

UNIVERZA V LJUBLJANI  
FAKULTETA ZA KEMIJO IN KEMIJSKO TEHNOLOGIJO

## DIPLOMSKO DELO

Primož Špringer

Ljubljana, 2020



UNIVERZA V LJUBLJANI  
FAKULTETA ZA KEMIJO IN KEMIJSKO TEHNOLOGIJO

UNIVERZITETNI ŠTUDIJSKI PROGRAM 1. STOPNJE  
KEMIJSKO INŽENIRSTVO

**Vpliv okoljsko relevantne mikroplastike na malo vodno lečo**  
*Lemna minor*

DIPLOMSKO DELO

Primož Špringer

MENTORICA: doc. dr. Gabriela Kalčikova

Ljubljana, 2020



# IZJAVA O AVTORSTVU

## diplomskega dela

Spodaj podpisani *Primož Špringer* sem avtor diplomskega dela z naslovom: *Vpliv okoljsko relevantne mikroplastike na malo vodno lečo Lemna minor*

S svojim podpisom zagotavljam, da:

- je diplomsko delo rezultat mojega raziskovalnega dela pod mentorstvom *doc. dr. Gabriele Kalčikove*;
- sem poskrbel, da so dela in mnenja drugih avtorjev, ki jih uporabljam v predloženem diplomskem delu, navedena oziroma citirana v skladu z navodili;
- se zavedam, da je plagiatorstvo, v katerem so tuje misli oziroma ideje predstavljene kot moje lastne, kaznivo po zakonu (Zakon o avtorski in sorodnih pravicah – uradno prečiščeno besedilo (ZASP-UPB3) (Ur. list RS, št. 16/2007));
- sem poskrbel za slovnično in oblikovno korektnost diplomskega dela;
- je elektronska oblika diplomskega dela identična tiskani obliki diplomskega dela.

V Ljubljani,

Podpis avtorja:









## **Zahvala**

*Zahvaljujem se mentorici doc. dr. Gabrieli Kalčikovi za pomoč in nasvete pri izvedbi eksperimentov in pri pisanju diplomske naloge, ter asistentki Uli Rozman za pomoč pri delu v laboratoriju.*

*Zahvaljujem se svoji družini, ki mi je ves čas študija stala ob strani in me spodbujala.*



## **Vpliv okoljsko relevantne mikroplastike na malo vodno lečo *Lemna minor***

**Povzetek:** Mikroplastika so majhni plastični delci, ki so v okolju zelo razširjeni in lahko vplivajo na različne organizme. Vpliv mikroplastike na živali je dobro raziskan, o vplivih na rastline pa vemo zelo malo. Zato je namen diplomske naloge ovrednotiti vpliv različnih okoljsko relevantnih mikroplastik na vodno rastlino malo vodno lečo *Lemna minor*. Rastlino smo za sedem dni izpostavili petim različnim tipom mikroplastike, ki jih pogosto najdemo v okolju (mikroplastika iz kozmetike, sintetična vlakna, razrezana vrečka, prah bakelita, fragmenti plastenke). Ugotavljali smo tudi, kako na rastlino vplivajo naravni delci, in sicer bukov prah. Za ugotovitev, ali ima mikroplastika vpliv na rastlino, smo določali specifično hitrost rasti, izmerili dolžino korenin in izračunali povprečno specifično koncentracijo klorofila *a*. Iz dobljenih podatkov smo prišli do ugotovitve, da delci mikroplastike kozmetike, razrezane vrečke, praha bakelita in fragmenti plastične vrečke vplivajo na dolžino korenin, medtem ko na hitrost rasti in specifično koncentracijo klorofila ne vplivajo nobeni delci.

**Ključne besede:** mala vodna leča (*Lemna minor*), mikroplastika, vodne rastline

## **The impact of environmentally relevant microplastics on duckweed *Lemna minor***

**Abstract:** Microplastics are small plastic particles, that are widely distributed in the environment and effect all organisms. Their effects on animals is well known, while there is not a lot of information about their impact on plants. Therefore, the aim of the diploma thesis is to assess the impact of environmentally relevant microplastics on an aquatic plant duckweed *Lemna minor*. We exposed duckweed to five different types of microplastic particles, that are commonly found in the environment (microplastic from cosmetic, synthetic fibres, pieces of plastic bag, bakelite powder, fragments of plastic bottle), in a seven-day period. We also evaluated the impact of natural particles precisely beech saw dust on plants growth. We determined the specific growth rate, measured the length of roots and calculated the specific concentration of chlorophyll *a* to make a conclusion if the plant is affected by microplastics. The results showed, that the presence of microplastic (microplastic from cosmetic, pieces of plastic bag, bakelite powder, fragments of plastic bottle) affects the length of roots, while the plants growth and specific concentration of chlorophylls are not affected by any particles.

**Keywords:** duckweed (*Lemna minor*), microplastic, water plants



# Kazalo

<b>1</b>	<b>Pregled literature</b> .....	<b>1</b>
1.1	Mikroplastika.....	1
1.1.1	Mikroplastika v okolju .....	2
1.1.2	Vpliv mikroplastike na različne organizme.....	3
1.2	Mala vodna leča.....	4
<b>2</b>	<b>Namen dela</b> .....	<b>5</b>
<b>3</b>	<b>Eksperimentalni del</b> .....	<b>7</b>
3.1	Priprava mikroplastike.....	7
3.2	Določitev velikosti delcev mikroplastike .....	7
3.3	Vpliv mikroplastike na malo vodno lečo.....	7
3.3.1	Določanje specifične hitrosti rasti .....	8
3.3.2	Določanje dolžine korenin.....	9
3.3.3	Določanje vsebnosti fotosintetskih pigmentov.....	9
<b>4</b>	<b>Rezultati in komentar</b> .....	<b>11</b>
4.1	Določitev povprečne velikosti delcev mikroplastike.....	11
4.2	Vpliv mikroplastike na specifično hitrost rasti male vodne leče.....	11
4.3	Vpliv mikroplastike na dolžino korenin male vodne leče .....	13
4.4	Vpliv mikroplastike na fotosintetske pigmente male vodne leče .....	14
<b>5</b>	<b>Zaključek</b> .....	<b>15</b>
<b>6</b>	<b>Literatura</b> .....	<b>17</b>

