

Primjena infracrvene spektroskopije s Fourierovom transformacijom u detekciji mikroplastike u pivu

Šibalić, Magdalena

Master's thesis / Diplomski rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:626832>

Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](#) / [Imenovanje-Nekomercijalno-Dijeli pod istim uvjetima 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-22**

REPOZITORIJ

PTF OS

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJ

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

Magdalena Šibalić

**Primjena infracrvene spektroskopije Fourierovom
transformacijom u detekciji mikroplastike u pivu**

Diplomski rad

U Osijeku, 7. srpnja 2023.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek
Zavod za procesno inženjerstvo
Katedra za bioproceno inženjerstvo
Franje Kuhača 18, 31000 Osijek, Hrvatska

Diplomski sveučilišni studij Prehrambeno inženjerstvo

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Nastavni predmet: Tehnologija slada i piva

Tema rada je prihvaćena na III. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2021./2022. održanoj 21. prosinca 2021.

Mentor: izv. prof. dr. sc. *Kristina Mastanjević*

Komentor: dr. sc. *Vlatko Galić*, zn. sur. (POLJINOS)

Primjena infracrvene spektroskopije s Fourierovom transformacijom u detekciji mikroplastike u pivu

Magdalena Šibalić, 0113142470

Sažetak:

Sve veća prisutnost mikroplastike, ne samo u okolišu nego i u hrani te predmetima svakodnevne uporabe, postavlja pitanja kako smanjiti i minimizirati njezin utjecaj na ljudsko zdravlje. Plastična ambalaža postaje sve popularnija i koristi se za pakiranje mnogih proizvoda. Budući da se plastika ne može razgraditi, dolazi do sve veće akumulacije plastike u okolišu pa i u proizvodima pakiranih u plastičnu ambalažu. Djelovanjem različitih čimbenika dolazi do fragmentacije plastike te nastaju čestice mikroplastike. Prema tome, potrebno je razviti metodu analize mikroplastike u hrani. Trenutno je vrlo teško kvantificirati broj čestica i njegov točan sastav. Ipak, polukvantitativne tehnike kao što je FT-IR (infracrvena spektrofotometrija s Fourierovom transformacijom) mogu nam dati uvid u kemijski sastav čestica mikroplastike u hrani i pićima. Pivo se danas puni u PET ambalažu jer predstavlja jeftiniji materijal za pakiranje u usporedbi sa staklom. Cilj ovog rada bio je dati kratak pregled FT-IR identificiranih spojeva u PET pakiranim uzorcima piva. Rezultati pokazuju da se mnogi spojevi mikroplastike mogu naći u pivu, ali najčešće pronađeni u ovom istraživanju bili su β -ciklodekstrin i L () gliceraldehidni neprirodni oblik, dva spoja označena kao mikroplastika.

Ključne riječi: mikroplastika, PET ambalaža, pivo, infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom

Rad sadrži: 37 stranica
9 slika
3 tablice
0 priloga
67 literaturnih referenci

Jezik izvornika: Hrvatski

Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada i diplomskog ispita:

- | | |
|---------------------------------------------|-----------------|
| 1. prof. dr. sc. <i>Vinko Krstanović</i> | predsjednik |
| 2. doc. dr. sc. <i>Kristina Mastanjević</i> | član-mentor |
| 3. dr. sc. <i>Vlatko Galić</i> | član - komentor |
| 4. doc. dr. sc. <i>Krunoslav Aladić</i> | zamjena člana |

Datum obrane: 7.7.2023.

Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 18, Osijek

BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek
Faculty of Food Technology Osijek
Department of Process engineering
Subdepartment of Bioprocess Engineering
Franje Kuhača 18, HR-31000 Osijek, Croatia

Graduate program Food engineering

Scientific area: Biotechnical sciences

Scientific field: Food technology

Course title: Technology of malting and brewing

Thesis subject was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. III held on December 21st, 2021

Supervisor: *Kristina Mastanjević*, PhD, assistant prof.

Co-supervisor: *Vlatko Galić*, PhD, sci. assoc.

Application of Fourier-Transform Infrared Spectroscopy in Detecting Microplastics in Beer

Magdalena Šibalić, 0113142470

Summary:

The increasing presence of microplastics, not only in the environment but also in food and everyday objects, raises the question of how to reduce and minimize their impact on human health. Plastic packaging is becoming increasingly popular and is used to package many products. Since plastic cannot decompose, it accumulates in the environment and even in products packaged in plastic packaging. Due to the action of various factors, plastic fragmentation occurs and microplastic particles are formed. Therefore, it is necessary to develop a method to analyze microplastics in food. Currently, it is very difficult to quantify the number of particles and their exact composition. Nevertheless, semi-quantitative techniques such as FT-IR (Fourier Transform Infrared Spectrophotometry) can provide information about the chemical composition of microplastic particles in food and beverages. Beer is nowadays bottled in PET packaging as it is a cheaper packaging material compared to glass. The aim of this study was to provide a brief overview of the FT-IR - identified compounds in PET-packaged beer samples. The results show that many compounds can be found in beer, but the most commonly found in this study were β -cyclodextrin and L(-)-glyceraldehyde in unnatural form, two compounds labeled as microplastics.

Key words: microplastic, PET packaging, beer, Fourier Transform Infrared Spectrophotometry

Thesis contains: 37 pages
9 figures
3 tables
67 references

Original in: Croatian

Defense committee:

- | | |
|-------------------------------------------------------|---------------|
| 1. <i>Vinko Krstanović</i> , PhD, full prof. | chair person |
| 2. <i>Kristina Mastanjević</i> , PhD, assistant prof. | supervisor |
| 3. <i>Vlatko Galić</i> , PhD, sci. assoc. | co-supervisor |
| 4. <i>Krunoslav Aladić</i> , PhD, assist. prof. | stand-in |

Defense date: July 7th 2023

Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 18, Osijek

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorici doc.dr.sc. Kristini Mastanjević i suradnicima na pomoći, strpljenju, uloženom trudu i prenesenom znanju tijekom izrade diplomskog rada.

Veliko hvala mojim roditeljima koji su bili moja podrška tijekom cijelog studiranja i koji su uvijek vjerovali u mene i usmjeravali me na pravi put. Hvala na razumijevanju i odricanju kako bi danas bila ovo što jesam.

Hvala i ostatku obitelji koji su bili podrška i olakšali moje studiranje. Hvala što ste uvijek bili na raspolaganju kada je trebalo pomoći. Bez vas to ne bi bilo moguće.

Hvala prijateljima koji su bili uz mene i učinili ovo razdoblje studiranja više zabavnim, a manje stresnim.

Veliko hvala mome mužu i sinu Mateu na bezuvjetnoj ljubavi, podršci, strpljenju, žrtvi i razumijevanju koje ste mi pružili tijekom studiranja. Hvala vam što ste bili uz mene na ovome putu, što ste uvijek vjerovali u mene i olakšali mi riješiti sve prepreke tijekom studiranja.

Sadržaj

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 1. UVOD | 1 |
| 2. TEORIJSKI DIO | 3 |
| 2.1. PLASTIKA | 4 |
| 2.2. MIKROPLASTIKA | 5 |
| 2.3. METODE ZA ANALIZU MIKROPLASTIKE | 7 |
| 2.3.1. Primjena mikroskopije u analizi mikroplastike..... | 9 |
| 2.3.2. Primjena Ramanove spektroskopije u analizi mikroplastike..... | 9 |
| 2.3.3. Primjena toplinske analize u detekciji mikroplastike | 10 |
| 2.3.4. Primjena infracrvene spektroskopije s Fourierovom transformacijom u detekciji mikroplastike..... | 10 |
| 2.4. MIKROPLASTIKA U PREHRAMBENIM PROIZVODIMA..... | 13 |
| 2.5. MIKROPLASTIKA U PIVU | 15 |
| 3. EKSPERIMENTALNI DIO | 18 |
| 3.1. ZADATAK | 19 |
| 3.2. MATERIJALI I METODE..... | 19 |
| 3.2.1. Uzorci piva | 19 |
| 3.2.2. Priprema uzoraka piva | 20 |
| 3.2.3. Analiza uzoraka..... | 21 |
| 4. REZULTATI I RASPRAVA | 22 |
| 4.1. REZULTATI FT-IR IDENTIFIKACIJE MIKROPLASTIKE U PIVU | 23 |
| 4.1.1. Rezultati detekcije ciklodekstrina u uzorcima piva | 25 |
| 4.1.2. Rezultati detekcije L-gliceraldehida u uzorcima piva | 26 |
| 4.1.3. Ostala identificirana mikroplastika u pivu | 27 |
| 5. ZAKLJUČCI | 29 |
| 6. LITERATURA | 31 |

Popis oznaka, kratica i simbola

| | |
|-------|----------------------------------------------------------|
| PS | polistiren |
| DDT | diklorodifeniltrikloroetan |
| DSC | diferencijalna motridbena kalorimetrija |
| ECHA | Europska agencija za kemikalije |
| EFSA | Europska agencija za sigurnost hrane |
| EP | epoksid/epoksidna smola |
| EPDM | etilen/propilen/dienski kaučuk |
| FTIR | infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom |
| HAH | Hrvatska agencija za hranu |
| PA | poliamid |
| PAH | policiklički aromatski ugljikovodici |
| PBDE | polibromirani difenil eteri |
| PCB | poliklorirani bifenili |
| PCL | polikaprolalton |
| PE | polietilen |
| PE-LD | polietilen niske gustoće |
| PET | polietilen tereftalat |
| PF | fenolformaldehidna smola |
| PLA | poliaktid |
| PP | polipropilen |
| PTFE | politetrafluoretilen |
| PVC | polivinilklorid |
| SEM | skenirajući elektronski mikroskop |

