijednosti temperature tla na dubini od 20cm | 0,346762 | 0,426428 | -0,356313 | -0,141451 |

F – vlažna prekidna sila (N); E – prekidno istežanje (%)

Tablica 7 Korelacije vlačne sile (F) i elongacije (E) smeđe vrećice sa dobivenim meteorološkim parametrima, analizirani Spearman rank korelacijom. Stupci prikazuju vrijednosti Spearmanovog koeficijenta korelacije (r). Statistički značajne vrijednosti su označene podebljano i sa zvjezdicom*

| Varijabla | MD | | CD | |
|---|-----------|-----------|-------------------|-------------------|
| | F | E | F | E |
| Srednja dnevna temperatura | 0,402710 | 0,410923 | 0,720931* | 0,756272* |
| Srednja dnevna naoblaka | -0,137307 | -0,199321 | -0,583185* | -0,545699* |
| Srednji dnevni tlak zraka u postaji | -0,308565 | -0,336732 | -0,841823* | -0,807520* |
| Dnevna suma sijanja sunca | 0,386005 | 0,391566 | 0,164433 | 0,195166 |
| Dnevna količina isparavanja | 0,406780 | 0,373540 | 0,649375* | 0,543907* |
| Dnevne vrijednosti temperature tla na dubini od 2cm | 0,335591 | 0,342620 | 0,740609* | 0,772401* |

| | | | | |
|--|----------|----------|------------------|------------------|
| Dnevne vrijednosti temperature tla na dubini od 20cm | 0,322799 | 0,378765 | 0,880934* | 0,843050* |
|--|----------|----------|------------------|------------------|

F – vlažna prekidna sila (N); E – prekidno istežanje (%)

Tablica 8 Korelacije vlačne sile (F) i elongacije (E) plave vrećice sa dobivenim meteorološkim parametrima, analizirani Spearman rank korelacijom. Stupci prikazuju vrijednosti Spearmanovog koeficijenta korelacije (r). Statistički značajne vrijednosti su označene podebljano i sa zvjezdicom*

| Varijabla | MD | | CD | |
|--|------------------|-----------|-------------------|-------------------|
| | F | E | F | E |
| Srednja dnevna temperatura | -0,347049 | -0,134168 | 0,115502 | -0,398278 |
| Srednja dnevna naoblaka | 0,580425* | 0,413306 | -0,006098 | -0,418371 |
| Srednji dnevni tlak zraka u postaji | 0,286226 | 0,447228 | -0,684848* | 0,393942 |
| Dnevna suma sijanja sunca | -0,396783 | -0,512958 | -0,369697 | 0,062531 |
| Dnevna količina isparavanja | -0,010753 | 0,118280 | 0,292688 | -0,207613 |
| Dnevne vrijednosti temperature tla na dubini od 2cm | -0,288015 | -0,069768 | 0,432935 | -0,937404* |
| Dnevne vrijednosti temperature tla na dubini od 20cm | -0,178731 | 0,085791 | 0,723408* | -0,608393 |

F – vlažna prekidna sila (N); E – prekidno istežanje (%)

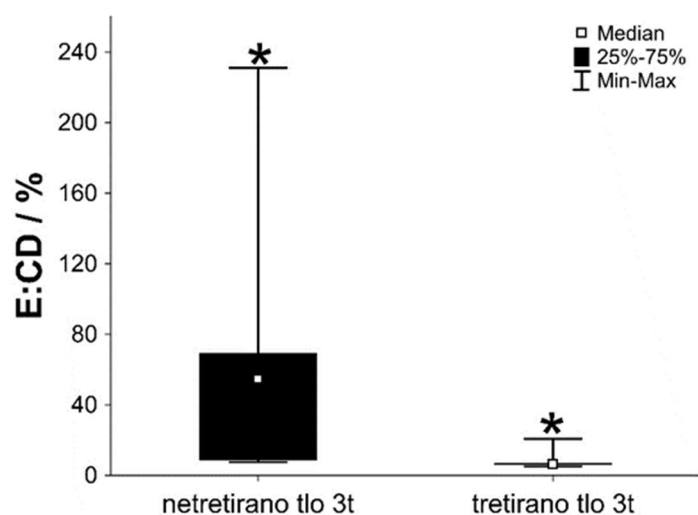
4.5 RAZLIKE U RAZGRADNJI VREĆICA I RAZNOLIKOSTI MIKROBNIH ZAJEDNICA IZMEĐU DVA RAZLIČITA TIPRA TLA

Promjene mehaničkih svojstava na vrećicama te raznolikost mikrobnih zajednica istraživana je na pokušalištu Agronomskog fakulteta u Maksimiru u istom tipu tla (plohe međusobno udaljenje oko 500 m), pri čemu je jedna ploha bila redovito i neposredno prije eksperimenta tretirana herbicidima i gnojivom (prikladnim za uzgoj kukuruza), dok druga ploha dugoročno nije bila tretirana jer se koristi za uzgoj ljekovitog bilja (opisano u poglavlju 3.2.1). Bijela i smeđa vrećica pokazale su značajnu razgradnju u tretiranom tlu (Slika 28), te nije bilo moguće prikupiti i analizirati uzorke nakon 6 tjedana izlaganja zbog izrazite razgradnje ovih tipova vrećica.



