

امکان سنجی توانایی ریزجلبک سندسموس آبلیکوس در حذف زیستی میکروپلاستیک پلی اتیلن از محیط آبی و بهینه‌سازی پارامترهای موثر بر حذف زیستی

حسام شریف واقفی^۱، رویا مافی غلامی^{۱*}، امید توکلی^۲، حمید مقیمی^۳

^۱دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران غرب، تهران، ایران.

^۲دانشکده مهندسی شیمی، دانشکده فنی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

^۳گروه میکروبیولوژی، دانشکده زیست‌شناسی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

*نویسنده مسئول: ایمیل: r.mafigholami@wtiau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۹/۲۴

تاریخ اصلاح: ۱۴۰۳/۱۲/۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۴/۲۲

Study on The Ability of *Scenedesmus Obliquus* In The Bio-Removal of Polyethylene Microplastics From Aquatic Environments and Optimization of The Bio-removal Effective Parameters

Hesam Sharif Vaghefi¹, Roya Mafigholami^{1,*}, Omid Tavakoli², Hamid Moghimi³

¹ Faculty of Engineering, Islamic Azad University West Tehran Branch, Tehran, Iran.

² School of Chemical Engineering, College of Engineering, University of Tehran, Tehran, Iran.

³ Department of Microbiology, School of Biology, University of Tehran, Tehran, Iran.

* **Corresponding Author:** Email: r.mafigholami@wtiau.ac.ir

Received: 14/12/2024

Revised: 06/03/2025

Accepted: 13/07/2025

Abstract

Microplastics refer to plastic particles with a diameter of less than 5 millimeters, which create significant environmental problems due to their small size, the lack of sufficient technology for removal, and the potential to cause side effects. The microalga *scenedesmus obliquus* has the ability to secrete ligninolytic enzymes and exopolysaccharides, enabling it to degrade microplastics and utilize them as a carbon source. In the present study, by optimizing the cultivation conditions of *scenedesmus obliquus*, the growth rate of the microalgae was enhanced, and subsequently, the feasibility of polyethylene microplastics bioremoval and the effects of various parameters on this process were investigated. According to the results obtained, the highest percentage of polyethylene microplastic removal was achieved at an optical density of 1 for *scenedesmus*, a stirring speed of 150 rpm, and a microplastic size of 45 μm . Gel chromatography analysis showed that the molecular weight of the microplastic decreased by approximately 14% after bioremoval process. Additionally, FTIR analysis indicated that the removal of the carbonyl

functional group in the wavelength range of 1400-1600 nm could be considered as a factor confirming the bioremoval of polyethylene microplastics.

Keywords: Bioremoval, Design expert, Microalgae, Microplastic, Polyethylene

چکیده

میکروپلاستیک‌ها به ذرات پلاستیکی با قطر کوچکتر از ۵ میلی‌متر گفته می‌شود که به دلیل کوچک بودن، عدم وجود فناوری کافی در حذف و همچنین پتانسیل ایجاد عوارض جانبی، مشکلات محیط زیستی عمده‌ای ایجاد می‌کنند. ریز جلبک سندسموس آبلیکوس به دلیل توانایی ترشح آنزیم‌های لیگنینولیتیک و آگزوپلی ساکارید قابلیت تجزیه‌ی میکروپلاستیک‌ها و مصرف آن به عنوان منبع کربنی را دارد. در مطالعه‌ی حاضر با بهینه‌سازی شرایط کشت ریز جلبک سندسموس آبلیکوس، رشد ریز جلبک بهینه شده و در ادامه امکان سنجی حذف زیستی میکروپلاستیک پلی‌اتیلن و تاثیر پارامترهای موثر بر حذف زیستی پلی‌اتیلن توسط ریز جلبک سندسموس آبلیکوس بررسی شد. با توجه به نتایج به دست آمده، بالاترین درصد حذف میکروپلاستیک پلی‌اتیلن در چگالی نوری سندسموس ۱، سرعت همزدن ۱۵۰ دور بر دقیقه و سایز میکروپلاستیک ۴۵ میکرومتر به دست آمد. آنالیز ژل کروماتوگرافی نشان داد که وزن مولکولی میکروپلاستیک پس از حذف زیستی حدود ۱۴ درصد کاهش یافت. همچنین آنالیز FTIR نشان داد که حذف گروه عاملی کربونیل در محدوده‌ی طول موج ۱۴۰۰-۱۶۰۰ نانومتر می‌تواند به عنوان المان تایید حذف زیستی میکروپلاستیک پلی‌اتیلن مورد توجه قرار گیرد.