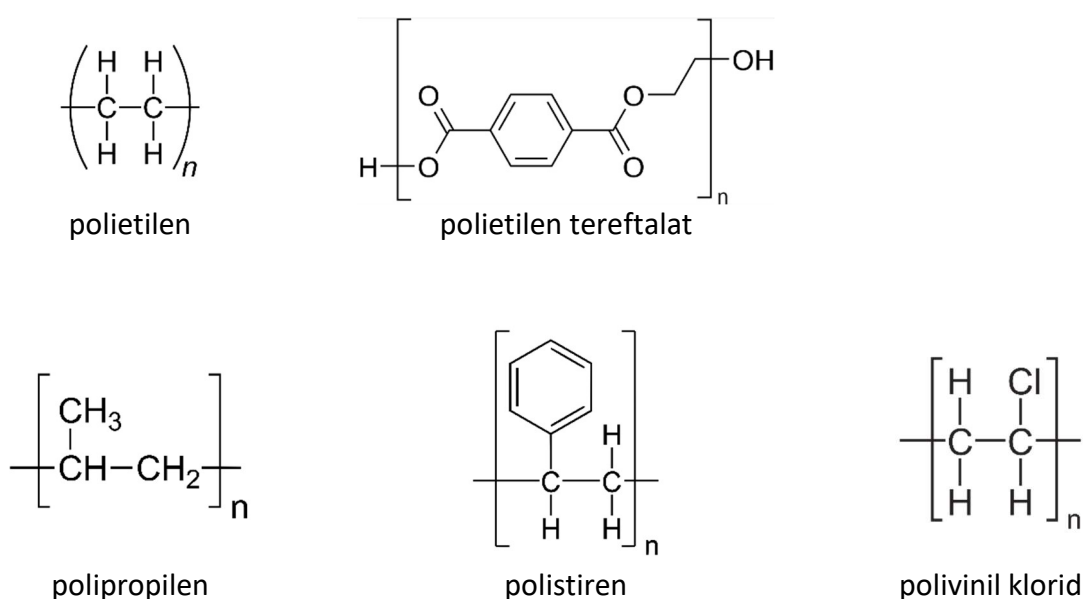
1. UVOD

Prisutnost mikroplastike u okolišu poznato je iz 1970-ih, ali tek 2004. postaje predmetom znanstvenih istraživanja. Danas čak i šira javnost dobiva sve više zabrinjavajućih informacija o mikroplastici kao potencijalnom štetnom zagađivaču. Razvojem znanosti i tehnologije dolazi do usmjeravanja ciljanih istraživanja prema otkrivanju i analizi načina i ključnih mjesta na kojima mikroplastika dospijeva u okoliš, te na koji način utječe na ljude i životinje. Mikroplastika je primarno definirana kao zagađivač okoliša. Europska agencija za sigurnost hrane (EFSA, 2016) definirala je mikroplastiku kao "heterogenu mješavinu materijala različitog oblika koji se nazivaju fragmentima, vlaknima, sferoidima, granulama, peletama, pahuljicama ili perlama, u rasponu od 0,1 do 5,0 μm ". Međutim, zbog svojih fizikalno-kemijskih svojstava ali i sve veće sveopće uporabe, mikroplastika lako dospijeva u hranu i piće. Iz navedenih razloga, u ovom istraživanju provedena je FT-IR analiza različitih uzoraka piva pakiranih u PET ambalažu s ciljem provedbe detekcije potencijalno prisutnih čestica deklariranih kao mikroplastika.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. PLASTIKA

Plastika je polimerni materijal koji je dugotrajan, otporan na razgradnju, inertan i jednostavan za oblikovanje. Plastika je organski polimer koji se sastoji od niza polimera s ponovljenim monomerima poput etilena, propilena, vinilklorida. S obzirom na građevne monomerne jedinice, razlikuje se polietilen (PE), polipropilen (PP), polivinilklorid (PVC) i polistiren (PS) (**Slika 1**). Struktura osnovnog lanca polimera definira fizikalno-kemijska svojstva plastike (Rochman i sur., 2019).



Slika 1. Osnovne jedinice strukture plastike (Glaser, 2019)

Na svjetskoj globalnoj proizvodnji vodeća mjesta su zauzeli PE i PP. Nakon njih slijedi polietilen tereftalat (PET) s oko 18 % globalne svjetske proizvodnje (Leng i sur., 2018). Prema PlasticsEurope, od listopada 2019., bruto proizvodnja plastike iznosila je 359 milijuna tona godišnje, pri čemu je najmanje 32,5 % potražnje pokriveno recikliranom plastikom (Diaz-Basantes i sur., 2020). Zbog svoje svestranosti i dostupnosti za ljudsku upotrebu, plastika se smatra jednim od najboljih materijala za očuvanje hrane, na temelju ekonomskih i održivih razmatranja. Međutim, prisutnost plastike u okolišu učinila ju je neprijateljem čovječanstva. Štoviše, procesi recikliranja nisu atraktivni u mnogim nerazvijenim zemljama zbog čega

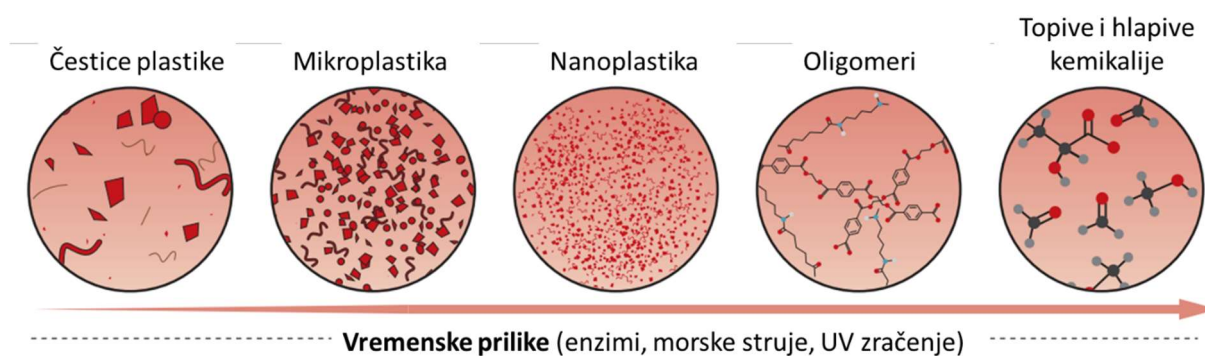
plastični otpad na kraju završava u okolišu (Ma i sur., 2018; Rainieri i Barranco, 2018). Potencijalni učinci onečišćenja plastikom uključuju promjene ciklusa ugljika i hranjivih tvari; promjene ekosustava unutar tla, promjene sedimenata i vodenih ekosustava; istodobni biološki utjecaji na ugrožene biljne i životinjske vrste; ekotoksičnost. Racionalan odgovor na globalnu prijetnju koju predstavlja onečišćenje plastikom je brzo smanjenje emisija plastike kroz smanjenje potrošnje nekorištenih plastičnih materijala, zajedno s međunarodno koordiniranim strategijama za gospodarenje otpadom (MacLeod i sur., 2021).

2.2. MIKROPLASTIKA

Tijekom godina pratimo porast proizvodnje i upotrebe plastike u svijetu. Posljedično tome nastaju problemi gospodarenja plastičnim otpadom i sve većeg ekološkog zagađenja planete što predstavlja globalni problem za okoliš (Thompson i sur., 2004). Za sada ne postoji međunarodno prihvaćena definicija mikroplastike. Prema definiciji Europske agencije za kemikalije (ECHA), mikroplastika predstavlja materijal koji se sastoji od čvrstih čestica koje sadrže polimer u koji su možda dodani i aditivi ili druge tvari i gdje je ≥ 1 % masene koncentracije raspona veličina od $1 \text{ nm} \leq x \leq 5 \text{ mm}$ ili kod oblika vlakna raspona duljina od $3 \text{ nm} \leq x \leq 15 \text{ mm}$ i omjera duljine i promjera $> 3 \text{ mm}$. Polimeri koji se pojavljuju u prirodi te su (bio)razgradivi, a koji nisu kemijski modificirani (osim hidrolizom) ne svrstavaju se u mikroplastiku.

Mikroplastika se sastoji od složenog niza polimera s ponovljenim monomerima koji čine temelj i bazu polimera. Temeljna razlika između polimera je struktura osnovnog lanca koja određuje fizikalno-kemijska svojstva plastike (Rochman i sur., 2019). U sintetičke polimerne materijale ubrajamo organske materijale (ugljikovodici) velike molekularne mase (makromolekule ili polimerni lanci) nastali procesom polimerizacije. Biorazgradivi polimerni materijali poliaktid (PLA) i polikaprolalton, (PCL) i drugi polimeri, kao što su polipropilen (PP), polietilen niske gustoće (PE-LD), polietilentereftalat (PET), poliamid (PA), politetrafluoretilen (PTFE), fenolformaldehidna smola (PF), epoksid/ epoksidna smola ili plastika (EP), etilen/propilen/diensi kaučuk (EPDM) sintetički su polimeri (Rochman i sur., 2019).

Mikroplastika se može kategorizirati kao primarna ili sekundarna plastika. Primarna mikroplastika podrazumijeva sintetizirane čestice mikroplastike za posebnu namjenu (kao što su mikrozrnca). Sekundarna mikroplastika nastaje fragmentacijom i razgradnjom makroplastike, uključujući vlakna iz sintetičkog tekstila (Zhang i sur., 2020). Iako su proizvodi od plastike teško razgradivi, ipak zbog fizičkih i prirodnih čimbenika poput sunca, vjetra, kiše ili zbog antropogenih uzroka poput komercijalne uporabe i iskorištavanja, dolazi do njihove fragmentacije na sitnije čestice mikroplastike, te se akumuliraju u okolišu (**Slika 2**). Povećanje površine čestica koji nastaju kao fragmenti mikro- i nanoplastike olakšava otpuštanje kemikalija prisutnih u plastičnom materijalu, uključujući aditive, zaostale nepolimerizirane monomere i oligomere te produkte razgradnje plastičnog polimera. Stoga, tijekom vremena, plastika u okolišu proizvodi sve raznolikiju liniju malih čestica i kemikalija u okolišu (MacLeod i sur., 2021).