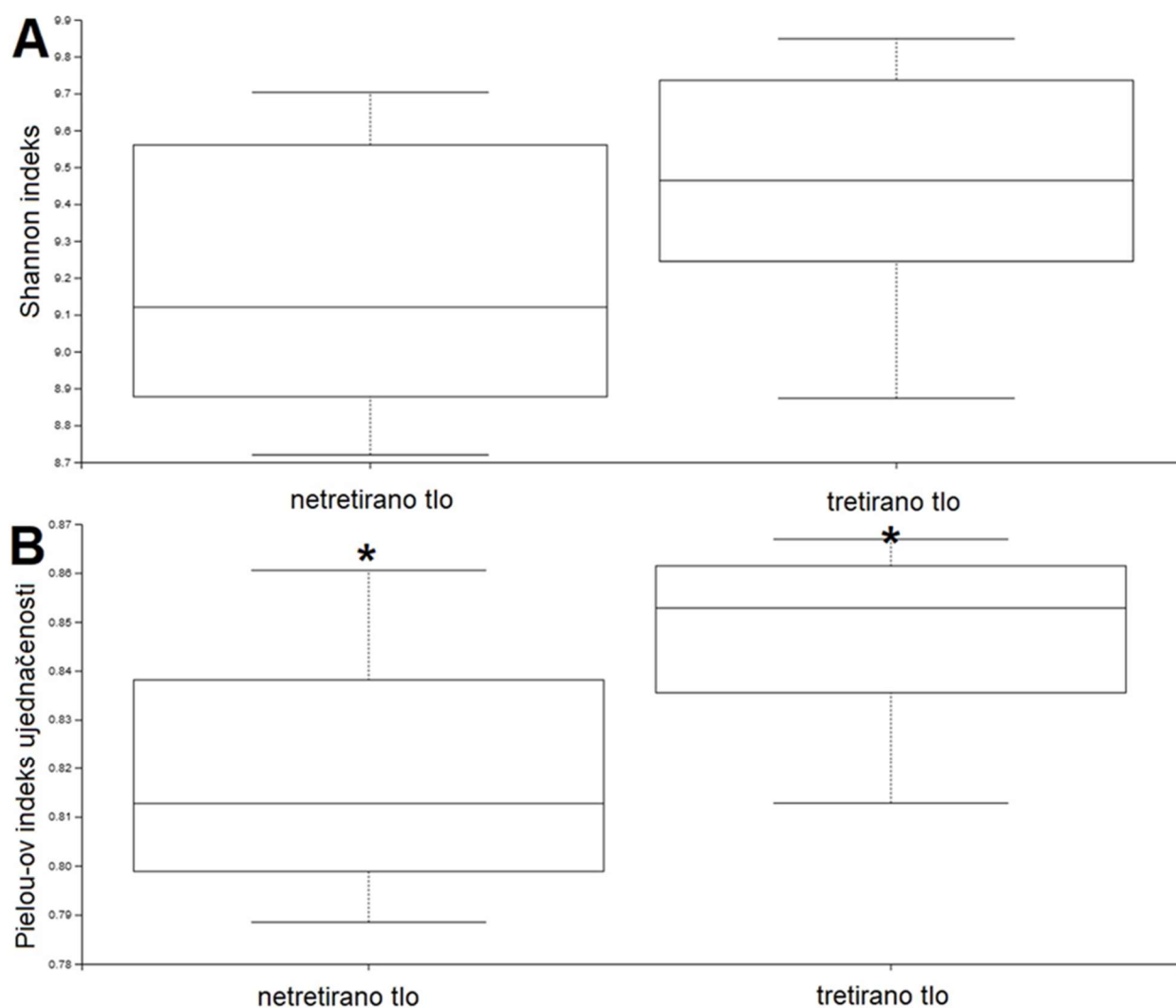
Slika 28. Uzorci bijele i smeđe vrećice izlagane u tretiranom tlu nakon 6 tjedana (Izvor: Martina Fileš, 2021.).

