

# Mikroplastika u mediteranskoj dagnji (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) i kamenici (*Ostrea edulis* Linnaeus, 1758) u šibenskom zaljevu

---

Mihaljević, Dominik

Master's thesis / Diplomski rad

2020

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:217:323558>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-24**



Repository / Repozitorij:

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



Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Biološki odsjek

Dominik Mihaljević

**Mikroplastika u mediteranskoj dagnji (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) i kamenici (*Ostrea edulis* Linnaeus, 1758) u šibenskom zaljevu**

Diplomski rad

Zagreb, 2019.

Ovaj rad, izrađen na Zoologijskom zavodu Biološkog odsjeka Prirodoslovno–matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, pod vodstvom doc. dr. sc. Ivane Buj, predan je na ocjenu Biološkom odsjeku Prirodoslovno–matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu radi stjecanja zvanja magistar ekologije i zaštite prirode.

*Ovim putem zahvaljujem se svojoj mentorici doc. dr. sc. Ivani Buj na pomoći pri odabiru teme, stručnoj pomoći, korekciji i sugestijama pri izradi ovog diplomskog rada.*

*Također zahvaljujem se prijatelju i kolegi Kristijanu Grčiću uz čiju sam pomoć došao do uzorkovanih organizama.*

*Hvala svim profesorima koji su velikodušno podijelili svoja znanja sa mnom tijekom studiranja.*

*Hvala svim prijateljima i kolegama koji su bili uz mene u svim situacijama i bez kojih cijelo studiranje ne bi bilo ni blizu toliko ugodno i zabavno.*

*Hvala mojoj djevojci koja je imala strpljenja i razumijevanja tijekom svih onih teških ispita.*

*Posebno se zahvaljujem svojoj obitelji na razumijevanju i podršci, kako u životu tako i u studiranju.*

*I na samom kraju posebno hvala mom djedu koji mi je životna inspiracija i uzor.*

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu

Prirodoslovno-matematički fakultet

Biološki odsjek

Diplomski rad

### **Mikroplastika u mediteranskoj dagnji (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) i kamenici (*Ostrea edulis* Linnaeus, 1758) u šibenskom zaljevu**

Dominik Mihaljević

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

U lipnju 2019. na području šibenskih uzgajališta dagnji prikupljeni su organizmi za analizu mikroplastike u komercijalno bitnim školjkašima. Ciljane vrste, na kojima je vršeno istraživanje, bile su mediteranska dagnja (*Mytilus galloprovincialis*) i kamenica (*Ostrea edulis*). Razlozi uzimanja navedenih vrsta kao pokazatelja količine mikroplastike u morima su sljedeći: školjkaši su filtratori koji filtriranjem mora dolaze u kontakt s fragmentima plastike manjima od 5 mm u promjeru te u svojim tkivima filtriranjem nakupljaju mikroplastiku, ukoliko je ona prisutna u morskom okolišu. Osim toga, bitno je procijeniti rizik konzumiranja navedenih vrsta jer su gastronomski važne. Organska tvar iz školjkaša otopljena je u 10-postotnoj otopini kalijevog hidroksida (KOH), nakon čega je sadržaj filtriran na filter papirima koji su osušeni. Filteri su pregledani pod lupom i fotografirani u slučaju da je mikroplastika bila prisutna na njima. Nadalje, izmjerene su osnovne morfometrijske značajke istraživanih jedinki. Rezultati istraživanja pokazuju da je mikroplastika bila prisutnija u dagnjama, nego u kamenicama, a treba napomenuti da se na području prikupljanja organizama dagnje uzgajaju na klasičan način, odnosno na pergolarima, dok su kamenice bile prikupljene iz divljine u blizini samog uzgajališta.

Rad je pohranjen u: Središnja biološka knjižnica Biološkog odsjeka PMF-a, Marulićev trg 20/II, 10 000 Zagreb.

Ključne riječi: Mikroplastika, dagnja, kamenica, vlakna, fragmenti.

Voditelj: Dr. sc. Ivana Buj, doc.

Ocjenitelji:

Rad prihvaćen:

## BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb

Faculty of Science

Division of Biology

Graduation Thesis

### **Microplastics in mussels (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck,1819) and Mediterranean flat oysters (*Ostrea edulis* Linnaeus,1758) in bay of Šibenik**

Dominik Mihaljević

Rooseveltova trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

In June 2019, organisms were collected in the area of Šibenik's mussel farms to sample microplastics in commercially important bivalve molluscs. The target species studied were mussels (*Mytilus galloprovincialis*) and Mediterranean flat oysters (*Ostrea edulis*). The reasons for taking these species as an indicator of the amount of microplastics in the seas is that shellfish are filter feeders which by filtering the sea, come into contact with plastic fragments of less than 5 mm in diameter, they are also an important part of gastronomy, so one of the reasons as well was to assess the risk for human consumption. Organic matter was dissolved in 10% potassium hydroxide (KOH) solution, after which the contents were filtered on filter paper, and then dried. The filters were examined under a magnifying glass and photographed when microplastics were present on them. Contamination of the samples during the experiment was minimized by wearing a 100% cotton lab coat and covering the filters during drying with aluminum foil. The results of the research show that microplastics were more present in mussels than in oysters, it should be noted that mussels were grown in the classical way, on ropes, while oysters were collected from the wild near the farm itself.

Thesis deposited in Central library of Department of Biology, Marulićev trg 20/2, Zagreb

Keywords: Microplastics, mussels, oysters, fibers, fragments.

Supervisor: Dr. sc. Ivana Buj, Assist. Prof.

Reviewers:

Thesis accepted:

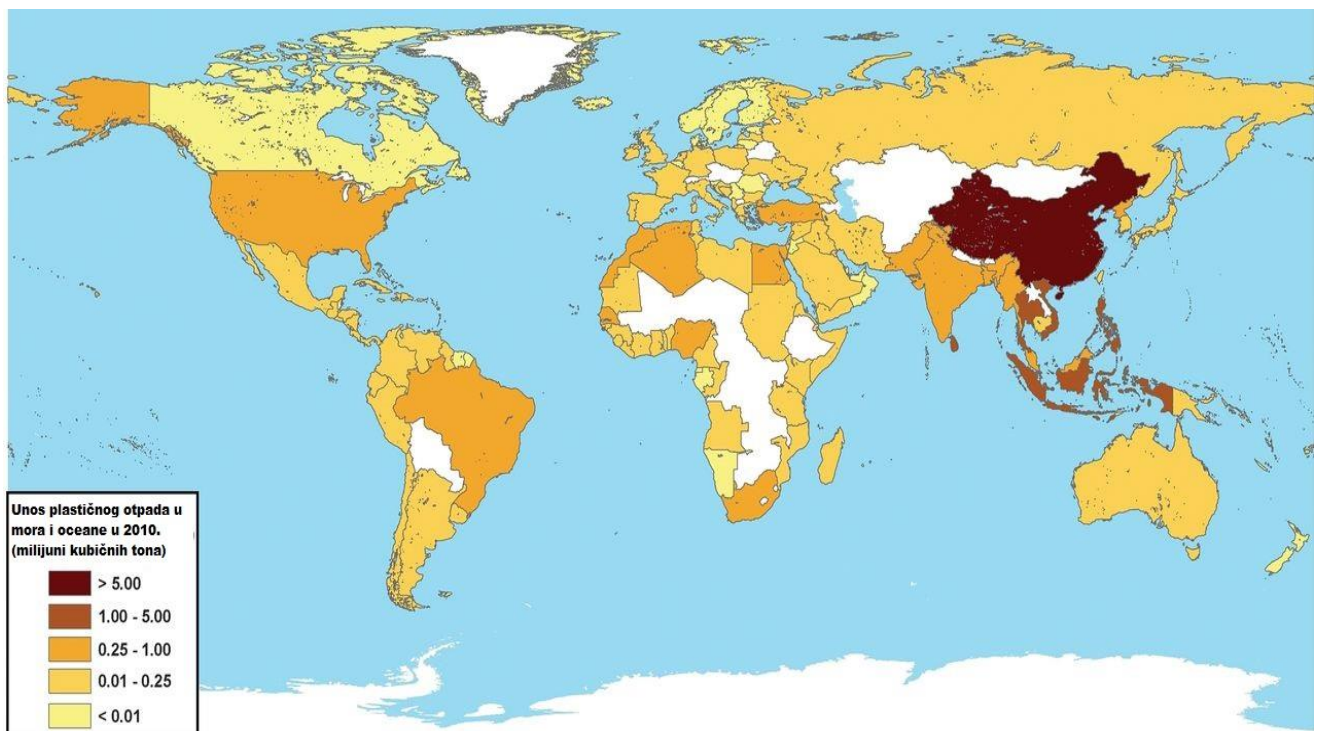
## Sadržaj

1. Uvod.....	1
1.1. Plastika.....	1
1.1.1. Vrste plastike .....	2
1.2. Plastika u morima .....	3
1.3. Mikroplastika .....	4
1.3.1. Primarna i sekundarna mikroplastika .....	5
1.4. Koncentracija mikroplastike u morskom okolišu i morskim organizmima .....	7
1.5. Cilj istraživanja.....	10
2. Materijali i metode .....	11
2.1. Područje istraživanja .....	11
2.2. Organizmi korišteni u istraživanju.....	12
2.2.1. Mediteranska dagnja <i>Mytilus galloprovincialis</i> .....	13
2.2.2. Kamenica <i>Ostrea edulis</i> .....	14
2.3. Morfometrijske analize.....	15
2.4. Analiza prisutnosti mikroplastike u školjkašima .....	16
3. Rezultati .....	17
3.1. Rezultati morfometrijskih mjerenja.....	17
3.2. Prisutnost mikroplastike u uzorcima dagnji i kamenica.....	21
4. Rasprava .....	26
5. Zaključak .....	28
6. Literatura .....	29
Životopis.....	31

# 1. Uvod

## 1.1. Plastika

Plastika je naziv za široku skupinu sintetičkih i polusintetičkih polimera s različitim karakteristikama obično dobivenih iz fosilnih resursa (ugljen, sirova nafta, prirodni plin), a često se dobivaju i iz organskih proizvoda (celuloza, šećerna repa, kukuruz, morske alge itd). Prva proizvodnja plastike datira iz doba industrijske revolucije tijekom 19. stoljeća. Smatra se da je prvi oblik plastike bio parkesin, dok je zapravo prva u potpunosti sintetički napravljena plastika bila bakelit s početka 20. stoljeća, dobiven reakcijom fenola i formaldehida. Značajna proizvodnja plastike počinje između dva svjetska rata tijekom nestašice prirodnih materijala. U drugoj polovici 20. stoljeća potražnja za sintetičkim polimerima značajno raste zato što su bili jeftiniji od prirodnih materijala, a ujedno i zbog napretka u tehnologiji stvaranja istih. Procijenjeno je da je proizvodnja plastike širom svijeta dosegla 322 milijuna tona 2015. Smatra se da proizvodnju predvode Kina (27.8%), Europska Unija (18.5%) i Sjeverna Amerika (18.5%) (Slika 1), a pretpostavlja se da će do 2050. globalna potražnja i proizvodnja plastike prijeći  $1 \times 10^9$  tona (Lusher, 2017).



Slika 1. Svjetski unos plastike u mora preko komunalnog otpada i otpadnih voda (izvor Jambeck, 2015).



Jedna od glavnih značajki plastike jest njena dugotrajnost i otpornost na okolišne uvjete, stoga je kroz povijest sve više zamijenila prirodne materijale kao što su koža, metali i drvo. Njena dugotrajnost ujedno je i najveći razlog zagađenja okoliša kako na kopnu tako i u morima (Sivan, 2011).

### **1.1.1. Vrste plastike**

Postoje tri velike klasifikacijske skupine: plastomeri, duromeri i elastomeri. Plastomeri zagrijavanjem omekšaju i tale se pa se mogu plastično oblikovati i nakon procesa proizvodnje. Hlađenjem otvrdnu i zadrže dobiveni oblik, ali naknadnim zagrijavanjem omekšaju i mogu se preoblikovati. Ovo svojstvo omogućuje reciklažu koja kod duromera nije moguća. Duromeri mogu omekšati i oblikovati se samo tijekom proizvodnje nakon čega trajno zadržavaju svoj oblik. Na povišenoj temperaturi ne omekšavaju, nego dolazi do trajne razgradnje makromolekula. Elastomeri su materijali koji se proizvode od prirodnog ili umjetnog kaučuka te se mogu rastegnuti i vratiti se u prvobitan oblik (Lusher, 2017).

U plastiku se ubraja više od 20 skupina polimera, od kojih je šest najučestalijih u Europi: polipropilen (PP) visoke i niske gustoće, polietilen (HDPE i LDPE), polivinil klorid (PVC), poliuretan (PUR), polietilen tereftalat (PET) i polistiren (PS) (Dehaut i sur., 2016).