Slika 2. Proces razgradnje čestica mikroplastike djelovanjem vremenskih prilika (MacLeod i sur., 2021)

Mikroplastika je krajem ovog desetljeća privukla sve veću pozornost zbog učestale pojavnosti i svojih nepoželjnih učinaka (Wright i Kelly, 2017). Zbog svojih lipofilnih svojstava, plastika pa tako i mikroplastika može apsorbirati kemikalije iz okoliša poput PCB, PBDE i PAH-ove, koji su poznati kao reproduktivni toksikanti i kancerogeni spojevi (Kosuth i sur., 2018). (Mikro)plastika može apsorbirati metale i bakterije (McCormick i sur., 2014; Rochman i sur., 2014) ponekad i u većim koncentracijama. Nadalje, dokazano je da se organske kemikalije unesene u organizam mogu desorbirati u crijevima (Bakir i sur., 2013). Također, plastika

može povisiti koncentraciju sintetičkih aditiva kao što su ftalati, alkilfenoli i bisfenoli (Teuten i sur., 2009). Novija istraživanja dokazuju kako plastika može biti citotoksična za ljudske stanice (Schirinzi i sur., 2017). Kao rezultat prevelike proizvodnje plastike, dolazi do kontaminacije mora mikroplastikom što predstavlja globalni problem za okoliš (Rezania i sur., 2018). Naposljedku, ljudi konzumacijom morskih plodova, zagađene morske soli, konzumacijom pića pakiranih u plastičnu ambalažu bivaju izloženi mikroplastici (Kosuth i sur., 2018; Smith i sur., 2018). Najveći problem predstavlja kontaminacija mikroplastikom vode za piće koja se može koristiti i u prehrambenoj industriji. Manja koncentracija mikroplastike pronađena je u podzemnim vodama (0 – 7 čestica/m³) (Mintenig i sur., 2019). Navedeni problemi naglašavaju zašto se mikroplastika smatra opasnim kontaminantom danas, ali i u budućnosti.

2.3. METODE ZA ANALIZU MIKROPLASTIKE

Mikroplastika je nerazgradiva i netopiva u vodi te posjeduje različita fizikalno-kemijska svojstva koja predstavljaju nepoznate visokorizične prijetnje okolišu. Uzevši u obzir navedene činjenice o globalnom problemu pojavnosti mikroplastike u cjelokupnom lancu, od akumulacije u okolišu do štetnog učinka za ljude i životinje, javlja se potreba za opsežnim razumijevanjem ove vrste polimera kako bi se smanjila prijetnja njihove globalne izloženosti ljudskom zdravlju. Međutim, različiti oblici, veličine i svojstva poput poroznosti i prozirnosti predstavljaju izazov za detekciju mikroplastike (Asamoah i sur., 2019). Također, određene karakteristike između plastike i spojeva koje se ne klasificiraju kao plastika stvaraju dodatne poteškoće u točnom identificiranju i klasificiranju mikroplastike (Song i sur., 2015).

Razvoj analitičke kemije doprinosi u otkrivanju i analizi mikroplastike u okolišu. Analiza mikroplastike sastoji se iz postupaka izolacije, identifikacije, kemijske karakterizacije i kvantifikacije (Silva i sur., 2018). Cilj analize je dobiti podatke o broju identificiranih čestica, veličini, obliku, boji te pomoću kemijskog sastava o broju i vrsti kemijskih polimera. Informacije o aditivima (plastifikatori ili omekšivači, pojačivači, punila, boje, usporavala gorenja, modifikatori) i apsorbiranim štetnim tvarima kao što su diklorodifeniltrikloroetan

(DDT), policiklički aromatski ugljikovodici (PAH) možemo dobiti primjenom različitih tehnika identifikacije i kvantifikacije (Silva i sur., 2018).

Prije postupka analize mikroplastiku je potrebno izolirati iz uzorka vode, sedimenta i biološkog materijala kako bi se mogla kvantificirati i okarakterizirati. Složenost postupka izolacije ovisi o vrsti analiziranog uzorka. Primjerice izdvajanje iz uzorka vode i sedimenta provodi se prosijavanjem (krupne čestice) ili korištenjem mreža tijekom skupljanja te odvajanjem najčešće postupkom filtracije i/ili izdvajanjem na temelju različite gustoće (Hegedušić, 2019., Nguyen i sur., 2019). Najčešći postupak u izdvajanju mikroplastike iz uzorka vode je filtracija. Veličine pora mreže/filtera mogu znatno varirati, od 0,45 μm do 55,5 mm. Međutim, male veličine pora također mogu dovesti do brzog zasićenja mreže/filtera organskim i mineralnim tvarima. Postupak identifikacije obuhvaća: vizualnu identifikaciju (mikroskopska analiza), kemijsku identifikaciju plastičnih polimera te izražavanje ukupne količine mikroplastike primjenom kombinacije vizualne mikroskopske analize i vibracijske spektroskopije (broj čestica/g uzorka). Navedenim tehnikama se dobivaju podatci o fizikalno-kemijskim svojstvima. Fizikalna svojstva uključuju oblik, boju, veličinu mikroplastike, a kemijska svojstva se primjenjuju pri određivanju sastava mikroplastike te se u tu svrhu koriste uređaji FTIR spektrometar, Raman spektrometar, skenirajući elektronski mikroskop (SEM), te uređaj za ultra tekućinsku kromatografiju visoke djelotvornosti uz tandemsku masenu spektrometriju (UPLC-MS/MS) (Bogdanović i sur., 2022). U većini istraživanja, čestice mikroplastike se prvo vizualno identificiraju te se zatim koriste razne spektroskopske metode. Tehnike koje se uglavnom koriste za detekciju mikroplastike su:

- mikroskopija,
- Ramanova spektroskopija,
- toplinska analiza,
- infracrvenu spektroskopiju s Fourierovom transformacijom (FTIR) (Baruah i sur., 2022).

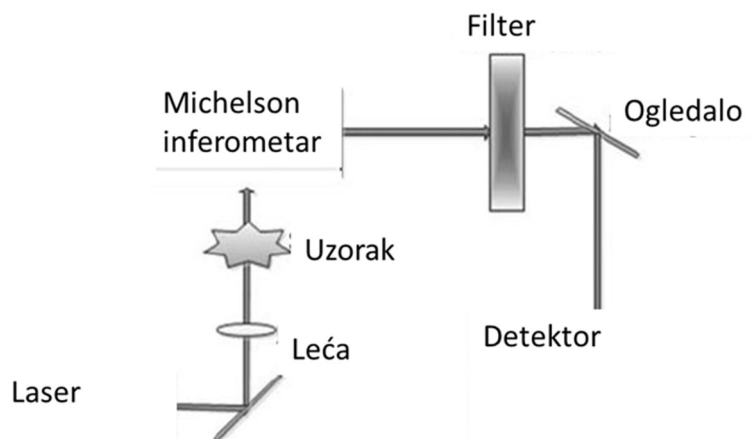
2.3.1. Primjena mikroskopije u analizi mikroplastike

Mikroskopija je najčešće korištena tehnika za bilo koju svrhu otkrivanja. Uobičajeno korištene mikroskopske tehnike za otkrivanje mikroplastike su svjetlosna mikroskopija (Free i sur., 2014), stereomikroskop (Song i sur., 2015), fluorescentna mikroskopija (Van Cauwenberghe i sur., 2015) i skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM) (Wang i sur., 2017).

SEM (Scanning electron microscope) je metoda određivanja mikroplastike kod koje se pomoću uskog snopa elektrona dobiva vrlo detaljna slika površine. Snaga rezolucije mikroskopa limitirana je kvalitetom leća i valnom duljinom upadne zrake. Elektronski mikroskopi daju kvalitetniju sliku od svjetlosnog mikroskopa budući da elektroni imaju znatno kraće valne duljine. Nakon SEM analize, provodi se analiza s energijsko-disperznom spektroskopijom X-zrakama (SEM-EDS) koja daje informacije o elementarnom sastavu istog uzorka te omogućuje odvajanje plastike od anorganskih čestica. Nedostatci SEM-EDS metode su visoka cijena, vremenski je zahtjevna metoda, potrebna prethodna priprema uzorka te se preporučuje za površinske karakterizacije i elementarne analize čestica mikroplastike (Ružaj, 2019).

2.3.2. Primjena Ramanove spektroskopije u analizi mikroplastike

Ramanova spektroskopija temelji se na snimanju jedinstvenog spektra uzorka karakterističnog sastava pomoću laserske zrake (**Slika 3**). Princip navedene spektroskopije bazira se na neelastičnom raspršivanju fotona. Budući da ova brza ne-destruktivna tehnika koristi lasersku zraku malog promjera, može detektirati i mikroplastiku manjih veličina (Zada i sur., 2018). Jedan od glavnih nedostataka primjene Ramanove spektroskopije u detekciji mikroplastike jeste visoka osjetljivost prema drugim prisutnim kemijskim spojevima u uzorcima (naročito aditivima i pigmentima) te nemogućnošću interpretacije spektra uslijed šumova nastalih zbog (čestih) nepravilnih oblika i površina mikroplastike (Wang i sur., 2017). FTIR i Raman spektroskopija su komplementarne zato što su neke molekulske vibracije vidljive u Raman spektru dok u IR nisu i obrnuto.