U slučaju zelene i plave vrećice prikupljeni su uzorci nakon 3 i 6 tjedana izlaganja u oba tipa tla. Analizama nisu zabilježene statistički značajne razlike kod zelene i smeđe vrećice u mjerenim parametrima vlačne preikodne sile i elongacije u poprečnom i uzdužnom smjeru, dok je kod bijele vrećice zabilježena statistički značajna razlika u elongaciji u poprečnom smjeru (E:CD: $Z = 2.090$, $p = 0.0361$, $N_1 = N_2 = 5$).

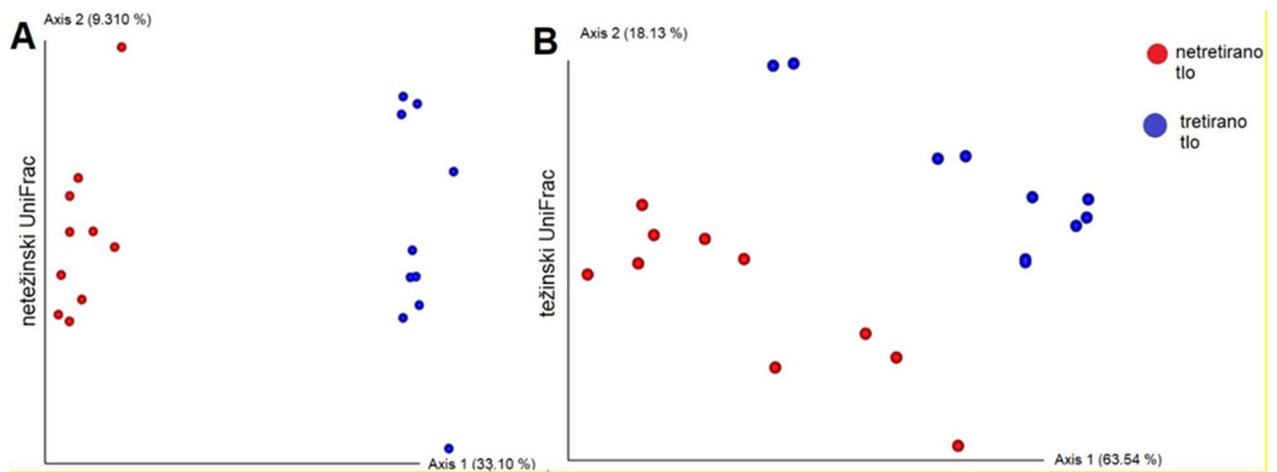


Slika 29. Razlike u elongaciji (E) bijele vrećice u netretiranom i tretiranom tlu. Statistički značajne razlike označene su zvjezdicom.

Analize mikrobnih zajednica pokazale su značajne razlike u nekim parametrima alfa raznolikosti. Pielou-ov indeks ujednačenosti značajno se razlikovao između tretiranog i netretiranog tla i bio je veći u tretiranom tlu (Slika 30 B), dok je Shannon-ov indeks raznolikosti pokazivao isti uzorak (veća vrijednost indeksa u tretiranom tlu), no razlike nisu bile statistički značajne (Slika 29 A). Analiza beta raznolikosti pokazala je jasno odvajanje mikrobnih zajednica netretiranog i tretiranog tla prema raznolikosti (Slika 31 A) i abundanciji (Slika 31 B) mikroba.



Slika 30. Razlike alfa raznolikosti mikrobnih zajednica između netretiranog i tretiranog tla: a) Shannon-ov indeks raznolikosti, b) Pielou-ov indeks ujednačenosti. Statistički značajne razlike označene su zvjezdicom.



Slika 31. Razlike u beta raznolikosti mikrobnih zajednica između netretiranog i tretiranog tla analizirane: a) netežinskom UniFrac metodom i b) težinskom UniFrac metodom.

5 RASPRAVA

Upotreba biorazgradivih polimera danas je prihvaćena kao alternativa i način smanjenja rastućeg problema onečišćenja plastikom, međutim novija istraživanja pokazuju kako razgradivost ovih materijala u prirodnim okolišima uglavnom nije u skladu s vremenima razgradnje koja su opisana u tehničkim standardima ovakvog tipa vrećica (Viera i sur., 2021.). Standardi temeljem kojih su vrećice klasificirane kao biorazgradive provode se u specifičnim uvjetima i rasponima parametara propisanim standardom (mikrobna aktivnost, salinitet, pH, zračenje, temperatura, tlak, itd.), a oni čine samo mali segment potencijalnih uvjeta u okolišu (Viera i sur., 2021.). Također, svi navedeni uvjeti u okolišu značajno fluktuiraju, što standardizirani testovi biorazgradnje ne uzimaju u obzir (Viera i sur., 2021.). Stoga, brojna istraživanja danas ukazuju na činjenicu kako je biorazgradivost kompostabilnih polimera u prirodnom okolišu precijenjena temeljem postojećih tehničkih standarda za dodjelu certifikata biorazgradive plastike (Viera i sur., 2021.). Štoviše, nekolicina istraživanja danas je pokazala kako se vrećice označene kao kompostabilne ne razgrađuju brzo u okolišnim uvjetima u moru, te su potencijalno i toksične za morske organizme zbog kemijskih aditiva korištenih u njihovoj proizvodnji (Lopez- Ibanez i Beiras, 2021.; Quade i sur., 2022 .), dok Ribba i sur. (2022.) bilježe negativne utjecaje biorazgradive mikroplastike na brojne slatkovodne organizme.