Ovisno o zahtjevima tržišta polimeri se uglavnom obogaćuju aditivima kao npr. plastifikatorima ili omekšivačima, pojačivačima, punilima, bojama, tvarima koje usporavaju gorenje, modifikatorima zbog dobivanja određenih karakteristika poput fleksibilnosti, čvrstoće, otpornosti na toplinu, izolacije od električnog proboja itd. Neki od tih aditiva, kao što su ftalati, se uglavnom koriste u proizvodnji PVC-a, ujedno nisu kemijski vezani za polimere te se mogu otpuštati u okoliš tijekom proizvodnje i korištenja. Bifenol A (BPA) je još jedan od aditiva koji se koriste u proizvodnji plastike s procijenjenom godišnjom proizvodnjom u svijetu od oko 5.2 milijuna tona u 2008. godini. Dolazak BPA u morski okoliš može se dogoditi putem odvajanja aditiva iz plastike pakiranja hrane i pića, a isto kao i ftalati dovode do endokrine disrupcije jer se vezuju na receptore estrogena u organizmima (Lusher, 2017).

## 1.2. Plastika u morima

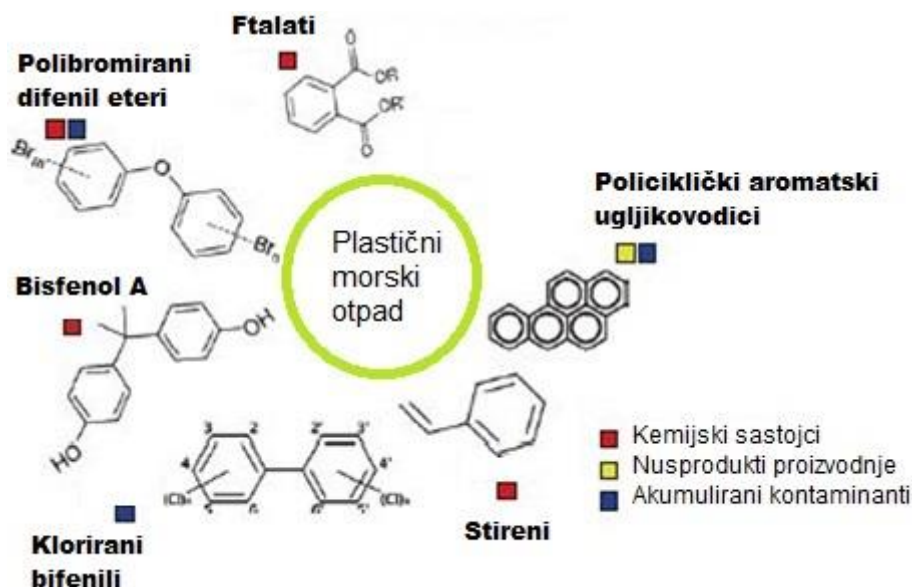
Prvi zabilješke o prisutnosti plastike u morima datiraju iz 1960.-ih kada su zapaženi prvi primjeri zaplitanja morskih sisavaca u odbačene mreže i konzumiranja plastike od strane morskih ptica u sjevernom dijelu Tihog oceana. Kod riba je digestija polistirenskih peleta zabilježena u 14 vrsta 1972. godine na području istočne obale Sjeverne Amerike, a daljnja istraživanja samo su potvrdila da su morski ekosustavi pod prijetnjom zagađenja. Znanstvenici su primijetili i da se mahovnjak *Electra tenella* (Hincks, 1880) pomoću plutajućih krhotina plastike raširio te povećao svoju brojnost na području zapadnog Atlantika pa su došli do zaključka kako plastika u morima nije samo uzrok smrtnosti kroz digestiju i zaplitanje, već služi kao vektor za rasprostranjivanje vrsta na nova područja (Kießling, 2015).

Zagađenje morskih sustava plastikom je globalni problem koji sve više dolazi do izražaja. Plastika, zbog svoje izdržljivosti i plovnosti, je prisutna u svim morima i oceanima, a neki znanstvenici čak tvrde da plastični otpad treba karakterizirati kao opasan jer se pod utjecajem vremenskih uvjeta i sunca plastika ne razgrađuje već se raspada na sve manje dijelove i tako se dalje širi u okoliš, a u sebi sadrži razne toksične spojeve koji imaju štetan utjecaj na organizme (Rochman, 2013).

Znatno onečišćenje morskih sustava zabilježeno je u zatvorenim uvalama i zaljevima koji su obično u neposrednoj blizini naseljenih područja. Napušteni ribolovni alati, plastične vrećice, pakiranja hrane i plastične boce jedni su od glavnih razloga ugibanja sve većeg broja morskih organizama poput riba, morskih sisavaca, ptica i morskih gmazova koji se zapliću u napuštene mreže ili jednostavno zabunom zamjenjuju svoj plijen s plastikom (Eriksen, 2014).

Morski plastični otpad povezan je složenom smjesom kemikalija, uključujući sastojke plastičnog materijala (npr. monomera i aditiva), nusprodukte proizvodnje (npr. kemikalije sastavljene tijekom izgaranja sirovine iz nafte) i kemijska onečišćenja u oceanu koja se nakupljaju na plastiku kada postane morski otpad. Postoje dokazi da ova mješavina (koktel kontaminanta) može biti bioraspoloživa kitovima, školjkašima i ribama nakon digestije plastičnog materijala. To izaziva zabrinutost jer je Europska unija (Europska komisija, 2014.) navela neke od ovih kemikalija kao prioritetne onečišćujuće tvari jer su izdržljive, bioakumulativne i/ili otrovne (Slika 2). Zapravo, od

kemikalija, koje je EU navela kao prioritete onečišćujuće tvari, 78 % je povezano s morskim plastičnim otpadom (Bergman i sur., 2015).



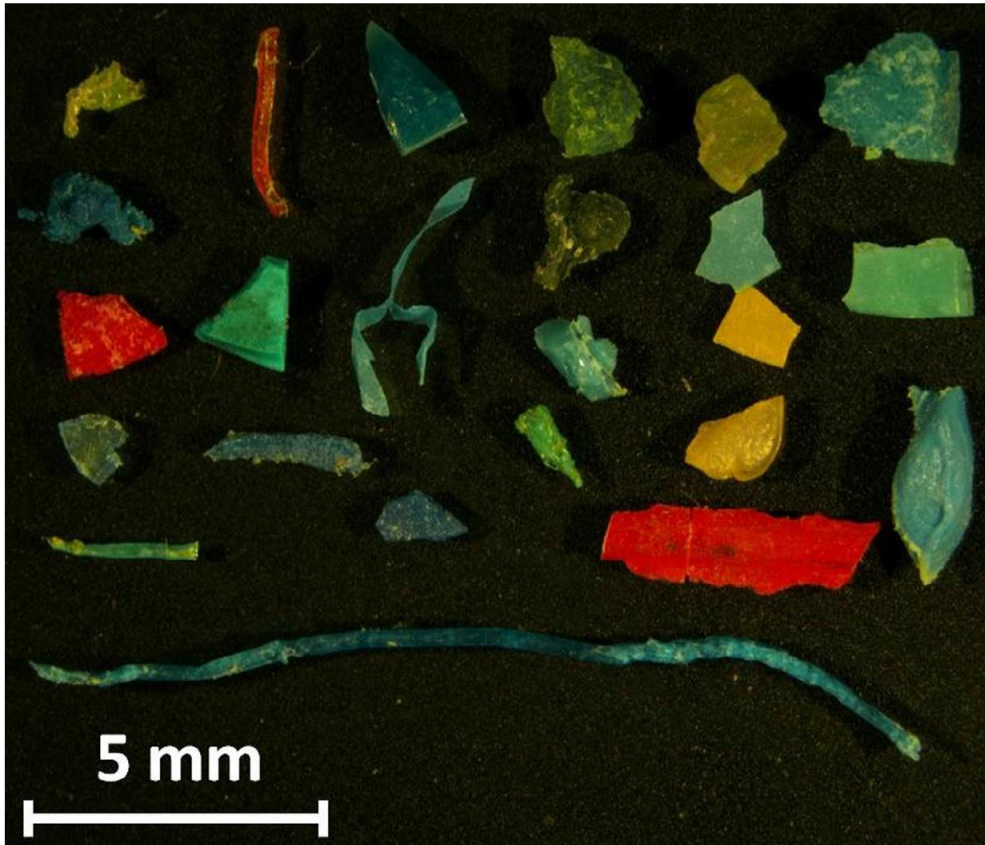
Slika 2. Koktel kontaminanata povezanih s morskim otpadom. Kontaminanti povezani s morskim ostacima uključuju kemijske sastojke (crveni kvadrati), nusprodukte proizvodnje (žuti kvadrati) i one koji se akumuliraju iz okolne oceanske vode u morskom okolišu (plavi kvadrati) (izvor Rochman Lusher 2015).

### 1.3. Mikroplastika

Iako su razne vrste plastike otporne na mehanička djelovanja, one ipak nisu neuništive, odnosno s vremenom se raspadaju na sve manje fragmente. UV zračenje jedan je od ključnih faktora degradacije plastike na kopnu, dok u morima to nije slučaj jer mora apsorbiraju UV zračenja pa je sama degradacija plastike znatno usporena. Stopa raspadanja uvelike ovisi o temperaturi mora, vrsti polimera i vrsti aditiva korištenih u proizvodnji same plastike (Ryan, 2015).

Pojam mikroplastika obuhvaća sve čestice manje od 5 mm koje se pojavljuju u pet najčešćih oblika: vlakna, fragmenti, kuglice, peleti i pjenasta mikroplastika (Slika 3). Za opisivanje mikroplastike najčešće se uzimaju parametri veličine, oblika i boje. Veličina je bitan faktor kod istraživanja mikroplastike jer diktira raspon organizama na koje utječe i koji se istražuju. Sudbina mikroplastike otpuštene u morski ekosustav ovisi o gustoći samog polimera koja utječe na njegovu plovnost. Polimeri veće gustoće od gustoće morske vode uglavnom tonu na dno (PVC), dok polimeri s manjom gustoćom

ostaju na površini ili u vodenom stupcu (PE, PP). Obrastanje krhotina daljnja fragmentacija i otpuštanje aditiva u more utječe na plovnost istih kao i na položaj mikroplastike u vodenom stupcu (Lusher, 2017).



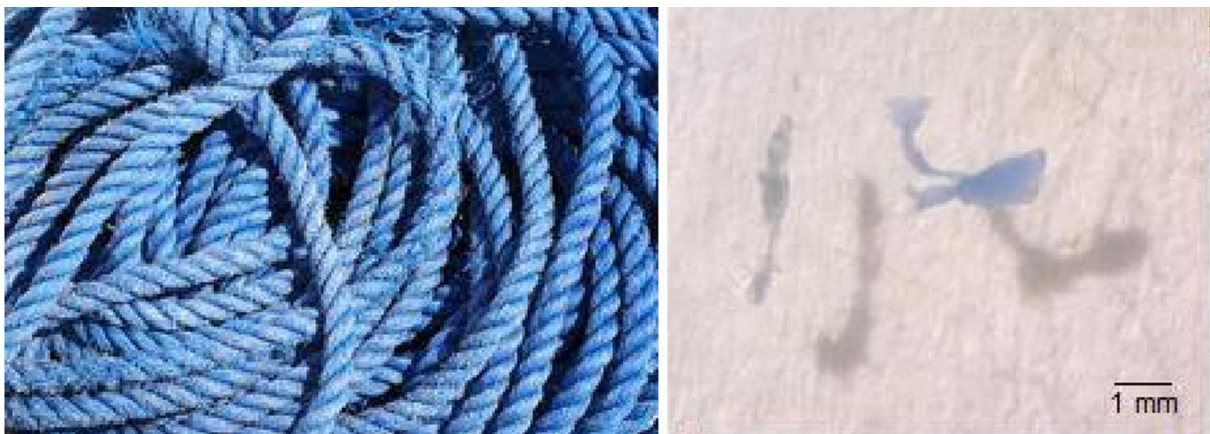
Slika 3. Primjer raznih oblika i veličina mikroplastike (Izvor Munari i sur., 2017.)

### 1.3.1. Primarna i sekundarna mikroplastika

Primarna mikroplastika uključuje sve čestice koje su proizvodne veličine manje od 5 mm: predproizvodne smole, većinom 3 – 5 mm u promjeru koje se koriste kao sirovina u proizvodnji plastike, mikrosfere korištene u kozmetičkim proizvodima i mikrosfere koje se koriste za brušenje raznih površina. Put dolaska primarne mikroplastike u morski okoliš ovisi o njihovoj namjeni, tako mikrosfere iz kozmetičkih proizvoda obično dolaze u okoliš ispusnim vodama, dok mikrosfere korištene za brušenje površina u morski okoliš dolaze zrakom i ispusnim vodama. Primarna mikroplastika, koja se koristi kao sirovina, u okoliš može doći slučajno tijekom transporta ili direktno iz tvornica (Lusher, 2015).