Slika 3. Dijelovi Ramanovog spektrometra (Yang i Ying, 2011)

2.3.3. Primjena toplinske analize u detekciji mikroplastike

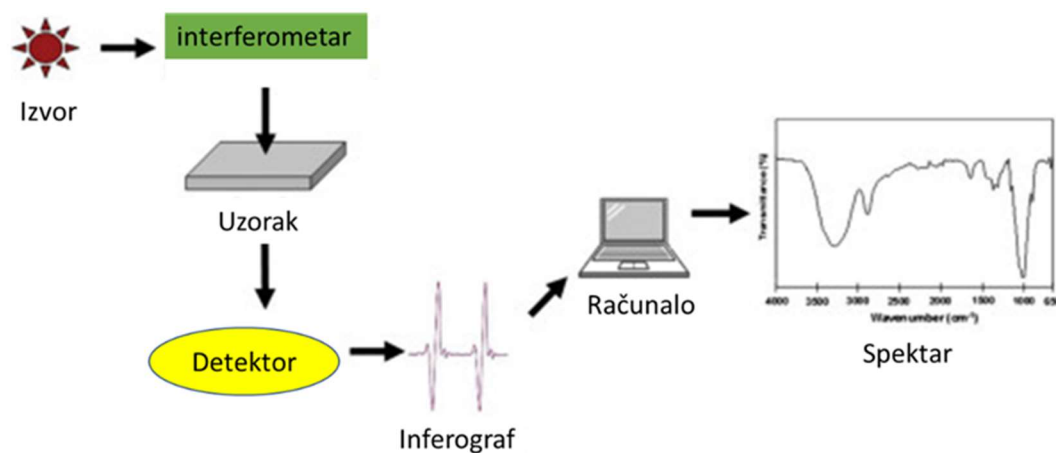
Toplinska analiza može odrediti informacije o sastavu polimera analizom njihove toplinske stabilnosti ili toplinske degradacije. Obično mjeri sve vrste promjena fizikalnih i kemijskih svojstava te se smatra alternativom spektroskopskim tehnikama (Nuelle i sur., 2014). Iako se u kratkom vremenu može analizirati veliki broj uzoraka, glavni nedostaci metode toplinske razgradnje jeste bliskost u temperaturnim rasponima taljenja određenih polimera te je zbog toga potrebna određena predobrada uzoraka s ciljem uklanjanja polimera koji se ne klasificiraju kao plastika (Dümichen i sur., 2017). Iz tog razloga, diferencijalna motridbena kalorimetrija (eng., differential scanning calorimetry, DSC) predstavlja određenu alternativu toplinskoj razgradnji. Međutim, ograničenja DSC metode su u pogledu odabira referentnog materijala mikroplastike. Nedostatke DSC metode moguće je kompenzirati kombinacijom s termalnom gravimetrijskom analizom (Majewsky i sur., 2016).

2.3.4. Primjena infracrvene spektroskopije s Fourierovom transformacijom u detekciji mikroplastike

Analiza infracrvenog spektra daje informaciju o prisutnosti pojedinih molekula u uzorku te njihovim koncentracijama. U svijetu postoji nekoliko vrsta infracrvenih spektrometara, no najzastupljeniji su FTIR spektrometri. FTIR spektrometar i Ramanov spektrometar daju informacije o funkcionalnim skupinama i molekularnoj strukturi organskih

materijala te su široko primijenjeni analitički uređaji pri određivanju mikroplastike (Jung i sur., 2021). Metoda infracrvene spektroskopije s Fourierovim transformacijama (FTIR) koristi se pri detekciji polimera, u petrokemijskom inženjerstvu, farmaceutskoj industriji i analizi hrane. Metoda se temelji na utvrđivanju strukture molekule pomoću njezine mogućnosti adsorpcije infracrvenog zračenja. Prilikom izloženosti zračenju, molekula adsorbira zračenje specifičnih valnih duljina što uzrokuje promjenu dipolnog momenta te se vibracijska energija transformira iz osnovnog u pobuđeno stanje. Analizom infracrvenog spektra može se saznati struktura molekule. Prednosti FTIR metode u odnosu na disperzivne IR spektrometre su brže vrijeme skeniranja svih frekvencija, širi raspon skeniranja ($1000 \sim 10 \text{ cm}^{-1}$), manje odstupanje, potrebna mala količine uzorka i minimalnu pripremu uzorka prije same analize. FTIR metodom moguće je detektirati mikročestice veće od 10-20 μm (Ribeiro-Claro i sur., 2017). FTIR spektroskopija često se koristi za kvalitativnu analizu mikroplastike ($>10 \mu\text{m}$), jer se može brzo i izravno identificirati tip polimera usporedbom njihovih spektara s spektrima poznate plastike (Hidalgo-Ruz i sur., 2012).

Glavna problematika FTIR metode je moguće preklapanje spektara različitih polimera ili nastanak nepoznatih spektara uzrokovanih organskim nečistoćama u uzorcima. Stoga je potrebno prije analize na uređaju ukloniti organske ili anorganske nečistoće koristeći različite reagense poput etanola, 30 % H_2O_2 , 65% H_2NO_3 (Chen i sur., 2020). Na **Slici 4** prikazani su dijelovi FTIR spektrometra, a to su izvor zračenja, interferometar, odjeljak za uzorke, detektor i računalo (Undavalli i sur., 2021).



Slika 4. Dijelovi FT-IR uređaja (Undavalli i sur., 2021)

Rad uređaja temelji se na sljedećem principu. Zračenje proizlazi iz izvora kroz interferometar do detektora. Zatim se signal konvertira u digitalni signal koji dolazi do računala gdje se provodi Fourierova transformacija. Glavna razlika između FTIR spektrometra i disperznog IR spektrometra je Michelsonov interferometar koji razdjeljuje jednu zraku svjetlosti u dvije različite putanje koje se rekombiniraju u detektor gdje se mjeri njihov intenzitet (Ružaj, 2019). Male čestice mikroplastike mogu se detektirati mikroFTIR (μ -FTIR) uređajem koji koristi mikroskopsko proučavanje prije spektroskopijske analize te se mogu detektirati čestice jednake veličine kao otvor kroz koji prolazi IR zračenje. Korištenjem ATR-FTIR (FTIR sa smanjenom totalnom refleksijom) uređaja dolazi do površinskog kontakta sa samim materijalom te je moguće oštećenje površine osjetljivijih vrsta mikroplastike (Jung i sur., 2018).

2.4. MIKROPLASTIKA U PREHRAMBENIM PROIZVODIMA

Plastični otpad nije razgradiv u okolišu te predstavlja veliku opasnost za okoliš, životinje koje u njemu obitavaju i ljude. Mikroplastika je identificirana u hrani koju konzumiraju ljudi, zraku, vodi za piće. Izloženost navedenim izvorima kontaminacije može imati štetne posljedice na ljudsko zdravlje (Karbalaee i sur., 2018). Izvor kontaminacije prehrambenih proizvoda mikroplastikom može biti različit. Kopnene ili morske životinje putem prehrambenog lanca mogu biti kontaminirane mikroplastikom (rakovi, dagnje, ribe), i biljke apsorbiraju mikroplastiku te naposljetku unosom i konzumacijom takvih proizvoda mikroplastika završi i u ljudskom organizmu (Bradney i sur., 2019). Drugi način kontaminacije prehrambenih proizvoda mikroplastikom je tijekom proizvodnje hrane (doticaj hrane s plastičnim uređajima) i preko ambalaže u koju se proizvodi pakiraju jer se plastične čestice mogu osloboditi i doći u izravan doticaj s hranom tijekom procesa proizvodnje, prijevoza i pakiranja hrane (Kedzierski i sur., 2020).

Znanstvenici sve više istražuju zagađenost mora i morskih organizama mikroplastikom. Mikroplastika je pronađena u različitim vrstama ribe i u različitim regijama od Europe, Amerike pa sve do Kine. Glavni izvor kontaminacije ribe i morskih plodova mikroplastikom je plankton i kontaminirana staništa navedenih organizama. Prema procjenama oko 5% do 10% plastike godišnje završi u morima i oceanima (Toussaint i sur., 2019). Najveća koncentracija mikroplastike pronađena je u probavnom sustavu riba, rakova, školjkaša, dagnji među kojima se ističu polietilen tereftalat (PET), polipropilen (PP), poliamid (PA), polietilen (PE) i najlon (Teng i sur., 2019).

Čestice mikroplastike pronađene su u vodi za piće i u vodovodnoj vodi. Spremnici u postrojenjima za pročišćavanje pitke vode obloženi su epoksidnom smolom kako bi se spriječila korozija. Transportne cijevi uglavnom su izrađene od polivinil klorida (PVC) ili PE, a cijevne armature izrađene su od PA (Mintenić i sur., 2019). Mason i sur. (2018) proveli su analizu flaširane vode za piće iz 9 različitih zemalja te su pronašli čestice mikroplastike veličine od 1 – 100 μm u 93% od 259 uzoraka flaširane vode. Shrutti i sur. (2020) analizirali su nekoliko vrsta pića uključujući bezalkoholna pića, energetska pića i hladni čaj. U navedenim

uzorcima pronađena je mikroplastika različitih veličina. Raspon veličina se kretao od 100 - 3000 μm . U većini uzoraka identificirana je mikroplastika u obliku vlakana. Dominiraju vlakna plave i smeđe boje (osim u energetske pićima) te crvene boje. Prema gore navedenim činjenicama do kontaminacije mikroplastikom pića može doći ako se koristi voda zagađena mikroplastikom ali može doći i do kontaminacije preko ambalaže u koji se proizvod pakira ili preko opreme tijekom proizvodnje. Najčešće su to spremnici i filteri koji mogu uzrokovati onečišćenje (Liebezeit i sur., 2014; Wiesheu i sur., 2016; Kutralam-Muniasamy i sur., 2020; Shruti i sur., 2020). Čestice mikroplastike pronađene su i u uzorcima mlijeka. Ramanovom spektroskopijom identificiran je polieter sulfon (PES) koji se koristi kao membranski materijal u procesu proizvodnje mlijeka (Kutralam-Muniasamy i sur., 2020).