U ovom istraživanju ispitana je upravo razgradnja (promjena mehaničkih svojstava) vrećica koje su deklarirane kao kompostabilne i biorazgradive, u različitim tipovima okoliša gdje navedene vrećice mogu „nenamjerno“ završiti (zrak, tlo, slatkovodna voda), uključujući i kompost (gdje se i očekuje kako bi ove vrećice trebale završiti) te je promjena mehaničkih svojstava biorazgradivih vrećica uspoređena s komercijalnom plastičnom vrećicom. Iako su promjene mehaničkih svojstava i zabilježene vizualne promjene/oštećenja površinske strukture bile izraženije kod biorazgradivih naspram konvencionalne plastične vrećice, niti jedan tip vrećica nije se u potpunosti razgradio tijekom 6 tjedana pokusa (koliko je deklarirano vrijeme razgradnje istaknuto na nekim od korištenih vrećica). Kao što je u radu navedeno, vrećice su analizirane nakon 3 te nakon 6 tjedana, što je očekivano vrijeme poluraspada i razgradnje biorazgradivih vrećica prema ASTM standardu D5338. U navedenom vremenu, uočena je značajna promjena mehaničkih svojstava kod svih tipova biorazgradivih vrećica, uključujući i manju promjenu kod plave vrećice koja je korištena kao kontrolni uzorak. Od biorazgradivih vrećica, najbolju razgradnju i najveću promjenu mehaničkih svojstava pokazale su smeđa, a zatim i bijela vrećica, a najmanju zelena vrećica. Zelena vrećica u vizualnoj inspekciji nije bila defragmentirana, čak niti u kompostu gdje su se smeđa i bijela vrećica gotovo u cijelosti

defragmentirale, no pokazivala je vizualne znakove oštećenja prilikom izlaganja u vodi. Slične rezultate zabilježili su Napper i Thompson (2019.) koji su ciljano ispitivali vrećice ovisno o njihovom sastavu – biorazgradiva vrećica, oxo-biorazgradiva vrećica (konvencionalna plastika pomiješana primjesama kako bi se oponašala biorazgradnja) i kompostabilna vrećica, pri čemu je oxo-biorazgradiva vrećica pokazala najslabiju razgradnju. Unatoč pokušajima da saznamo točan sastav vrećica, nismo dobili odgovore proizvođača, stoga možemo samo pretpostaviti kako dobiveni rezultati ovdje ovise upravo o razlici u sirovinskom sastavu vrećica. Za razliku od ostalih biorazgradivih vrećica, zelena vrećica je pokazivala najveću sličnost promjenama mehaničkih svojstava plavoj komercijalnoj plastičnoj vrećici te vizualnom inspekcijom nisu uočena izražena oštećenja površinske strukture ekvivalentna onim zabilježenim kod smeđe i bijele vrećice.

Ovisno o različitim tipovima okoliša u kojima su vrećice izlagane, najveće promjene mehaničkih svojstava i najveća oštećenja površinske strukture uočene su na vrećicama izlaganima u kompostu, iako su kod nekih tipova vrećica (zelene) navedene promjene bile uočljive tek nakon 6 tjedana izlaganja, dok je kod drugih tipova vrećica (smeđa i bijela) razgradnja bila tolika da analiza promjena mehaničkih svojstava nije bila moguća nakon 6 tjedana. Nakon komposta, najveće promjene mehaničkih svojstava zabilježene su u tretiranom tlu, zatim u netretiranom tlu. U ostalim tipovima okoliša (u vodi i na zraku) nisu zabilježene značajnije promjene mehaničkih svojstava niti značajnije strukturne promjene. Što se tiče same razgradnje vrećica u kompostu, dobiveni rezultati su očekivani, jer možemo pretpostaviti kako će same vrećice u najviše slučajeva, na kraju završiti na odlagalištima te neće time predstavljati dodatni problem onečišćenja okoliša plastikom. Osim toga, mogu završiti i na odlagalištima biološkog otpada koji se prerađuje te ponovno koristi kao npr. hranjivo za biljke, čime najvjerojatnije neće predstavljati dodatnu prijetnju okolišu. U istraživanju kojeg su proveli Klaus i Bidlingmaier (2004.), pokazano je da komposti koji sadrže biorazgradive vrećice nisu pokazali razlike u kvaliteti parametara u usporedbi s konvencionalnim kompostom koji se sastoji samo od zelenog otpada te imaju isti pozitivni učinak na tlo i biljku. Problem nastaje kada vrećice završe u okolišima koji nisu pogodni za razgradnju kao što su to na primjer voda i zrak. Napper i Thomson (2019.) u svome radu su pokazali da je razgradnja u moru gotovo neprimjetna čak i nakon nekoliko godina izlaganja te da se niti jedna vrećica, bez obzira na duljinu izlaganja nije u potpunosti razgradila. U našem istraživanju, nakon 6 tjedana izlaganja niti jedan tip vrećica nije se u potpunosti razgradio, a najmanja promjena morfološke (površinske) strukture i mehaničkih svojstava zabilježena je na zraku te zatim u vodi. Sukladno

