

Izazovi mikroplastike: onečišćivala koji prijete ekosustavu i ljudskom zdravlju

A. Tolić,^{a,b} I. Juranović Cindrić,^c T. Selvam,^{a,b} V. Mohaček Grošev,^{a,b}
L. Mikac,^{a,b*} i M. Ivanda^{a,b}

Ovo djelo je dano na korištenje pod
Creative Commons Attribution 4.0
International License



^aLaboratorij za molekulska fiziku i sinteze novih materijala, Zavod za fiziku materijala, Institut Ruđer Bošković, Bijenička 54, 10 000 Zagreb

^bCentar izvrsnosti za napredne materijale i senzore, Bijenička 54, 10 000 Zagreb

^cZavod za analitičku kemiju, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Horvatovac 102a, 10 000 Zagreb

Sažetak

Mikroplastika (MP) posljednjih desetak godina izaziva zabrinutost znanstvene zajednice zbog velike prisutnosti u okolišu, dok mogući štetni učinci još nisu u potpunosti poznati. MP su čvrste, polimerne čestice, s dodanim aditivima, netopljive u vodi dimenzija od 1 μm do 5 mm. Dosad je dokazana prisutnost MP-a u različitim dijelovima okoliša, poput tla, oceana, jezera, sedimenata i izoliranih područja poput Marijanske brazde. Ljudi su izloženi MP-u unosom kontaminirane hrane. Mnogobrojna istraživanja rezultirala su pronalaskom znatne količine MP-a u pitkoj vodi, flaširanim pićima, soli, morskoj hrani i sl. Zakonska ograničenja i dalje nisu na izravan način obuhvatila MP kao skupinu onečišćivala, ali se direktivom EU-a do 2024. godine želi usvojiti metodologija za kvantificiranje MP-a s ciljem uvrštavanja MP-a na popis praćenih onečišćivala. Postojeće metode analize MP-a, iako u razvoju, najčešće uključuju spektroskopske metode poput infracrvene spektroskopije s Furierovom transformacijom (FTIR) i Ramanove spektroskopije, koje mogu pružiti informaciju o veličini, broju i obliku čestice, ali i o tipu polimera. No, unatoč napretku, još uvijek ne postoje standardizirane metode za usporedbu rezultata različitih istraživanja. U ovom preglednom radu glavni je cilj pružiti pregled metoda analize i izazova s kojima se istraživači suočavaju. Kroz analizu raznih metoda, poput destruktivnih (pirolize) i nedestruktivnih (kao što su spektroskopske metode), dobiva se širi uvid u tipove polimera, broj, veličinu i oblik čestica. Međutim, nedostatak standardiziranih protokola za pripremu uzorka, analizu i obradu podataka otežava usporedbu rezultata i smanjuje pouzdanost istraživanja. Stoga je ključno propisati eksperimentalne uvjete da bi se osigurala kvaliteta istraživanja i omogućila meta-analiza te pregled prisutnosti MP-a u različitim okolišnim matricama.

Ključne riječi

Mikroplastika, spektroskopija, onečišćenje plastikom, okoliš, hrana

1. Uvod

Plastika je neizostavan materijal u našem svakodnevnom životu, no njezina sveprisutnost i uporaba često dovode do ozbiljnih problema u okolišu, uključujući onečišćenje mora i kopna te štetne učinke na faunu i floru. Svjetska potreba za plastikom kao materijalom sve više raste zbog niza njezinih pozitivnih karakteristika, kao što su ekonomičnost, jednostavnost održavanja i povoljna mehanička svojstva.¹ Samo u EU-u potreba za plastičnim materijalom doseže otprilike 49 milijuna tona godišnje, što rezultira s 26 milijuna tona otpada, od čega se samo 32 % reciklira, a 150 000 – 500 000 t plastike završi u morima i oceanima.² Poražavajuće stanje tržišta plastikom pokazuje da je potreba za recikliranom plastikom samo 6 %. Velika količina plastičnog otpada izvozi se u zemlje trećeg svijeta u kojima nisu propisani strogi zakoni glede plastike i otpada, čime se ekološki problem samo "prenosi" na manje razvijene zemlje.

Plastični otpad ima ozbiljan utjecaj na cijeli ekosustav. Iako su zaplitanja i gušenja životinja plastičnim materijalima dobro dokumentirana, novi izazovi proizlaze iz materijala koji nisu vidljivi golim okom. Mikroplastika (MP) je već

prepoznata kao najobilniji oblik čvrstog otpada na planetu.^{3,4} Ona predstavlja novu vrstu organskih onečišćivala koja je unazad desetak godina zabrinula znanstvenu i ekološku zajednicu zbog količine koja je ispuštena u okoliš, ali i posljedica koje može izazvati, a da pri tom svi negativni utjecaji još uvijek nisu poznati.

1.1. Definicija i klasifikacija mikroplastike

MP dosad nema jedinstvenu definiciju niti su usuglašene granične dimenzije čestica MP-a, ali podrazumijeva čvrste, plastične čestice, s dodanim aditivima, netopljive u vodi dimenzija između 1 μm i 1 mm.⁵ Pojam mikroplastika obuhvaća primarnu MP koji podrazumijeva namjerno proizvedene plastične čestice u mikro-dimenzijama. Primarna MP ima primjenu u različitim kozmetičkim proizvodima, kao abrazivni materijal u zubnim pastama i pilinzima. Istraživanje je pokazalo da fragmentacija MP-a iz kozmetičkih proizvoda poput pilinga može ispustiti do 10¹¹ nanočestica (nanoplastika; NP) u 1 l otpadne vode.⁶ Druga potkategorija, sekundarna MP, obuhvaća plastične čestice koje su nastale spontanom razgradnjom i fragmentacijom većih komada plastike uslijed prirodnih procesa i okolišnih sila. Drugi način podjele MP-a, prema veličini čestica, razlikuje nanočestice (1 – 100 nm), sub-mikronske

* Autor za dopisivanje: dr. sc. Lara Mikac
E-pošta: Lara.Mikac@irb.hr

čestice (100 nm – 1 µm), malu mikroplastiku (1 – 100 µm), veliku mikroplastiku (100 µm – 5 mm), mezoplastiku (5 mm – 2,5 cm) i makroplastiku (> 2,5 cm).⁷ Najčešći tipovi MP-a su: polietilen (PE), polipropilen (PP), polivinil klorid (PVC), polistiren (PS) i poli(etilen-tereftalat) (PET).⁸

U ovom se preglednom radu opisuju potencijalni načini izlaganja MP-u te njezin utjecaj na ljudsko zdravlje kroz pregled relevantne literature o istraživanjima provedenim na različitim organizmima. Također, rad se bavi metodama detekcije MP-a te ističe izazove koji se javljaju u procesu obrade podataka i osiguranja kvalitete.