Sekundarna mikroplastika je nusprodukt fragmentacije i dotrajalosti većih komada plastike u okolišu. Ulazak sekundarne mikroplastike u morski okoliš može se dogoditi tijekom korištenja plastičnih materijala (ribarske mreže, konopi, boje, tekstili) ili nakon ostavljanja plastičnih materijala u okoliš (gume, vrećice, plastične boce). Glavni ekološki faktori koji doprinose stvaranju sekundarne mikroplastike su izloženost UV zračenju, temperatura i mehanički utjecaj na ostavljene plastične tvorevine. U područjima smanjene izloženosti UV zrakama, kao što su morske dubine, stvaranje sekundarne mikroplastike znatno je usporeno (Lusher, 2015).

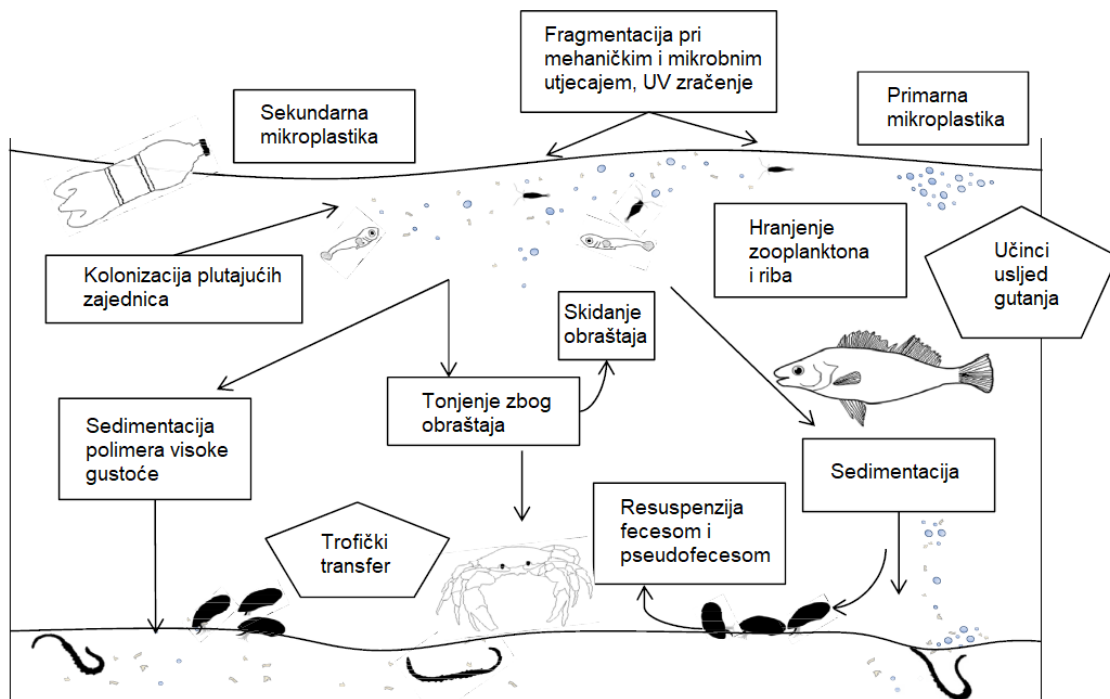
Jedan od izvora mikroplastike u morima jest industrija ribarstva i akvakulture zbog raznih alata, koji su uglavnom napravljeni od polimera, pa se tijekom korištenja događa fragmentacija. Danas se u ribarstvu uglavnom koriste mreže, vrše napravljene od umjetnih polimera dok su nekada bile napravljene od prirodnih materijala (drvo, prirodna vlakna). Još jedan od problema koji doprinosi zagađenosti mikroplastikom iz sektora ribarstva jesu napušteni ribarski alati, kao što su mreže koča koje ostaju zakačene na stijene morskog dna. U akvakulturi je širok spektar korištenja umjetnih materijala od konopa, mreža, hranilica i ostale opreme, koja je također napravljena od plastike, te se tijekom korištenja pri mehaničkim oštećenjima i s vremenom fragmentira pa završava u moru (Slika 4) (Lusher, 2017).



Slika 4. Primjer fragmentacije polipropilenskog konopa izoliran iz uzorka sedimenta (Izvor Cluzard i sur., 2015.)

## 1.4. Koncentracija mikroplastike u morskom okolišu i morskim organizmima

Izdržljivost i plovnost plastičnih materijala zajedno s morskim strujama mogu dovesti do toga da se mikroplastika akumulira kilometrima daleko od naseljenih područja u subtropskim zonama konvergencije. No sama plovnost polimera je pod utjecajem obrastanja plastičnih fragmenata s morskim organizmima pa tako polimeri dobivaju na masi i tonu na morsko dno, gdje se smatra da ostaju ili pak ponovno ulaze u hranidbenu mrežu (Slika 5). Dosadašnja istraživanja na morskim organizmima pokazuju kako mikroplastika može prijeći s nižih na više trofičke razine od planktonskih organizama pa sve do kralješnjaka kao što su ribe, morske ptice i morski sisavci (Hollman i sur., 2013).

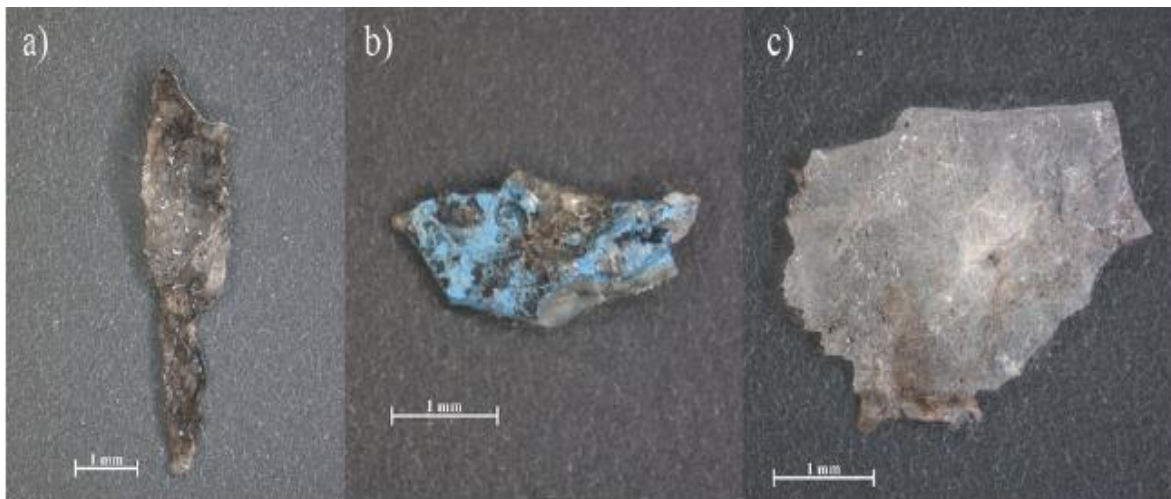


Slika 5. Potencijalni putevi za transport mikroplastike i njezine biološke interakcije (Izvor Wright 2013.)

U Sjevernom moru pet od sedam vrsta ribe sadržavalo je mikroplastiku, a ekstrakcija same plastike vršila se korištenjem jake lužine za otapanje sadržaja želuca, nakon čega je filtrirana i promatrana pod mikroskopom. Najveća koncentracija zabilježena je na području kanala La Manche, a pretpostavlja se da su glavni izvori

brodski promet i ribarska industrija. Od ukupno 1203 ribe 5.4 % sadržavalo je mikroplastiku (Foekama, 2013).

Između 2012. i 2013. u mediteranskom bazenu promatrana je količina mikroplastike u predatorskim pelagičkim ribama: iglun *Xiphias gladius* Linnaeus, 1758, plavorepa tuna *Thunnus thynnus* Linnaeus, 1758 i dugorepa tuna *Thunnus alalunga* (Bonnaterre, 1788) te je primijećeno da je 18.2 % uzoraka sadržavalo neki oblik plastike u probavnom traktu. To samo pokazuje kako se radi prijenos između trofičkih razina u moru (Slika 6) (Romeo, 2015).



Slika 6. Primjeri mikroplastike pronađeni u želučanom sadržaju kod a) igluna b) plavorepe tune c) dugorepe tune (Izvor Romeo, 2015.)

Dosadašnja istraživanja u Jadranskom moru vršena su na ribama. Na području Dubrovačko-neretvanske županije istraživane su vrste trlja od blata *Mullus barbatus* Linnaeus, 1758, oslić *Merluccius merluccius* Linnaeus, 1758 i bugva *Boops boops* Linnaeus, 1758, a plastika je pronađena u probavilima bugve i mola, dok u trlji od blata mikroplastika nije pronađena (Glavor, 2017).

U sjevernom i srednjem Jadranu istraživana je vrsta list *Solea solea* Linnaeus, 1758, kao intenzivno uzgajana i komercijalno važna vrsta. Primijećeno je da je barem neki oblik mikroplastike bio prisutan u gotovo 80 % uzoraka. Najbrojniji primjerci mikroplastike u listu bili su PVC, PP i PE, a 72 % ukupne mikroplastike činili su fragmenti nepravilnog oblika dok je 25 % bilo u obliku vlakana (Pellini, 2017).

U Jonskom moru istražena je količina mikroplastike u dagnji *Mytilus edulis* Linnaeus, 1758, srdeli *Sardina pilchardus* Walbaum, 1792, arbunu *Pagellus erythrinus* Linnaeus, 1758 i trlji od blata *Mullus barbatus*. Od ukupno 80 dagnji u 37 jedinki bila je prisutna mikroplastika, dok je kod riba najveća količina zabilježen kod srdele gdje je 17, od ukupno 36 jedinki, u svom probavnom traktu imalo neki oblik mikroplastike. Kod uzoraka arbuna, od njih 19 ukupno, 8 ih je sadržavalo mikroplastiku, a kod trlje od blata, od ukupno 25 jedinki, mikroplastika je bila prisutna u 8 uzoraka (Digka, 2018).

U komercijalno uzgajanim školjkašima *Mytilus edulis* i *Crassostrea gigas* Thunberg, 1793, koji se uglavnom uzgajaju na konopima, izloženost mikroplastici je velika, a kako su filtratori, mogućnost pronalaska mikroplastike je još veća. U istraživanju korišteni organizmi uzgajani su na tradicionalan način. Dagnja *M. edulis* korištena u istraživanju bila je iz sjevernog mora, dok je pacifička kamenica *C. gigas* došla sa uzgajališta u pokrajini Britaniji u Francuskoj. U obje skupine organizama pronađeni su fragmenti mikroplastike pa je za dagnju koncentracija iznosila  $0,36 \pm 0,07$  čestica po gramu mokre mase, dok je kod kamenica koncentracija iznosila  $0,47 \pm 0,16$  čestica po gramu mokre mase (Van Cauwenberghe, 2014).

Tijekom istraživanja prisutnosti mikroplastike u devet vrsta školjkaša, iz prirodnih i uzgajanih populacija u Kini, i nakon tretmana vodikovim peroksidom, utvrđeno je da su vlakna najzastupljeniji oblik mikroplastike u tkivu školjkaša. Mikroplastika u obliku fragmenata, vlakana i peleta, identificirana kod školjkaša, veličine je od 5  $\mu$ m do 5 mm. U osam od devet vrsta školjkaša uzorkovanih s azijskog tržišta, vlakna su činila 52 % čestica mikroplastike (Li i sur., 2015).

Pri ispitivanja dagnji, *Mytilus edulis*, *Mytilus galloprovincialis*, *Perna perna* (Linnaeus, 1758), u laboratorijskim uvjetima, dokazano je da sve tri unose čestice mikroplastike. Promjene u tkivu, upalni procesi i oksidativni stres zabilježeni su u *M. edulis* i *M. galloprovincialis* koje su ingestirale čestice polietilena i polistirena (Santana, 2015).

Mediterranska dagnja *M. galloprovincialis* u jednom je laboratorijskom istraživanju bila izložena zrcima polietilena i polistirena manjim od 100  $\mu$ m tjedan dana. Utvrđeno je da je koncentracija polistirena bila tri puta veća u probavnim žlijezdama, nego u plastičnim kuglicama (Avio i sur., 2015).