navedenom, za pretpostaviti je kako će se biorazgradive vrećice ukoliko završe u vodenom okolišu ili na zraku slabo ili neprimjetno razgrađivati te će poput konvencionalnih plastičnih vrećica predstavljati jednaku prijetnju u vodenom okolišu. Također, iako je razgradnja vrećica u tlu i kompostu bila vidljiva, te promjene mehaničkih svojstava značajne, rezultati drugih istraživanja navode slučaj u kojem biorazgradivi polimer - PLA (polimljična kiselina, najčešće korištena biorazgradiva plastika) stvara više mikroplastike od konvencionalnog biorazgradivog polimera - PE (polietilen) (Wei, 2020.). Stoga preostaje istražiti hoće li upotreba biorazgradivih vrećica dugoročno rezultirati povećanjem onečišćenja okoliša plastikom u budućnosti.

Završno, iako brojni okolišni parametri mogu utjecati na brzinu razgradnje vrećica u prirodnim uvjetima, u ovom istraživanju ispitivanih vrećica nije zabilježen jasan uzorak korelacije između bilježenih promjena mehaničkih svojstava i okolišnih parametara, odnosno nisu identificirani okolišni parametri koji jednoznačno utječu na parametre mehaničkih svojstava vrećica.

Provedenim istraživanjem su zabilježene razlike između izlaganja u tretiranom i netretiranom tlu kod smeđih i bijelih vrećica. Zelena vrećica nije pokazala značajne mehaničke promjene niti u tretiranom niti u netretiranom tlu, što opet povežujemo s njezinim potencijalno različitim sirovinskim (kemijskim) sastavom. Zbog značajne fragmentacije oba tipa vrećica u tlu nismo uspjeli ispitati promjene njihovih mehaničkih svojstava (smanjenje vlačne prekidne sile i elongacije) i dati usporedbu između tretiranog i netretiranog tla. Međutim, zabilježene kvalitativne strukturne promjene, posebice vidljive kod smeđe vrećice jasno su ukazivale na navedene razlike. U tretiranome tlu, gdje je došlo do jače razgradnje, korištena su gnojiva i insekticidi, čime je promijenjen kemijski sastav tla. Na terenu su izmjereni osnovni parametri (temperatura i pH) tla, no oni nisu pokazivali razlike između tretiranog i netretiranog tla (prosječna temperatura tretiranog tla iznosila je 24,87 °C, jednako kao i netretiranog, dok je prosječni pH tretiranog tla iznosio 6,89, a netretiranog tla 6,98). Pretpostavljamo stoga da su neki drugi kemijski parametri, ali vjerojatno i razlika u sastavu mikrobnih zajednica imali značajan utjecaj na zabilježene razlike u razgradnji između tretiranog i netretiranog tla. Na tretiranim plohama (podlogama) se već dugi niz godina sadi kukuruz uz intenzivno korištenje gnojiva i insekticida. Zanimljivo je kako je u tretiranom tlu u ovom istraživanju zabilježena veća raznolikost (iako nije bila statistički značajna) i statistički značajno veća ujednačenost mikrobnih zajednica naspram netretiranog tla, što upućuje na općenito veću raznolikost mikrobioma tretiranog naspram netretiranog tla bez izražene dominacije određenih taksona. Razlike između tretiranog i netretiranog tla jasno su bile vidljive i u analizama beta raznolikosti

koje su pokazale njihovo jasno odvajanje prema raznolikosti i abundanciji mikroba. S obzirom da su smeđa i bijela vrećica pokazale razliku u fragmentaciji između eksperimentalnih tipova tla, pri čemu je u netretiranom tlu došlo do slabije fragmentacije, a u tretiranom tlu do jake fragmentacije (koja je onemogućila analizu promjena mehaničkih svojstava), zaključujemo kako sastav i raznolikost mikrobnih zajednica vjerojatno imaju značajnu ulogu u razgradnji ovih tipova vrećica. Također, navedeno nas upućuje kako će negativni utjecaj biorazgradivih vrećica biti veći i dugoročniji (sporija razgradnja) ukoliko one dospiju u antropogeno nepromijenjena prirodna tla.