2. Teorijska podloga

2.1. Zakonska ograničenja i regulative

Do danas ne postoji zakon kojim se regulira unošenje MP-a u okoliš, iako se mnoge direktive EU-a počnu baviti tim pitanjem. Tako je 2022. godine predstavljen najnoviji nacrt priloga regulative XVII REACH, kojim bi se ograničila uporaba primarnog MP-a u proizvodima. Prilog XVII sadržava tvari (samostalne, u smjesi ili proizvodu) za koje je proizvodnja, stavljanje na tržište ili uporaba ograničena ili zabranjena u EU-u. Ta regulativa prva je koja će se izravno i opsežno baviti s MP-om. Stoga će Prilog XVII REACH regulative biti izmijenjen da bi se ograničila uporaba sintetičkih polimernih mikročestica, čvrstih polimera koji su u obliku čestica i čine barem 1 % težine tih čestica.⁹ Također, 2020. godine pripremljene su preinake Direktive (EU) 2020/2184 da bi se odgovorilo na sve veću zabrinutost zbog mogućih učinaka i količine MP-a. Predloženo je da se u tu Direktivu uvede mehanizam popisa za praćenje količine MP-a u okolišu. Kako je navedeno, “trebalo bi poduzeti mjere upravljanja za sprječavanje ili kontrolu utvrđenih rizika kako bi se očuvala kvaliteta vode namijenjene za ljudsku potrošnju”.¹⁰

Prije nekoliko godina donesene su direktive koje neizravno zadiru u pitanje problema MP-a, pa je tako 2019. potpisana *The EU Single Use Plastics and Fishing Gear Directive*, kojom se zabranjuje velik broj jednokratnih plastičnih proizvoda, poput plastičnih slamki, pribora za jelo, polistirenske ambalaže za hranu, a od 2021. zabranjuje se i oksorazgradiva plastika.¹¹ Također, ista direktiva propisuje da od 2025. PET boce moraju sadržavati 25 % recikliranog materijala, što se do 2030. mora povisiti na 30 %. Na državnim razinama, u siječnju 2021. Francuska zabranjuje uporabu plastične ambalaže za voće i povrće s ciljem proširenja zabrane na sve proizvode do 2026.

Europska komisija je znatno napredovala u suzbijanju onečišćenja MP-om donošenjem mjera koje ograničavaju upotrebu namjerno dodane MP u određenim proizvodima. Uredba Komisije (EU) 2023/2055 od 25. rujna 2023., objavljena 27. rujna 2023., predstavlja ključni dokument u tom procesu.¹² Ta uredba stupila je na snagu 17. listopada 2023. godine te ima obvezujući karakter i izravnu primjenu u svim državama članicama pa tako i Hrvatskoj. Dodatak Prilogu XVII. Uredbe (EZ) br. 1907/2006 precizira zabranu ili ograničenja stavljanja na tržište mikročestica sintetičkih polimera koje se namjerno dodaju proizvodima.

2.2. Distribucija mikroplastike u okolišu

Sve šira upotreba namjerno proizvedenog MP-a, ali i spontano nastajanje fragmentirane plastike rezultira zapanjujućim količinama MP-a u različitim dijelovima ekosustava, ali i proizvodima za konzumaciju. Velik broj istraživanja dokazao je prisutnost MP-a u pitkoj vodi, zraku, hrani.^{13–16} Učinci MP-a na ekosustav još uvijek nisu u potpunosti razjašnjeni, a pokazalo se da MP može služiti kao vektor za različite kemijske tvari i biološke.^{17,18} Također, znanstvenici su u različitim istraživanjima pronašli MP u oceanima,^{19–22} rijekama,²³ tlu,²⁴ sedimentu,^{25,26} zraku.^{27,28} MP je pronašao put i u najdublji dio oceana, u Marijansku brazdu. U sedimentima je pronađeno između 200 i 2200 MP/l, veličine čestica od 100 do 500 µm u sedimentu, dok su u morskoj vodi dominirala vlakna veličine 1 – 3 mm.²⁹ Znanstvenici još uvijek nisu razjasnili kako je moguće da je MP prisutan u dalekim i izoliranim područjima. Jedno od objašnjenja je stvaranje ciklusa plastike. Moguće je da je MP prisutan u isparavanju koje formira kišne oblake, a padanjem kiše MP dolazi u izolirane predjele. Također, ulijevanjem rijeka u oceane, MP ulazi u oceane i mora.³

Jedan od izvora MP-a u okolišu su i automobilske gume. One sadrže različite aditive, metalna i polimerna vlakna te sintetska i prirodna ljepila. Procijenjeno je da svake godine u SAD-u nastane 1,8 milijuna t fragmenata guma. Ti fragmenti mogu ući u kanalizacijske sustave potom i u sustav otpadnih voda. Također, procijenjeno je da je količina MP-a iz guma prenesena u morski okoliš ekvivalentna otpadu s kopna.³⁰ Također, površinski premazi i boje često sadrže polimere i tako postaju potencijalni izvori MP-a. Pjeskarenje, nekad i upotreba mikroznaca prije bojanja površina može stvoriti mikročestice. Pokazano je da i sedimenti i vode mogu sadržavati čestice boja. *Imhof i sur.* pronašli su u sedimentu jezera čestice boje koje su manje od druge vrste MP-a, veličine 1 – 50 µm.³¹ Tekstilna industrija i pranje tekstila također velikim udjelom doprinosi količini MP-a pronađenog u okolišu. Pretpostavlja se da ispuštanje vlakana iz tekstila obuhvaća 35 % ukupne količine MP-a u oceanima, a moguće je da se pranjem 6 kg sintetske odjeće ispušta i do 700 000 vlakana.³² Istraživanja pokazuju da se pranjem samo jednog komada odjeće može ispustiti više od 1900 vlakana.³³ Ispusti tekstilnih otpadnih voda mogu izravno ući u vodne tokove, čime postaju izravna prijetnja za okoliš.

2.3. Mikroplastika u hrani i piću

MP može kontaminirati i hranu, pa je tako pronađena određena količina MP-a u ribljim proizvodima,^{34,35} voću i povrću,³⁶ mlijeku, pivu, medu i u gaziranim pićima.^{37,38} Osim toga, zapanjujuće otkriće je pokazalo da je u 128 brendova komercijalne soli iz 38 zemalja prisutan MP.³⁹ Voće je pokazalo izrazito visoku zagađenost MP-om (< 10 µm) u usporedbi s povrćem, pri čemu su jabuke bile najviše, a salata najmanje zagađena.³⁶ Ne čudi činjenica da su MP čestice otkrivene u 10 od 10 analiziranih bezalkoholnih pića s prevladavajućim tipovima polimera poliamidom i polietilen tereftalom.⁴⁰ Tvari koje se dodaju polimerima poput pigmenata i plastifikatora mogu se izlučivati iz MP-a, jer nisu kemijski vezane na polimere, što može dovesti do njihove akumulacije u okolišu. Kako u nerazvijenim, tako

i u razvijenim zemljama, ljudi se oslanjaju na konzumaciju flaširane vode, kao zdravije alternative vodovodnoj vodi. Tako je u 2021. globalna prodaja dosegla 350 milijardi litara vode. Procijenjeno je da konzumacijom kontaminirane hrane, osoba može unijeti 12 000 – 204 000 MP/godišnje.^{41–43} Međutim, velik broj istraživanja dokazao je prisutnost MP-a u flaširanoj vodi diljem svijeta. Broj MP-a u flaširanoj vodi varira od 8,5 do 6292 MP/l vode.^{41,44–48} Unatoč tome što broj MP-a varira između različitih istraživanja, u svim istraživanjima pokazano je da broj MP raste smanjivanjem veličine čestica.^{47–49} Izvor MP-a u flaširanoj vodi može potjecati od same boce, a ponovna uporaba boce može rezultirati povećanjem količine MP-a u vodi. Prozirna plastika izrađena je od polimera te, kad je izložena sunčevoj svjetlosti dulje vrijeme, postane lomljivija, što može rezultirati fragmentacijom.^{19,50}