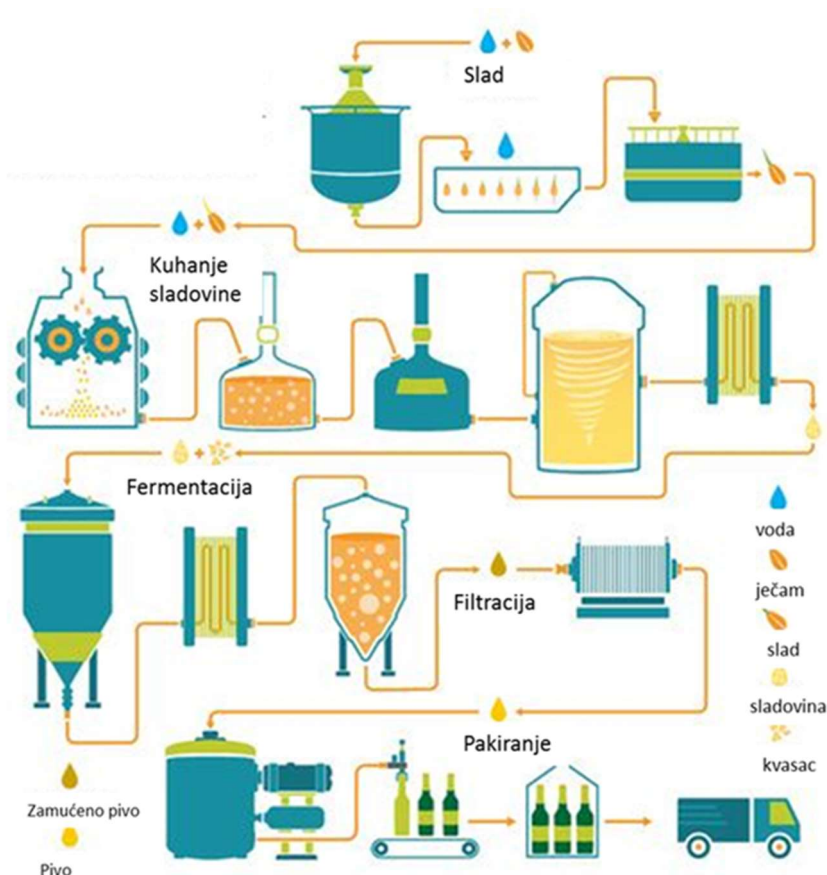
Plastična ambalaža široko je primijenjena u pakiranju i distribuciji hrane te predstavlja važan izvor unosa mikroplastike u ljudski organizam. Hernandez i sur. (2019) proveli su pokus sa praznom vrećicom čaja koju su uronili u vodu na 95 °C. Analizom u šalici je detektirano 11,6 milijardi čestica mikroplastike i 3,6 milijardi čestica nanoplastike koji potječu od vrećice čaja, a veličina čestica se kretala od 520 nm do 270 μm . Također je detektirana mikroplastika u hrani (meso) pakiranoj u plastične pladnjeve izrađene od ekstrudiranog polistirena (XPS) (Kedzierski i sur., 2020). Način otvaranja plastične ambalaže uvelike utječe na prijelaz mikroplastičnih čestica na hranu ili piće. Sobhani i sur. (2020) istražili su koliko se čestica mikroplastike otpusti u hranu tijekom otvaranja plastične ambalaže. Plastične vrećice, foliju za pakiranje, plastičnu bocu, plastične rukavice otvorili su na dva načina škarama i kidanjem. Tim postupcima oslobodilo se 0,46 – 250 mikroplastike/ cm^2 što ovisi o različitim fizikalnim svojstvima materijala kao što su debljina i gustoća plastičnog materijala i krutost materijala.

Osim u gore navedenim namirnicama detektirana je mikroplastika u voću, povrću, medu (Mühlschlegel i sur., 2017). Izvor kontaminacije meda mikroplastikom još nije dovoljno istražen. Postoji mogućnost kontaminacije hrane za pčele mikroplastikom te da insekti prenose mikroplastiku s cvijeća u košnice (Liebezeit i sur., 2013). Conti i sur. (2020) analizirali su koliko čestica mikroplastike sadrži voće i povrće koje se najviše koristi svakodnevno u ljudskoj prehrani. Među najzagađenijim uzorcima voća ističu se jabuke, a kod povrća mrkva dok su salate bile najmanje kontaminirane. Pronađeno je više mikroplastike u voću nego u

povrću. Rezultati su pokazali kako mikroplastika može prodrijeti u sjeme, korijen, lišće i biljne stanice voća. Također je dokazano da kemijska struktura voćne pulpe, visina i starost stabala utječe na koncentraciju mikroplastike u povrću.

2.5. MIKROPLASTIKA U PIVU

Prema pravilniku o pivu (NN 145/2011) pivo se definira kao proizvod dobiven alkoholnim vrenjem pивske sladovine upotrebom čistih kultura pivskih kvasaca *Saccharomyces cerevisiae*, a iznimno spontanim vrenjem ili uporabom mješovitih mikrobnih kultura. Osnovne sirovine za proizvodnju piva su voda, hmelj, slad i kvasac. Pivo predstavlja kompleks više od 800 kemijskih spojeva ekstrahirani iz osnovnih sirovina za proizvodnju te produkata velikog broja reakcija koje se odvijaju u svim fazama proizvodnje piva pa i tijekom skladištenja gotovog proizvoda. Pivo se proizvodi više od 5000 godina te se sve do danas, tehnologija proizvodnje piva razvila od malih pivovara za proizvodnju craft piva pa sve do industrijskih postrojenja te se smatra najstarijim biotehnološkim procesom. Ranije, tehnologija proizvodnje piva nije se temeljila na znanstvenim činjenicama te su bila mutna i podložna kvarenju. Takva piva su uglavnom imala „tanki“ okus, veći udio proteina i ugljikohidrata te manji udio alkohola. U modernom pristupu tehnologiji, znanstvenu osnovu pivarstva čine kemija, biokemija i mikrobiologija te tehnološki postupci pripreme sirovina, kuhanja sladovine, alkoholne fermentacije te stabilizacije i skladištenja piva (Šibalić i sur., 2021). Na **Slici 5** shematski je prikazan proces proizvodnje piva. Pri procesu proizvodnje postoji nekoliko načina kontaminacije piva mikroplastikom, primjerice upotreba kontaminirane vode, materijali koji se koriste pri proizvodnji piva, membranski procesi, filtracija i pakiranje piva.



Slika 5. Proces proizvodnje piva (web 1)

Najveći izvor kontaminacije mikroplastikom predstavlja voda koja se koristi u procesu proizvodnje piva. Prilikom proizvodnje piva koristi se voda iz različitih izvora, primjerice podzemna voda, površinska voda, voda iz vodovodne mreže ili kišnica. Također različiti procesi pranja bilja, ambalaže, spremnika ili radnog prostora može dovesti do kontaminacije konačnog proizvoda mikroplastikom (Kosuth i sur., 2018). Količina mikroplastike u osnovnim sirovinama (hmelj, ječam) koji se koriste u procesu proizvodnje piva nisu još dovoljno istražene, međutim detektirana je određena količina mikroplastike u žitaricama kao što su pšenica i raž (Liebezeit i sur., 2014).

Osim vode izvor kontaminacije piva mikroplastikom može predstavljati i ambalaža u koju se proizvod pakira. Pivo se može pakirati u različita pakiranja, kao što su limenke, staklene boce ili PET boce, kao i u paketima za rasuti teret poput bačvi. Smatra se da je PET

ambalaža trenutno najstabilniji ambalažni materijal jer se uzima u obzir propusnost plina. Međutim plastični materijali koji se koriste za izradu boca i plastičnih čepova s vremenom podliježu razgradnji i uzrokuju kontaminaciju proizvoda. Također mehanički stres plastičnih materijala rezultira otpuštanjem mikroplastike i kontaminacijom proizvoda (Schymanski i sur., 2018; Sobhani i sur., 2020).

Dodatni izvor mikroplastike mogu predstavljati membranski filteri koji se koriste u proizvodnji piva (Kutralam-Muniasamy i sur., 2020). Metzger (2010) navodi kako je u Njemačkoj dozvoljeno koristiti 66 dodanih sredstava pri proizvodnji piva, 8 od njih se koristi pri procesu filtracije (aktivni ugljen, bentonit, celuloza, azbest, pamuk, kiselgur, perlit, staklo). Korišteni filteri omogućuju prolazak čestica većih od njihove normirane veličine pora, što rezultira detekcijom čestica PVPP i kiselgura u pivu (Hartmann, 2006). Liebezeit i sur. (2014) navode kako je kritična točka kontaminacije mikroplastikom pri proizvodnji piva filtracija. Analizom uzoraka industrijskih piva i craft piva utvrđena je razlika jer craft piva zahtijevaju prisutnost kvasca kako bi održala svoja karakteristična svojstva i mutnoću što zahtjeva nepotpunu filtraciju i otežava odvajanje mikročestica.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. ZADATAK

Zadatak ovog diplomskog rada jeste provesti FT-IR analizu 16 uzoraka piva na prisutnost čestica mikroplastike, identificirati pojedine čestice mikroplastike te dati uvid u moguće izvore prisutne mikroplastike.

3.2. MATERIJALI I METODE

3.2.1. Uzorci piva

Za istraživanje odabrano je 16 različitih brendova piva pakiranih u PET ambalažu od 2 L kupljenih istog dana u istom trgovačkom centru. Popis uzoraka s pripadajućim oznakama koje su se koristile u ovom radu prikazani su u **Tablici 1**.

Tablica 1. Popis uzoraka s pripadajućim oznakama

| Zemlja porijekla | Oznaka uzorka |
|------------------|---------------|
| Hrvatska | P-1 |
| | P-2 |
| | P-3 |
| | P-4 |
| | P-5 |
| | P-6 |
| | P-7 |
| | P-8 |
| | P-9 |
| | P-10 |
| | P-11 |
| Italija | P-12 |

| | |
|----------|------|
| Hrvatska | P-13 |
| | P-14 |
| | P-15 |
| | P-16 |

3.2.2. Priprema uzoraka piva

Svih 16 uzoraka piva bilo je podvrgnuto filtraciji u 2 paralele kroz celulozni filter papir promjera 70 mm s veličinom pora od 11 μm (GE Whatman). Za postupak filtracije korišteni su stakleni lijevci, laboratorijske čaše od 500 ml za skupljanje uzorka, te celulozni filter papir za zadržavanje čestica (**Slika 6**). Kako bi spriječili vanjsku kontaminaciju laboratorijsko posuđe (stakleni lijevci laboratorijske čaše) prije početka filtracije isprani su acetonom. Nakon završene filtracije sterilnom pincetom korišteni filter papiri su prebačeni u Petrijeve prethodno isprane acetonom. Petrijeve posude odmah su zatvorene nakon postavljanja filter papira. Jedan čisti, neiskorišteni filtarski papir postavljen je kao slijepa kontrola za FT-IR.