کلمات کلیدی: پلی‌اتیلن، حذف زیستی، ریز جلبک، طراحی آزمایش، میکروپلاستیک

۱- مقدمه

استفاده از پلاستیک در جامعه امروزی مزایای بسیاری برای سلامت انسان و محیط زیست دارد. بسته‌بندی‌های پلاستیکی باعث جلوگیری از هدر رفتن مواد غذایی و آلوده شدن آن‌ها شده و در نتیجه موجب صرفه جویی در منابع می‌گردد. وزن سبک بسته‌بندی‌های پلاستیکی در مقایسه با سایر مواد نفتی باعث کاهش تولید گازهای گلخانه‌ای ناشی از حمل و نقل می‌شود. مواد پلاستیکی با چگالی کم، جایگزین قطعات فلزی در اتومبیل و هواپیما شده است که مصرف سوخت و انتشار آلودگی را کاهش می‌دهد. لباس‌های حفاظت فردی و تجهیزات ایمنی مانند کلاه، کیسه‌های هوا و غیره مانعی در مقابل صدمه به انسان هستند (Boucher and Friot, 2017). همچنین در علم پزشکی از پلاستیک برای تولید کیسه‌های خون، لوله‌ها، سرنگ‌های یک بار مصرف و پروتزها استفاده می‌شود. با وجود مزایای زیاد پلاستیک‌ها، افزایش تولید آن طی سال‌های اخیر موجب تولید انبوهی از زباله‌های پلاستیکی در محیط زیست شده است که دوام، ماندگاری و سرعت پایین بازیافت آن‌ها موجب بروز معضلات زیست‌محیطی گردیده است. امروزه حضور این مواد در محیط زیست، به عنوان آلاینده‌های نوظهور شناخته شده و در محیط‌های آبی در سراسر جهان یافت می‌شوند (Yu et al., 2018).

پلاستیک‌ها به دلیل دفع غیر سیستماتیک وارد محیط‌های آبی شده و تأثیرات نامطلوبی بر روی حیات موجودات دریایی می‌گذارند که طی چند دهه اخیر، این موضوع نگرانی‌های زیادی را سبب شده است. این مواد پلاستیکی با روش‌های مختلف تخریب شده و استحکام ساختاری خود را از دست می‌دهند. تخریب گسترده پلاستیک‌ها در نهایت منجر به ایجاد قطعات و تکه‌های مختلف پودری یا پلاستیک‌هایی با اندازه میکروسکوپی می‌شود که میکروپلاستیک نامیده می‌شوند (Chia et al., 2021). میکروپلاستیک‌ها معمولاً به عنوان پلاستیک‌هایی با قطر کوچک‌تر از ۵ میلی‌متر تعریف می‌شوند که به دلیل کوچک بودن، عدم وجود فناوری کافی در حذف و همچنین پتانسیل ایجاد عوارض جانبی، از اهمیت بیشتری برخوردارند. یکی از مهم‌ترین مضرات میکروپلاستیک‌ها، تأثیر منفی آن‌ها بر اکوسیستم‌های آبی است. این ذرات می‌توانند به راحتی توسط موجودات دریایی بلعیده شوند و در زنجیره غذایی تجمع یابند. با ورود این ذرات به بدن موجودات زنده، خطراتی برای سلامت آن‌ها ایجاد می‌شود و در نهایت ممکن است به انسان‌ها نیز منتقل شوند. از دیگر معایب میکروپلاستیک‌ها، هزینه‌های اقتصادی ناشی از پاکسازی و مدیریت آلودگی‌های پلاستیکی است. بسیاری از کشورها و سازمان‌ها مجبور به صرف هزینه‌های بالا برای جمع‌آوری و تصفیه آب‌های آلوده به میکروپلاستیک هستند. همچنین، این آلودگی‌ها می‌توانند به کاهش کیفیت منابع آب و محصولات کشاورزی منجر شوند که در نهایت تأثیر منفی بر امنیت غذایی و سلامت جامعه دارد (Magalhães et al., 2020). اگرچه میکروپلاستیک‌ها در محیط شناسایی می‌شوند، اما در مورد خطرات آن‌ها مطالعات

کافی وجود ندارد. یکی از مهم‌ترین چالش‌ها در ارزیابی خطرات این ذرات بر روی انسان و محیط زیست، متغیر بودن ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی، ترکیب و غلظت آن‌هاست. علاوه بر آن، شناسایی میکروپلاستیک‌ها در محیط‌های آبی کار دشواری است و روش‌های استاندارد برای آن تعریف نشده است (Prata et al., 2021).

میکروپلاستیک‌ها به طور کلی به دو دسته اولیه و ثانویه تقسیم‌بندی می‌شوند. میکروپلاستیک‌های اولیه قطعات ریز پلاستیکی هستند که به طور هدفمند در اندازه کوچکی ساخته می‌شوند. این میکروپلاستیک‌ها معمولاً در پاک‌کننده‌های صورت و لوازم آرایشی و در برخی موارد، در پزشکی به عنوان حامل دارو استفاده شده‌اند. به عنوان مثال، گلوله‌های پلاستیکی، به عنوان مواد اولیه برای ساخت محصولات پلاستیکی و میکروبیدها، در کالاهای مراقبت از سلامت انسان به کار رفته‌اند (Wu et al., 2022). گلوله‌های پلاستیکی از پلی‌اتیلن (PE)، پلی‌پروپیلن (PP)، پلی‌استایرن (PS) و ذرات پلی‌الفین تشکیل شده و ماهیتی چربی دوست دارند، یعنی به راحتی مواد شیمیایی مضر و سمی را از آب اطراف سطح خود جذب می‌کنند (An et al., 2020). میکروپلاستیک‌های ثانویه قطعات کوچک پلاستیکی هستند که از تجزیه زباله‌های پلاستیکی بزرگ‌تر، هم در دریا و هم در خشکی به دست می‌آیند. با گذشت زمان، اوج گرفتن تخریب فیزیکی، بیولوژیکی و شیمیایی و همچنین اکسیداسیون نوری ناشی از قرار گرفتن در معرض نور خورشید، می‌تواند یکپارچگی ساختاری زباله‌های پلاستیکی را به اندازه‌ای کاهش دهد که در نهایت با چشم غیرمسلح قابل تشخیص نباشد. یکی از عوامل تخریب پلاستیک‌ها به قطعات کوچک‌تر، فرآیند تخریب نوری توسط اشعه ماوراء بنفش نور خورشید است که منجر به شکستن پیوند شیمیایی پلیمری از طریق فرآیند اکسیداسیون می‌شود. همچنین هوا نیز باعث تجزیه پلاستیک‌های بزرگ به قطعات کوچک می‌شود (Cutroneo et al., 2020).