### **1.5. Cilj istraživanja**

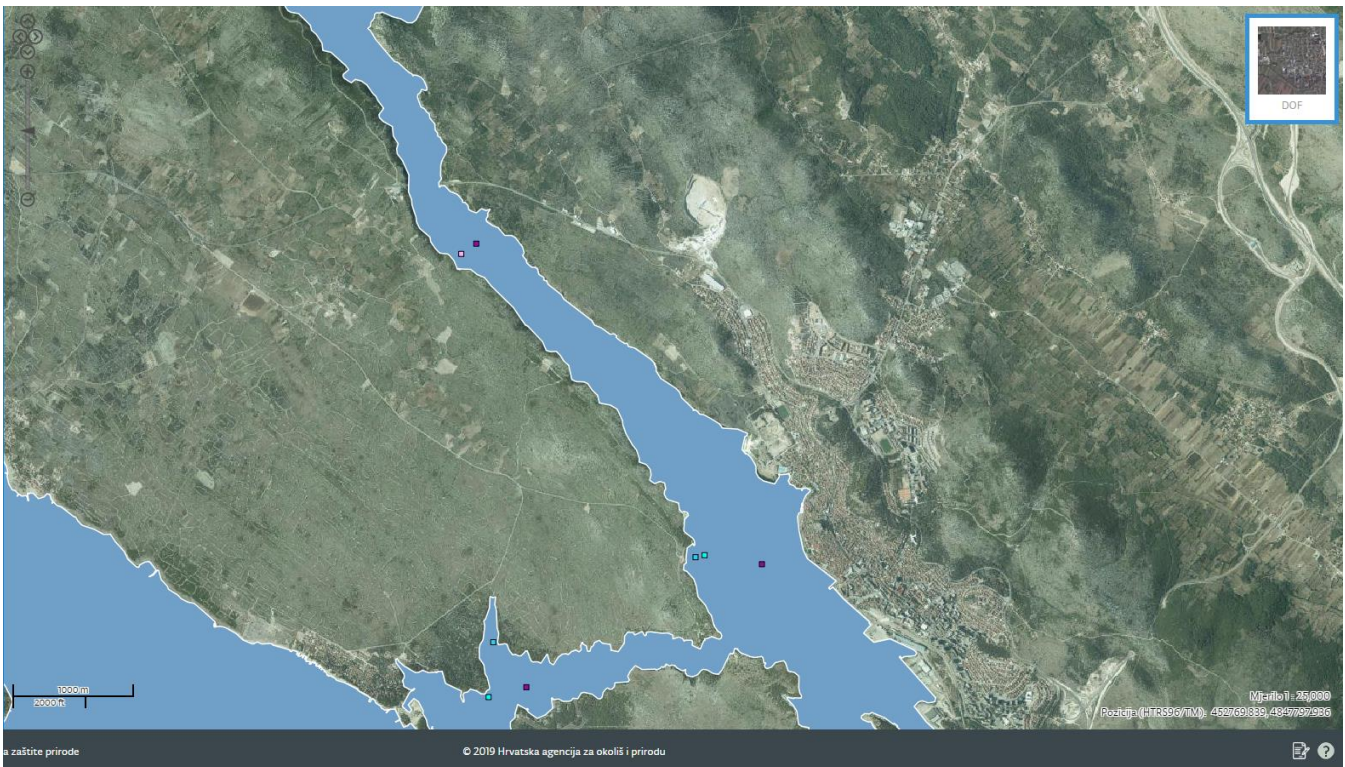
Cilj ovog istraživanja bio je provjeriti prisutnost i utvrditi količinu te oblik mikroplastike u uzgajanim mediteranskim dagnjama *M. galloprovincialis* i kamenicama *O. edulis* iz prirodnih populacija u Šibenskom zaljevu. Trenutno ne postoje istraživanja na području Jadranskog mora koja se bave količinom mikroplastike u školjkašima, a kako je riječ o filtratorskim organizmima, ovo istraživanje može dati važan uvid u prisutnost mikroplastike u okolišu. Razlog korištenja kamenica iz prirodnih populacija bio je taj što se kamenice na šibenskom području ne uzgajaju komercijalno, za razliku od dagnji. Cilj je također bio i procijeniti utjecaj veličine školjkaša na količinu mikroplastike u samom organizmu te ujedno procijeniti izloženost ljudi mikroplastici putem konzumacije školjkaša jer su ove vrste važan dio gastronomije ne samo šibenskog kraja, već i cijele Dalmacije.

## 2. Materijali i metode

### 2.1. Područje istraživanja

Područje od interesa za ovo istraživanje dio je područja ekološke mreže Natura 2000 Ušće Krke, što obuhvaća područje od Skradinskog mosta do tvrđave sv. Nikole na kraju Kanala sv. Ante. Točnije, uzgajalište na kojem su prikupljeni organizmi korišteni u istraživanju nalazi se nedaleko od Šibenskog mosta na udaljenosti oko 700 metara s lijeve strane obale kao što je prikazano na karti (Slika 7) točne koordinate uzgajališta su 43°45'22.1"N 15°51'18.0"E.

Ovaj lokalitet je zaštićen 1974. godine kao značajni krajobraz Kanal - Luka, a obuhvaća posljednji dio potopljenog ušća rijeke Krke koji se sastoji od kanala sv. Ante i Šibenskog zaljeva. Ukupna dužina ovog vodenog kanala je oko 2000 metara, a širina 140-220 metara. Prosječna dubina je oko 20-40 metara.



Slika 7. Karta Šibenskog zaljeva i Kanala sv. Ante

Prema Direktivi o staništima na toj lokaciji je prisutna biocenoza obalnih detritusnih dna. Od morskih ekosustava zabilježeni su sublitoralni pjesci, cirkalitoralni sitni muljeviti pjesci, cirkalitoralni pjeskoviti mekani muljevi i naselja morskih cvjetnica.

Uzgoj dagnji na području ušća rijeke Krke traje još od antičkih vremena, a 2015. bilo je 18 registriranih uzgajivača dagnji na području Šibenskog zaljeva. Tradicija uzgoja i sama brojnost populacije dagnji svrstale su ovo uzgojno područje kao jednu od tri glavne točke uzgoja dagnji u Hrvatskoj uz Malostonski zaljev i Limski kanal (Župan, Šarić, 2014.)

## **2.2. Organizmi korišteni u istraživanju**

Organizmi korišteni u ovom istraživanju bili su mediteranska dagnja *Mytilus galloprovincialis* i kamenica *Ostrea edulis* koji su izlovljeni 2. lipnja 2019. Nakon izlova organizmi su stavljeni u zamrzivač te su zamrznuti preneseni u Zagreb na izvođenje eksperimenta. Ukupno je izlovljeno 30 jedinki dagnje i 32 jedinice kamenice. Obje vrste bitna su komponenta gastronomske ponude Šibensko-kninske županije, pogotovo u ljetnim mjesecima. Na području šibenskog zaljeva dagnje se uzgajaju na tradicionalan način na pergolarima, odnosno na konopima koji vise u morskom stupcu. Kamenica se ne uzgaja na ovom području, nego se izlovljava iz prirodnih populacija pa su jedinice u ovom istraživanju također bile prikupljene iz prirodnih populacija u neposrednoj blizini samog uzgajališta dagnji. Uzgajališta se nalaze u zaljevu koji je dio ušća rijeke Krke, koja svojim tokom ulazi u more preko Kanala sv. Ante.

### 2.2.1. Mediteranska dagnja *Mytilus galloprovincialis*

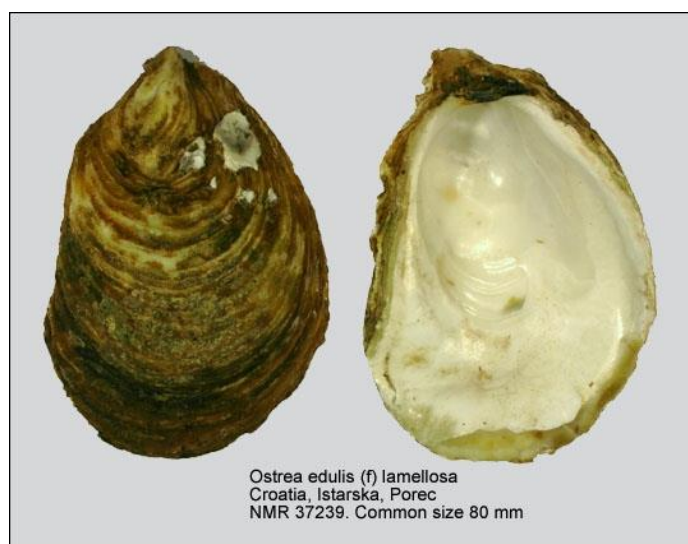
Mediteranska dagnja *Mytilus galloprovincialis* školjkaš je trokutastog oblika, čvrste građe i bilateralno simetričnih ljuštura (Slika 8). Ljuštura su crno-plave ili crno-smeđe boje, a periostrakum je obično crn. Na vanjskoj strani ljuštura ima jasno vidljive linije rasta. Dagnje su razdvojena spola, spolne žlijezde smještene su u plaštu, a spol se može makroskopski odrediti na osnovi boje gonada. Muške gonade su mliječno-bijele ili krem boje, dok su ženske narančasto-crvenkaste. Ovisno o temperaturi mora, dagnje se mogu mrijestiti jednom ili više puta godišnje. Dva dana nakon oplodnje embriji se razvijaju u planktonsku veliger ličinku. Pelagička ličinka može biti nošena strujama i više tjedana. Mediteranska dagnja nastanjuje zonu plime i oseke, a ograničena dubinska rasprostranjenost nije uvjetovana čimbenicima u dubljim slojevima infralitorala, nego biološkim čimbenicima predacije i kompeticije (Beaumont i sur., 2007).



Slika 8. Mediteranska dagnja *M. galloprovincialis* (Izvor <http://www.aquacase.org>)

### 2.2.2. Kamenica *Ostrea edulis*

*Ostrea edulis* je školjkaš ovalnog oblika s naboranom ljušturom (Slika 9). Donja je ljuštura konveksna, dok je gornja plosnata. Ljuštura su bijele ili žućkaste boje sa svijetlo smeđim ili plavičastim koncentričnim linijama na ravnoj ljušturi. Sastoje se od niza karbonatnih slojeva koji mogu imati laminarne i šuplje komore. U konveksnoj ljušturi se nalazi tkivo koje može varirati u boji od kremaste do blijedosive. U prirodnim staništima nastanjuje kamenite podloge infralitorala, premda su najzastupljenije u zoni plime i oseke, dok se planktonski ličinački stadiji (veliger) mogu pronaći u cijelom vodenom stupcu. Također nastanjuje područja gdje se nalazi boćata voda te tolerira niži salinitet bez narušavanja homeostaze. Hrani se filtracijom morske vode tako da zadržava fitoplankton i ostale sitne čestice (neselektivni filtrator). Prosječna dužina odrasle jedinke je između 10 i 12 cm. *Ostrea edulis* je protandrični hermafrodit. Ona u sebi nosi muške i ženske spolne produkte. Budući da ne sazrijevaju istovremeno, samooplodnja je rijetka. Oplodnja je unutrašnja, tj. jajne stanice oplođuju se spermatozoidima u plaštanoj šupljini u kojoj započinje rana embriogeneza. Oplođene jajne stanice ostaju u plaštanoj šupljini 8 do 10 dana, ovisno o temperaturi. Dozrele ličinke (predveliger) izbacuju se iz plaštene šupljine te nastavljaju planktonski život, ovisno o prevladavajućim temperaturnim uvjetima, do 2 tjedna prije prihvata na tvrdu podlogu. Preko cementne žlijezde, koja je aktivna, veoma kratko ispuštaju vapnenastu sluz te se na taj način spajaju sa podlogom (Barnabe, 1994.).



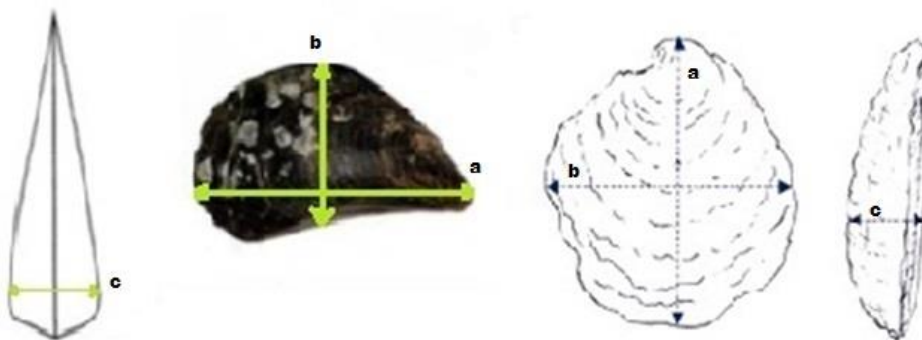
Slika 9. Europska plosnata kamenica *Ostrea edulis* (Izvor <http://www.marinespecies.org>)

### 2.3. Morfometrijske analize

U eksperimentu sam koristio 30 jedinki dagnje i 32 jedinke kamenice. Na svim organizmima prije analize sadržaja mikroplastike, proveo sam mjerenje određenih parametara (Slika 11) digitalnom pomičnom mjerkom (Slika 10), a jedinke su također izvagane s ljuštrom. Nakon uklanjanja ljuštire tkivo školjkaša je opet je izvagano.