6 ZAKLJUČAK

Iz provedenog istraživanja vidljivo je da različiti tipovi komercijalno dostupnih biorazgradivih vrećica u Republici Hrvatskoj pokazuju znakove fragmentacije i promjene mehaničkih svojstava prilikom kratkotrajnog izlaganja u okolišu, pri čemu pretpostavljamo kako sirovinski (kemijski) sastav najviše utječe na mogućnost njihove razgradnje. Različiti tipovi okolišnih uvjeta su ili vrlo uspješno (kompost, tlo) ili gotovo zanemarivo (zrak, voda) utjecali na mehaničku razgradnju vrećica.

Možemo zaključiti kako najbolji potencijal za razgradnju biorazgradivih vrećica imaju bijele i smeđe vrećice odložene u kompostu. Od svih tipova ispitivanih vrećica, smeđe vrećice su pokazale bolji potencijal razgradnje u više različitih tipova okoliša (kompost i tretirano tlo, te slabljenje mehaničkih svojstava izlaganjem u vodi i netretiranome tlu).

Najbolja razgradnja svih tipova vrećica ostvarena je u kompostu, zatim u tlu, a u vodi i zraku najlošija. To nam govori da ukoliko ove vrećice dospiju u vodeni okoliš (slatkovodni ili morski), njihova razgradnja će biti dugotrajna što može imati neželjene posljedice za organizme koji u takvom okolišu obitavaju, slično kao i kod konvencionalnih plastičnih vrećica.

Fragmentacija i promjena mehaničkih svojstava biorazgradivih vrećica u tlu ovisi o kemijskim i biološkim karakteristikama tla, pri čemu na njihovu razgradnju također utječe sastav i zastupljenost mikrobnih zajednica. Veća raznolikost mikrobnih zajednica u tretiranom tlu potencijalno je doprinijela izraženoj fragmentaciji i razgradnji dva analizirana tipa biorazgradivih vrećica (bijela i smeđa) u tretiranom tlu. Navedeno upućuje kako će razgradnja biorazgradivih vrećica biti sporija u prirodnim staništima, čime njihov negativan utjecaj na biološku raznolikost može biti jači i dugoročniji.

Iz svega navedenog možemo zaključiti kako je i biorazgradive vrećice potrebno zbrinjavati na za to propisanim odlagalištima te je daljnjim istraživanjima potrebno dokazati dolazi li do potpune razgradnje, u kojem periodu i na koje čestice.

LITERATURA

1. Bagherzadeh, R., Pakravan, H. R., Sadeghi, A. H., Latifi, M., & Merati, A. A. (2012). An investigation on adding polypropylene fibers to reinforce lightweight cement composites (LWC). *Journal of Engineered Fibers and Fabrics*, 7(4), 155892501200700410.
2. Barić, G. (2010). *Plastika i guma-danas i sutra. Plastika i guma-danas i sutra.*
3. Borrelle, S.B., Ringma, J., Lavender, K., Monnahan, C.C. McGivern, L.L., Murphy, E., Jambeck, J., Leonard, G.H., Rochman, C.M. (2020.) Predicted growth in plastic waste exceeds efforts to mitigate plastic pollution. *Science*, vol. 369, no. 6510.
4. Choe, S., Kim, Y., Won, Y., Myung J. (2021.) Bridging Three Gaps in Biodegradable Plastics: Misconceptions and Truths About Biodegradation. *Front Chem.* 2021; 9: 671750.
5. Cole, M.; Lindeque, P.; Halsband, C.; Galloway, T. S. (2011.) Microplastics as contaminants in the marine environment: A review *Mar. Pollut. Bull.* 62, 2588– 2597
6. Čunko, R., Andrassy, M. (2005.). *Vlakna*, Zrinski d.d Čakovec
7. Davis, H. (2015). Life & death in the Anthropocene: A short history of plastic. *Art in the anthropocene: Encounters among aesthetics, politics, environments and epistemologies*, 347-58.
8. Europska komisija (2018.) Radni dokument službi Komisije priložen komunikaciji „Europska strategija za plastiku u kružnom gospodarstvu”, SWD final.
9. Geyer, R., Jambeck, J.R., Law, K.L. (2017.) Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science Advance*, vol. 3, no. 7.
10. Horton, A.A., (2022.) Plastic pollution: When do we know enough?, *Journal of Hazardous Material*, vol. 442
11. Horton A.A., Barnes, D. (2020.) Microplastic pollution in a rapidly changing world: implications for remote and vulnerable marine ecosystems. *Science of The Total Environment*, vol. 738, 140349
12. Hrenović J., Kovač V., Ivanković T.. (2011.) Microbial Colonization of High Density Polyethylene Garbage Bags, *Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju, biotehnologiju i nutricionizam*. vol. 6 No. 1-2
13. Hrvatska agencija za okoliš i prirodu (2020.) Pregled podataka o odlaganju i odlagalištima otpada za 2019. godinu, Ministarstvo zaštite okoliša i energetike
14. Hrvatska enciklopedija (2018.) *Polimeri*, Leksikografski zavod Miroslav Krleža, Zagreb