در حال حاضر، از میان پلاستیک‌ها بیشترین تقاضا به ترتیب مربوط به پلی‌اتیلن (۳۶ درصد)، پلی‌پروپیلن (۲۱ درصد)، پلی‌وینیل کلراید (۱۲ درصد) و بقیه برای پلی‌استایرن، پلی‌اتیلن ترفتالات، پلی‌اورتان و سایر پلیمرها می‌باشد. نتایج مطالعات نشان دهنده آن است که نوع پلیمرهای شناسایی شده در محیط آبی نیز مطابق با بیشترین تقاضای این پلاستیک‌هاست (Geyer et al., 2017).

در سال‌های اخیر روش‌های مختلف و متعددی برای حذف میکروپلاستیک‌ها از محیط زیست پیشنهاد شده و مورد بررسی قرار گرفته است. از مهم‌ترین این روش‌ها می‌توان به انعقاد و لخته‌سازی، هضم بیولوژیکی و شیمیایی، روش‌های تجزیه‌ای و تخریبی و همچنین فرایندهای غشایی اشاره کرد. این روش‌ها هر کدام مزایا و معایب خاص خود را داشته و انتخاب روش حذف به عواملی مانند مورفولوژی، پارامترهای محیطی، چگالی و نوع محیط آبی وابسته است (Park and Park, 2021). با این حال اکثر روش‌های مورد استفاده برای حذف میکروپلاستیک‌ها شامل روش‌های سطح اول به معنی بازگرداندن ضایعات پلاستیکی به چرخه گرمایش پلاستیک برای بازیافت

و تبدیل زباله‌های پلاستیکی به محصولات پلاستیکی جدید بوده و عملاً موجب تجزیه و حذف میکروپلاستیک از محیط نمی‌شود (Iyare et al., 2020).

در سال‌های اخیر استفاده از فناوری‌های زیستی برای حذف میکروپلاستیک به عنوان روشی مقرون به صرفه، پایدار، کارآمد و دوست‌دار محیط زیست مورد توجه قرار گرفته است (Miloloža et al., 2022). تجزیه‌ی زیستی میکروپلاستیک‌ها مبتنی بر هیدرولیز آنزیمی بوده و لذا راندمان حذف زیستی میکروپلاستیک به گونه‌های بیولوژیکی استفاده شده جهت تجزیه‌ی زیستی وابسته است. از جمله سایر عوامل موثر بر افزایش راندمان حذف زیستی توانایی تشکیل کلنی بر روی ساختار میکروپلاستیک بوده که با توجه به مطالعات ریزجلبک‌ها قابلیت بالایی جهت تشکیل این کلنی‌ها دارند (Priya et al., 2022). از طرفی میکروپلاستیک‌ها به عنوان منبع کربن می‌تواند مورد استفاده جلبک‌ها قرار گرفته و میکروپلاستیک در فرایند حذف زیستی به طور کامل توسط جلبک مصرف شود (Hadian-Ghazvini et al., 2022). مطالعات نشان می‌دهد که جلبک‌ها توانایی تغذیه از میکروبیوم کلونیزه شده روی میکروپلاستیک پلی‌اتیلن را داشته، کربن را از ساختار میکروپلاستیک پلی‌اتیلن جدا کرده و به اسیدهای چرب غیر اشباع در ساختار سلول خود تبدیل می‌کند (Fan et al., 2024). مطالعات نشان می‌دهند که جلبک‌ها علاوه بر فتوسنتز قادر به استفاده از مواد آلی به‌عنوان منبع انرژی بوده و در نتیجه با غلبه بر افت انرژی ناشی از کاهش فتوسنتز و حتی افزایش بهره‌وری انرژی نسبت به سایر گونه‌ها، انرژی لازم برای رشد و گسترش خود را فراهم می‌سازند. همچنین جلبک‌های کلونیزه شده روی میکروپلاستیک‌ها نرخ رشد بالاتری در مقایسه با جلبک در شرایط رشد عادی دارند (Cunha et al., 2019).

سندسموس آبلیکوس یک جلبک تک‌سلولی سبز متعلق به شاخه‌ی کلروفیتا بوده که در اکثر منابع آب شیرین یافت می‌شود. سندسموس آبلیکوس توانایی فتوسنتز بالایی داشته و از طرفی پتانسیل جذب کربن بالایی دارد. از طرفی سندسموس به دلیل توانایی ترشح آنزیم‌های لیگنینولیتیک و آگزوپلی ساکارید قابلیت تجزیه‌ی میکروپلاستیک‌ها و مصرف آن به عنوان منبع کربنی را دارد (Silambarasan et al., 2023).