Slika 10. Digitalna pomična mjerka korištena u eksperimentu



Slika 11. Mjere dimenzija ljuštura a) duljina b) visina c) širina

Na temelju izmjerenih morfometrijskih parametara na kraju sam proveo analizu glavnih komponenti (PCA) u kojoj su se kao glavne varijable koristile duljina i širina, te su na temelju korelacijske matrice utvrđene linearno nezavisne komponente, da bi se omogućilo objašnjenje ukupne varijance analiziranog skupa podataka. Pomoću dobivenih faktorskih osi PCA računa faktorske koordinate jedinke u vektorskom prostoru morfometrijskih značajki koje su određene brojem jedinki. U tom prostoru svaka točka predstavlja zasebnu jedinku prikazanu na temelju njenih morfometrijskih

značajki te se za jedinke čije su točke bliže jedna drugoj može zaključiti kako se prema svojim morfometrijskim značajkama manje razlikuju jedna od druge.

## **2.4. Analiza prisutnosti mikroplastike u školjkašima**

Nakon što su jedinkama izmjerene mase tkiva, prebačene su u čaše od 100 ml te je u svaku čašu stavljena 10-postotna otopina kalijeva hidroksida (KOH) s ciljem razgradnje tkiva školjkaša (Dehaut i sur., 2016). Omjer tkiva i otapala je bio otprilike 1:10 (w/v). Čaše su bile prekrivene aluminijskom folijom radi izbjegavanja kontaminacije i ostavljene na sobnoj temperaturi u periodu od 48 sati. Dodatne mjere izbjegavanja kontaminacije uzoraka izvršene su nošenjem 100-postotne pamučne laboratorijske kute i pranjem pribora u redestiliranoj vodi nakon svakog korištenja.

Nakon 48 sati digestije u 10-postotnoj otopini KOH, uzorci su filtrirani na filter papiru pomoću redestilirane vode. Poslije filtracije filter papiri su sušeni u periodu od 48 sati u posudama prekrivenima aluminijskom folijom. Suhi filteri su pregledavani pod lupom te su, u slučaju prisustva mikroplastike, fotografirane krhotine.

Valja napomenuti da je 18 jedinki dagnji bilo muškog spola, a tijekom pregledavanja filtera tkiva kamenica primijećeno je da je jedna kamenica unutar svog tkiva zadržala ličinke koje su se unutar ljuštore razvijale (Slika 12).



Slika 12. Ličinke kamenica na filter papiru.

Poslije fotografiranja i obrade podataka, provedena je analiza glavnih komponenti prema veličinskim kategorijama, te je ispitano koliko veličina školjkaša utječe na količinu mikroplastike u organizmu.

### 3. Rezultati

#### 3.1. Rezultati morfometrijskih mjerenja

U tablici 1 i 2 su prikazane vrijednosti morfometrijskih značajki, izražene u milimetrima i vrijednosti mase dagnji i kamenica izražene u gramima, u ukupnom uzorku od 30 dagnji i 32 kamenice.

Tablica 1. Morfometrijske mjere i mjere mase dagnji, mt predstavlja masu tkiva školjkaša bez ljuštore.

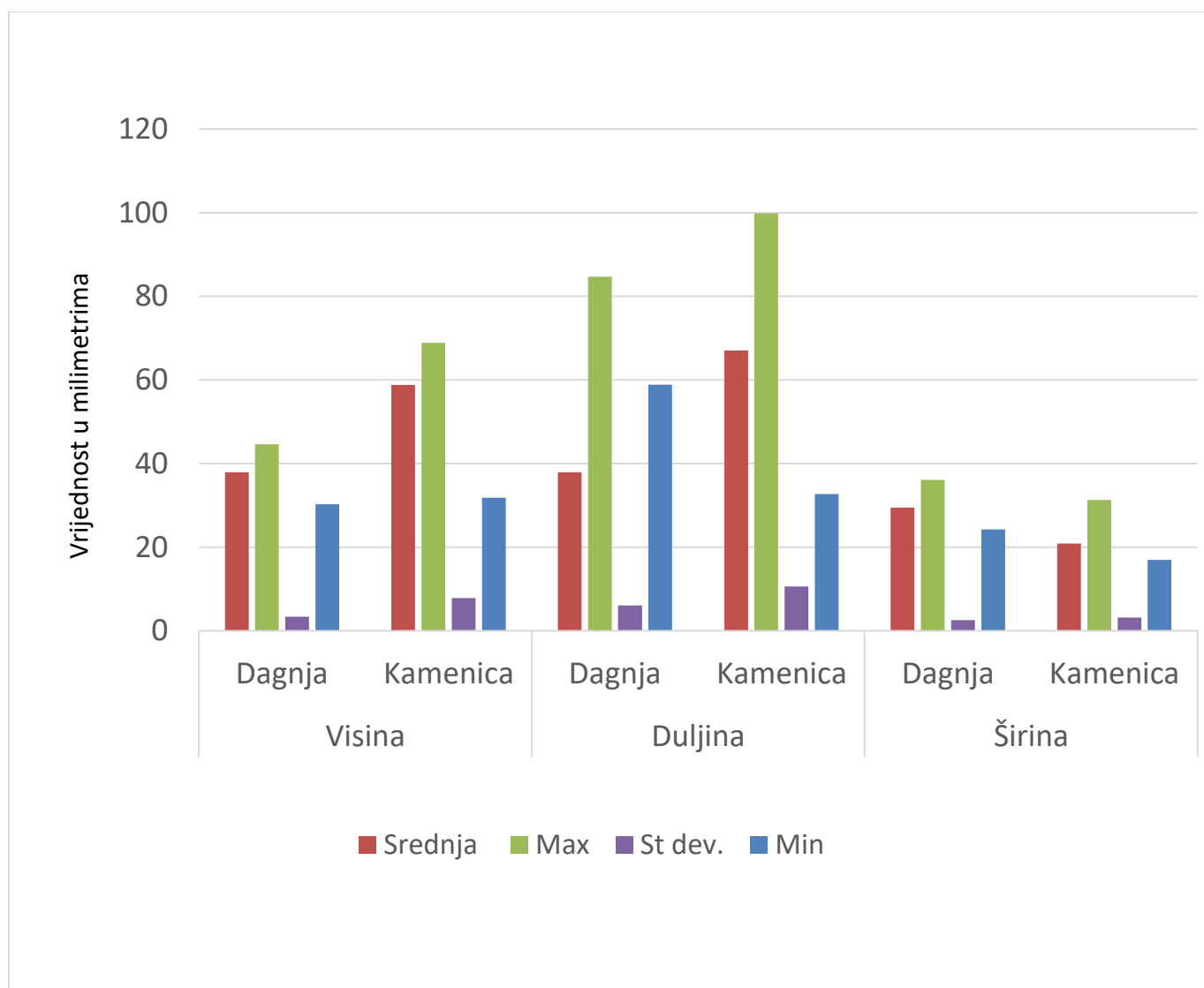
	<i>Visina (mm)</i>	<i>Duljina (mm)</i>	<i>Širina (mm)</i>	<i>Masa (g)</i>	<i>Masa mt (g)</i>
Srednja vrijednost	37,8843	74,582	29,4373	37,7433	8,3166
Standardna devijacija	3,3767	6,0506	2,5807	8,5329	2,2676
Minimalna vrijednost	30,31	58,87	24,29	18,6	3,5
Maksimalna vrijednost	44,61	84,68	36,06	59,9	14,7

Tablica 2. Morfometrijske mjere i mjere mase na uzorcima kamenice, mt predstavlja masu tkiva školjkaša bez ljuštore.

	<i>Visina (mm)</i>	<i>Duljina (mm)</i>	<i>Širina (mm)</i>	<i>Masa (g)</i>	<i>Masa mt(g)</i>
Srednja vrijednost	58,8093	67,0656	20,9037	37,4375	4,4343
Standardna devijacija	7,8519	10,5794	3,1643	8,5162	1,3906
Minimalna vrijednost	31,86	32,68	16,94	24,1	1,9
Maksimalna vrijednost	68,85	99,83	31,3	57,3	7,8

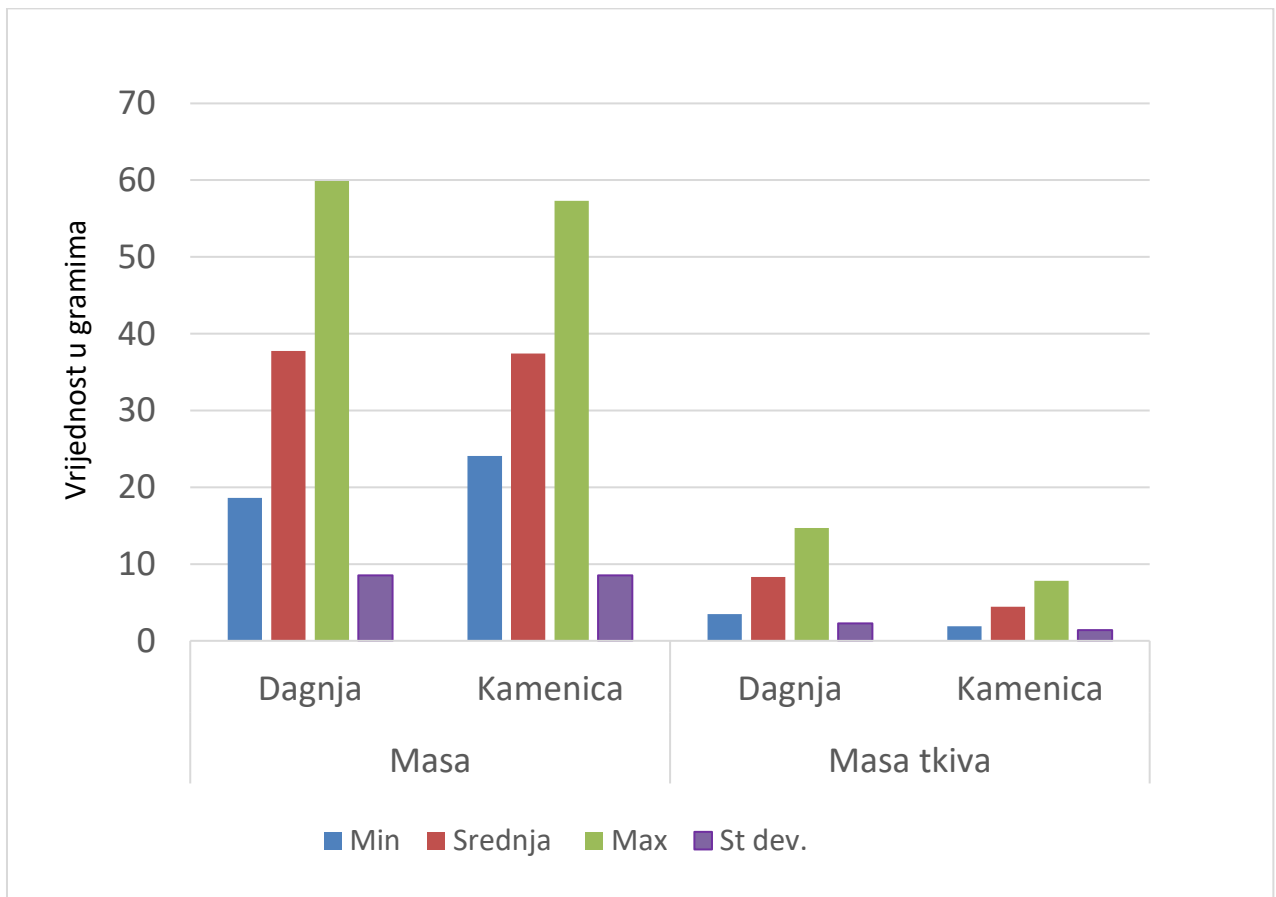


Iz grafičkog prikaza (Slika 13) vrijednosti mjera visine, duljine, širine jasno je vidljiva razlika između građe jedne i druge vrste školjkaša. Naime kamenice imaju jednu ljušturu plosnatu pa se iz slike da zaključiti kako je srednja vrijednost širine dagnje ipak nešto veća u odnosu na kamenicu. Također na slici je vidljiva izrazito velika razlika u odnosu maksimalnih i minimalnih duljina školjkaša, a to se može pripisati tome što su kamenice nasumično izlovljavane iz prirodnih populacija dok su dagnje došle s uzgajališta na kojima se ciljano nasađuje mlađ koja je otprilike jednake veličine. Što se tiče parametra visine u odnosu jedne vrste na drugu karakteristično je da srednja vrijednost kod kamenice veća što se može pripisati karakterističnom ovalnom obliku kamenice.