Slika 6. Filtracija uzoraka piva

3.2.3. Analiza uzoraka

Analiza uzoraka odrađena je na Poljoprivrednom institutu u Osijeku. Za analizu mikroplastike u pivu korišten je uređaj FT-IR (Spectrum 80 Two, PerkinElmer, Waltham, Massachusetts, USA) (**Slika 7**). Prije početka analize izvor svjetlosti (kristal) na FT-IR uređaju potrebno je prebrisati metanolom. Kao slijepu probu korišten je jedan čisti, nekorišteni filter papir koji se sterilnom pincetom stavlja na izvor svjetlosti kako bi se snimio spektar pozadine (eng. background). Uzorak se sterilnom pincetom stavlja na izvor svjetlosti (ZnSe) te se pričvršćuje pomoću poluge kako bi se osigurao dobar kontakt uzorka i kristala. Po završetku snimanja potrebno je popustiti polugu te ukloniti uzorak. Nakon svakog uzorka potrebno je prebrisati izvor svjetlosti metanolom (Sigma-Aldrich, Darmstadt, Germany) HPLC čistoće 99,9%. Mjerenja su provedena u ventiliranoj prostoriji pri temperaturi od 25 °C. Kako bi se kontrolirale promjene u atmosferskim razinama CO₂ i H₂O, uključena je značajka kompenzacije atmosferske pare stroja. FT-IR očitavanja analizirana su softverom Perkin-Elmer (Waltham, Massachusetts, SAD) Spectrum 10. Svi uzorci su analizirani u duplikatu.



Slika 7. FT-IR uređaj

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. REZULTATI FT-IR IDENTIFIKACIJE MIKROPLASTIKE U PIVU

Nakon provedene FT-IR analize 16 uzoraka piva, identificirano je ukupno 13 kemijskih spojeva. Popis identificiranih spojeva prikazan je u **Tablica 2**. U svakom uzorku piva identificirani su spojevi karakterizirani kao mikroplastika ali i druge kemikalije i aditive koji osiguravaju odgovarajuće karakteristike pakiranja. Analizirani materijal mikroplastike u svim je slučajevima označen kao prozirna čestica/film. Također, u Tablici 2 navedena je primjena određenog kemijskog spoja kao potencijalnog izvora određenog spoja u pivu. Iako se ne mogu svi identificirani spojevi u ovom radu prikazati kao mikroplastika, ipak većina navedenih korištena je u proizvodnji plastične ambalaže korištene za skladištenje piva.

Tablica 2. Popis identificiranih kemijskih spojeva kao mikroplastike u analiziranim uzorcima piva pomoću FT-IR metode

| Kemijski spoj | Primjena | Broj pozitivnih uzoraka |
|------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|-------------------------|
| β -Ciklodekstrin | Materijal za kapsulaciju, aditivi plastičnim ambalažnim filmovima | 16 |
| L(-)-Gliceraldehidni neprirodni oblik | | 16 |
| Tiodietilen glikol | Plastifikator | 6 |
| α -Ciklodekstrin | Materijal za kapsulaciju | 16 |
| Tomatin | Surfaktant, emulzifikator | 16 |
| 3-(2-imidazolin-1-yl)propiltrioksi-silan | Aditiv za anorgansku modifikaciju polimera | 16 |
| 3-Aminopropiltrimetoksi-silan | Film s kisikovom barijerom u PET ambalaži | 16 |
| Heptil- β -D-glukopiranozid | Materijal za kapsuliranje | 16 |
| D(+)-Glukoza bezvodna | Dodatak za kuhanje | 16 |

| | | |
|---------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|---|
| Bis(2-hidroksietil)amino-tris(hidroksimetil)metan | | 7 |
| Dimetil vinilfosfonat | Usporivač plamena | 7 |
| Digitonin | Permeabilizacija stanica <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | 2 |
| Amigdalinalin | | 7 |

U **Tablici 3** prikazan je popis prevladavajućih kemikalija identificiranih FT-IR metodom, a okarakterizirani su kao mikroplastika. Analiza različitih uzoraka piva pakiranog u PET ambalažu rezultirala je s nekoliko glavnih skupova podataka: u svim uzorcima identificirani su β -ciklodekstrin i L(-)-gliceraldehid neprirodnog oblika s prosječnom ocjenom pretraživanja preko 60%.

Tablica 3. Popis prevladavajućih kemijskih spojeva mikroplastike u analiziranim uzorcima piva pomoću FT-IR metode

| Prevladavajuće kemikalije | | | | |
|---------------------------|------------------------|---------------------------------------|--------------------|-------------------------|
| Uzorak | β -ciklodekstrin | L(-)-gliceraldehidni neprirodni oblik | tiodietilen glikol | α -ciklodekstrin |
| P-1 | 69% | 65% | | |
| P-2 | 69% | 65% | | |
| P-3 | 69% | 66% | | |
| P-4 | 69% | 66% | | |
| P-5 | 69% | 65% | | |
| P-6 | 68% | 66% | | |
| P-7 | 69% | 65% | 60% | |

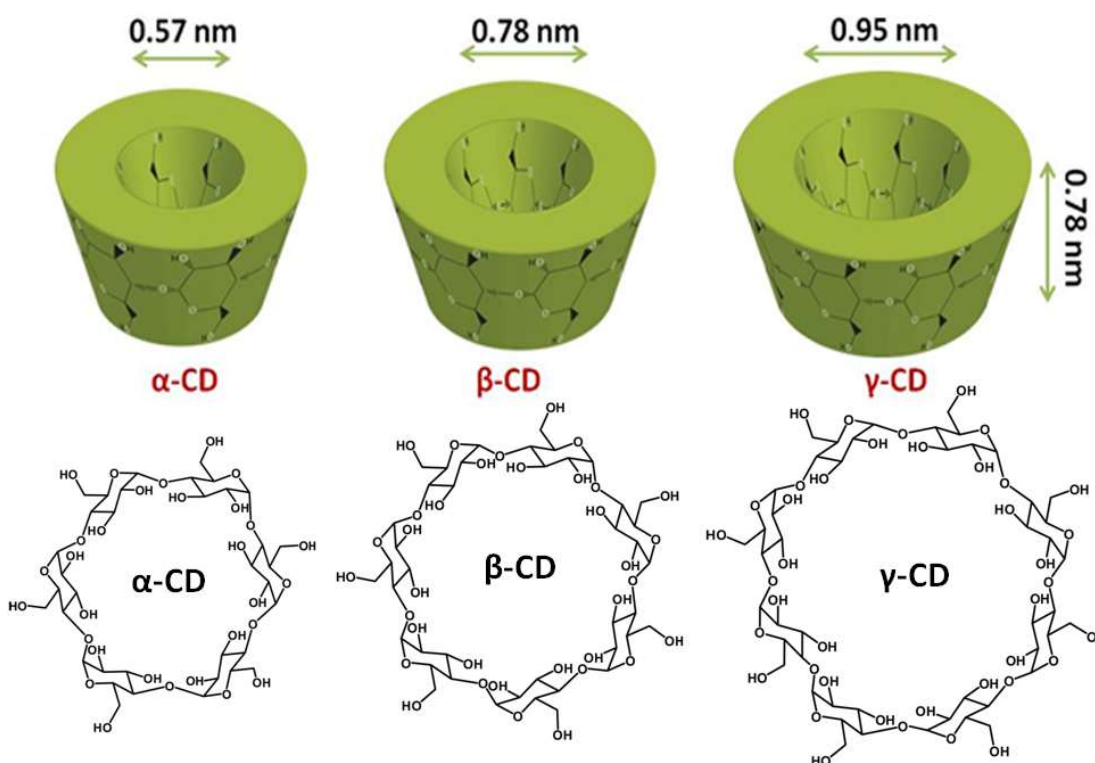
| | | | | |
|------|-----|-----|-----|-----|
| P-8 | 69% | 61% | 60% | 60% |
| P-9 | 69% | 66% | | |
| P-10 | 69% | 65% | | |
| P-11 | 69% | 65% | 61% | |
| P-12 | 68% | 66% | | |
| P-13 | 69% | 65% | | |
| P-14 | 68% | 65% | | |
| P-15 | 69% | 66% | | |
| P-16 | 69% | 65% | 61% | |

4.1.1. Rezultati detekcije ciklodekstrina u uzorcima piva

Ciklodekstrini su ciklički oligomeri koji se naširoko koriste u proizvodnji hrane kao dodaci hrani za različite svrhe, npr. za poboljšanje senzorskih kvaliteta i roka trajanja. Na **Slici 8** prikazana je osnovna struktura ciklodekstrina. Prema toksikološkoj analizi ciklodekstrini se smatraju netoksičnim spojevima za oralnu primjenu. Primjenom odgovarajućih ciklodekstrina može se potpuno ili djelomično eliminirati gorak okus pojedinih spojeva stvaranjem kompleksa te takvi spojevi, potencijalni nositelji nepoželjne arome, ne mogu reagirati u usnoj šupljini s okusnim pupoljcima (Gonzalez Pereira i sur., 2021).

Od svih kemijskih spojeva prisutnih u hmelju, za pivarstvo su posebno značajne smole koje sadrže uglavnom hmeljne kiseline, ulje i polifenole. Karakteristične α -kiseline nisu topljive u vodi te ne doprinose aromi piva. Međutim, tijekom kuhanja pri povišenoj temperaturi dolazi do izomerizacije u *izo*- α -kiseline te predstavljaju glavne gorke komponente koje se nalaze u pivu. Istraživanja su pokazala da su *cis*-izomeri stabilniji od svojih *trans*-izomera. Separacija *trans*-izomera pomoću ciklodekstrina pokazala se izuzetno učinkovitom te je kako zbog jednostavne separacije i stabilizacije piva, tako i zbog

jednostavnog uvećanja mjerila odnosno provedbe procesa u industrijskom mjerilu (Khatib i sur., 2010). Osim toga, u ciklodekstrini se mogu koristiti prilikom proizvodnje ambalaže (Szente i Fenyvesi, 2018). S obzirom na navedeno, jasno je da postoji nekoliko mogućih objašnjenja prisutnosti ciklodekstrina u svim analiziranim uzorcima piva.