## Seznam uporabljenih kratic in simbolov

<b>A1</b>	1. vzorec kozmetike
<b>A2</b>	2. vzorec kozmetike
<b>A3</b>	3. vzorec kozmetike
<b>B1</b>	1. vzorec sintetičnih vlaken
<b>B2</b>	2. vzorec sintetičnih vlaken
<b>B3</b>	3. vzorec sintetičnih vlaken
<b>BP1</b>	1. vzorec bukovega prahu
<b>BP2</b>	2. vzorec bukovega prahu
<b>BP3</b>	3. vzorec bukovega prahu
<b>C1</b>	1. vzorec vrečke
<b>C2</b>	2. vzorec vrečke
<b>C3</b>	3. vzorec vrečke
<b>D1</b>	1. vzorec bakelita
<b>D2</b>	2. vzorec bakelita
<b>D3</b>	3. vzorec bakelita
<b>E1</b>	1. vzorec plastenke
<b>E2</b>	2. vzorec plastenke
<b>E3</b>	3. vzorec plastenke
<b>SL1</b>	1. slepi vzorec
<b>SL2</b>	2. slepi vzorec
<b>SL3</b>	3. slepi vzorec

## 1 Pregled literature

Plastika je v zadnjih desetletjih preplavila ves svet. Zaradi enostavne in cenovno ugodne proizvodnje, ter primernih lastnosti je njena uporaba zelo široka [1]. Ravno zaradi teh lastnosti pa v zadnjih letih stopa v ospredje tudi slaba stran uporabe plastike. Slednja je okolju težko razgradljiv material, ki ima sposobnost fragmentacije do zelo majhnih delcev, ki jih imenujemo mikroplastika [2].

### 1.1 Mikroplastika

Mikroplastika predstavlja veliko skupino plastičnih delcev različnih oblik, velikosti ter materialov. Njena definicija zelo dolgo ni bila točno določena, pogosto je zgolj uporabljena zgornja meja velikosti mikroplastike 5 mm [2, 3].

V najnovejši študiji, v kateri so se znanstveniki ukvarjali s terminologijo in definicijami mikroplastike, so določili spodnjo in zgornjo mejo za mikroplastiko – od 1 do 1000  $\mu\text{m}$  [3].

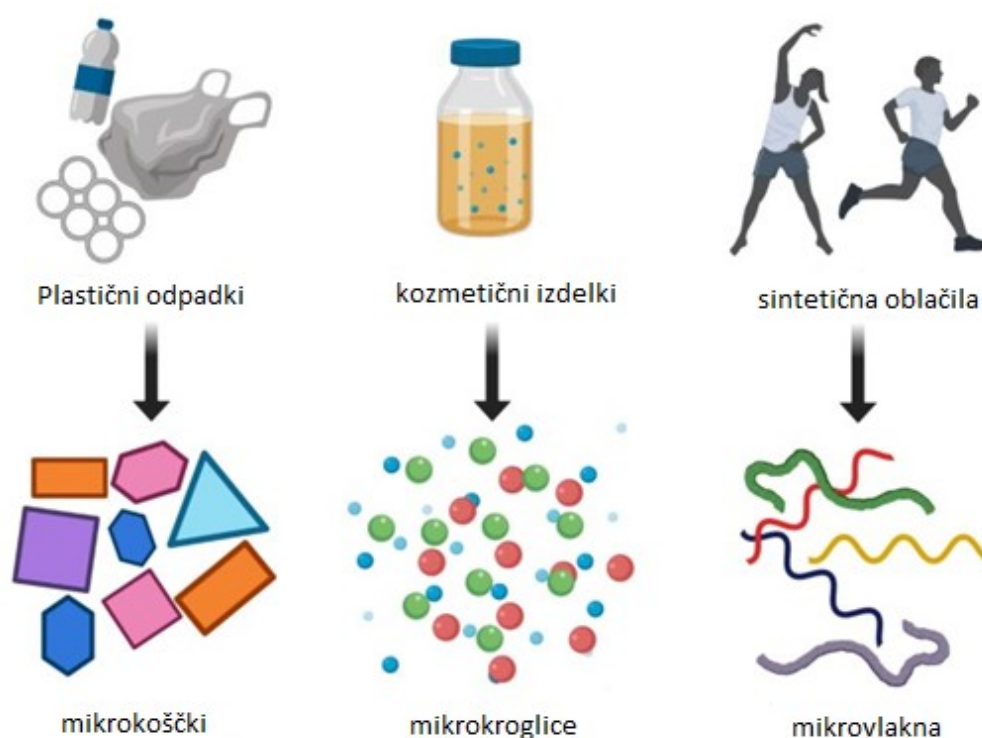
Glede na sam izvor mikroplastiko delimo v dve skupini [4]:

- Primarna mikroplastika
- Sekundarna mikroplastika

Primarna in sekundarna mikroplastika sta v različnih oblikah (Slika 1). Primarna mikroplastika je tista, ki je namensko proizvedena v majhnem velikostnem redu za specifično uporabo in kot tudi take pridejo v okolje. Primarno mikroplastiko najdemo v raznih kozmetičnih produktih (npr. piling itd.) in ostalih produktih, kjer nanešeni polimeri izboljšujejo lastnosti le teh [4, 5].

Sekundarna mikroplastika je tista, ki nastane ob fragmentaciji večjih plastičnih kosov (avtomobilske pnevmatike, sintetična oblačila, zavrženi kosi plastike ...) [6, 7], predvsem pri mehanskih poškodbah ali kemijskih razkrojih. Za glavna produkta plastike, ki se najhitreje fragmentirata v manjše delce so dolgo let veljala plastične vrečke in plastenke [4, 8].

V zadnjih letih vse več študij odkriva, da so največji izvor sekundarne mikroplastike sintetična oblačila. Med pranjem, raztezanjem in ostalimi mehanskimi dejavnostmi iz njih izhajajo mikrovlakna, ki so tako majhna, da jih čistilne naprave ne morejo odstraniti in tako pridejo v vodni ekosistem, kar predstavlja 35% sekundarne mikroplastike. Drugi največji izvor sekundarne mikroplastike so pnevmatike, pri katerih zaradi površinske obrabe odpada t. i. pnevmatični prah, ki predstavlja 28% sekundarne mikroplastike [4, 8, 9, 10].



Slika 1: Oblike mikroplastike [8].

### 1.1.1 Mikroplastika v okolju

Že od začetka proizvodnje in uporabe plastičnih izdelkov v svetovnih merilih se najde plastika v okolju. Znanstveniki pa so v zadnjih desetih letih začeli z iskanjem in raziskovanjem mikroplastike v več različnih ekosistemih.

Več študij je pokazalo, da je največja količina mikroplastike v oceanih in morjih, kjer je po oceni Združenih narodov prisotnih 51 bilijonov delcev mikroplastike in se vsako leto doda približno devet milijonov ton novih odpadkov. Svetovno znano odlagališče odpadkov v oceanu je t. i. Velika pacifiška zaplata odpadkov ali Pacifiški vrtinec smeti. Od tega naj bi primarna mikroplastika predstavljala 15–31 %, sekundarna pa 69–85 % [11]. Prisotnost delcev mikroplastike je bila izmerjena tako na obalah, ki so poseljene, kakor tudi v bolj odročnih morjih, npr. v Arktičnem morju, kjer so izmerili povprečno količino 0,34 delcev/ m<sup>3</sup> morja blizu obale [12].