2.4. Mikroplastika u živim organizmima

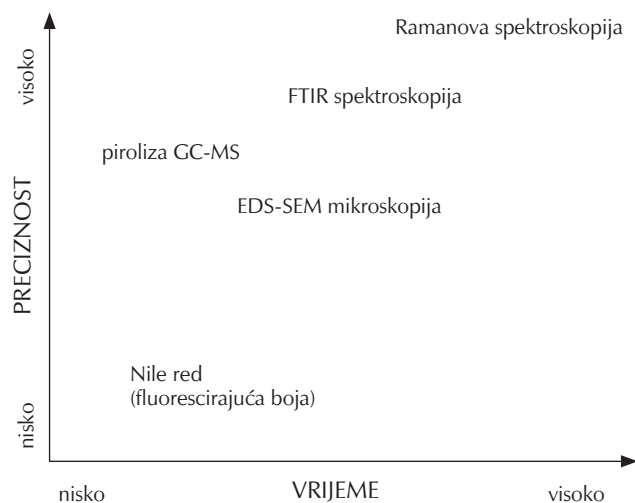
MP ulazi u ljudsko tijelo konzumacijom kontaminirane hrane i pića, a pronalazak MP-a u ljudskoj stolici ukazao je na nenamjerno gutanje plastičnih čestica iz različitih izvora.⁵¹ Nije u potpunosti poznat utjecaj MP-a na ljudske organizme i koliku razinu štetnosti MP nosi sa sobom. Podatci utjecaja MP-a na živi svijet mogu se iskoristiti za procjenu utjecaja na ljudsko zdravlje. U preglednom radu *Blackburn i Green* raspravljaju o toksičnosti MP-a u ljudskom organizmu. Učinci MP-a na ljudsko zdravlje mogu se kategorizirati kao kemijski, fizikalni i biološki i dalje se mogu podijeliti prema izloženosti i potencijalnim kliničkim simptomima. Adsorbirane kemikalije mogu uzrokovati reproduktivnu i razvojnu toksičnost ili izazivati imunološki odgovor.⁵² Ako MP posluži kao vektor za prijenos patogena, može doći do infekcije, disbioze crijeva ili unosa rezistentnih mikroorganizama.⁵³ MP se infiltrira u ljudsko tijelo probavnim traktom, udisanjem i dermalnim kontaktom, izazivajući štetne učinke kao što su probavni i respiratorni problemi, s oksidacijskim stresom, upalom i metaboličkim poremećajima, koji djeluju kao glavni toksični mehanizmi.^{3,54} *Huang et al.* pronašli su MP u iskašljaju 22 pacijenta s respiratornim bolestima, od kojih je najdominantniji tip polimera bio poliuretana (PU).⁵⁵ S takvim rezultatima moguća je pretpostavka da je udisanje jedan od puteva unosa MP-a u ljudsko tijelo. Još jedno zapanjujuće otkriće pokazalo je da izloženost MP-u može rezultirati apsorpcijom plastičnih čestica u krvotok. U tom je istraživanju otkrivena količina plastičnih čestica u krvi u iznosu $1,6 \mu\text{g ml}^{-1}$, a pronađeni su PET, PE, PS i polimetilmetakrilat (PMMA).⁵⁶ Takvi rezultati ukazuju na to da MP može biti biološki dostupan te da je stupanj izlučivanja putem žučnog trakta, bubrega ili prijenosa i pohranjivanja u organima sporiji od stupnja apsorpcije u krvotok. *Ragusa et al.* istraživanjem iz 2021. potvrdili su prisutnost MP-a u ljudskoj posteljici, a velik udio pronađenog MP-a identificiran je kao PP s dodatkom pigmenta.⁵⁷ Autori zaključuju da su potrebna dodatna istraživanja kojima će se utvrditi može li MP u posteljici biti štetan i za trudnoću i za plod u razvoju. *Gaspar i sur.* istraživali su biološke i kognitivne posljedice izloženosti MP-u na modelu glodavaca i zaključili da već i kratkotrajna izloženost MP-u izaziva promjene u ponašanju kao i promjene u imunološkim markerima u tkivima jetre i mozga.⁵⁸

2.5. Metode analize MP-a

MP i dalje nije dobro definirana kategorija organskih onečišćivala, nego skupina različitih vrsta polimera, što može otežati analizu. Svaki polimer razlikuje se po strukturi, monomernoj jedinici, a nerijetko su dodani različiti aditivi da bi se poboljšala svojstva.⁵⁹ Kako i dalje ne postoje standardizirane metode analize MP-a niti propisani protokol, koraci u metodi variraju od istraživačke grupe do istraživačke grupe. Prvi korak, koji je vrlo važan, je odabrati reprezentativni uzorak. Matrice u kojima se može nalaziti MP uključuju vodu, sediment, tkiva, tlo, zrak i mulj otpadnih voda. Ovisno o matrici, priprema uzorka varira od kompleksnih procedura koje uključuju uklanjanje svih suvišnih i smetajućih tvari iz uzorka do vrlo jednostavnog protokola poput onog za pitku vodu. U vodenim uzorcima MP se vrlo često separira primjenom flotacije dodatkom soli kao npr. natrijeva klorida (NaCl). Kod pitke vode, npr. flaširane vode, priprema uzorka nije nužna, te se nakon pribavljanja zatvorenih boca vode može izravno pristupiti filtraciji.⁷ Ekstrakcija MP-a iz sedimenata temelji se na separaciji prema razlici u gustoći između MP-a i zrnaca sedimenta te miješanju u koncentriranoj otopini natrijeva ili cinkova klorida (ZnCl_2).⁶⁰ Kako postoji velika mogućnost da kroz svaki korak analize dođe do kontaminacije uzorka MP-a iz vanjskih izvora, kritični koraci koji se moraju poduzeti su ograničavanje ulaska potencijalnim onečišćivcima u uzorke. Stoga, da bi se spriječila kontaminacija uzorka, bitan dio u analizi su radni uvjeti u laboratoriju. Tijekom cijelog analitičkog procesa potrebno je u svim koracima izbjeći uporabu plastičnih komponenata koje mogu utjecati na uzorak. Jedan od najvećih izvora kontaminacije su zrakom nošene čestice i vlakna. Pronađeno je da u zraku može biti sadržano oko 355 čestica/ m^2/dan , od kojih do 20 % mogu biti sintetski polimeri.⁶¹ Stoga je, osim redovitog održavanja i provjere higijene radnog prostora, potrebno dokumentirati vanjsku kontaminaciju analizom slijepih proba. Slijepa proba priprema se s uzorcima i analizira se na isti način kao i nepoznati uzorci.⁶² To omogućuje identifikaciju potencijalne vanjske kontaminacije uzorka česticama MP-a iz okoliša, kao i onečišćenja u raznim fazama metode pripreme uzorka (posuđe, reagensi itd.). Slijepa proba vrijedan su alat za precizno mjerenje unakrsne kontaminacije i dosljedno se primjenjuju u praktički svim istraživanjima MP-a. Kako se različiti realni uzorci, od sedimenta do flaširane vode znatno razlikuju po količini MP-a, vrlo je važno analizirati reprezentativni volumen uzorka. Volumen uzorka flaširane vode varira od 0,25 l do cjelokupnog volumena flaširane vode, što je još različitije za tekuće vode poput vodovodne vode.^{47,48,63,64} Flaširana voda manje je kompleksan uzorak od vodovodne vode, stoga ne zahtijeva kompleksnu pripremu uzorka prije filtracije.