15. Klauss, M. & Bidlingmaier, W. 2004 Biodegradable polymer packaging: practical experiences of the model project Kassel. Proceedings of the 1st UK Conference and Exhibition on Biodegradable and Residual Waste Management, 18–19 February 2004, Harrogate, UK. (eds E. Papadimitrou & E. Stentiford), pp. 382–388. Leeds, UK: CalRecovery Europe Ltd.
16. López-Ibáñez, S., Beiras, R. (2022.) Is a compostable plastic biodegradable in the sea? A rapid standard protocol to test mineralization in marine conditions. *Science of The Total Environment*, vol 831.
17. Meikle, J. L. (1995). *American plastic: a cultural history*. Rutgers University Press.
18. Napper I.E. i Thompson R.C. (2019.) : Environmental Deterioration of Biodegradable, Oxo-biodegradable, Compostable and Conventional Plastic Carrier Bags in the Sea, Soil and Open-Air Over a Three-Year Period, *Environmental Science & Technology*. 53, 9, 4775–4783
19. Orhan Y., Hrenović J. i Büyükgüngöra H. (2004.) Biodegradation od plastic bags under controlled soil conditions, *Acta Chimica Slovenica*. 51, 579–588.
20. Ptiček Siročić A. (2012.) *Recikliranje i zbrinjavanje otpada*, Interna skripta, Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije. Zavod za polimerno inženjerstvo i organsku kemijsku tehnologiju
21. Rasmussen, S. (2021.) From Parkesine to Celluloid: The Birth of Organic Plastics, *Angewandte Chemie International Edition*, Volume 133, Issue 15
22. Rist S, Carney Almroth B, Hartmann NB, Karlsson TM. (2018.) A critical perspective on early communications concerning human health aspects of microplastics. *Sci Total Environ* 626:720–6.
23. Ribba, L., Lopretti, M., Montes de Oca-Vásquez, G., Batista, D., Goyanes, S., Vega-Baudrit, J.R. (2022.) Biodegradable plastics in aquatic ecosystems: latest findings, research gaps, and recommendations. *Environmental Research Letters*, Volume 17, Number 3
24. Rochman, C.M., Brookson, C., Bikker, J., Djuric, N., Earn, A., Bucci, K., Athey, S., Huntington, A., McIlwraith, H., Munno, K., De Frond, H., Kolomijeca, A., Erdle, L., Grbic, J., Bayoumi, M., Borrelle, S.B., Wu, T., Santoro, S., Werbowski, L.M., Zhu, X., Giles, R.K., Hamilton, B.M., Thaysen, C., Kaura, A., Klasios, N., Ead, L., Kim, L., Sherlock, C., Ho, A., Hung, C. (2019.) Rethinking microplastics as a diverse contaminant suite. *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 38, issue 4.