V zadnjih letih so prav tako začeli raziskovati količino mikroplastike v sladkih vodnih ekosistemih. V jezerih in rekah so za glavni vir mikroplastike določili antropološke dejavnosti, kjer so največkrat večji plastični izdelki zavrženi in se le-ti fragmentirajo na delce mikroplastike [13].

Odkrili so, da so za velik delež prenosa mikroplastike v vodne ekosisteme na celinah vzrok nevihte in večdnevno deževno vreme [14]. Študija, izvedena v Avstraliji je



pokazala, da je bila koncentracija delcev v reki pred nevihto 400 delcev/m<sup>3</sup>, po nevihti pa vse do 17.383 delcev/m<sup>3</sup> [15].

Trenutno je najmanj raziskano področje širjenja mikroplastike v kopenskih ekosistemih, kjer zadnje ugotovitve dokazujejo, da je prisotna in ima vpliv na organizme. Prav tako je bilo ugotovljeno, da je glavni vir onesnaženja antropološka dejavnost, predvsem kmetijstvo in turizem [16].

Poleg odkrivanja mikroplastike v regijah, kjer je dejavnost ljudi bolj pogosta, so raziskovalci odkrili delce mikroplastike tudi v bolj oddaljenih krajih. Med raziskovanjem, ali je mikroplastika prisotna v gorah, so prišli do podobnih podatkov, kot pri ugotavljanju prisotnosti delcev v obalni regiji v Evropi, in sicer da kilogram sedimentov lahko vsebuje do  $74,4 \pm 28,3$  delcev mikroplastike. Vzrok prisotnosti teh delcev je lahko antropološka dejavnost ali posledica močnega vetra, ki prenaša mikroplastiko z bolj onesnaženih lokacij [17].

### **1.1.2 Vpliv mikroplastike na različne organizme**

Raziskave so pokazale, da je že okoli 700 vodnih vrst organizmov imelo stik s plastiko. Sprva so se raziskovalci osredotočili na iskanje vplivov mikroplastike na vodne živali. Največ študij je bilo narejenih o organizmih, ki se prehranjujejo tako, da filtrirajo vodo in s tem zaužijejo tudi delce mikroplastike (npr. školjke, vodni rakci). V najnovejših študijah so pokazali, da živali zaužijejo mikroplastiko tudi medtem, ko se prehranjujejo z rastlinami, na katerih so absorbirani delci mikroplastike [18].

Med raziskovanjem količine mikroplastike v divjih koralah so prišli do ugotovitve, da koral *Astrangia poculata* pogosteje zaužije mikroplastiko kot pa jajčeca od kozic. Mikroplastika, ki ne vsebuje hranilnih snovi, zapolni prebavni trakt in posledično povzroči smrt koral. Poleg tega predstavlja mikroplastika tudi podlago za mikroorganizme, ki lahko tako hitreje potujejo in lažje vstopijo v notranjost organizmov [19].

Raziskave zadnjih let vodijo v odkrivanje vpliva mikroplastike na vodne rastline. Pri mali vodni leči povzroča zmanjšanje dolžine korenin [20], medtem ko prisotnost večje koncentracije mikroplastike znatno zavira relativno rast rastline *Utricularia vulgaris* in ji onemogoča tvorjenje funkcionalnih lastnosti listov [21].

Ugotovitve so pokazale, da se mikroplastika na rastline močno adsorbira. Vzrok za to so elektrostatične sile in morfologija listov, kar potrjuje tudi raziskava prisotnosti mikroplastike v morju, kjer so ugotovili, da je 75 % pregledanih listov morske trave *Thalassia testudinum* vsebovalo vsaj en košček mikroplastike [22].

## 1.2 Mala vodna leča

Mala vodna leča *Lemna minor* je majhna, zelena vodna rastlina. Posamezno rastlino sestavljajo ravni, ovalni listi, ki plavajo na površju, in korenina, ki sega v globino. Rastlina cveti v času od maja do septembra, vendar se samega cveta v večini primerov ne vidi [23, 24].

Mala vodna leča uspeva v mirujočih sladkih vodah do 1500 m nadmorske višine. Optimalno temperaturno območje za rast je med 7 °C in 25 °C. Za rast potrebuje primerno svetlobo in vodo bogato z nitrati. Rastlina preživi zimo tako, da svoja semena ob znižanju temperature spusti na dno vodovja, kjer se temperatura zaradi lastnosti vode ohrani nad temperaturo zmrzišča. Ta semena se nato ob zvišanju temperature vrnejo na površje, kjer rastlina ponovno začne uspevati. Mala vodna leča je razširjena po vsem svetu, kjer so zagotovljeni zgoraj navedeni pogoji [23, 25].

Mala vodna leča raste zelo hitro v kolonijah, ki se lahko razširijo na veliko območje. Predstavlja izvor hrane tako za ribe kot tudi za različne ptice, obenem nudi tudi naravno zaščito majhnim vodnim organizmom pred zunanjimi plenilci, pri čemer ji hitro razmnoževanje zelo koristi [23, 25].

Človek uporablja malo vodno lečo bolj v zdravstvene in raziskovalne namene, kakor prehranjevalne. Raziskovalci so prav tako začeli z genetičnim spreminjanjem male vodne leče, s čimer bi omogočili, da bi le-ta sintetizirala koristne proteine. Poleg raziskovanja za namen biomedicine se uporablja vodna leča tudi pri ekoloških raziskavah, kjer se jo kot vodno rastlino enostavno ohranja in uporablja za namen ugotavljanja vpliva različnih snovi na njeno rast [23, 25].

## 2 Namen dela

V zadnjem desetletju se je veliko raziskovalcev ukvarjalo z ugotavljanjem vpliva mikroplastike na različne organizme. Vplivi mikroplastike na živali so dobro raziskani, medtem ko se o vplivih na rastline ne ve veliko. Zato je namen diplomskega dela raziskati vpliv 5 različnih okoljsko relevantnih mikroplastik na hitrost rasti, dolžino korenin in fotosintetske pigmente male vodne leče *Lemna minor*.



## 3 Eksperimentalni del

### 3.1 Priprava mikroplastike

Za izvedbo eksperimenta smo si izbrali 5 različnih mikroplastik, ki smo jih pripravili s pomočjo naslednjih postopkov.