Rezultati analize MP-a u idealnom bi slučaju trebali sadržavati i kvalitativne (tip polimera, veličina, oblik, sadržaj aditiva), ali i kvantitativne informacije. Zbog kompleksnosti analize, poželjna je automatizacija cjelokupnog procesa instrumentne analize da bi se smanjili troškovi, vrijeme i subjektivni doprinosi analitičara.³⁰ U samim počecima opsežnijeg interesa za MP-om, vrlo često se za analizu upotrebljavala svjetlosna mikroskopija čemu je prethodilo označavanje čestica MP-a fluorescirajućim bojama.⁶⁵ Međutim, svjetlosna mikroskopija ne daje informacije o sastavu čestica i teško je raspoznati sintetičke polimere od osta-

lih čestica. Iako se označavanjem bojom polimeri razlikuju od anorganskih onečišćenja, neke prirodne organske tvari također se mogu obojiti i tako dati lažno pozitivne rezultate. Osim toga, vrlo često se primjenjuje i metoda SEM-EDS. Nedostatak metode SEM-EDS je dobivanje informacije o elementnom sastavu iz čega se ne može raspoznati polimer od ostalih bioloških tvari. Slika 1 prikazuje opći poredak spomenutih metoda prema preciznosti (identifikacija materijala, kvantifikacija MP, rezolucija) i utrošenom vremenu.⁶⁶



Slika 1 – Klasifikacija tehnika prema preciznosti metode i utrošenom vremenu⁶⁶ (GC-MS – plinska kromatografija-spektrometrija masa; EDS-SEM – energetski disperzivna rendgenska spektroskopija i pretražna elektronska mikroskopija; FTIR – infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom)

Fig. 1 – Classification of techniques based on method precision and time consumption (GC-MS – gas chromatography-mass spectrometry; EDS-SEM – energy dispersive X-ray spectroscopy, and scanning electron microscopy; FTIR – Fourier-transform infrared spectroscopy)

2.5.1. Spektroskopske i termooanalitičke metode za analizu mikroplastike

Za razliku od mikroskopskih metoda, spektroskopske metode (mikro-Raman i FTIR (infracrvena spektroskopija s Furierovom transformacijom)) identificiraju polimere i time se MP može razlikovati od ostalih prisutnih tvari. Pirolitička metoda GC-MS destruktivna je metoda, gdje MP isparava na temperaturama između 600 i 700 °C, a rezultirajuće komponente kromatografski se razdvajaju i identificiraju spektrometrijom masa.⁶⁷ Spektroskopske metode kao izlazne rezultate daju broj čestica i tip polimera, dok termooanalitičke metode daju informacije o masi čestice.⁶⁸ Ramanova spektroskopija s obzirom na FTIR ima nekoliko prednosti. Granica detekcije Ramanove spektroskopije znatno je niža, te se može pouzdano identificirati čestice do 1 μm u usporedbi s 10 μm, kolika je najmanja veličina čestice koja se identificira s FTIR spektroskopijom. Osim toga, Ramanova spektroskopija je metoda koja je neosjetljiva na vodu, što olakšava analizu u vlažnim i vodenim uzorcima. Međutim, kod Ramanove spektroskopije javlja

se problem fluorescencije, koju mogu izazvati različite anorganske i organske tvari prisutne u uzorku zbog čega je izbor radnih parametara od iznimne važnosti.⁷ Kod sofisticiranijih programa moguće je automatizirano mapiranje po zadanoj površini i usporedba s referentnim spektralnim knjižnicama. Međutim, polimeri pronađeni u okolišnim uzorcima razlikuju se od sirovih polimera zbog dodataka aditiva, utjecaja vanjskih faktora zbog čega se mogu razlikovati od referentnih. Stoga istraživači nerijetko kreiraju vlastite knjižnice spektara.³⁰ Ako se žele analizirati čestice manje od 1 μm, konvencionalna Ramanova spektroskopija nije primjenjiva metoda. Metoda pogodna za analizu nanoplastike je tzv. površinski pojačana Ramanova spektroskopija (engl. *Surface enhanced Raman spectroscopy*, SERS). SERS je tehnika koja se temelji na adsorpciji molekula na ili u blizini metalnih nanostrukture, čime se pojačava Ramanovo raspršenje i do $10^8 - 10^{14}$ puta. Mehanizam pojačanja signala i dalje u potpunosti nije poznat, ali se opisuje elektromagnetskim i kemijskim mehanizmima. Najčešći metali koji se upotrebljavaju za SERS supstrate su zlato i srebro.⁶⁹ SERS tehnika relativno se nedavno prepoznala kao vrlo obećavajuća tehnika za analizu nanoplastike, pa je stoga vrlo malo objavljenih istraživanja. Xu i sur. uspješno su identificirali PET, PS i PMMA veličine > 360 nm s komercijalno dostupnim supstratom Klarite.⁷⁰ Lv i sur. uspjeli su detektirati PS čestice veličine 100 nm.⁷¹ U istraživanju iz 2023. Mikac i sur. uspješno su identificirali PS čestice do vrlo niske koncentracije, od 6,5 μg ml⁻¹.⁷²

Iako je posljednjih godina došlo do značajnih postignuća u tehnologiji analize MP-a, mnoge metode imaju nedostatke u praktičnoj primjeni. Primjena samo jedne metode može rezultirati nepotpunim informacijama, budući da je podložna smetnjama od lažno pozitivnih ili lažno negativnih signala, što smanjuje točnost analize.⁷³ Stoga se često kombiniraju različite analitičke metode da bi se osigurala točnost dobivenih informacija. MP karakteriziraju različite veličine čestica, široka rasprostranjenost i raznovrsni oblici. Osjetljiv je na vanjske čimbenike, što dodatno otežava njegovo odvajanje iz okoliša.⁷⁴ Nedostatak jedinstvene i učinkovite metode za izdvajanje MP-a iz kompleksne matrice predstavlja izazov te utječe ne samo na točnost rezultata analize već i na praktičnu primjenu različitih tehnika analize. Stoga je ključno razviti brze, točne, jeftine i praktične analitičke metode za uzorkovanje i analizu MP-a.

2.6. Kontrola kvalitete

Osiguranje i kontrolu kvalitete nužno je implementirati od samog početka kroz sve korake pripreme i provođenja eksperimenta. U analizi MP-a najbitnija je kontrola i dokumentacija kontaminacije.⁷⁵ Kako se MP može analizirati različitim tehnikama, usporedivost različitih istraživanja otežava meta-analizu. Mnogo ključnih detalja analize u velikom broju istraživanja nije dokumentirano, poput pripreme i pohrane uzoraka. Na primjer, rezultati istraživanja provedenog Ramanovom spektroskopijom potencijalno nisu usporedivi s rezultatima dobivenim FTIR spektroskopijom ako se detaljno ne opišu svi koraci analize kao i način obrade podataka. Osim toga, manjak objavljenih koraka otežava i reproducibilnost istraživanja. Primjerice, ako se ne opiše koja kemikalija se upotrijebila za digestiju,

koncentracija i proizvođač, istraživanje se ne može reproducirati.⁷⁶ Osim toga, u okolišu MP i NP čestice prolaze kroz različite procese. Predloženo je da se stvori sveobuhvatna baza spektara koja sadrži spektre različitih polimera koji su izloženi nekom stupnju degradacije. Ta razmatranja mogla bi dovesti do implementacije standardiziranih metodologija za uzimanje uzoraka i kvantifikaciju MP-a i NP-a u okolišu. Tek tad će prikupljeni podaci omogućiti temeljitu procjenu potencijalnih ekotoksikoloških učinaka tih materijala i aktivno doprinijeti popunjavanju tih praznina u znanju.⁶⁰

Validacija metode nužna je da bi se potvrdila sigurnost i točnost dobivenih rezultata, ali je posebno izazovna za metode analize MP-a iz više razloga. Kako navode *Schymanski i sur.*, problematičnost MP-a kao analita jest ta što su to čvrste čestice, nerijetko nehomogeno raspoređene i obuhvaćaju veliku grupu različitih tipova polimera.⁷⁷ Osim toga, nedostatak referentnog materijala otežava potvrdu pouzdanosti i točnosti metode. Vrlo mali broj dosadašnjih istraživanja daje na uvid značajke metoda poput točnosti, granica detekcije, granica kvantifikacije, selektivnost itd. Parametri kojim se karakterizira MP su veličina čestice i tip polimera. Stoga, potrebna je verifikacija mjerenja veličine čestice uporabom standardnih uzoraka, ali i provjerenih, necertificiranih uzoraka. Osim toga, potrebna je i verifikacija određivanja tipa polimera pri najmanjoj utvrđenoj veličini. Izračuni za "tradicionalne" uzorke već su ustanovljeni i poznati, ali nisu u potpunosti primjenjivi za čvrste čestice u različitim matricama. Tradicionalni pristup procjeni granice detekcije sastoji se od ponovljenih mjerenja, slijepa probe, određivanja srednje vrijednosti i standardne devijacije, ali postoje i varijacije tog pristupa. *Schymanski et al.* predložili su način određivanja granice detekcije i kvantifikacije prema formuli:

$$GD = \text{mean} + 3 \cdot \text{stdev}_{10SP} \quad (1)$$

gdje je GD granica detekcije, mean srednja vrijednost slijepa probe, a stdev_{10SP} standardno odstupanje slijepih proba.