25. Ruggero F., Gori R., Lubello C. (2019.) Methodologies to assess biodegradation of bioplastic during aerobic composting and anaerobic digestion, *Waste management and research*. 37(10):959-975.
26. Qin, M., Chen, C., Song, B., Shen, M., Cao, W., Yang, H., Zeng, G., Gong, J. (2021.) A review of biodegradable plastics to biodegradable microplastics: Another ecological threat to soil environments? *Journal of Cleaner Production*, vol. 312
27. Quade, J., López-Ibáñez, S., Beiras, R. (2022.) Mesocosm trials reveal the potential toxic risk of degrading bioplastics to marine life. *Marine Pollution Bulletin*, vol. 179
28. Song, J. H., Murphy, R.J., Narayan, R., Davies, G. B. H. (2009.) Biodegradable and compostable alternatives to conventional plastics, *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2009 Jul 27; 364(1526): 2127–2139
29. Sorrentino A., Gorassi G. and Vittoria V., (2007.) Potential perspectives of bionanocomposites coatings for food packaging applications. *Trends Food Sci. Technol.* (2007.) 18 (2), 84- 95
30. Šola, I., Gušić, N., Lovrić, D. (2014.) *Gospodarenje otpadnim vrećicama*, *Kemijska industrija*. Vol. 63 (5-6), str. 209-211
31. Travaš V., Kranjčević, L., Družeta, S., Holjević, T., Lučin, I., Alvir, M., Grbčić, L., Sikirica, A., (2021.) Model gibanja čestica mikroplastike u nehomogenom i laminarnom polju brzine, *Hrvatske vode*, 29 (2021): 117: 201-213
32. Vaverková M., Adamcová D., Kotovicová J. i Toman F. (2011.) Evaluation of biodegradability of plastic bags in composting conditions, *Ecological Chemistry and Engineering*. 21(1):45–57
33. Viera, J.S.C., Marques M.R.C., Nazareth, M.C., Jimenez, P.C., Sanz-Lázaro, C., Castro, I.B. (2021.) Are biodegradable plastics an environmental rip off? *Journal of Hazardous Materials*, vol. 416
34. Wei, R., Tiso, T., Bertling, J., O'connor, K., Blank, L. M., and Bornscheuer, U. T. (2020). Possibilities and limitations of biotechnological plastic degradation and recycling. *Nat. Catal.* 3, 867–871.
35. Wright, S. L.; Thompson, R. C.; Galloway, T. S. (2013.) The physical impacts of microplastics on marine organisms: A review *Environ. Pollut.* 178 (0) 483– 49
36. Wünsch, J. R. (2000.) *Polystyrene: Synthesis, production and applications*.
37. Ziajahromi, S., Kumar, A., Neale, P.A., Leusc, F. (2017.) Impact of Microplastic Beads and Fibers on Waterflea (*Ceriodaphnia dubia*) Survival, Growth, and Reproduction:

- Implications of Single and Mixture Exposures. Environ Sci Technol. 2017 Nov 21;51(22):13397-13406
38. Zimmerman, A., Singleman, C., Harrison, E., Roy, N.K., Wirgin, I., Holtzman, N.G. (2021.) Toxic Effects of Polychlorinated Biphenyl Congeners and Aroclors on Embryonic Growth and Development. Environmental Toxicology and Chemistry. Vol. 40, issue 1.

MREŽNI IZVORI

1. https://www.eca.europa.eu/Lists/ECADocuments/RW20_04/RW_Plastic_waste_HR.pdf (pristup: 18. siječnja 2022.)
2. <http://www.haop.hr/hr/propisi-za-podrucje-gospodarenja-otpadom/propisi-za-podrucje-gospodarenja-otpadom> (pristup: 20. siječnja 2022.)
3. <https://koprivnica.hr/wp-content/uploads/2019/02/Vrste-plastike-i-kako-se-reciklira.pdf> (pristup: 18. siječnja 2022.)
4. <https://www.nationalgeographic.org/encyclopedia/great-pacific-garbage-patch/> (pristup: 24. siječnja 2022.)
5. http://tlo-i-biljka.eu/Gnojidba/Zanimljivosti/Zanimljivosti_11-2018_Mikroplastika.pdf (pristup: 24. siječnja 2022.)
6. <https://www.zgh.hr/> (pristup: 30. siječnja 2022.)
7. <https://www.situbiosciences.com/product/astm-d5338-biodegradation-test-composting/> (pristup: 09. kolovoza 2022.)

ŽIVOTOPIS

Martina Fileš, rođena 1995. u Zagrebu.

Nakon završene Osnovne škole Mate Lovraka i Prirodoslovne škole Vladimir Prelog, upisuje Agronomski fakultet, 2014. godine u Zagrebu. 2015. godine upisuje Stručni studij za izobrazbu trenera na Kineziološkom fakultetu u Zagrebu. Stjecanjem prvostupničke diplome bacc.ing.agr., diplomski studij nastavlja na Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu. U tijeku diplomskog studija, stječe i prvostupničku diplomu bacc.cin.

Tijekom studija ostavlja brojne uspješne sportske rezultate od kojih je bitno napomenuti – državni rekord u skoku s motkom, nastup na Europskom prvenstvu, brončana medalja na Prvenstvu Balkana u Istanbulu te kao aktivni član atletske reprezentacije nastupa na brojnim nacionalnim i međunarodnim natjecanjima.

Osim sportskih uspjeha, za poduzetničke pothvate osvaja nagradu Nevjerojatni – za mlade poduzetnike (za vlastitu tvrtku koja se bavi proizvodnjom i prodajom ekoloških proizvoda za poljoprivredu) te Social Impact Award – za Muzej sportskih ZGoda.