Slika 8. Prikaz strukture ciklodekstrina (web 2)

4.1.2. Rezultati detekcije L-glicerinaldehida u uzorcima piva

Glicerinaldehid je najjednostavniji ugljikohidrat. Pripada skupini aldoza te se sastoji od tri ugljikova atoma. U prirodi se pojavljuje D-konformacija glicerinaldehida koji je topiv u vodi. Međutim, provedbom FT-IR analize, u svim uzorcima identificiran je L(-)-glicerinaldehidni neprirodni oblik. Prisutnost L-glicerinaldehida u pivu može se objasniti isključivo mikro fragmentacijom ambalažnog materijala. Istraživanja provedena na FT-IR analizi mikroplastike iz probavnog sustava kornjača također su utvrdile prisutnost L(-)-glicerinaldehidnog neprirodnog oblika. Vizualna opservacija dobivenih uzoraka upućuje da se radi o čvrstim,

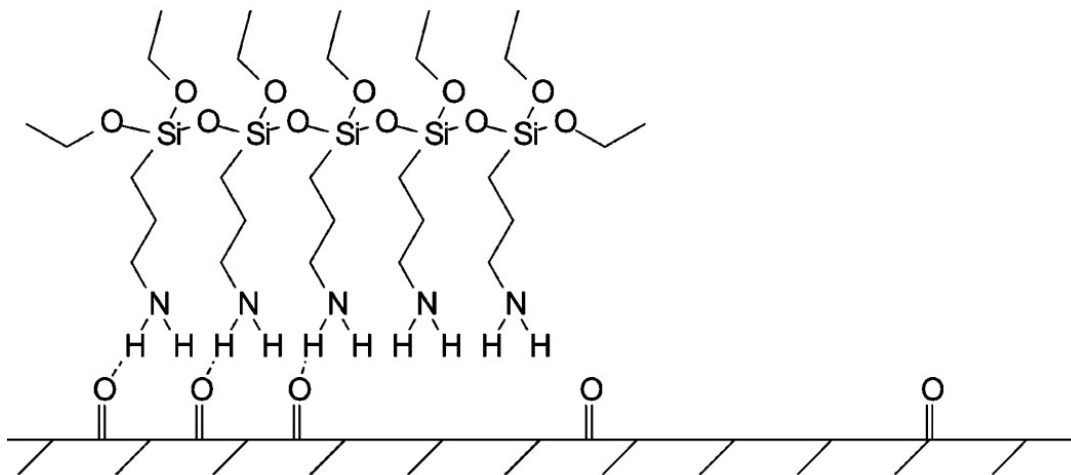
transparentnim/prozirnim česticama (Caron i sur., 2015). Nadalje, prirodna konformacija gliceraldehida topiva je u vodi što znači da se ovom metodom prirodni gliceraldehid ne bi mogao identificirati. Prema tome, istraživanje provedeno u sklopu ovog diplomskog rada doprinosi znanstvenim spoznajama u području analize mikroplastike.

4.1.3. Ostala identificirana mikroplastika u pivu

Tiodietilen glikol [TDG ili (OHCH₂CH₂)₂S] je proizvod hidrolize toksičnog spoja diklordietil-sulfid, poznatiji kao imperit (bojni otrov plikavac, žućkasta uljevita tekućina). TDG, koji je identificiran u uzorcima piva, relativno je netoksičan. Prema literaturi, blago je iritantan za oči i praktički ne iritira kožu te je stabilan ispod 170 °C. TDG ima jednu hidroksilnu skupinu manje od one glicerola i strukturno je sličan jednoj od aminokiselina, odnosno cisteinu (0,91%), u izolatu sojinog proteina. TDG je korišten kao plastifikator za proizvodnju biorazgradivih filmova na bazi proteina soje s poboljšanim mehaničkim svojstvima (Kumar i sur., 2008). Budući da se u kemijskoj sintezi koristi kao građevni blok za proizvodnju vlakna, pesticide, boje, plastifikatore i razne druge organske kemikalije (EMBL's European Bioinformatics Institute, **web 3**), možemo zaključiti da je prisutnost TDG u analiziranim uzorcima piva proizašao iz plastične ambalaže te se može okarakterizirati kao mikroplastika.

Jedan od korištenih aditiva za anorgansku modifikaciju polimera je 3-(2-imidazolin-1-yl)propiltrioksi-silan. Također, koristi se i kao katalizator za reakcije kondenzacije u kojima nastaju polimeri te kao modifikator za organske silikate (Turhan i sur., 2008). Navedeni spoj identificiran je u svim analiziranim uzorcima piva, te je zaključeno da proizlazi iz plastične ambalaže.

Identifikacija određenih spojeva, poput 3-aminopropiltrimetoksisilan, bila je očekivana budući da se navedeni spoj koristi u proizvodnji filma s kisikovom barijerom za PET ambalažu. Navedeni spoj pokazuje površinsko-selektivnu modifikaciju određeni polimera (**Slika 9**) poput poliestera, poliamida, polikarbonata, poliimida, te celuloznih i poliakrilnih materijala (Howarter i sur., 2007).



Slika 9. Predloženi mehanizam modifikacije površine plastike pomoću 3-aminopropiltrimetoksisilana adsorpcijom preko vodikove veze (Howarter i sur., 2007)

5. ZAKLJUČCI

Na osnovi rezultata istraživanja provedenih u ovom radu, mogu se izvesti sljedeći zaključci:

- ✓ Infracrvena spektroskopija s Fourierovom transformacijom pokazala se kao jednostavna i brza metoda za detekciju mikroplastike u pivu.
- ✓ U svim analiziranim uzorcima piva pakiranih u PET ambalažu detektirana je prisutnost neke vrste mikroplastike.
- ✓ Najveća zastupljenost u grupi identificirane mikroplastike pokazali su β -ciklodekstrin i L(-)-gliceraraldehid neprirodnog oblika.

6. LITERATURA

- Asamoah BO, Kanyathare B, Roussey M, Peiponen KE: A prototype of a portable optical sensor for the detection of transparent and translucent microplastics in freshwater. *Chemosphere* 231:161-167, 2019.
- Bakir A, Rowland SJ, Thompson RC: Enhanced desorption of persistent organic pollutants from microplastics under simulated physiological conditions. *Environmental Pollution* 185: 16-23, 2013.
- Baruah A, Sharma A, Sharma S, Nagraik R: An insight into different microplastic detection methods. *International Journal of Environmental Science and Technology* 19(6):5721-5730, 2022.
- Bogdanović T, Pleadin J, Petričević S, Brkljača M, Listeš I, Listeš E: Mikroplastika-potencijalni rizik za sigurnost hrane morskog podrijetla. *Veterinarska Stanica* 53(3):313-328, 2022.
- Bradney L, Wijesekara H, Palansooriya KN, Obadamudalige N, Bolan NS, Ok Y S, Kirkham MB: Particulate plastics as a vector for toxic trace-element uptake by aquatic and terrestrial organisms and human health risk. *Environment International* 131:104937, 2019.
- Caron AG, Thomas CR, Ariel E, Berry KL, Boyle S, Motti CA, Brodie JE: Extraction and identification of microplastics from sea turtles: method development and preliminary results. *Centre for Tropical Water & Aquatic Ecosystem Research (Trop-WATER). Publication* 15:52, 2016.
- Chen Y, Wen D, Pei J, Fei Y, Ouyang D, Zhang H, Luo Y: Identification and quantification of microplastics using Fourier-transform infrared spectroscopy: current status and future prospects. *Current Opinion in Environmental Science & Health* 18:14-19, 2020.
- Conti GO, Ferrante M, Banni M, Favara C, Nicolosi I, Cristaldi, Zuccarello P: Micro-and nano-plastics in edible fruit and vegetables. The first diet risks assessment for the general population. *Environmental Research* 187:109677, 2020.
- Diaz-Basantes MF, Conesa JA, Fullana A: Microplastics in honey, beer, milk, and refreshments in Ecuador as emerging contaminants. *Sustainability* 12(14): 5514, 2020.
- Dümichen E, Eisentraut P, Bannick CG, Barthel AK, Senz R, Braun U: Fast identification of microplastics in complex environmental samples by a thermal degradation method. *Chemosphere* 174:572-584, 2017.
- EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM): Presence of microplastics and nanoplastics in food, with particular focus on seafood. *Efsa Journal* 14(6):e04501, 2016.

- Free CM, Jensen OP, Mason SA, Eriksen M, Williamson NJ, Boldgiv B: High-levels of microplastic pollution in a large, remote, mountain lake. *Marine Pollution Bulletin* 85(1):156-163, 2014.
- Glaser JA: Biological degradation of polymers in the environment (Vol. 1, p. 13). London, UK: IntechOpen, 2019.
- Gonzalez Pereira A, Carpena M, García Oliveira P, Mejuto JC, Prieto MA, Simal Gandara J: Main applications of cyclodextrins in the food industry as the compounds of choice to form host-guest complexes. *International Journal of Molecular Sciences* 22(3):1339, 2021.
- Hartmann K: Bedeutung rohstoffbedingter Inhaltsstoffe und produktionstechnologischer Einflüsse auf die Trübungsproblematik im Bier. Doktorska disertacija. Technische Universität München, 2006.
- Hegedušić A: Problematika mikroplastike u moru i površinskim vodotocima. Završni rad, Sveučilište u Zagrebu, Geotehnički fakultet, 2019.
- Hernandez LM, Xu EG, Larsson HC, Tahara R, Maisuria VB, Tufenkji N: Plastic teabags release billions of microparticles and nanoparticles into tea. *Environmental Science & Technology* 53(21):12300-12310, 2019.
- Hidalgo-Ruz V, Gutow L, Thompson RC, Thiel M: Microplastics in the marine environment: a review of the methods used for identification and quantification. *Environmental Science & Technology* 46(6):3060-3075, 2012.
- Howarter JA, Youngblood JP: Surface modification of polymers with 3-aminopropyltriethoxysilane as a general pretreatment for controlled wettability. *Macromolecules* 40(4):1128-1132, 2007.
- Jung S, Cho SH, Kim KH, Kwon EE: Progress in quantitative analysis of microplastics in the environment: A review. *Chemical Engineering Journal* 422:130154, 2021.
- Karbalaei S, Hanachi P, Walker TR, Cole M: Occurrence, sources, human health impacts and mitigation of microplastic pollution. *Environmental Science And Pollution Research* 25:36046-36063, 2018.
- Kedzierski M, Lechat B, Sire O, Le Maguer G, Le Tilly V, Bruzaud S: Microplastic contamination of packaged meat: Occurrence and associated risks. *Food Packaging and Shelf Life* 24:100489, 2020.
- Khatib A, Wilson EG, Zhang HR, Supardi M, Verpoorte R: The application of β -cyclodextrin to separate cis-from trans-iso- α -acids in an isomerized hop extract. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* 68(1):15-20, 2010.