Prijedlog obuhvaća primjenu 10 slijepih proba za određivanje granice detekcije. GD se može izraziti kao suma čestica svih polimera, dok u detaljnijim studijama može biti izražena za svaki pojedini tip polimera. Prijedlog obuhvaća i jednadžbu za izračun granice kvantifikacije, GK:

$$GK = \text{mean} + 10 \cdot \text{stdev}_{10SP} \quad (2)$$

Za određivanje iskorištenja metode potrebno je pripremiti kvalitetne referentne materijale s MP-om. Kako navode *Schymanski i sur.*, za određivanje iskorištenja metode moguće je upotrijebiti samo jedan tip polimera odnosno analizirati uzorke s dodanim točno definiranim brojem jednog tipa polimera.⁷ Kao i za sve ostale metode, poželjno je iskorištenje od 80 % i više, ali ono može biti niže za kompleksnije matrice poput otpadnih voda i sedimenata.⁷⁵

2.7. Buduće smjernice istraživanja

Buduća istraživanja MP-a trebala bi se temeljiti na nastavku istraživanja njegove raznolikosti i kompleksnosti te njegov

utjecaj na ekosustave, uz fokus na njegovu s abiotičkim i biotskim komponentama.⁷⁸ Važno je istražiti nove metode uklanjanja MP-a, poput poboljšanih biodegradacijskih tehnika koje uključuju upotrebu algi, gljiva i bakterija te primjenu biotehnoških alata i bioinformatike. Za daljnji napredak u tehnologiji uklanjanja MP-a potrebno je istražiti i usporediti različite pristupe kao što su filtracijski postupci koji zasad imaju različitu učinkovitost uklanjanja.⁷⁹ Važno je istražiti i razviti zelene strategije uklanjanja MP-a koje minimiziraju rizik od sekundarnog onečišćenja te integrirane pristupe koji kombiniraju više tehnika uklanjanja.

3. Zaključak

MP čini grupu novih onečišćivala i u središtu je istraživanja posljednjih desetak godina. Štetni i toksični učinci MP-a još nisu poznati, ali je MP u velikoj mjeri prisutan u cijelom ekosustavu, pa čak i u hrani. Zakonska ograničenja za smanjenje upotrebe i konzumacije MP-a još uvijek nisu provedena, ali nakon velikog broja istraživanja koja su pokazala da je MP pronašao put u more, tla, sedimente, životinje, hranu, piće, pa čak i u ljude, velik je pritisak za smanjenjem količine plastičnog otpada i rezultirajućeg sekundarnog MP-a. Metode analize MP-a dijele se na destruktivne poput pirolize (py-GC-MS) i nedestruktivne, poput spektroskopskih metoda (FTIR, Raman). U samim počecima analize MP-a istraživači su se oslanjali na svjetlosnu mikroskopiju koja je davala informacije samo o broju i morfologiji čestica, dok danas spektroskopske metode daju najširi opseg informacija: tip polimera, broj, veličinu i oblik čestica. Kako je MP raznolika skupina onečišćivala jer ubraja različite tipove polimera, različitih aditiva, boja i veličina, do danas ne postoje standardizirani protokoli pripreme uzorka, analize i obrade podataka. Takva analiza otežava usporedbu različitih istraživanja, reproducibilnost rezultata, ali i smanjuje pouzdanost rezultata. Stoga je nužno osigurati kvalitetu istraživanja te propisati eksperimentalne uvjete da bi se istraživanja provodila u jednakim uvjetima i time omogućiti meta analizu, ali i pregled prisutnosti MP-a u različitim matricama.

Popis kratica List of abbreviations

MP	– mikroplastika – microplastics
FTIR	– infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom – Fourier-transform infrared spectroscopy
NP	– nanoplastika – nanoplastics
PE	– polietilen – polyethylene
PP	– polipropilen – polypropylene
PVC	– polivinil klorid – polyvinyl chloride
PS	– polistiren – polystyrene

PET	– poli(etilen-tereftalat) – polyethylene terephthalate
PMMA	– polimetilmetakrilat – poly(methyl methacrylate)
PU	– poliuretan – polyurethane
SEM-EDS	– skenirajuća elektronska mikroskopija sa spektroskopijom energetske disperzije – scanning electron microscopy with energy dispersive X-ray spectroscopy
GC-MS	– plinska kromatografija-spektrometrija masa – gas chromatography-mass spectrometry
GD	– granica detekcije – limit of detection
GK	– granica kvantifikacije – limit of quantification