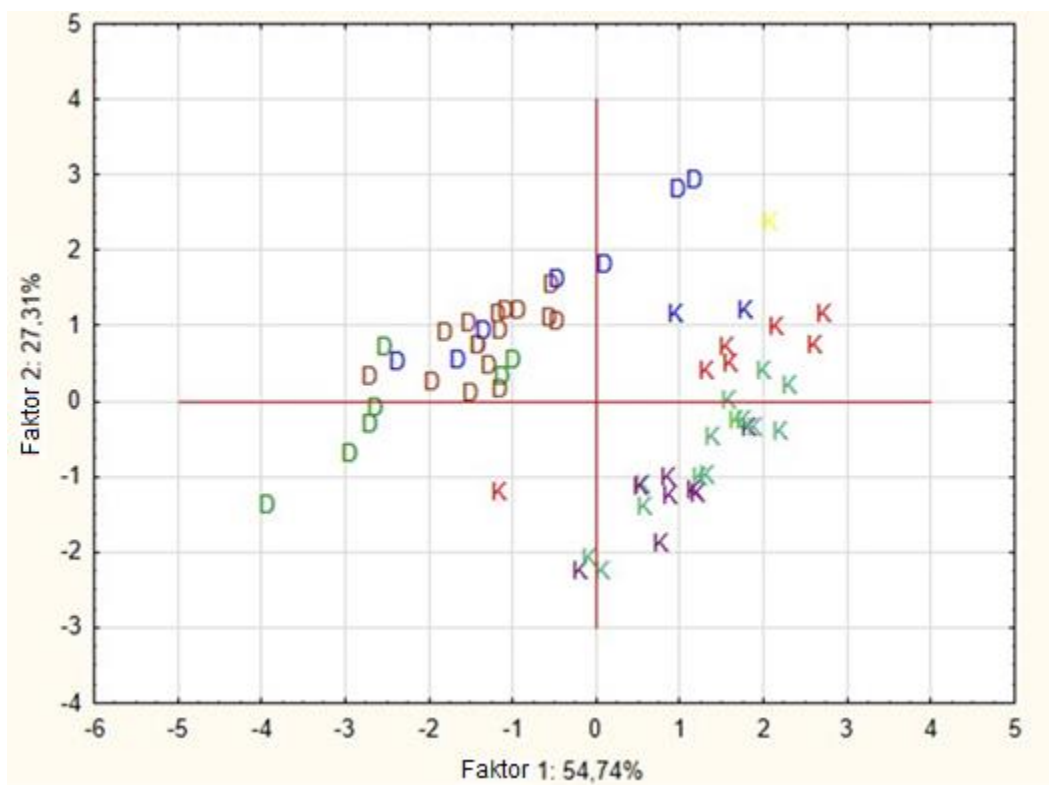
Slika 13. Grafički prikaz karakterističnih mjera kod obje vrste školjkaša.

Na grafičkom prikazu vrijednosti mase školjkaša (Slika 14) vidljiva je razlika između dvije vrste kod minimalnih vrijednosti mase organizma s ljušturu što se može okarakterizirati tako što kamenica ima masivniju ljušturu. Dok se kod vrijednosti mase tkiva može zaključiti da su dagnje imale nešto veću masu jer srednja vrijednost mase dagnje je sličnija maksimalnoj vrijednosti mase kamenice. U prilog tom podatku ide i slika koja pokazuje ličinke kamenice koje su bile otopljene s tkivom, što upućuje na to da su se kamenice već izmrijestile prije samog sakupljanja, dok su gonade dagnji bile žarko narančaste boje kod ženki, odnosno bijele boje kod mužjaka.



Slika 14. Grafički prikaz odnosa vrijednosti masa između dvije vrste.

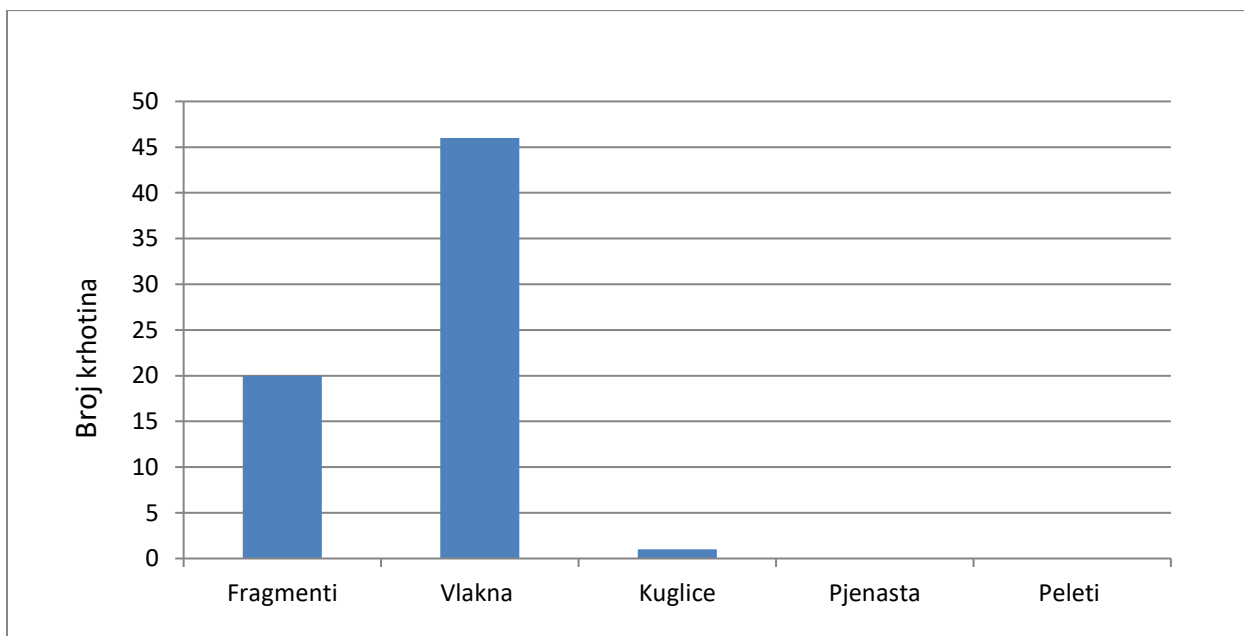
U uzorku dagnji i kamenica jedinke su kategorizirane po veličini, odnosno prema parametru duljine ljuštore u razmaku od 5 cm. U svim kategorijama pronađeni su neki od oblika mikroplastike. Na slici 15 prikazana je grupacija jedinki iste vrste prema izmjerenim morfometrijskim parametrima koja ukazuje na morfološke razlike između vrsta. Na grafičkom prikazu dagnje su označene sa slovom D, dok su kamenice označene slovom K. Boje oznaka ukazuju o kojoj se veličinskoj grupi radi, odnosno za dagnju plava boja predstavlja grupu organizama duljine ljuštore 30 – 35 mm, crvena boja označava raspon duljine 35 – 40 mm, dok zelena boja predstavlja jedinke čija je ljuštura bila u rasponu 40 – 45 mm. Boje koje predstavljaju grupe kamenica po parametru duljine su žuta 30 – 35 mm, plava 45 – 50 mm, crvena 50 – 55 mm, zelena 55 – 60 mm, narančasta 60 – 65 mm i ljubičasta za raspon duljine ljuštore 65 – 70 mm.



Slika 15. Grafički prikaz grupacije organizama prema morfometrijskim parametrima. Kod dagnji veličinske skupine su razvrstave po boji plava boja predstavlja skupinu organizama veličine 30-35 mm, crvena boja označava kategoriju veličine 35-40 mm dok zelena predstavlja skupinu organizama s veličinom ljuštore 40-45 mm. Kod kamenica žuta boja predstavlja organizme čija je ljuštura bila u rasponu 30-35 mm, plava 45-50 mm, crvena boja predstavlja skupinu organizama s ljušturinom raspona 50-55 mm, zelena boja 55-60 mm, narančasta 60-65 mm i na kraju ljubičasta boja predstavlja skupinu organizama s rasponom duljine ljuštore 65-70 mm.

### 3.2. Prisutnost mikroplastike u uzorcima dagnji i kamenica

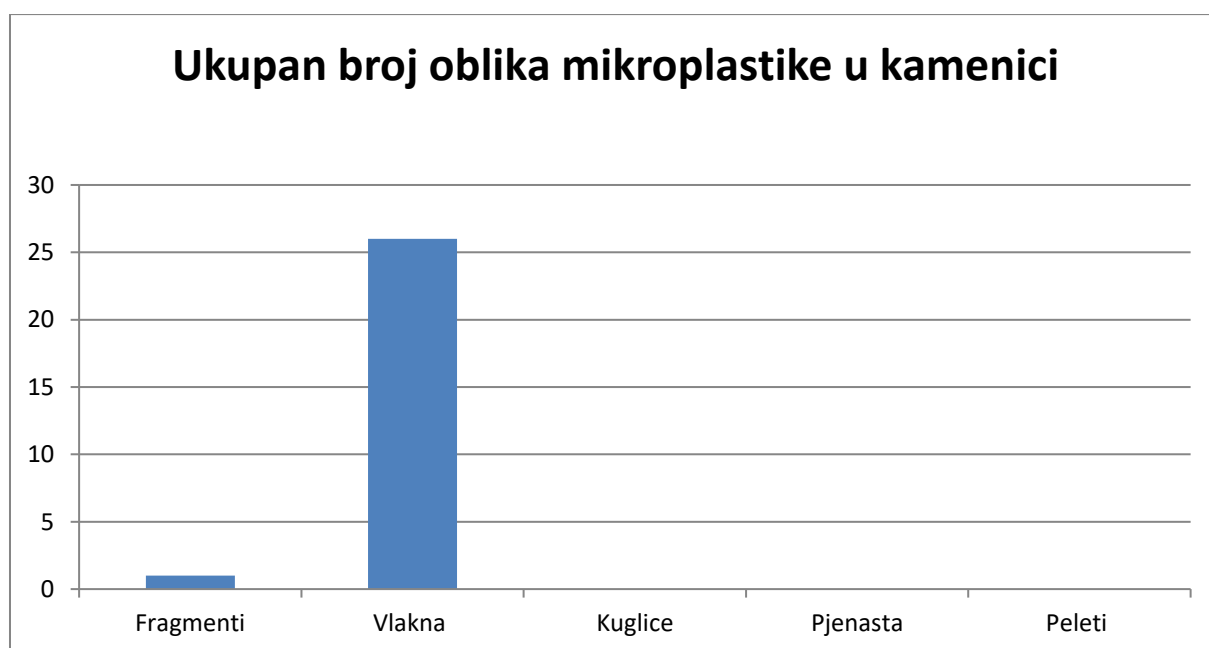
U uzorcima dagnje pronađeno je sveukupno 67 krhotina mikroplastike raznih oblika što čini 73,3% od ukupnog broja jedinki (Slika 16). Vlaknasta mikroplastika je bila najzastupljenija sa 46 vlaknastih krhotina pronađenih u 18 jedinki što čini 68,6% izolirane mikroplastike. Sljedeći oblik koji je najčešće bio prisutan u uzorcima bili su fragmenti, njih sveukupno 20 pronađenih u 15 jedinki što čini 29,8% uzorka. Samo jedan primjer kugličaste mikroplastike je primijećen u uzorcima, dok peleti i pjenasta mikroplastika nisu bili prisutni. Slika 20 pokazuje učestalost oblika primijećenih u ukupnom uzorku dagnji. Valja napomenuti da je najveći broj krhotina u jednoj dagnji bio 10, od čega 7 vlaknastih i 3 fragmenta mikroplastike. U 8 jedinki nije pronađen niti jedan oblik mikroplastike.



Slika 16. Karakteristični oblici i njihova količina u ukupnom uzorku dagnje.

Gledajući cijeli uzorak od 30 dagnji, u prosjeku 1,53 komada vlaknaste mikroplastike se može naći u jednoj dagnji, dok je broj fragmenata mikroplastike po jednoj dagnji iznosio prosječno 0.66 komada.