میزان زیست توده‌ی فعال جلبک در فرایند حذف زیستی میکروپلاستیک‌ها پارامتر موثری بوده و تاثیر مستقیمی بر راندمان حذف دارد. در مطالعه‌ی حاضر با بهینه سازی شرایط کشت ریزجلبک سندسموس آبلیکوس، رشد ریزجلبک بهینه شده و در ادامه امکان سنجی حذف زیستی میکروپلاستیک پلی‌اتیلن و تاثیر پارامترهای موثر بر حذف زیستی پلی‌اتیلن توسط ریزجلبک سندسموس آبلیکوس بررسی شد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد و تجهیزات

در مطالعه‌ی حاضر استوک سندسموس آبلیکوس از بانک ملی جلبک ایران تهیه شده و برای کشت از محیط کشت BG-11 مطابق با جدول ۱ استفاده شد (López-Pacheco et al., 2021). کلیه‌ی مواد مورد نیاز محیط کشت از شرکت مرک آلمان تهیه شد. محیط کشت و کلیه لوازمی که در کشت جلبک مورد استفاده قرار گرفتند در اتوکلاو با فشار ۱/۵ اتمسفر معادل دمای 121°C به مدت ۱۵ دقیقه استریل شدند. کلیه مراحل کار در زیر هود بیولوژیکی و در کنار شعله با رعایت دقیق شرایط استریل انجام شد. پلاستیک پلی اتیلن کم چگالی (LDPE) محصول شرکت آریاساسول به شکل گرانول تهیه شده، با استفاده از آسیاب سیاره‌ای در ابعاد میکرومتری متناسب با پارامترهای آزمایش خرد شده و ذرات میکروپلاستیک در آزمایش‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

جدول ۱. اجزای شیمیایی محیط کشت BG-11

غلظت (گرم بر لیتر)	ترکیب شیمیایی
۱/۵	NaNO_3
۰/۰۷۵	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
۰/۰۳۶	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
۰/۰۲	Na_2CO_3
۱/۰	Trace Metal Mixture
۰/۰۴	K_2HPO_4
۰/۶	Citric acid
۰/۶	Ferric ammonium citrate

۲-۲- طراحی و اجرای آزمایش

جلبک سندسموس در ارلن‌های ۲۵۰ میلی‌لیتری تحت دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور شیکردار کشت داده شد. میزان تلقیح اولیه جلبک به محیط کشت ۱۰ درصد بوده و نور به میزان ۳۵۰۰ لوکس با استفاده از لامپ فلوروسنت سفید تامین شد. میزان رشد روزانه‌ی جلبک در نمونه‌ها با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۸۰ نانومتر اندازه‌گیری شده و نمونه‌های میکروپلاستیک با غلظت ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر در چگالی نوری مورد نظر (متناسب با طراحی آزمایش) به نمونه‌ها اضافه شد. با توجه به بررسی سایر مطالعات و در نظر گرفتن پارامترهای موثر بر حذف زیستی، در مطالعه‌ی حاضر پارامترهای چگالی نوری جلبک (تراکم سلولی)، سایز

میکروپلاستیک پلی اتیلن و سرعت همزدن نمونه‌ها به عنوان پارامترهای موثر آزمایش در نظر گرفته شد و پس از طراحی آزمایش تست‌ها انجام شد. در مطالعه‌ی حاضر حذف زیستی میکروپلاستیک پلی اتیلن با استفاده از ریزجلبک سندسموس در محدوده‌ی چگالی نوری ۰/۲ تا ۱، سایز میکروپلاستیک در محدوده‌ی ۴۵ تا ۱۰۵ میکرومتر و سرعت همزدن در محدوده‌ی ۱۵۰ تا ۲۰۰ دور بر دقیقه مورد بررسی قرار گرفت. ذرات میکروپلاستیک با غلظت و ابعاد مشخص در ابتدای شروع فرایند کشت به نمونه‌ها اضافه شده، جلبک در حضور میکروپلاستیک رشد کرده و فرایند حذف زیستی انجام شد. پس از اتمام فرایند حذف بیولوژیکی، نمونه‌ها با استفاده از اسید نیتریک ۱ مولار به میزان ۱۰ درصد و در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد هیدرولیز شده و ذرات میکروپلاستیک باقیمانده با استفاده از فیلتر غشایی از نمونه‌ها جداسازی و وزن شد. درصد حذف میکروپلاستیک در هر نمونه محاسبه شد و نتایج آزمایش بهینه‌سازی شد.

تغییر در پیوندها و گروه‌های عاملی پلی اتیلن پیش و پس از حذف زیستی با استفاده از آنالیز FTIR تعیین و مورد بررسی قرار گرفت (FT-IR/NIR FRONTIER-USA). برای بررسی تغییر وزن مولکولی پلی اتیلن پس از حذف زیستی از آنالیز کروماتوگرافی نفوذ ژل (GPC) با استفاده از Agilent 1260 Infinity Binary LC مجهز به آرایه دیود (DAD VL+ 1260/G1315C) به همراه دو آشکارساز فلورسانس (FLD 1260/G1321B) استفاده شد.

۳-۲- طراحی آزمایش

برای بررسی شرایط بهینه حذف زیستی میکروپلاستیک پلی اتیلن با استفاده از ریزجلبک سندسموس آبلیکوس، طراحی آزمایش با استفاده از متد سطح پاسخ (RSM) و طراحی مرکزی (CCD) انجام شد. برای طراحی آزمایش سه پارامتر غلظت جلبک بر اساس چگالی نوری (OD)، سایز میکروپلاستیک و سرعت همزدن در سه سطح تعریف شده ($\alpha=1$) و تعداد نقاط مرکزی ۳ در نظر گرفته شد. طراحی آزمایش، آنالیز واریانس و رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Design Expert Version 10.0.7.0 انجام شد. تست‌های تعیین شده پس از طراحی آزمایش در جدول ۲ آورده شده است.