Za pridobitev mikrokroglic oz. delcev, ki so se ali se še uporabljajo v kozmetiki (A), smo kupili produkte, ki vsebujejo mikrokroglice. Za ekstrakcijo mikrokroglic smo 20 mL produkta dodali toplo deionizirano vodo in postavili čašo na magnetno mešalo, dokler se produkt ni popolnoma raztopil. Raztopino smo prefiltrirali skozi Whatman™ filtrirni papir. Preostanek na filter papirju je predstavljal mikrokroglice, ki smo jih previdno sprali v čisto čašo in čez noč osušili pri 60 °C.

Sintetična vlakna (B) smo pridobili z rezanjem in mletjem preje. Na podoben način smo pridobili tudi delce plastične vrečke (C), kjer smo večjo vrečko razrezali in nato zmleli, da smo pridobili še manjše delce. Vzorec bakelita (D) je bil pridobljen iz industrije in je že bil v obliki prahu. Zadnje delce, ki smo jih uporabili, smo pripravili z rezanjem navadne plastenke (E).

Za boljšo primerjavo dobljenih rezultatov smo za eksperiment uporabili tudi naravne delce, bukov prah (BP), ki smo ga pridobili z mletjem bukove žagovine in z ločitvijo frakcij dveh velikosti s sitom. Za pridobitev delcev manjših od 800 µm smo uporabili fino frakcijo.

### 3.2 Določitev velikosti delcev mikroplastike

Zaradi same terminologije, v kateri velikostni red spada posamezni vzorec mikroplastike, in tudi zaradi samega vpliva velikosti na potek eksperimenta je bilo potrebno določiti velikost delcev. Za določitev velikosti delcev vzorca A, B, BP, D in E smo uporabili laserski difraktometer Microtrac S3500 Bluewave. Postopek deluje na principu odboja svetlobe. Z laserskim žarkom posvetimo na površino delca, kjer se ta žarek razprši. Leče ujamejo te žarke in jih usmerijo proti detektorju, kjer optično-matematični model poda velikost delca [26]. Velikost delcev vzorca C smo določili z mikroskopom.

### 3.3 Vpliv mikroplastike na malo vodno lečo

Eksperiment je potekal v 100 mL čašah, v katere smo dali 50 mL pripravljene hranilne raztopine. V hranilno raztopino smo nato dodali različne tipe mikroplastike (A–E) oz. naravne delce (BP) s koncentracijo 100 mg/L. Slepri vzorec je vseboval samo hranilno raztopino. V vsako čašo smo dodali po 10 členov male vodne leče, pri čemer smo pazili, da na člene niso bile pritrjene alge. Členom smo pred dodatkom v vzorce odstranili

korenine. Nad vsako čašo smo po dodatku male vodne leče raztegnili parafilm, naredili luknjice in postavili vzorce v inkubator, ki je deloval pri  $24 \pm 1$  °C, za 7 dni, pri čemer je bila intenziteta svetlobe  $6000 \pm 500$  lux, v razmerju svetloba/tema 16h/8h. Poskus smo izvedli v treh paralelkah in ponovili 2-krat [27].

Teste smo izvajali v hranilni raztopini, ki jo pripravimo iz 8 raztopin, naštetih v Tabeli 1. [27].

Tabela 1: Raztopine potrebne za pripravo hranilne raztopine.

Raztopine	mL raztopine/L hranilne raztopine
17,5 g KNO <sub>3</sub> ; 4,5 g KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ; 0,63 KH <sub>2</sub> P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> v 1000 mL vode	20
5 g MgSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O v 1000 mL vode	20
14,75 g CA(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> · 4 H <sub>2</sub> O v 1000 mL vode	20
120 mg H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> v 1000 mL vode	1
180 mg ZnSO <sub>4</sub> · 7 H <sub>2</sub> O v 1000 mL vode	1
44 mg NaMoO <sub>4</sub> · 2 H <sub>2</sub> O v 1000 mL vode	1
180 mg MnCl <sub>2</sub> · 4 H <sub>2</sub> O v 1000 mL vode	1
760 mg FeCl <sub>3</sub> · 6 H <sub>2</sub> O; 1500 mg EDTA · 2 H <sub>2</sub> O v 1000 mL vode	1

### 3.3.1 Določanje specifične hitrosti rasti

Specifično hitrost rasti male vodne leče smo izračunali po enačbi (1) na podlagi števila členov pred in po 7-dnevni inkubaciji (slika 2). Dobljene rezultate smo primerjali s specifično hitrostjo rasti v slepem vzorcu in izračunali inhibicijo rasti male vodne leče [28].

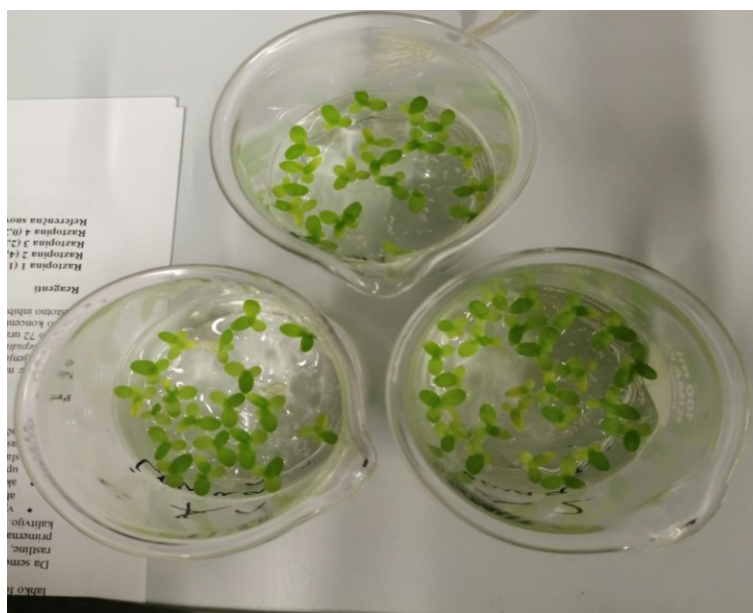
$$q = \frac{\ln N_{c1} - \ln N_{c0}}{n} \quad (1)$$

q – specifična hitrost rasti [1/dan]

N<sub>c1</sub> – število členov v času t = 0 dni [/]

N<sub>c0</sub> – število členov v času t = 7 dni [/]

n – število dni [/]



Slika 2: Vzorci male vodne leče v mikroplastičnih delcih kozmetike po 7-dnevni inkubaciji.

### 3.3.2 Določanje dolžine korenin

Pri določanju dolžine korenin male vodne leče smo iz vsake čaše naključno vzeli 10 rastlin in jim izmerili korenine s pomočjo milimetrskega papirja. Izračunali smo povprečje dobljenih podatkov in jih primerjali med seboj ter tako ugotavljali vpliv mikroplastike na dolžino korenin [28].