Literatura References

1. WHO. Dietary and inhalation exposure to nano- and microplastic particles and potential implications for human health, (2022), In: Organization WH, editor.; 2022.
2. Plastic waste and recycling in the EU: facts and figures (accessed September 20, 2023).
3. K. Blackburn, D. Green, The potential effects of microplastics on human health: What is known and what is unknown, *Ambio* **51** (2022) 518–530, doi: <https://doi.org/10.1007/s13280-021-01589-9>.
4. N. B. Hartmann, T. Hüffer, R. C. Thompson, M. Hassellöv, A. Verschoor, A. E. Daugaard, S. Rist, T. Karlsson, N. Brennholt, M. Cole, M. P. Herrling, M. C. Hess, N. P. Ivleva, A. L. Lusher, M. Wagner, Are We Speaking the Same Language? Recommendations for a Definition and Categorization Framework for Plastic Debris, *Environ. Sci. Technol.* **53** (2019) 1039–1047, doi: <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b05297>.
5. ISO/TR 21960:2020 Plastics – Environmental aspects – State of knowledge and methodologies, <https://www.iso.org/standard/72300.html>.
6. M. Enfrin, J. Lee, Y. Gibert, F. Basheer, L. Kong, L. F. Dumée, Release of hazardous nanoplastic contaminants due to microplastics fragmentation under shear stress forces, *J. Hazard Mater.* **384** (2020) 121393, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121393>.
7. D. Schymanski, B. E. Olßmann, N. Benismail, K. Boukerma, G. Dallmann, E. von der Esch, D. Fischer, F. Fischer, D. Gilliland, K. Glas, T. Hofmann, A. Käppler, S. Lacorte, J. Marco, M. EL Rakwe, J. Weisser, C. Witzig, N. Zumbülte, N. P. Ivleva, Analysis of microplastics in drinking water and other clean water samples with micro-Raman and micro-infrared spectroscopy: minimum requirements and best practice guidelines, *Anal. Bioanal. Chem.* **413** (2021) 5969–5994, doi: <https://doi.org/10.1007/s00216-021-03498-y>.
8. A. L. Andrady. The plastic in microplastics: A review, *Mar. Pollut. Bull.* **119** (2017) 12–22, doi: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.01.082>.
9. Commission Regulation (EU) .../... amending Annex XVII to Regulation (EC) No 1907/2006 concerning the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH) as regards synthetic polymer microparticles. 2023., https://single-market-economy.ec.europa.eu/publications/commission-regulation-eu-amending-reach-regulation-regards-synthetic-polymer-microparticles_en.
10. Direktiva (EU) 2020/2184 Europskog parlamenta i Vijeća od 16. prosinca 2020. o kvaliteti vode namijenjene za ljudsku potrošnju (preinaka), 2020., <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/?uri=CELEX%3A32020L2184>.
11. Circular economy: Commission provides guidance for harmonised application of Single-Use Plastic rules and advances on monitoring of fishing gear, 2021., https://ec.europa.eu/commission/presscorner/detail/en/ip_21_2710.
12. Commission Regulation (EU) 2023/2055 of 25 September 2023 amending Annex XVII to Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council concerning the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH) as regards synthetic polymer microparticles, 2023., <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2023/2055/oj>.
13. R. Janani, S. Bhuvana, V. Geethalakshmi, R. Jeyachitra, K. Sathishkumar, R. Balu, R. Ayyamperumal, Micro and nano plastics in food: A review on the strategies for identification, isolation, and mitigation through photocatalysis, and health risk assessment, *Environ. Res.* **241** (2024) 117666, doi: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.117666>.
14. L. Yang, S. Kang, X. Luo, Z. Wang, Microplastics in drinking water: A review on methods, occurrence, sources, and potential risks assessment, *Environ. Pollut.* **348** (2024) 123857, doi: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2024.123857>.
15. S. O'Brien, C. Rauer, F. Ribeiro, E. D. Okoffo, S. D. Burrows, J. W. O'Brien, X. Wang, S. L. Wright, K. V. Thomas, There's something in the air: A review of sources, prevalence and behaviour of microplastics in the atmosphere, *Sci. Total Environ.* **874** (2023) 162193, doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.162193>.
16. T. Eberhard, G. Casillas, G. M. Zarus, D. B. Barr, Systematic review of microplastics and nanoplastics in indoor and outdoor air: identifying a framework and data needs for quantifying human inhalation exposures, *J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.* (2024), doi: <https://doi.org/10.1038/s41370-023-00634-x>.
17. A. D. Vethaak, H. A. Leslie, Plastic Debris Is a Human Health Issue, *Environ. Sci. Technol.* **50** (2016) 6825–6826, doi: <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b02569>.
18. S. Ohlwein, R. Kappeler, M. Kutlar Joss, N. Künzli, B. Hoffmann, Health effects of ultrafine particles: a systematic literature review update of epidemiological evidence, *Int. J. Public Health* **64** (2019) 547–559, doi: <https://doi.org/10.1007/s00038-019-01202-7>.
19. A. L. Andrady, Microplastics in the marine environment, *Mar. Pollut. Bull.* **62** (2011) 1596–1605, doi: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.05.030>.
20. J.-H. Kwon, J.-W. Kim, T. D. Pham, A. Tarafdar, S. Hong, S.-H. Chun, S.-H. Lee, D.-Y. Kang, J.-Y. Kim, S.-B. Kim, J. Jung, Microplastics in Food: A Review on Analytical Methods and Challenges, *Int. J. Environ. Res. Public Health* **17** (2020) 6710, doi: <https://doi.org/10.3390/ijerph17186710>.
21. J. Reisser, J. Shaw, C. Wilcox, B. D. Hardesty, M. Proietti, M. Thums, C. Pattiaratchi, Marine Plastic Pollution in Waters around Australia: Characteristics, Concentrations, and Pathways, *PLOS ONE* **8** (2013) e80466, doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080466>.
22. A. ter Halle, L. Ladirat, X. Gendre, D. Goudouneche, C. Pusineri, C. Routaboul, C. Tenailleau, B. Duployer, E. Perez, Understanding the Fragmentation Pattern of Marine Plastic Debris, *Environ. Sci. Technol.* **50** (2016) 5668–5675, doi: <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b00594>.
23. A. A. Horton, A. Walton, D. J. Spurgeon, E. Lahive, C. Svendsen, Microplastics in freshwater and terrestrial environments: Evaluating the current understanding to identify the knowl-