جدول ۲. طراحی آزمایش به روش سطح پاسخ

ردیف	چگالی نوری	دور میکسر (rpm)	سایز میکروپلاستیک (um)
۱	۱	۲۰۰	۴۵
۲	۰/۶	۱۵۰	۷۵
۳	۱	۱۵۰	۱۰۵
۴	۰/۲	۲۰۰	۴۵

۷۵	۲۰۰	۰/۶	۵
۷۵	۱۷۵	۱	۶
۱۰۵	۲۰۰	۱	۷
۱۰۵	۲۰۰	۰/۲	۸
۷۵	۱۷۵	۰/۶	۹
۴۵	۱۷۵	۰/۶	۱۰
۴۵	۱۵۰	۱	۱۱
۴۵	۱۵۰	۰/۲	۱۲
۷۵	۱۷۵	۰/۶	۱۳
۷۵	۱۷۵	۰/۶	۱۴
۱۰۵	۱۵۰	۰/۲	۱۵
۷۵	۱۷۵	۰/۲	۱۶
۱۰۵	۱۷۵	۰/۶	۱۷

۳- نتایج و بحث

پس از کشت جلبک‌ها و رسیدن به چگالی نوری مورد نظر، نمونه‌های میکروپلاستیک به ارلن‌های کشت جلبک اضافه شده و حذف میکروپلاستیک توسط ریزجلبک مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به طراحی آزمایش، تعداد ۱۷ تست انجام شد و نتایج حذف زیستی در جدول ۳ آورده شده است.

جدول ۳. راندمان حذف زیستی میکروپلاستیک پلی‌اتیلن توسط ریزجلبک سندسموس آبلیکوس

حذف میکروپلاستیک (%)	سایز میکروپلاستیک (um)	دور میکسر (rpm)	چگالی نوری	ردیف
۳۶/۱۱	۴۵	۲۰۰	۱	۱
۲۱/۰۴	۷۵	۱۵۰	۰/۶	۲
۱۸/۷۲	۱۰۵	۱۵۰	۱	۳
۲۵/۱۵	۴۵	۲۰۰	۰/۲	۴
۲۰/۴۹	۷۵	۲۰۰	۰/۶	۵
۲۹/۰۲	۷۵	۱۷۵	۱	۶
۱۸/۳۴	۱۰۵	۲۰۰	۱	۷
۱۱/۶۵	۱۰۵	۲۰۰	۰/۲	۸
۲۵/۷۳	۷۵	۱۷۵	۰/۶	۹
۳۲/۸۶	۴۵	۱۷۵	۰/۶	۱۰
۳۹/۸۳	۴۵	۱۵۰	۱	۱۱
۲۴/۸۷	۴۵	۱۵۰	۰/۲	۱۲

۲۵/۵۷	۷۵	۱۷۵	۰/۶	۱۳
۲۶/۰۵	۷۵	۱۷۵	۰/۶	۱۴
۱۲/۰۸	۱۰۵	۱۵۰	۰/۲	۱۵
۱۷/۹۹	۷۵	۱۷۵	۰/۲	۱۶
۱۶/۹۲	۱۰۵	۱۷۵	۰/۶	۱۷

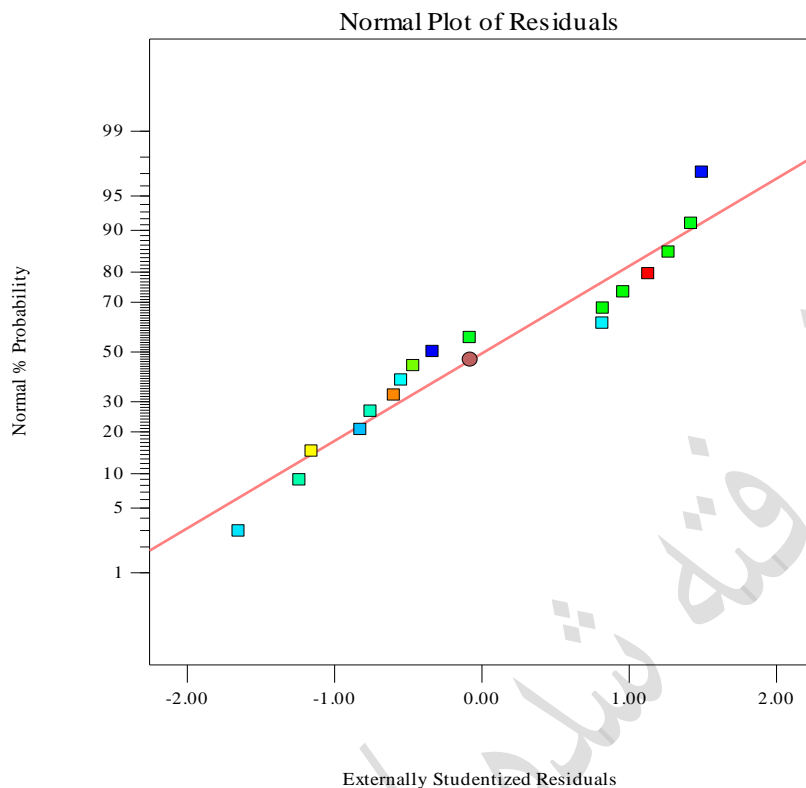
با توجه به نتایج به دست آمده، بالاترین درصد حذف میکروپلاستیک پلی اتیلن در چگالی نوری ۱، سرعت همزدن ۱۵۰ دور بر دقیقه و سایز میکروپلاستیک ۴۵ میکرومتر به دست آمده است. با توجه به جدول ۳، در این شرایط ۳۹/۸۳ درصد از میکروپلاستیک پلی اتیلن توسط ریز جلبک سندسموس آلبیکوس حذف شده است.