### 3.3.3 Določanje vsebnosti fotosintetskih pigmentov

Koncentracijo fotosintetskih pigmentov v rastlini smo določili tako, da smo naključno iz vsake čaše vzeli člene male vodne leče, jih osušili in natehtali od 10 do 20 mg členov v terilnico, pri čemer smo si točno maso zapisali. Členom smo dodali 0,7 mL hladnega 95 % etanola in jih homogenizirali v temi, saj je klorofil občutljiv na svetlobo. Nato smo z dodatnim 0,7 mL 95 % etanola sprali pestilo in zlili vsebino v epico. Prav tako smo sprali terilnico z 0,7 mL 95 % etanola in tudi to prelili v epico, ki smo jo nato postavili v temo na  $-20 \pm 2$  °C za 24 h [27].

Po 24 h smo vsakemu vzorcu izmerili absorbanco pri valovni dolžini 664,2 nm in 648,6 nm. Pri meritvah smo za slepi vzorec uporabili 95 % etanol. Z izmerjeno absorbanco smo nato s pomočjo enačbe (2) izračunali koncentracijo klorofila *a* in nato z enačbo (3) specifično koncentracijo klorofila *a* [28].

$$C_a = 13,36 \cdot A_{664,2} - 5,19 \cdot A_{648,2} \quad (2)$$

$$C_{SPa} = C_a \cdot \frac{V}{1000 \cdot m} \quad (3)$$

$C_a$  – koncentracija klorofila  $a$  [mg/L]

$A_{664,2}$  – absorbanca izmerjena pri 664,2 nm

$A_{648,2}$  – absorbanca izmerjena pri 648,2 nm

$C_{SPa}$  – specifična koncentracija klorofila  $a$  [mg  $C_a$ /g sveže mase]

$V$  – volumen 95% etanola [ml]

$m$  – masa členov [g]



## 4 Rezultati in komentar

Rastline so v okolju zelo pomembni primarni proizvajalci in zato nas je zanimalo, kako vpliva mikroplastika, katere koncentracija se v okolju zelo povečuje, na malo vodno lečo *Lemna minor*. Izvedli smo nekaj serij eksperimentov in ugotavljali vpliv različnih delcev okoljsko relevantne mikroplastike na hitrost rasti, dolžino korenin in fotosintetske pigmente male vodne leče.

### 4.1 Določitev povprečne velikosti delcev mikroplastike

Iz meritev numerične porazdelitve velikosti delcev mikroplastike smo pridobili povprečne vrednosti in standardne deviacije, ki so zbrane v Tabeli 2. Delci vrečke (C) so bili največji, saj zaradi njenih mehanskih lastnosti težko pripravimo še manjše delce. Vzorec bakelita (D), pridobljen iz industrije, je bil najmanjši.

Izbrani vzorci mikroplastike so za okolje odločilnega pomena, saj se poleg stalnega kopičenja fragmentirajo na čedalje manjše velikosti. Delci, ki smo jih izbrali, izvirajo iz plastičnih izdelkov, ki jih ljudje uporabljamo vsakodnevno in kateri posledično predstavljajo največji izvor mikroplastike.

Vse delce, ki smo jih uporabljali, so imeli velikosti do 1000  $\mu\text{m}$ , zato jih lahko označimo kot mikroplastiko.

Tabela 2: Velikost vzorcev mikroplastike.

	bukov prah (BP)	kozmetika (A)	sintetična vlakna (B)	vrečka (C)	bakelit (D)	plastenka (E)
velikost delcev [ $\mu\text{m}$ ] $\pm$ standardna deviacija	133,2 $\pm$ 77,6	148,7 $\pm$ 75,4	9,58 $\pm$ 3,51	652,2 $\pm$ 31,0	7,64 $\pm$ 3,48	151,9 $\pm$ 83,2

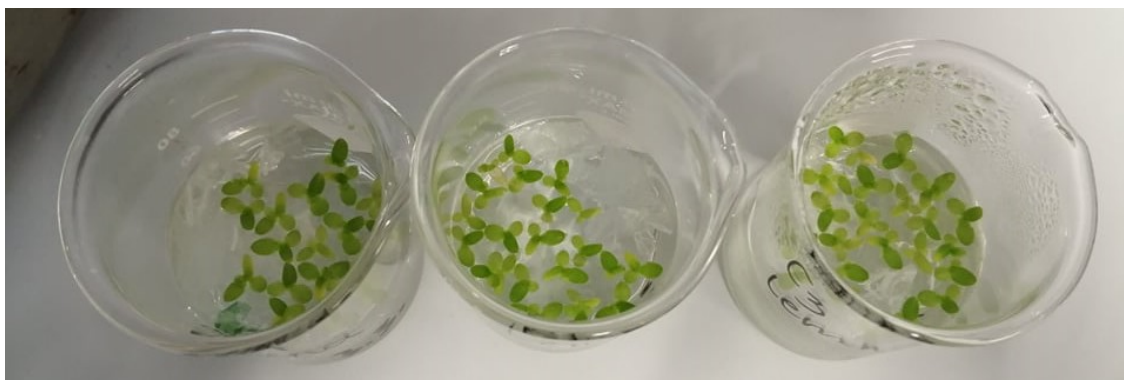
### 4.2 Vpliv mikroplastike na specifično hitrost rasti male vodne leče

Iz podatkov v Grafu 1 je razvidno, da prisotnost kakršne koli mikroplastike v vzorcih ni znatno vplivala na rast členov male vodne leče.

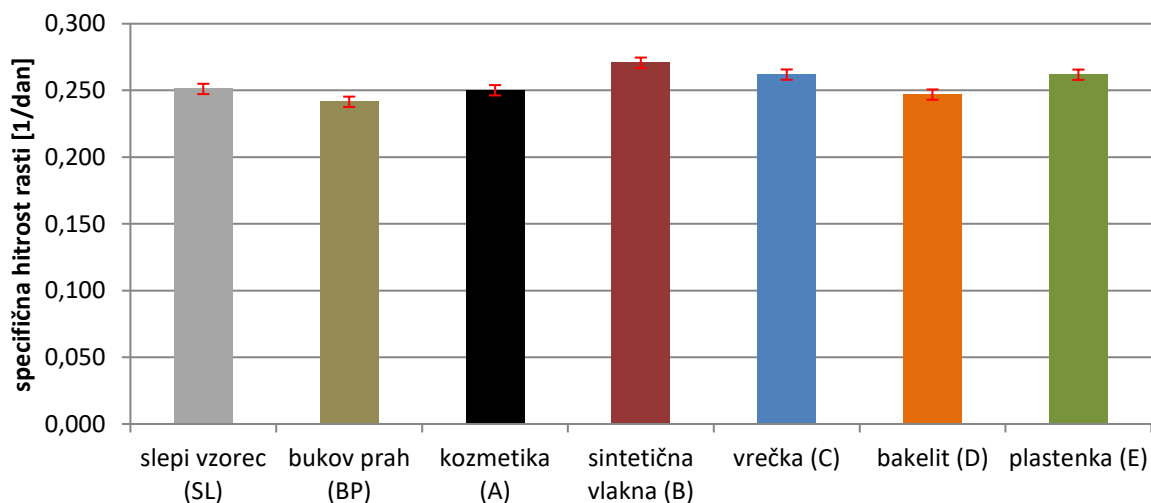
Pri samem razmnoževanju male vodne leče igra vlogo več različnih parametrov. Med njimi so medij, v katerem rastlina uspeva, intenziteta svetlobe, temperatura gojišča, začetna koncentracija in stanje členov. Vsi parametri so bili konstantni, rahlo se je razlikovala samo