- Kosuth M, Mason SA, Wattenberg EV: Anthropogenic contamination of tap water, beer, and sea salt. *PloS One* 13(4):e0194970, 2018.
- Kosuth M, Mason SA, Wattenberg EV: Anthropogenic contamination of tap water, beer, and sea salt. *PloS One* 13(4): e0194970, 2018.
- Kutralam-Muniasamy G, Pérez-Guevara F, Elizalde-Martínez I, Shruti VC: Branded milks—Are they immune from microplastics contamination?. *Science of the Total Environment* 714:136823, 2020.
- Leng Z, Padhan RK, Sreeram A: Production of a sustainable paving material through chemical recycling of waste PET into crumb rubber modified asphalt. *Journal of Cleaner Production* 180: 682-688, 2018.
- Liebezeit G, Liebezeit E: Non-pollen particulates in honey and sugar. *Food Additives & Contaminants: Part A* 30(12):2136-2140, 2013.
- Liebezeit G, Liebezeit E: Synthetic particles as contaminants in German beers. *Food Additives & Contaminants: Part A* 31(9):1574-1578, 2014.
- Ma B, Xue W, Ding Y, Hu C, Liu H, Qu J: Removal characteristics of microplastics by Fe-based coagulants during drinking water treatment. *Journal of Environmental Sciences* 78:267-275, 2019.
- MacLeod M, Arp HPH, Tekman MB, Jahnke A: The global threat from plastic pollution. *Science* 373(6550):61-65, 2021.
- Majewsky M, Bitter H, Eiche E, Horn H: Determination of microplastic polyethylene (PE) and polypropylene (PP) in environmental samples using thermal analysis (TGA-DSC). *Science of the Total Environment* 568:507-511, 2016.
- Mason SA, Welch VG, Neratko J: Synthetic polymer contamination in bottled water. *Frontiers in Chemistry* 407, 2018.
- McCormick A, Hoellein TJ, Mason SA, Schlupe J, Kelly JJ: Microplastic is an abundant and distinct microbial habitat in an urban river. *Environmental Science & Technology* 48(20):11863-11871, 2014.
- Metzger M: Das darf rein! Bierroh- und Zusatzstoffe Rohstoffe für die Herstellung von Öko-Bier. Federal Ministry for Nutrition, Agriculture and Consumer Protection, 2010.
- Mintenig SM, Löder MGJ, Primpke S, Gerdt G: Low numbers of microplastics detected in drinking water from ground water sources. *Science of the Total Environment* 648:631-635, 2019.

- Mühlschlegel P, Hauk A, Walter U, Sieber R: Lack of evidence for microplastic contamination in honey. *Food Additives & Contaminants* 34(11):1982–1989, 2017.
- Nguyen B, Claveau-Mallet D, Hernandez LM, Xu EG, Farner JM, Tufenkji N: Separation and analysis of microplastics and nanoplastics in complex environmental samples. *Accounts of Chemical Research* 52(4):858-866, 2019.
- Nuelle MT, Dekiff JH, Remy D, Fries E: A new analytical approach for monitoring microplastics in marine sediments. *Environmental Pollution* 184:161-169, 2014.
- Rainieri S, Barranco A: Microplastics, a food safety issue?. *Trends in Food Science & Technology* 84:55-57, 2019.
- Rezania S, Park J, Din MFM, Taib SM, Talaiekhosani A, Yadav KK, Kamyab H: Microplastics pollution in different aquatic environments and biota: A review of recent studies. *Marine Pollution Bulletin* 133:191-208, 2018.
- Ribeiro-Claro P, Nolasco MM, Araújo C: Characterization of microplastics by Raman spectroscopy. *Comprehensive Analytical Chemistry* 75:119-151, 2017.
- Rochman CM, Brookson C, Bikker J, Djuric N, Earn A, Bucci K, Hung C: Rethinking microplastics as a diverse contaminant suite. *Environmental Toxicology and Chemistry* 38(4):703-711, 2019.
- Rochman CM, Hentschel BT, Teh SJ: Long-term sorption of metals is similar among plastic types: implications for plastic debris in aquatic environments. *PLoS One* 9(1): e85433, 2014.
- Ružaj L: Mikroplastika u okolišu. Doktorska dizertacija. Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije Zagreb, 2019.
- Schirinzi GF, Pérez-Pomeda I, Sanchís J, Rossini C, Farré M, Barceló D: Cytotoxic effects of commonly used nanomaterials and microplastics on cerebral and epithelial human cells. *Environmental Research* 159:579-587, 2017.
- Schymanski D, Goldbeck C, Humpf HU, Fürst P: Analysis of microplastics in water by micro-Raman spectroscopy: Release of plastic particles from different packaging into mineral water. *Water Research* 129:154-162, 2018.
- Shruti VC, Pérez-Guevara F, Elizalde-Martínez I, Kuttralam-Muniasamy G: First study of its kind on the microplastic contamination of soft drinks, cold tea and energy drinks-Future research and environmental considerations. *Science of the Total Environment* 726:138580, 2020.
- Šibalić D, Planinić M, Jurić A, Bucić-Kojić A, Tišma M: Analysis of phenolic compounds in beer: from raw materials to the final product. *Chemical Papers* 75:67-76, 2021.

- Silva AB, Bastos AS, Justino CI, da Costa JP, Duarte AC, Rocha-Santos TA: Microplastics in the environment: Challenges in analytical chemistry-A review. *Analytica Chimica Acta* 1017:1-19, 2018.
- Smith M, Love DC, Rochman CM, Neff RA: Microplastics in seafood and the implications for human health. *Current Environmental Health Reports* 5: 375-386, 2018.
- Sobhani Z, Lei Y, Tang Y, Wu L, Zhang X, Naidu R, Fang C: Microplastics generated when opening plastic packaging. *Scientific Reports* 10(1):4841, 2020.
- Song YK, Hong SH, Jang M, Han GM, Rani M, Lee J, Shim WJ: A comparison of microscopic and spectroscopic identification methods for analysis of microplastics in environmental samples. *Marine Pollution Bulletin* 93(1-2):202-209, 2015.
- Szente L, Fenyvesi É: Cyclodextrin-Enabled Polymer Composites for Packaging. *Molecules* 23(7):1556, 2018.
- Teng J, Wang Q, Ran W, Wu D, Liu Y, Sun S, Zhao J: Microplastic in cultured oysters from different coastal areas of China. *Science of the Total Environment* 653:1282-1292, 2019.
- Teuten EL, Saquing JM, Knappe DR, Barlaz MA, Jonsson S, Björn A, ... Takada H: Transport and release of chemicals from plastics to the environment and to wildlife. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1526):2027-2045, 2009.
- Thompson RC, Olsen Y, Mitchell RP, Davis A, Rowland SJ, John AW, Russell AE: Lost at sea: where is all the plastic?. *Science* 304(5672): 838-838, 2004.
- Toussaint B, Raffael B, Angers-Loustau A, Gilliland D, Kestens V, Petrillo M, Van den Eede G: Review of micro-and nanoplastic contamination in the food chain. *Food Additives & Contaminants: Part A* 36(5):639-673, 2019.
- Turhan Y, Turan P, Doğan M, Alkan M, Namli H, Demirbaş Ö: Characterization and adsorption properties of chemically modified sepiolite. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 47(6):1883-1895, 2008.
- Undavalli VK, Ling C, Khandelwal B: Impact of alternative fuels and properties on elastomer compatibility. *In Aviation Fuels*, pp. 113-132. Academic Press, 2021.
- Van Cauwenberghe L, Claessens M, Vandegehuchte MB, Janssen CR: Microplastics are taken up by mussels (*Mytilus edulis*) and lugworms (*Arenicola marina*) living in natural habitats. *Environmental Pollution* 199:10-17, 2015.
- Wang ZM, Wagner J, Ghosal S, Bedi G, Wall S: SEM/EDS and optical microscopy analyses of microplastics in ocean trawl and fish guts. *Science of the Total Environment* 603:616-626, 2017.

Wiesheu AC, Anger PM, Baumann T, Niessner R, Ivleva NP: Raman microspectroscopic analysis of fibers in beverages. *Analytical Methods* 8(28):5722-5725, 2016.

Wright SL, Kelly FJ: Plastic and human health: a micro issue?. *Environmental Science & Technology* 51(12): 6634-6647, 2017.

Yang D, Ying Y: Applications of Raman spectroscopy in agricultural products and food analysis: A review. *Applied Spectroscopy Reviews* 46(7):539-560, 2011.

Zada L, Leslie HA, Vethaak AD, Tinnevelt GH, Jansen JJ, de Boer JF, Ariese F: Fast microplastics identification with stimulated Raman scattering microscopy. *Journal of Raman Spectroscopy* 49(7):1136-1144, 2018.

Zhang Y, Kang S, Allen S, Allen D, Gao T, Sillanpää M: Atmospheric microplastics: A review on current status and perspectives. *Earth-Science Reviews* 203:103118, 2020.

Web izvori:

Web 1:

<https://www.pinterest.com/pin/886786982855102014/> [3.6.2023.]

Web 2:

<https://scientiablog.com/2014/02/19/el-comienzo-de-una-edad-la-historia-de-como-sauron-creo-sus-ciclodextrinas/> [5.6.2023.]

Web 3:

<https://www.ebi.ac.uk/chebi/searchId.do?printerFriendlyView=true&locale=null&chebId=75184&viewTermLineage=null&structureView=&#:~:text=It%20is%20used%20as%20a,and%20various%20other%20organic%20chemicals> [17.9.2022.]