برای بررسی اثر پارامترهای آزمایش بر راندمان حذف زیستی میکروپلاستیک، مدل سازی نتایج با استفاده از مدل Quadratic و بدون اعمال رابطه‌ی توانی انجام شد. با توجه به جدول آنالیز واریانس (جدول ۴)، مدل از نظر آماری معنادار بوده ($Pvalue < 0.05$) و مقدار R^2 برابر با ۰/۹۸ به دست آمد که بیانگر انطباق بالای مدل با داده‌های واقعی است.

جدول ۴. آنالیز واریانس نتایج حذف زیستی پس از مدل سازی آماری

Source	Sum of Squares	df	Mean Squares	F value	P value	Significancy
Model	958.6051	9	106.5117	52.89636	1.31E-05	significant
A-OD	252.8078	1	252.8078	125.5507	1.01E-05	
B-Shaking speed	2.304	1	2.304	1.144224	0.320253	
C-Microplastyic size	657.8832	1	657.8832	326.7212	3.92E-07	
AB	1.950313	1	1.950313	0.968574	0.357822	
AC	19.81351	1	19.81351	9.839885	0.016451	
BC	0.864613	1	0.864613	0.429388	0.533224	
A ²	0.000299	1	0.000299	0.000148	0.990618	
B ²	20.2701	1	20.2701	10.06664	0.015647	
C ²	5.061298	1	5.061298	2.513567	0.15689	
Residual	14.09514	7	2.013592			
Lack of Fit	13.97568	5	2.795135	46.79356	0.061055	not significant
Pure Error	0.119467	2	0.059733			
Cor Total	972.7002	16				

بررسی نمودار نرمال پلات (شکل ۱) نیز نشان دهنده‌ی توزیع مناسب داده‌ها حول خط نرمال بوده و با توجه به نتایج بدست آمده رابطه‌ی ۱ برای بیان مدل به دست آمد.



شکل ۱. نمودار نرمال نتایج حذف زیستی میکروپلاستیک پس از مدل سازی

$$\text{MP removal} = -90.96 + (31.12 \times A) + (1.52 \times B) - (0.49 \times C) - (0.05 \times AB) - (0.13 \times AC) + (0.00043 \times BC) - (0.066 \times A^2) - (0.0044 \times B^2) + (0.0015 \times C^2) \quad \text{رابطه ۱:}$$