intenziteta svetlobe, ker ni povsem enaka po celotnem inkubatorju, kar je bilo vidno pri manjših razlikah v hitrosti rasti.

V primerjavi z literaturo smo ugotovili, da so pri drugih raziskavah dobili podobne rezultate. Različne mikroplastike so se adsorbirale na liste male vodne leče, pri čemer pa niso povzročile vpliva na hitrost rasti male vodne leče [29, 30]. Pri optimalnih pogojih rast male vodne leče omejuje prostor, ki ga ima na razpolago [29]. Mikroplastika v našem primeru ni znatno omejevala rasti listov (slika 3) in zato ni povzročila znatnega negativnega vpliva.



Slika 3: Vzorec listov male vodne leče z narezano vrečko po 7-dnevni inkubaciji.



Graf 1: Povprečna specifična hitrost rasti.

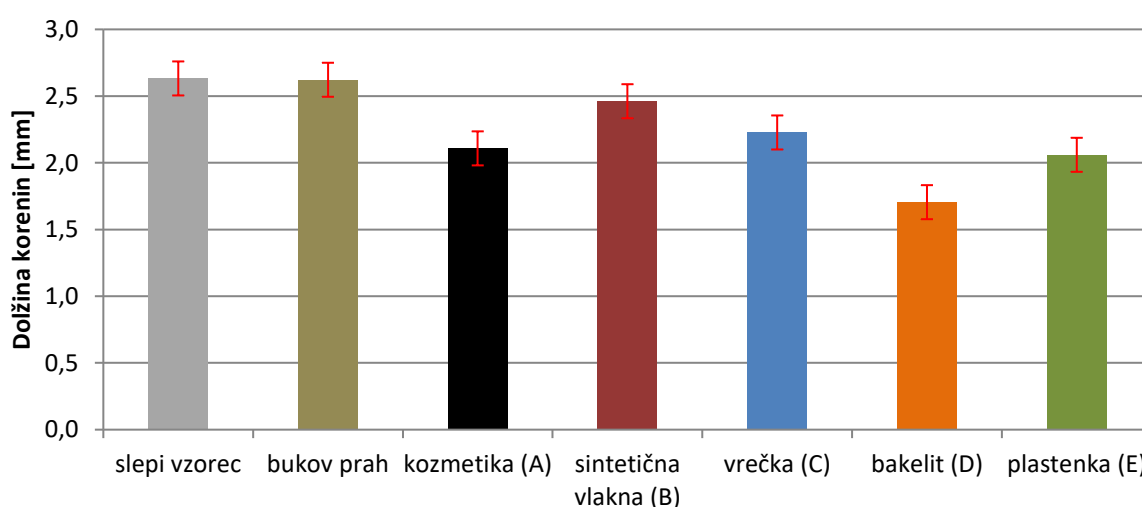
### 4.3 Vpliv mikroplastike na dolžino korenin male vodne leče

Iz Grafa 2 lahko opazimo vpliv mikroplastike, prisotne v vzorcih, na rast korenin male vodne leče.

Vsakemu členu vodne leče je bilo na začetku izvajanja eksperimenta odstranjena korenina. Iz podatkov, ki smo jih pridobili, lahko vidimo, da je prisotnost bakelita v vzorcu najbolj upočasnila rast korenin, in sicer v primerjavi s slepim vzorcem so bile korenine v povprečju za 34,6 % krajše. Prav tako opazimo, da je prisotnost ostalih delcev mikroplastike zmanjšalo povprečno dolžino korenin tako v primerjavi s slepim vzorcem kakor tudi v primerjavi z bukovim prahom. Med vsemi pa opazimo, da imajo najmanjši vpliv sintetična vlakna.

Iz teh podatkov lahko sklepamo, da sama prisotnost delcev ne vpliva na rast korenin, vpliva pa kemična sestava in fizikalne lastnosti teh delcev. Bukov prah je naraven delec, medtem ko so vsi ostali delci umetnega izvora. Vsi delci mikroplastike so bili narejeni iz navadnih izdelkov, ki so v kontaktu s kozmetiko ali hrano, in se ne pričakuje, da bi prihajalo do izluževanja drugih snovi npr. aditivov. Mikroplastika vzorca D je bila pridobljena iz industrije in gre za prah bakelita, iz katerega se potem naredijo končni izdelki, zato je možno, da pri tem vzorcu prihaja do izluževanja različnih aditivov ali drugih snovi, ki posledično vplivajo na rast korenin [31]. Za potrditev te hipoteze bi bilo potrebno pripraviti izlužke iz mikroplastike in ponovno opraviti eksperiment.

Iz dobljenih podatkov pa lahko sklepamo, da na zmanjšanje dolžine korenin vpliva tudi oblika delcev, ker so imeli največji vpliv delci, ki imajo ostre robove. Rezultate vpliva mikroplastike vzorca A smo primerjali z literaturo. V študiji [29] so prav tako ugotavljali njen vpliv na rast korenin in so prav tako opazili zmanjšanje dolžine korenin male vodne leče zaradi ostrih robov mikroplastike, ki povzroči poškodbo membran na koreninah.



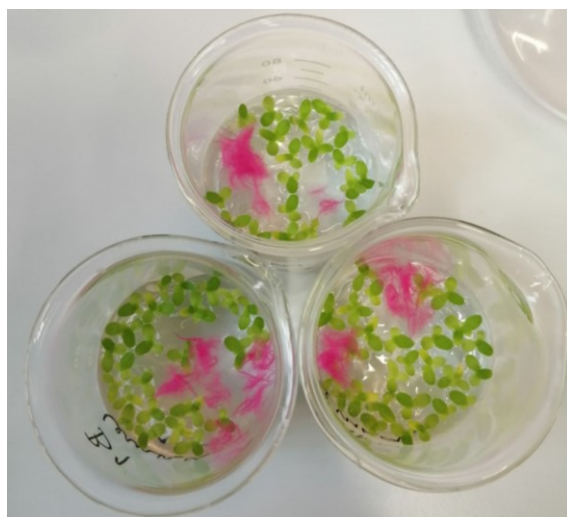
graf 2: Povprečna dolžina korenin.