- edge gaps and future research priorities, *Sci. Total Environ.* **586** (2017) 127–141, doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.01.190>.
24. J. Wang, X. Liu, Y. Li, T. Powell, X. Wang, G. Wang, P. Zhang, Microplastics as contaminants in the soil environment: A mini-review, *Sci. Total Environ.* **691** (2019) 848–857, doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.209>.
25. S. Abidli, J. C. Antunes, J. L. Ferreira, Y. Lahbib, P. Sobral, N. Trigui El Menif, Microplastics in sediments from the littoral zone of the north Tunisian coast (Mediterranean Sea), *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **205** (2018) 1–9, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2018.03.006>.
26. S. Reed, M. Clark, R. Thompson, K. A. Hughes, Microplastics in marine sediments near Rothera Research Station, Antarctica, *Mar. Pollut. Bull.* **133** (2018) 460–463, doi: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.05.068>.
27. Y. Zhang, S. Kang, S. Allen, D. Allen, T. Gao, M. Sillanpää, Atmospheric microplastics: A review on current status and perspectives, *Earth-Sci. Rev.* **203** (2020) 103118, doi: <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2020.103118>.
28. R. Dris, J. Gasperi, V. Rocher, M. Saad, N. Renault, B. Tassin, Microplastic contamination in an urban area: a case study in Greater Paris, *Environ. Chem.* **12** (2015) 592–599, doi: <https://doi.org/10.1071/EN14167>.
29. X. Z. Peng, M. Chen, S. B. Chen, S. Dasgupta, H. Xu, K. Ta, M. Du, J. Li, Z. Guo, S. Bai, Microplastics contaminate the deepest part of the world's ocean, *Geochem. Perspect. Lett.* **9** (2018), doi: <https://doi.org/10.7185/geochemlet.1829>.
30. R. C. Hale, M. E. Seeley, M. J. La Guardia, L. Mai, E. Y. Zeng, A Global Perspective on Microplastics, *J. Geophys. Res. Oceans* **125** (2020) e2018JC014719, doi: <https://doi.org/10.1029/2018JC014719>.
31. H.K. Imhof, N.P. Ivleva, J. Schmid, R. Niessner, C. Laforsch, Contamination of beach sediments of a subalpine lake with microplastic particles. *Curr Biol* **23** (2013) R867–R8, doi: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.09.001>
32. I. E. Napper, R. C. Thompson, Release of synthetic microplastic plastic fibres from domestic washing machines: Effects of fabric type and washing conditions, *Mar. Pollut. Bull.* **112** (2016) 39–45, doi: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.09.025>.
33. M. A. Browne, P. Crump, S. J. Niven, E. Teuten, A. Tonkin, T. Galloway, R. Thompson, Accumulation of Microplastic on Shorelines Worldwide: Sources and Sinks, *Environ. Sci. Technol.* **45** (2011) 9175–9179, doi: <https://doi.org/10.1021/es201811s>.
34. F. Bessa, P. Barría, J. M. Neto, J. P. G. L. Frias, V. Otero, P. Sobral, J. C. Marques, Occurrence of microplastics in commercial fish from a natural estuarine environment, *Mar. Pollut. Bull.* **128** (2018) 575–584, doi: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.01.044>.
35. M. Smith, D. C. Love, C. M. Rochman, R. A. Neff, Microplastics in Seafood and the Implications for Human Health, *Curr. Environ. Health Rep.* **5** (2018) 375–386, doi: <https://doi.org/10.1007/s40572-018-0206-z>.
36. G. Oliveri Conti, M. Ferrante, M. Banni, C. Favara, I. Nicolosi, A. Cristaldi, M. Fiore, P. Zuccarello, Micro- and nano-plastics in edible fruit and vegetables. The first diet risks assessment for the general population, *Environ. Res.* **187** (2020) 109677, doi: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109677>.
37. M. F. Diaz-Basantes, J. A. Conesa, A. Fullana, Microplastics in Honey, Beer, Milk and Refreshments in Ecuador as Emerging Contaminants, *Sustainability* **12** (14) (2020) 5514, doi: <https://doi.org/10.3390/su12145514>.
38. M. Kedzierski, B. Lechat, O. Sire, G. Le Maguer, V. Le Tilly, S. Bruzard, Microplastic contamination of packaged meat: Occurrence and associated risks, *Food Packag. Shelf* **24** (2020) 100489, doi: <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2020.100489>.
39. D. Peixoto, C. Pinheiro, J. Amorim, L. Oliva-Teles, L. Guilhermino, M. N. Vieira, Microplastic pollution in commercial salt for human consumption: A review, *Estuar Coast Shelf Sci.* **219** (2019) 161–168, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2019.02.018>.
40. A. Altunışık, Prevalence of microplastics in commercially sold soft drinks and human risk assessment, *J. Environ. Manage.* **336** (2023) 117720, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.117720>.
41. K. D. Cox, G. A. Covernton, H. L. Davies, J. F. Dower, F. Juanes, S. E. Dudas, Human Consumption of Microplastics, *Environ. Sci. Tech.* **53** (2019) 7068–7074, doi: <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b01517>.
42. J. C. Prata, J. P. da Costa, I. Lopes, A. C. Duarte, T. Rocha-Santos, Environmental exposure to microplastics: An overview on possible human health effects, *Sci. Total Environ.* **702** (2020) 134455, doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134455>.
43. K. Senathirajah, S. Attwood, G. Bhagwat, M. Carbery, S. Wilson, T. Palanisami, Estimation of the mass of microplastics ingested – A pivotal first step towards human health risk assessment, *J. Hazard Mater.* **404** (2021) 124004, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124004>.
44. D. Kankanige, S. Babel, Smaller-sized micro-plastics (MPs) contamination in single-use PET-bottled water in Thailand, *Sci. Total Environ.* **717** (2020) 137232, doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137232>.
45. P. Makhdomi, A. A. Amin, H. Karimi, M. Pirsahab, H. Kim, H. Hossini, Occurrence of microplastic particles in the most popular Iranian bottled mineral water brands and an assessment of human exposure, *J. Water Proc. Eng.* **39** (2021) 101708, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101708>.
46. S. A. Mason, V. G. Welch, J. Neratko, Synthetic Polymer Contamination in Bottled Water, *Front. Chem.* **6** (2018), doi: <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00407>.
47. D. Schymanski, C. Goldbeck, H. U. Humpf, P. Fürst, Analysis of microplastics in water by micro-Raman spectroscopy: Release of plastic particles from different packaging into mineral water, *Water Res.* **129** (2018) 154–162, doi: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.11.011>.
48. B. E. Oßmann, G. Sarau, H. Holtmannspötter, M. Pischetsrieder, S. H. Christiansen, W. Dicke, Small-sized microplastics and pigmented particles in bottled mineral water, *Water Res.* **141** (2018) 307–316, doi: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.05.027>.
49. A. Winkler, N. Santo, M. A. Ortenzi, E. Bolzoni, R. Bacchetta, P. Tremolada, Does mechanical stress cause microplastic release from plastic water bottles?, *Water Res.* **166** (2019) 115082, doi: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.115082>.
50. J. Ha, M.-K. Yeo, The environmental effects of microplastics on aquatic ecosystems, *Mol. Cell. Toxicol.* **14** (2018) 353–359, doi: <https://doi.org/10.1007/s13273-018-0039-8>.
51. P. Schwabl, S. Köppel, P. Königshofer, T. Bucsics, M. Trauner, T. Reiberger, B. Liebmann, Detection of Various Microplastics in Human Stool: A Prospective Case Series, *Ann. Intern. Med.* **171** (2019) 453–457, doi: <https://doi.org/10.7326/m19-0618>.
52. Y. Geng, Z. Liu, R. Hu, Y. Huang, Fan Li, W. Ma, X. Wu, H. Dong, K. Song, X. Xu, Z. Zhang, Y. Song, Toxicity of microplastics and nanoplastics: invisible killers of female fertility and offspring health, *Front. Physiol.* **14** (2023) 1254886, doi: <https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1254886>.
53. H. Niu, S. Liu, Y. Jiang, Y. Hu, Y. Li, L. He, M. Xing, X. Li, L. Wu, Z. Chen, X. Wang, X. Lou, Are Microplastics Toxic? A