A: OD

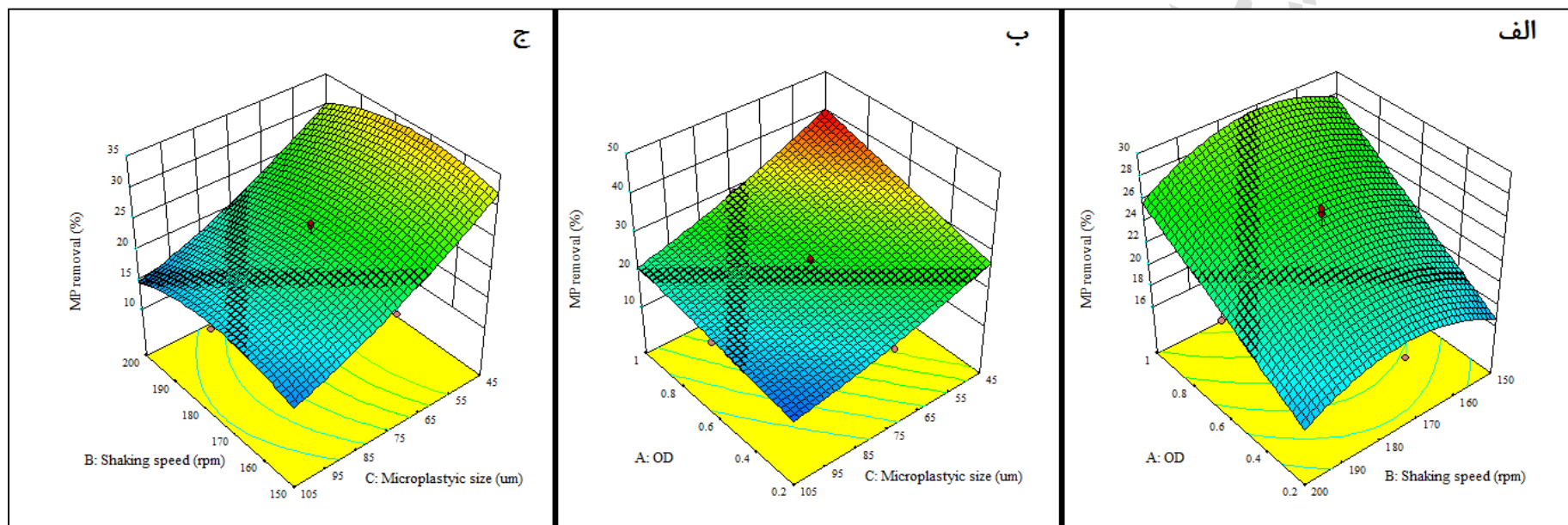
B: Shaking Speed

C: Microplastic size

نمودارهای سه بعدی اثر برهمکنش پارامترها بر راندمان حذف زیستی در شکل ۲ آورده شده است. با توجه به شکل ۲-الف، افزایش چگالی نوری رابطه‌ی مستقیمی با درصد حذف میکروپلاستیک داشته و اضافه کردن میکروپلاستیک به جلبک در غلظت‌های بالا راندمان حذف بالاتری را به همراه داشته است. از طرفی بررسی اثر سرعت همزدن بر میزان حذف میکروپلاستیک بیانگر این است که شدت‌های پایین همزدن و همچنین شدت‌های بالای همزدن موجب کاهش راندمان حذف زیستی پلی‌اتیلن شده است. دلیل افت راندمان در سرعت بالای همزدن می‌تواند ناشی از ایجاد تنش برای سلول‌های جلبک و در نتیجه از بین رفتن سلول‌ها در اثر واپاشی سلولی باشد و از طرف دیگر سرعت همزدن پایین باعث عدم برهمکنش مناسب بین سلول‌های جلبک و ذرات میکروپلاستیک می‌شود

(Cheng and Wang, 2022). بررسی اثر همزمان سایز میکروپلاستیک و چگالی نوری در شکل ۲-ب نشان می‌دهد که افزایش سایز میکروپلاستیک به طور معناداری موجب کاهش راندمان حذف زیستی شده و ریزجلبک سندسموس، میکروپلاستیک پلی‌اتیلن با ابعاد کوچک‌تر را بهتر حذف می‌کند. با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان دریافت که حذف زیستی میکروپلاستیک پلی‌اتیلن به چگالی نوری (غلظت سلولی) و سایز میکروپلاستیک وابستگی بالایی داشته و اضافه کردن میکروپلاستیک در ابعاد کوچک به ارلن کشت با غلظت بالا می‌تواند راندمان حذف زیستی را افزایش دهد.

پذیرفته شده / ویرایش نشده



شکل ۲. بررسی تاثیر همزمان پارامترهای الف) چگالی نوری و سرعت همزدن، ب) چگالی نور و سایز میکروپلاستیک، ج) سرعت همزدن و سایز میکروپلاستیک بر میزان حذف زیستی میکروپلاستیک پلی اتیلن توسط ریز جلبک سندسموس آبلیکوس

بررسی مطالعات مشابه نشان می‌دهد که سلول‌های ریزجلبک در مواجهه با ذرات میکروپلاستیک در اطراف آن تجمع کرده و توده تشکیل می‌دهد (Nava and Leoni, 2021). با توجه به چگالی پایین پلی‌اتیلن، سلول‌های جلبک میکروذرات پلی‌اتیلن را تجزیه کرده و به عنوان منبع کربنی مصرف می‌کنند، لذا به نظر می‌رسد شیمی سطح و حالات انرژی روی سطح ریزجلبک‌ها در شروع فرایند حذف زیستی حیاتی هستند (Sarmah and Rout, 2020). با این وجود برخی مطالعات بیان می‌کنند که بالا بودن میزان تجمع سلول‌های جلبک اطراف میکروپلاستیک چندان تاثیرگذار نبوده و غلظت سلولی تاثیر بیشتری بر راندمان حذف زیستی دارد (Cunha et al., 2020). این نتایج با مطالعه‌ی حاضر مطابقت بیشتری را نشان می‌دهد. بررسی اثر سایز میکروپلاستیک بر راندمان حذف زیستی بیانگر این است که اندازه ذرات و مدت زمان قرارگرفتن میکروپلاستیک در معرض سلول‌های جلبک بر تجمع و حذف زیستی موثر است. برخی مطالعات به اثر سایه در فرایند حذف میکروپلاستیک‌ها اشاره می‌کنند. بر این اساس، ابعاد بزرگتر میکروپلاستیک با ایجاد سایه، باعث کاهش نوردهی به جلبک‌ها شده و راندمان رشد و فتوسنتز جلبک کاهش پیدا می‌کند. این کاهش راندمان رشد بر میزان حذف زیستی تاثیر منفی دارد (Zhang et al., 2017; Wang et al., 2023). همچنین افزایش سایز میکروپلاستیک باعث ایجاد زنجیره‌های پلیمری قوی‌تری شده که تجزیه‌ی آن را برای ریزجلبک‌ها سخت‌تر می‌کند (Cheng and Wang, 2022). علاوه بر این، سمیت میکروپلاستیک‌ها می‌تواند وابسته به اندازه باشد و میکروپلاستیک‌های با اندازه بزرگتر اثرات نامطلوب قابل توجهی ایجاد می‌کنند. از طرفی میکروپلاستیک‌های کوچک‌تر استرس اکسیداتیو بیشتری ایجاد کرده و بر عملکردهای سلولی تأثیر می‌گذارند (Li et al., 2023). همچنین مطالعات بیانگر این است که همزدن محیط کشت جلبک تاثیر مثبت بر راندمان حذف دارد. برخی از مطالعات به اثر شدت همزدن بر میزان تشکیل توده‌ی سلولی ریزجلبک در اطراف ذرات میکروپلاستیک اشاره کرده و بیان می‌کنند همزدن با سرعت زیاد می‌تواند باعث جلوگیری از تجمع سلولی و کاهش راندمان حذف زیستی شود (Cheng and Wang, 2022; Cunha et al., 2019).