#### 4.4 Vpliv mikroplastike na fotosintetske pigmente male vodne leče

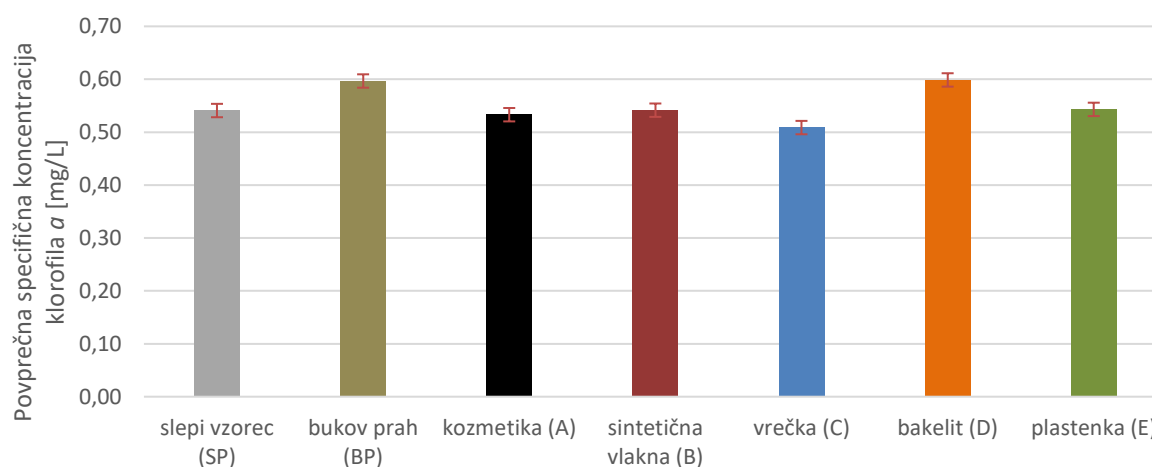
Iz Grafa 3 lahko vidimo, da se povprečna specifična koncentracija klorofila *a* pri različnih vzorcih ne spreminja.

Specifična koncentracija klorofila *a* je pri vseh vzorcih približno enaka. Največja razlika je med vzorcem C in D, ki pa ne presega 0,09 mg  $c_a/g$  sveže mase. V študiji, ali delci mikroplastike vplivajo na fotosintetske pigmente alge, so prišli do podatkov, da ne vpliva, kar je v skladu z našimi ugotovitvami [32]. Prav tako lahko pridobljene podatke potrdimo z raziskavo vpliva kozmetične mikroplastike na malo vodno lečo, kjer je prav tako prišlo do enakih ugotovitev [29].

V študiji [33] so prišli do ugotovitev, da nanoplastika vpliva na fotosintetske pigmente alge in sicer tako, da povzroči fizično prepreko, ki onemogoča svetlobi, da bi prišla do rastline. To ugotovitev lahko pri našem raziskovanju zavržemo, saj mikroplastika ni prekrivala listov male vodne leče (slika 4).



Slika 4: Vzorec male vodne leče s sintetičnimi vlakni po 7-dnevni inkubaciji.



graf 3: Povprečna specifična koncentracija klorofila *a*.

## 5 Zaključek

Iz dobljenih podatkov se vidi, da izmed petih različnih mikroplastik na specifično hitrost rasti in fotosintetske pigmente male vodne leče nobena nima vpliva, medtem ko na rast korenin najslabše vpliva prisotnost delcev industrijske mikroplastike – bakelita. Mikroplastika lahko škoduje na več različnih načinov. V izvedeni raziskavi se je pokazalo, da so delci, ki najbolj škodujejo rastlini tisti, ki imajo najbolj ostre robove.

Plastika oz. mikroplastika je v zadnjih letih čedalje bolj v središču raziskav na področju ekologije, kjer je potrebno raziskati kakšen vpliv bo imela na različne organizme. Za zdaj lahko trdimo, da si v sedanjem času ne moremo predstavljati življenja brez uporabe plastike na vsakem področju življenja. Zato bo potrebno še veliko raziskav in študij, ki bi odkrile uporabo drugih alternativnih materialov, ki bi bili okolju bolj prijazni. Kot ljudje, ki uporabljamo plastiko vsakodnevno, pa lahko k temu ekološkemu problemu pomagamo tako, da se držimo slogana zmanjšaj, ponovno uporabi in recikliraj tako plastiko kot tudi ostale potrošne materiale [34].



## 6 Literatura

- [1] How plastics are made, PlasticsEurope. <https://www.plasticseurope.org/en/about-plastics/what-are-plastics/how-plastics-are-made> (pridobljeno 17. apr. 2020).
- [2] NOAA. What are microplastics? National Ocean Service, <https://oceanservice.noaa.gov/facts/microplastics.html> (pridobljeno 17. apr. 2020).
- [3] N. B. Hartmann, T. Hüffer, R. C. Thompson, M. Hasselöv, A. Verschoor, A. E. Dagaard, 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.* **2019**, 53, 3, 1039-1047.
- [4] Mikroplastika – izvor, vpliv in rešitve. Evropski parlament, Novice. <https://www.europarl.europa.eu/news/sl/headlines/society/20181116STO19217/mikroplastika-izvor-vpliv-in-resitve> (pridobljeno 17. apr. 2020).
- [5] G. Kalčikova, B. Alič, T. Skalar, M. Bundschuh, A. Žgajnar Gotvajn: Wastewater treatment plant effluents as source of cosmetic polyethylene microbeads to freshwater. *Chemosphere.* **2017**, 188, 25-31.
- [6] Mikroplastika v 90% vzorcev ustekleničene vode po svetu. Prehrana.si, Nacionalni portal o hrani in prehrani. <https://www.prehrana.si/novica/251-mikroplastika-v-90-vzorcev-usteklenicene-vode-po-svetu> (pridobljeno 17. apr. 2020).
- [7] World Health Organization: Microplastics in drinking-water. 2019. [https://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/publications/microplastics-in-drinking-water/en/?fbclid=IwAR05gh-LPcVc23TKwTm52x\\_MX\\_b28BkKmcXwfM7hNvxRt6lGb1KhX7I1m\\_s](https://www.who.int/water_sanitation_health/publications/microplastics-in-drinking-water/en/?fbclid=IwAR05gh-LPcVc23TKwTm52x_MX_b28BkKmcXwfM7hNvxRt6lGb1KhX7I1m_s) (pridobljeno 22. apr. 2020).
- [8] K. Dervishi: The Microplastics Crisis – You are the first responder. Blog, special edition: Water. Harvard University. <http://sitn.hms.harvard.edu/flash/2019/microplastics-crisis/> (pridobljeno 17. apr. 2020).
- [9] M. C. O'Connor: Our clothes are contaminating our planet with tiny plastic threads. <https://ensia.com/features/microfibers/> (pridobljeno 28. apr. 2020).
- [10] M. C. O'Connor: As synthetic microfibers infiltrate food, water and air, how can we prevent future release?. <https://ensia.com/features/synthetic-microfibers/> (pridobljeno 28. apr. 2020).
- [11] M. C. O'Connor: Humans, fish and other animals are consuming microfibers in our food and water. <https://ensia.com/features/microfiber-impacts/> (pridobljeno 28. apr. 2020).