Kod kamenice je primijećena nešto manja količina mikroplastike, naime u 16 jedinki od ukupnog broja kamenica odnosno u 50% organizama je zabilježen neki oblik mikroplastike. No u uzorcima kamenice je opet prevladavala mikroplastika vlaknastog oblika sa 26 primjera pronađenih u 15 jedinki što čini 96,3 % ukupne mikroplastike iz cijelog uzorka (Slika 17). Pjenasta mikroplastika, peleti i kuglice nisu uopće zabilježeni na filtrima, dok je samo jedan primjer fragmenata zapažen u uzorcima kamenice. Slika prikazuje učestalost karakterističnih oblika u uzorku kamenice.



Slika 17. Karakteristični oblici i njihova količina u uzorku kamenice.

U prosjeku 0,81 komada vlaknaste mikroplastike se može naći u jednoj kamenici, dok je prosječna količina fragmenata po jednoj kamenici znosila 0,03 komada.

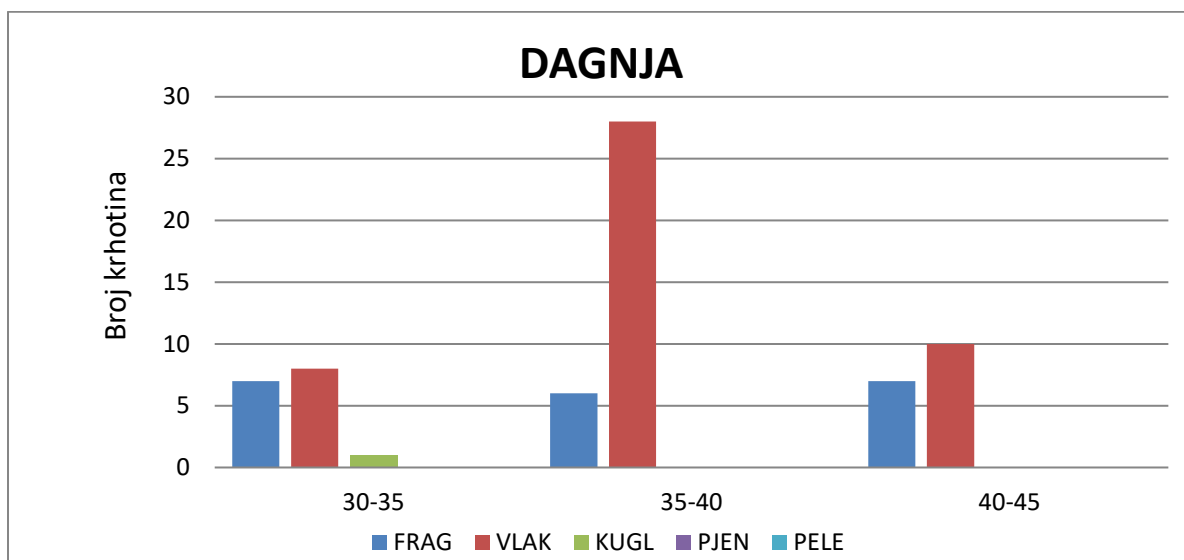
Po obliku krhotina i boji može se pretpostaviti da je izvor mikroplastike u uzorcima dagnje vjerojatno bio konop na kojem su uzgajane, pošto se u akvakulturi koriste konopi napravljeni od umjetnih polimera (Slika 18). Uz poneki primjer fragmenata i kugličaste mikroplastike, količinom je prevladavala vlaknasta mikroplastika.



Slika 18. Razni oblici mikroplastike pronađeni u uzorcima dagnje i kamenice.

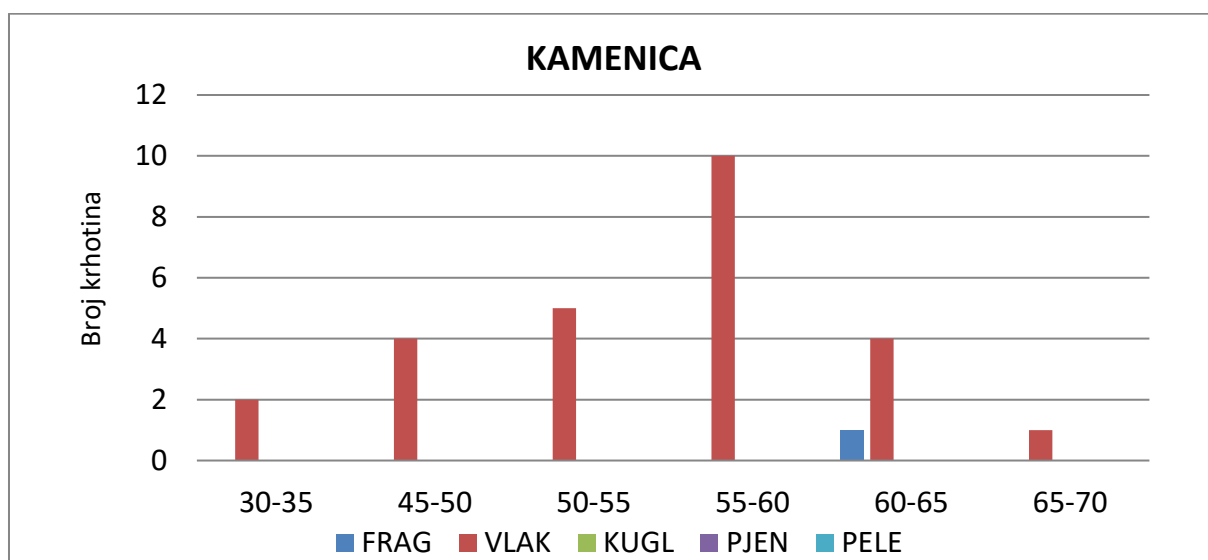
U uzorku dagnji u kategoriji 30 – 35 cm duljine ljuštore pronađeno je ukupno 7 fragmenata, 8 komada vlaknaste i samo jedan primjer kuglaste mikroplastike. U kategoriji 35 – 40 cm duljine ljuštore zabilježen je najveći broj primjeraka vlaknaste mikroplastike, njih ukupno 28; uz taj podatak također je zabilježeno nešto manje

fragmenata nego u nižoj kategoriji, njih 6; kugličasti oblici nisu zabilježeni na ostatku uzorka. U Kategoriji 40 – 45 cm duljine ljuštore zabilježeno je 7 fragmenata i 10 primjeraka vlaknaste mikroplastike. U sve tri veličinske kategorije nisu pronađeni primjerci spužvaste i peletirane mikroplastike. Na slici 19 grafički je prikazana učestalost istraživanih oblika mikroplastike po kategorijama visine.



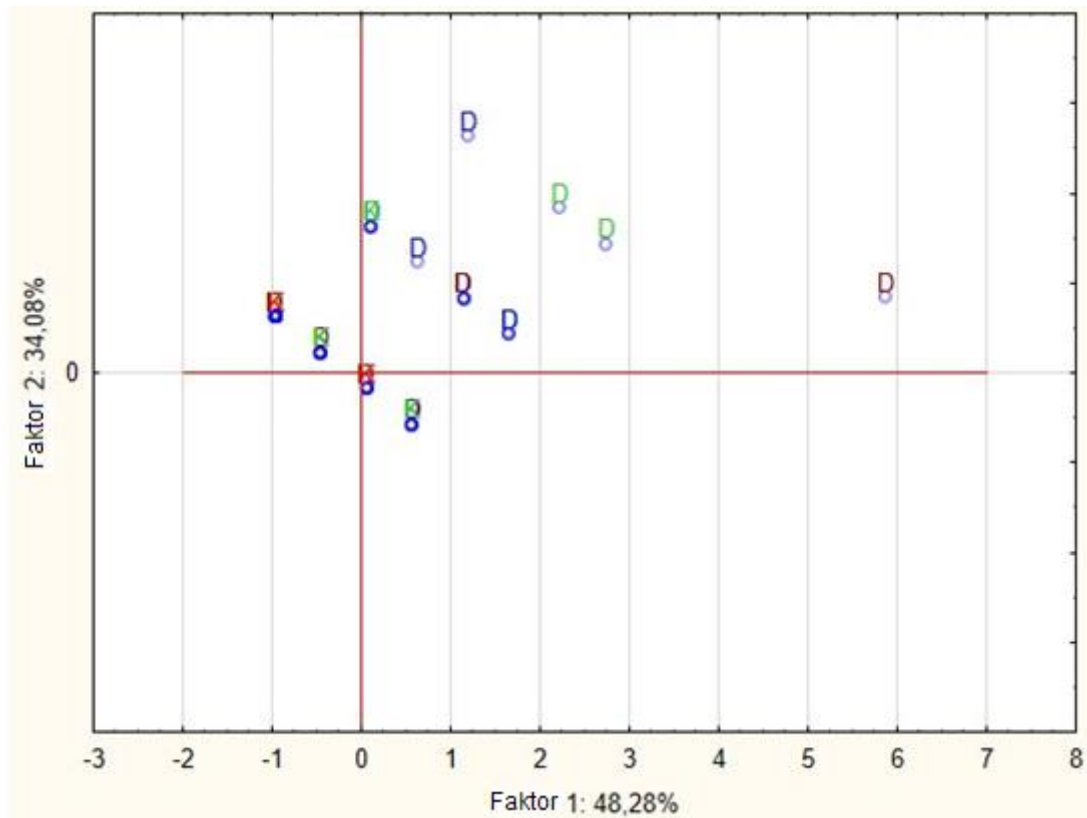
Slika 19. Grafički prikaz pojave istraživanih oblika mikroplastike u uzorku dagnji.

U uzorku kamenica u svim veličinskim kategorijama zabilježeni su primjerci vlaknaste mikroplastike. Jedan primjer fragmenata zabilježen je samo u kategoriji raspona 60 – 65 cm duljine ljuštore, dok ostali karakteristični oblici nisu pronađeni. Na slici 20 može se vidjeti učestalost oblika mikroplastike i njihova brojnost.



Slika 20. Grafički prikaz zabilježenih oblika mikroplastike u uzorku kamenice.

Obrađeni su i podaci kojima se pokazuje utjecaj veličine školjkaša na količinu mikroplastike pronađene u otopljenom tkivu. Kao i u prijašnjem slučaju, boje oznaka vrste odgovaraju veličinskim skupinama prema parametru duljine ljušture. Primjećuje se da je razlika između količine mikroplastike pronađene u dagnji znatno veća nego što je to slučaj u kamenice (Slika 21), ali to se može pripisati i tome da su dagnje uzgajane na konopima napravljenih od plastičnih materijala, dok su kamenice bile iz prirodnih populacija, što može pridonijeti ulaskom mikroplastike u dagnju pri manipulaciji sa samim organizmima ili pri mehaničkom djelovanju uslijed valova ili izlova dagnji.



Slika 21. Grafički prikaz učestalosti mikroplastike u oba istraživana organizma.



## 4. Rasprava

Glavni cilj ovog istraživanja bio je provjeriti prisutnost mikroplastike u komercijalno važnim školjkašima, ali i postaviti temelje za buduća istraživanja ne samo na području Šibenskog zaljeva, već i cijelog Jadrana.

Kao i što se pretpostavilo dagnje iz uzgoja i kamenice iz prirodnih populacija korištene u ovom istraživanju izložene su mikroplastici zbog materijala koji se koriste u uzgoju istih, ali i zbog toga što se nalaze u zaljevu koji su sam po sebi jedna od najkritičnijih područja za zadržavanje mikroplastike u morima.

Za razliku od protokola koje predlažu Dehaut i suradnici, koji su pri ispitivanju kemikalija za digestiju organske tvari koristili 10%-tnu KOH u periodu od 24 sata pri inkubaciji od 60 °C (Dehaut i sur., 2016), u ovom istraživanju period digestije je produljen na 48 sati na sobnoj temperaturi u omjeru 1:10 (w/v) pri čemu sam dobio jednake rezultati, odnosno na filter papirima nije uočena organska tvar.

Do sada u Šibenskom zaljevu, kao i u cijelom Jadranskom moru, nisu vršena istraživanja mikroplastike u školjkašima. Dostupni rezultati sličnih istraživanja uglavnom se bave ekstrakcijom mikroplastike iz komercijalno važnih vrsta riba, dok sa školjkašima to nije slučaj. Pa su tako Pellini i suradnici, u sjevernom i srednjem Jadranu u komercijalno uzgajanim listovima (*Solea solea*) pronašli mikroplastiku u gotovo 80% uzorka, većinu krhotina sačinjavali su fragmenti nepravilnog oblika (njih 72%), dok su vlakna bila zastupljena u 25% slučajeva (Pellini i sur., 2018).