- Review from Eco-Toxicity to Effects on the Gut Microbiota, *Metabolites* **13** (2023), doi: <https://doi.org/10.3390/metabo13060739>.
54. B. Zhao, P. Rehati, Z. Yang, Z. Cai, C. Guo, Y. Li, The potential toxicity of microplastics on human health, *Sci. Total Environ.* **912** (2024) 168946, doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.168946>.
 55. S. Huang, X. Huang, R. Bi, Q. Guo, X. Yu, Q. Zeng, Z. Huang, T. Liu, H. Wu, Y. Chen, J. Xu, Y. Wu, P. Guo, Detection and Analysis of Microplastics in Human Sputum, *Environ. Sci. Technol.* **56** (2022) 2476–2486, doi: <https://doi.org/10.1021/acs.est.1c03859>.
 56. H. A. Leslie, M. J. M. van Velzen, S. H. Brandsma, A. D. Vethaak, J. J. Garcia-Vallejo, M. H. Lamoree, Discovery and quantification of plastic particle pollution in human blood, *Environ. Int.* **163** (2022) 107199, doi: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107199>.
 57. A. Ragusa, A. Svelato, C. Santacroce, P. Catalano, V. Notarstefano, O. Carnevali, F. Papa, M. C. A. Rongioletti, F. Baiocco, S. Draghi, E. D'Amore, D. Rinaldo, M. Matta, E. Giorgini, Plasticenta: First evidence of microplastics in human placenta, *Environ. Int.* **146** (2021) 106274, doi: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.106274>.
 58. L. Gaspar, S. Bartman, G. Coppotelli, J. M. Ross, Acute Exposure to Microplastics Induced Changes in Behavior and Inflammation in Young and Old Mice, *Int. J. Mol. Sci.* **24** (2023), doi: <https://doi.org/10.3390/ijms241512308>.
 59. I. V. Kirstein, A. Gomiero, J. Vollertsen, Microplastic pollution in drinking water, *Curr. Opin. Toxicol.* **28** (2021) 70–75, doi: <https://doi.org/10.1016/j.cotox.2021.09.003>.
 60. A. B. Silva, A. S. Bastos, C. I. L. Justino, J. P. da Costa, A. C. Duarte, T. A. P. Rocha-Santos, Microplastics in the environment: Challenges in analytical chemistry – A review, *Anal. Chim. Acta* **1017** (2018) 1–19, doi: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.02.043>.
 61. R. Dris, J. Gasperi, M. Saad, C. Mirande, B. Tassin, Synthetic fibers in atmospheric fallout: A source of microplastics in the environment?, *Mar. Pollut. Bull.* **104** (2016) 290–293, doi: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.01.006>.
 62. V. C. Shruti, G. Kutralam-Muniasamy, Blanks and bias in microplastic research: Implications for future quality assurance, *Trends Environ. Anal.* **38** (2023) e00203, doi: <https://doi.org/10.1016/j.teac.2023.e00203>.
 63. M. Kosuth, S. A. Mason, E. V. Wattenberg, Anthropogenic contamination of tap water, beer, and sea salt, *PLoS One* **13** (2018) e0194970, doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194970>.
 64. S. M. Mintenig, M. G. J. Löder, S. Primpke, G. Gerdts, Low numbers of microplastics detected in drinking water from ground water sources, *Sci. Total Environ.* **648** (2019) 631–635, doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.178>.
 65. G. Erni-Cassola, V. Zadjelovic, M. I. Gibson, J. A. Christie-Oleza, Distribution of plastic polymer types in the marine environment; A meta-analysis, *J. Hazard. Mater.* **369** (2019) 691–698, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.02.067>.
 66. C. Zarfl, Promising techniques and open challenges for microplastic identification and quantification in environmental matrices, *Anal. Bioanal. Chem.* **411** (2019) 3743–3756, doi: <https://doi.org/10.1007/s00216-019-01763-9>.
 67. A. Käßler, M. Fischer, B. M. Scholz-Böttcher, S. Oberbeckmann, M. Labrenz, D. Fischer, K.-J. Eichhorn, B. Voit, Comparison of μ -ATR-FTIR spectroscopy and py-GCMS as identification tools for microplastic particles and fibers isolated from river sediments, *Anal. Bioanal. Chem.* **410** (2018) 5313–5327, doi: <https://doi.org/10.1007/s00216-018-1185-5>.
 68. B. E. Oßmann, Microplastics in drinking water? Present state of knowledge and open questions, *Curr. Opin. Food Sci.* **41** (2021) 44–51, doi: <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.02.011>.
 69. B. Sharma, R. R. Frontiera, A.-I. Henry, E. Ringe, R. P. Van Duyne, SERS: Materials, applications, and the future, *Mater. Today* **15** (2012) 16–25, doi: [https://doi.org/10.1016/S1369-7021\(12\)70017-2](https://doi.org/10.1016/S1369-7021(12)70017-2).
 70. G. Xu, H. Cheng, R. Jones, Y. Feng, K. Gong, K. Li, X. Fang, M. A. Tahir, V. K. Valev, L. Zhang, Surface-Enhanced Raman Spectroscopy Facilitates the Detection of Microplastics <1 μ m in the Environment, *Environ. Sci. Technol.* **54** (2020) 15594–15603, doi: <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c02317>.
 71. L. Lv, L. He, S. Jiang, J. Chen, C. Zhou, J. Qu, Y. Lu, P. Hong, S. Sun, C. Li, *In situ* surface-enhanced Raman spectroscopy for detecting microplastics and nanoplastics in aquatic environments, *Sci. Total Environ.* **728** (2020) 138449, doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138449>.
 72. L. Mikac, I. Rigó, L. Himics, A. Tolić, M. Ivanda, M. Veres, Surface-enhanced Raman spectroscopy for the detection of microplastics, *Appl. Surf. Sci.* **608** (2023) 155239, doi: <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2022.155239>.
 73. W. J. Shim, S. H. Hong, S. E. Eo, Identification methods in microplastic analysis: a review, *Anal. Methods* **9** (2017) 1384–1391, doi: <https://doi.org/10.1039/C6AY02558G>.
 74. B. Nguyen, D. Claveau-Mallet, L. M. Hernandez, E. G. Xu, J. M. Farner, N. Tufenkij, Separation and Analysis of Microplastics and Nanoplastics in Complex Environmental Samples, *Acc. Chem. Res.* **52** (2019) 858–866, doi: <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.8b00602>.
 75. S. M. Brander, V. C. Renick, M. M. Foley, C. Steele, M. Woo, A. Lusher, S. Carr, P. Helm, C. Box, S. Cherniak, R. C. Andrews, C. M. Rochman, Sampling and Quality Assurance and Quality Control: A Guide for Scientists Investigating the Occurrence of Microplastics Across Matrices, *Appl. Spectrosc.* **74** (2020) 1099–1125, doi: <https://doi.org/10.1177/0003702820945713>.
 76. W. Cowger, A. M. Booth, B. M. Hamilton, C. Thaysen, S. Primpke, K. Munno, A. L. Lusher, A. Dehaut, V. P. Vaz, M. Liboiron, L. I. Devriese, L. Hermabessiere, C. Rochman, S. N. Athey, J. M. Lynch, H. De Frond, A. Gray, O. A. H. Jones, S. Brander, C. Steele, S. Moore, A. Sanchez, H. Nel, Reporting Guidelines to Increase the Reproducibility and Comparability of Research on Microplastics, *Appl. Spectrosc.* **74** (2020) 1066–1077, doi: <https://doi.org/10.1177/0003702820930292>.
 77. D. Schymanski, B. E. Oßmann, N. Benismail, K. Boukerma, G. Dallmann, E. von der Esch, D. Fischer, F. Fischer, D. Gilliland, K. Glas, T. Hofmann, A. Käßler, S. Lacorte, J. Marco, M. EL Rakwe, J. Weisser, C. Witzig, N. Zumbülte, N. P. Ivleva, Analysis of microplastics in drinking water and other clean water samples with micro-Raman and micro-infrared spectroscopy: minimum requirements and best practice guidelines, *Anal. Bioanal. Chem.* **413** (2021) 5969–5994, doi: <https://doi.org/10.1007/s00216-021-03498-y>.
 78. U. Anand, S. Dey, E. Bontempi, S. Ducoli, A. D. Vethaak, A. Dey, S. Federici, Biotechnological methods to remove microplastics: a review, *Environ. Chem. Lett.* **21** (2023) 1787–1810, doi: <https://doi.org/10.1007/s10311-022-01552-4>.
 79. W. Gao, Y. Zhang, A. Mo, J. Jiang, Y. Liang, X. Cao, D. He, Removal of microplastics in water: Technology progress and green strategies, *Green Analyt. Chem.* **3** (2022) 100042, doi: <https://doi.org/10.1016/j.greac.2022.100042>.

SUMMARY

Challenges of Microplastics: Contaminants Threatening Ecosystems and Human Health

Ana Tolić,^{a,b} Iva Juranović Cindrić,^c Tamilselvi Selvam,^{a,b} Vlasta Mohaček Grošev,^{a,b}
Lara Mikac,^{a,b*} and Mile Ivanda^{a,b}

Microplastics (MPs) have caused concern in the scientific community over the last decade due to their widespread distribution in the environment and their potential harmful effects that are not yet fully understood. MPs are solid, water-insoluble polymer particles containing additives and range in size from 1 μm to 1 mm. So far, the presence of MPs has been detected in various parts of the environment such as soils, oceans, lakes, sediments, and even isolated areas like the Mariana Trench. Humans are exposed to MPs through the ingestion of contaminated food, with numerous studies showing significant quantities of MPs in drinking water, bottled beverages, salt, seafood, and more. While legal restrictions do not yet directly apply to MPs as a pollutant group, the EU directive aims to adopt a methodology for measuring MPs by 2024, intending to include them in the list of monitored pollutants. Existing methods for analysing MPs are still under development, but primarily include spectroscopic techniques such as FTIR and Raman spectroscopy, which can provide information on the size, number and shape of the particles as well as the type of polymer. Despite this progress, there are still no standardised methods to compare results from different tests, and quality control often relies only on blank tests to check and monitor external contamination of the sample. The main purpose of this review is to provide an overview of the methods of analysis and the challenges faced by researchers. By analysing different methods, such as destructive (pyrolysis) and non-destructive (e.g. spectroscopic methods), a broader insight into the nature of the polymers, the number, size, and shape of the particles is obtained. However, the lack of standardised protocols for sample preparation, analysis, and data processing hinders the comparability of results and reduces the reliability of the research. Therefore, it is crucial to prescribe the experimental conditions to ensure the quality of the research and enable meta-analysis and verification of the presence of MPs in different environmental matrices.

Keywords

Microplastics, spectroscopy, plastic pollution, environment, food

^a *Laboratory for Molecular Physics and Synthesis of New Materials, Department of Materials Physics, Ruđer Bošković Institute, Bijenička 54, 10 000 Zagreb, Croatia*

^b *Center of Excellence for Advanced Materials and Sensors, Bijenička 54, 10 000 Zagreb, Croatia*

^c *Department of Analytical Chemistry, Faculty of Science, University of Zagreb, Horvatovac 102a, 10 000 Zagreb, Croatia*

Review
Received October 11, 2023
Accepted May 12, 2024