- [12] A. Luscher, V. Tirelli, I. O'Connor, R. Officer: Microplastics in Arctic polar waters: the first reported values of particles in surface and sub-surface samples. *Sci. Rep.* **2015**, 5, 14947.
- [13] R. Egessa, A. Nankabirwa, H. Ocaya, W. G. Pabire: Microplastic pollution in surface water of Lake Victoria. *Sci. Total Environ.* **2020**, 741, 140201.
- [14] W. Xia, Q. Rao, X. Deng, J. Chen, P. Xie: Rainfall is a significant environmental factor of microplastic pollution in inland waters. *Sci. Total Environ.* **2020**, 732, 139065.
- [15] J. N. Hitchcock: Storm events as key moments of microplastic contamination in aquatic ecosystems. *Sci. Total Environ.* **2020**, 734, 139436.
- [16] W. Wang, J. Ge, X. Yu, H. Li: Environmental fate and impacts of microplastics in soil ecosystems: Progress and perspective. *Sci. Total Environ.* **2019**, 708, 134841.
- [17] R. Ambrosini, R. S. Azzoni, F. Pittino, G. Diolaiuti, A. Franzetti, M. Parolini: First evidence of microplastic contamination in the supraglacial debris of an alpine glacier. *Environ. Pollut.* **2019**, 253, 297-301.
- [18] L. DeFilippo, E. M. Burmester, L. Kaufman, R. D. Rotjan: Patterns of surface lesion recovery in the Northern Star Coral, *Astrangia poculata*. *J. Exp. Mar. Bio. Eco.* **2016**, 481, 15-24.
- [19] A. J. Kokalj, D. Kuehnel, B. Puntar, A. Žgajnar Gotvajn, G. Kalčíkova: An exploratory ecotoxicity of primary microplastics versus aged in natural waters and wastewaters. *Environ. Pollut.* **2019**, 254, 112980.
- [20] H. Goss, J. Jaskiel, R. Rotjan: *Thalassia testudinum* as a potential vector for incorporating microplastics into benthic marine food webs. *Mar. Pollut. Bull.* **2018**, 135, 1085-1089.
- [21] H. Yu, X. Zhang, J. Hu, J. Peng, J. Qu: Ecotoxicity of polystyrene microplastics to submerged carnivorous *Utricularia vulgaris* plants in freshwater ecosystems. *Environ. Pollut.* **2020**, 265, 114830.
- [22] L. Gutow, A. Eckerlebe, L. Gimenez, R. Saborowski: Experimental evaluation of seaweeds as a vector for microplastics into marine food webs. *Environ. Sci. Technol.* **2016**, 50, 915-923.
- [23] Tropical Plants Database, Ken Fern. [Tropical.theferns.info](http://tropical.theferns.info).  
<http://tropical.theferns.info/viewtropical.php?id=Lemna+minor>  
(pridobljeno 22. apr. 2020).
- [24] Botanični vrt univerze v Ljubljani, oddelek za biologijo Biotehniška fakulteta.  
<http://www.botanicni-vrt.si/component/rastline/lemna-minor> (pridobljeno 22. apr. 2020).



- [25] W. Fertig: United States Department of Agriculture. U. S. Forest service: Plant of the week, Common duckweed (*Lemna minor*). [https://www.fs.fed.us/wildflowers/plant-of-the-week/lemna\\_minor.shtml](https://www.fs.fed.us/wildflowers/plant-of-the-week/lemna_minor.shtml) (pridobljeno 22. apr. 2020).
- [26] T. Turk: Vpliv mikroplastike na malo vodno lečo (*Lemna minor*), Ljubljana: UL, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo 2020, str. 11-12.
- [27] OECD (2006), Test No. 221: Lemna sp. Growth Inhibition Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, OECD, Pariz, [https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-221-lemna-sp-growth-inhibition-test\\_9789264016194-en](https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-221-lemna-sp-growth-inhibition-test_9789264016194-en) (pridobljeno 22. apr. 2020).
- [28] A. Žgajnar Gotvajn, G. Kalčikova, J. Zagorc-Končan: Ekotoksikološki praktikum. Ljubljana: UL, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo 2014.
- [29] G. Kalčikova, A. Žgajnar Gotvajn, A. Kladnik, A. Jemec: Impact of polyethylene microbeads on the floating freshwater plant duckweed *Lemna minor*. Environ. Pollut. **2017**, 230, 1108-1115.
- [30] A. M. Cardenaas, D. T. Scott, G. Seitmaganbetova, F. N. A. M. van Pelt, J. O'Halloran, M. A. K. Jansen: Polyethylene microplastics adhere to *Lemna minor* (L.), yet have no effects on plant growth or feeding by *Gammarus duebeni* (Lillj.). Sci. Total Environ. **2019**, 689, 413-421.
- [31] H. Luo, Y. Xiang, D. He, Y. Li, Y. Zhao, S. Wang, X. Pan: Leaching behaviour of fluorescent additives from microplastics and the toxicity of leachate to *Chlorella vulgaris*. Sci. Total Environ. **2019**, 678, 1-9.
- [32] S. B. Sjollema, P. Redondo-Hasselerharm, H. A. Leslie, M. H. S. Kraak, A. D. Vethaak: Do plastic particles affect microalgal photosynthesis and growth?. Aquat. Toxicol. **2015**, 170, 259-261.
- [33] P. Bhattacharya, S. Lin, J. P. Turner, P. C. Ke: Physical adsorption of charged plastic nanoparticles affects algal photosynthesis. J. Phys. Chem. C. **2010**, 114, 39, 16556-16561.
- [34] Reduce, Reuse, Recycle, Solar Schools. <https://www.solarschools.net/knowledge-bank/sustainability/reduce-reuse-recycle> (pridobljeno 1. maj 2020).