U istraživanju je zabilježena velika količina vlaknaste mikroplastike u dagnjama (nađena u 68,6 % ukupnog uzorka), dok su nepravilni fragmenti bili zastupljeni 29,8 % ukupnog uzorka. Digka i suradnici navode da su u dagnjama *M. galloprovincialis* iz Jonskog mora fragmenti sačinjavali 77,8% ukupnog uzorka, treba napomenuti da su dagnje iz Jonskog mora bile prikupljane iz prirodnih populacija na molu i s konopa s obližnjeg uzgajališta, dok se u ovom istraživanju radilo izričito o dagnjama iz uzgoja na visećim konopima. Dagnje su se razlikovale i u veličini, u ovom istraživanju dagnje su bile prosječno 7,45 cm velike dok su u Jonskom moru bile nešto manje s prosječnom veličinom 4,67 cm.

U dosadašnjim istraživanjima većinom je model organizam bila plava dagnja *Mytilus edulis*, a *M. galloprovincialis* joj je blizak srodnik, dok su istraživanja mikroplastike u kamenicama vršena na vrsti pacifičke kamenice *Crassostrea gigas* (Van Cauwenberghe i sur., 2014).

Što se tiče kamenica u istraživanju je zabilježen manji broj krhotina nego u dagnji, odnosno u 50 % uzorka od ukupno 32 jedinice. Međutim, treba imati na umu da su kamenice bile prikupljene iz prirodnih populacija. Vlaknasta mikroplastika je sačinjavala 96,6% ukupne mikroplastike u uzorku. Van Cauwenberghe i suradnici su koristili pacifičku kamenicu *Crassostrea gigas* s uzgajališta iz pokrajine Britanije u Francuskoj prosječne veličine 9 cm, uz pacifičku kamenicu koristili su i dagnju *Mytilus edulis* prosječne veličine 5,2 cm s uzgajališta u Njemačkoj (Van Cauwenberghe, 2014).

U izvedbi eksperimenta držali su tri dagnje u jednoj čaši i po jednu kamenicu u zasebnoj čaši tijekom digestije u 69%-noj dušičnoj kiselini (HNO<sub>3</sub>) što nije bio slučaj u ovom istraživanju jer su dagnje bile svaka u zasebnoj čaši tijekom digestije u 10%-noj KOH kao i kamenice. Došli su do zaključka da je koncentracija mikroplastike bila veća u kamenicama nego u dagnjama, odnosno da je iznosila  $0,47 \pm 0,16$  čestica po gramu tkiva kamenice, to jest  $0,36 \pm 0,07$  čestica po gramu tkiva kod dagnje.

Kao što je slučaj u ovom istraživanju da vlaknasta mikroplastika količinski prevladava u odnosu na druge oblike čestica, tako je i slučaj u Kini gdje su Li i suradnici otkrili da vlakna čine 52% čestica mikroplastike u 8 od 9 vrsta školjkaša s azijskog tržišta.

Gledajući rezultate morfološke analize vidljiva je razlika između dvije istraživane vrste, dagnje su bile otprilike sve jednake veličine pošto su iz uzgoja dok je kod kamenica veličina bila raznolikija zbog toga što su bile prikupljene iz prirodnih populacija. U literaturi se kamenica *O. edulis* nije koristila kao model već su istraživanja vršena na uzgojenim primjercima *C. gigas* koja ima drugačiji oblik ljušture i može imati veću količinu tkiva unutar ljušture zbog stope rasta koji je nešto veći nego u *O. edulis*.

Razlika je bila vidljiva i u masi tkiva, dagnje su bile punije nego kamenice, prema boji tkiva školjkaša koje je bilo žarko narančasto kod ženki odnosno kremasto bijele boje kod mužjaka, što ukazuje da nije došlo do mrijesta pa je masa tkiva bila nešto veća od tkiva kamenice. U jednoj kamenici su pronađene ličinke koje upućuju na to da su se kamenice prije eksperimenta već izmrijestile pa je masa tkiva bila manja.

Izvor mikroplastike se teško može sa sigurnošću utvrditi, pretpostavka je da većina krhotina u ovom istraživanju dolazi sa konopa na kojima se dagnje uzgajaju. Pri mehaničkim oštećenjima uslijed udara valova, vjetra i tijekom ljudske manipulacije dolazi do trganja glavnog konopa na manje dijelove koji na kraju završe u moru nakon čega ih školjkaši filtriranjem mogu unijeti u svoje tkivo. Kao alternativa plastičnim konopima mogu se koristiti konopi od prirodnih materijala, ali to isto ne znači potpuno eliminiranje mikroplastike. U morima je velika količina napuštenih ribolovnih alata i otpada koji se s vremenom raspada na manje dijelove pa tako ulazi u hranidbenu mrežu i stvara prijetnju za organizme u moru.

Mikroplastika u školjkašima može izazvati upalne procese, promjene na tkivu i oksidativni stres što je pokazano u istraživanju 2015. godine kada su školjkaši bili izloženi česticama polietilena i polistirena u laboratorijskim uvjetima (Santana, 2015). Kako su ove dvije vrste važna karika u gastronomskoj ponudi RH mogućnost da čovjek dođe u kontakt s mikroplastikom nije mala kroz direktno konzumiranje školjkaša, a postoji i drugi potencijalni način ulaska krhotina mikroplastike u probavni trakt čovjeka kroz konzumaciju ribe ili ostalih organizama koji se hrane školjkašima.

Ovo istraživanje može poslužiti kao izvor prvih podataka što se tiče čestica mikroplastike u školjkašima u Jadranskom moru, ujedno treba napomenuti da je mikroplastika sve više prisutna u moru pa bi možda trebalo proširiti spektar istraživanja i na druge vrste kako mekušaca tako i ostalih beskralježnjaka.

## 5. Zaključak

Školjkaši su jedni od najpogodnijih modelnih organizama za ispitivanje izloženosti mikroplastici. Budući da se hrane filtriranjem te su sesilni organizmi, dostupni su tijekom cijele godine.

U uzgajanim školjkašima koncentracija mikroplastike je veća jer su organizmi u izravnom dodiru sa plastičnim konopima koji se, pod mehaničkim utjecajem kako valova, tako i manipulacije tijekom vršenja radova na uzgajalištima, fragmentiraju, odnosno dolazi do raspadanja samih konopa na manje dijelove.

Nešto manja koncentracija zabilježena je u kamenicama iz prirodnih populacija jer nisu u direktnom dodiru s izvorima mikroplastike, kao što je to slučaj sa dagnjama koje su ovješene na konopima.

Zbog svog gastronomskog značaja, dagnje mogu biti vektor unosa mikroplastike kod ljudi.

Najčešći oblik mikroplastike u školjkaša jesu vlaknaste krhotine, iako je zabilježen i određeni broj fragmenata.

## 6. Literatura

1. Avio, C. G., Gorbi, S., Milan, M., Benedetti, M., Fattorini, D., d'Errico, G., Regoli, F. (2015): Pollutants bioavailability and toxicological risk from microplastics to marine mussels. *Environmental Pollution* 198: 211–222.
2. Barnabe, G. (ed.). (1994): *Aquaculture: biology and ecology of cultured species*. Ellis Horwood Series in Aquaculture and Fisheries Support, Wiley & Sons, Chichester, UK. 403 pp
3. Beaumont A., Gjedrem T., Moran P. (2007): Genetic effects of domestication, culture and breeding of fish and shellfish, and their impacts on wild populations Blue Mussel *M. edulis* and Mediterranean mussel *M. galloprovincialis*. 62-69.
4. Bergmann M., Gutow L., Klages M. (2015): *Marine antropogenic litte*. U: Rochman C.M. (ur.) *The Complex Mixture, Fate and Toxicity*. Springer Cham Heidelberg New York Dordrecht London, str. 117-141
5. Bergmann M., Gutow L., Klages M. (2015): *Marine antropogenic litte*. U: Kiessling T., Gutow L., Thiel M. (ur.) *Marine litter as habitat and dispersal vector*. Springer Cham Heidelberg New York Dordrecht London, str. 141-185
6. Dehaut, A., Cassone, A. L., Frere, L., Hermabessiere, L., Himber, C., Rinnert, E., Riviere, G., Lambert, C., Soudant, P., Huvet, A., Duflos, G., Paul- Pont, I. (2016): Microplastics in seafood: Benchmark protocol for their extraction and characterization. *Environmental Pollution* 215: 223-233.
7. Digka N., Tsangaris C., Torreb M., Anastasopoulou A., Zeria C. (2018): Microplastics in mussels and fish from the Northern Ionian Sea. *Marine Pollution Bulletin* 135 (2018) 30–40
8. Eriksen M., Lebreton L.C.M., Carson H.S., Thiel M., Moore C.J. (2014): Plastic Pollution in the World's Oceans: More than 5 Trillion Plastic Pieces Weighing over 250,000 Tons Afloat at Sea. *PLoS ONE* 9(12)
9. Foekema E.M., De Gruijter C., Mergia M.T., van Franeker J.A., Murk A.T.J., and Koelmans A.A. (2013): Plastic in North Sea Fish. *Environ. Sci. Technol.* 2013, 47, 8818–8824
10. Glavor I. (2017): *Mikroplastika u probavilima trlje od blata, Mullus barbatus, bukve, Boops boops i mola, Merluccius merluccius na području južnog Jadrana*. Diplomski rad
11. Hollman P.C., Bouwmeester H., Peters R.J.B. (2013): *Microplastics in the aquatic food chain; Source, measurement, occurrence and potential health risks*. Wageningen, RIKILT Wageningen University and Research centre, RIKILT report 2013.003.
12. Li J., Yang D., Li L., Jabeen K., Shi H. (2015): Microplastics in commercial bivalves from China. *Environmental Pollution* 207 (2015) 190-195.
13. Lusher, A., (2015): *Microplastics in the Marine Environment; Distribution, Interactions and Effects*. *Marine Anthropogenic Litter* 245-307.
14. Lusher, A., Hollman, P., Mendoza- Hill, J. (2017): *Microplastics in fisheries and aquaculture*. Food and Agriculture Organization of the United Nations 615: 2070-7010.
15. Pellini G., Gomiero A., Fortibuoni T., Ferra C., Grati F., Tasseti N., Polidori P., Fabi G., Scarcella G. (2018): *Characterization of microplastic litter in the*

- gastrointestinal tract of *Solea solea* from the Adriatic Sea. *Environmental Pollution* 234 (2018) 943-952.
16. Rochman C.M., Browne M.A. (2013): Classify plastic waste as hazardous. *Nature*, 494, 169- 171.
  17. Romeo T., Pietro B., Pedà C., Consoli P., Andaloro F., Fossi M.C. (2015): First evidence of presence of plastic debris in stomach of large pelagic fish in the Mediterranean Sea. *Mar.Pollut. Bull.* 95, 358-361
  18. Ryan P.G., A Brief History of Marine Litter Research (2015): M. Bergmann et al. (eds.), *Marine Anthropogenic Litter*,
  19. Santana, M. F. M., (2015): Effects of microplastics contamination on marine biota. Dissertation, University of Sao Paulo.
  20. Sivan A. (2011): New perspectives in plastic biodegradation. *Environmental biotechnology* 2011, 22 :422–426.
  21. Van Cauwenberghe L., Janssen C.R. (2014): Microplastics in bivalves cultured for human consumption. *Environmental Pollution* 193
  22. Župan, D., Šarić, T. (2014): Prirast i indeks kondicije-dva važna čimbenika u uzgoju dagnji. *Meso: prvi hrvatski časopis o mesu*, 16(3), str. 255-259.

## Životopis

Rođen sam 08.12.1994. u Zagrebu. Odrastao sam i živim u Šibeniku od svoje druge godine. Srednju Tehničku školu sam upisao 2009. godine, po završetku srednje škole 2013. godine upisujem se na Sveučilište u Dubrovniku na Odsjek za akvakulturu. Peti semestar (2015/2016) na preddiplomskom studiju boravim u Češkoj gdje sam pomoću Erasmus + programa pohađao nastavu pri Zavodu za ribarstvo i zaštitu voda. Nakon odrađenog semestra u Češkoj vraćam se u Dubrovnik gdje na kraju branim temu svog završnog rada „Ekološka mreža- naselja voge (*Posidonia oceanica* Delile,1813)“ u podmorju Lokruma. Nakon savjetovanja s profesorima u Dubrovniku odlučujem se upisati diplomski studij Ekologija i zaštita prirode, modul more na Sveučilištu u Zagrebu pri Biološkom odsjeku 2016. godine. Tijekom svog školovanja u Zagrebu učlanjujem se u udrugu BIUS s kojom idem na velike terene na Dugi otok, Zlarin i u šumu Žuticu gdje skupljam iskustvo rada na terenskim istraživanjima. Od listopada 2019. godine sudjelujem na terenskim istraživanjima Hrvatskog ihtiološkog društva. U periodu školovanja u Zagrebu uz studiranje paralelno i radim studentski posao u kazalištu Luda kuća.