بررسی راندمان حذف پلی‌اتیلن توسط ریزجلبک در سایر مطالعات نشان می‌دهد که ریزجلبک سندسموس *آبلیکوس* نسبت به سایر گونه‌های میکروپلاستیک سبز راندمان حذف میکروپلاستیک بالاتری دارد (Su et al., 2023). مطالعات چنگ و وانگ بر روی حذف میکروپلاستیک‌های پلی‌استایرن، پلی‌متیل متاکریلات و پلی‌لاکتید نشان می‌دهد که ریزجلبک سندسموس *آبلیکوس* توانایی حذف حدود ۸۵ درصد از این میکروپلاستیک‌ها از محیط آبی را داشته و توانایی تجزیه‌ی بالاتری را در تماس با پلی‌متیل متاکریلات نسبت به سایر میکروپلاستیک‌ها نشان می‌دهد (Cheng and Wang, 2022). بررسی‌ها بیانگر این است که مطالعات چندان‌ی بر روی جذب میکروپلاستیک پلی‌اتیلن توسط ریزجلبک سندسموس *آبلیکوس* انجام نشده است و عمده‌ی مطالعات با تمرکز بر حذف میکروپلاستیک پلی‌استایرن توسط این جلبک انجام شده است.

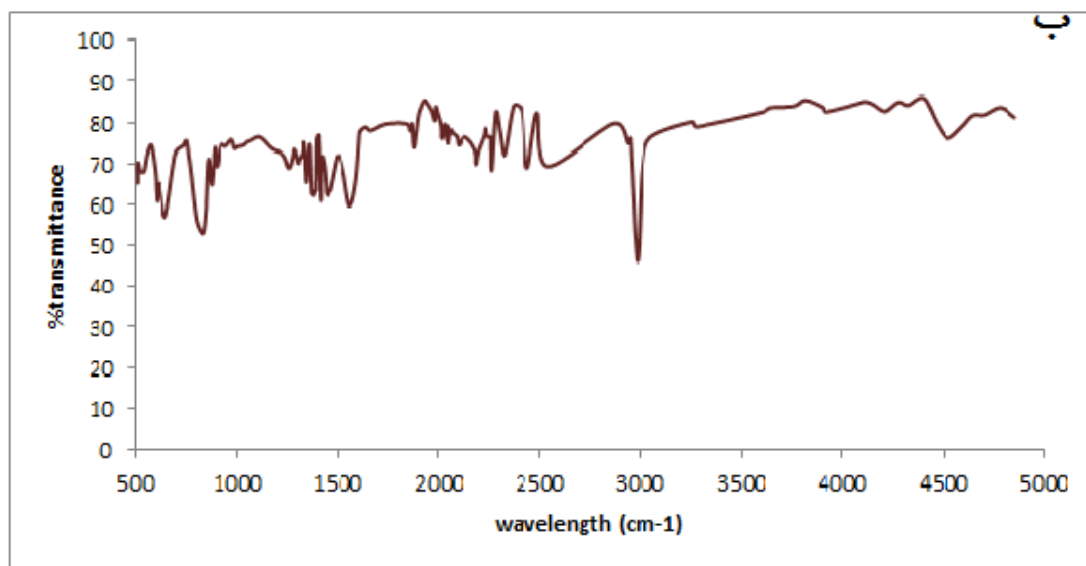
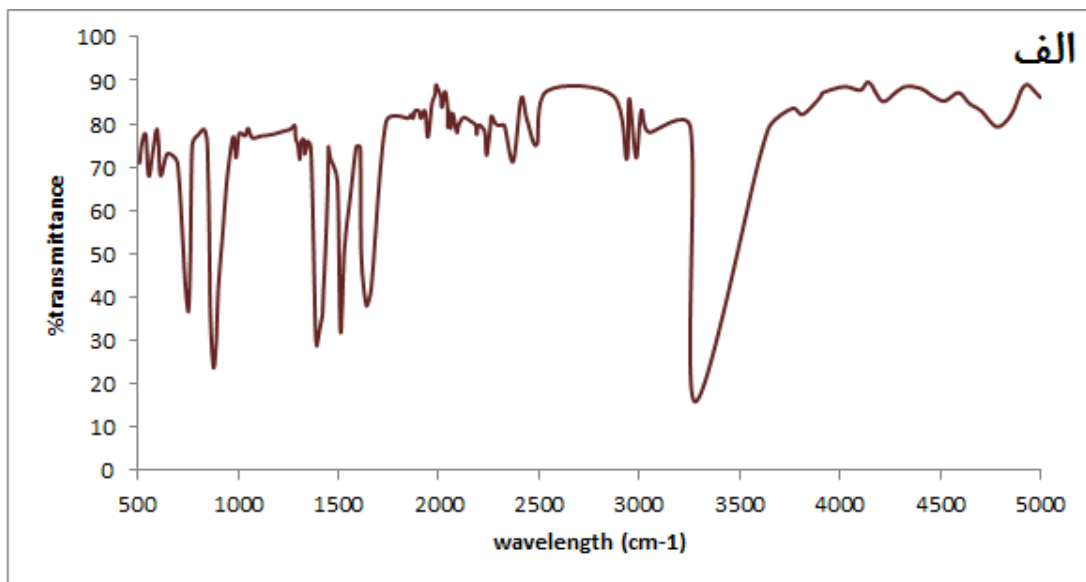
با توجه به نتایج به دست آمده از تست‌های حذف زیستی مطالعه‌ی حاضر، بهینه‌سازی نتایج با استفاده از نرم افزار Design Expert در محدوده‌ی پارامترهای مطالعه‌ی حاضر انجام شد. برای بهینه‌سازی نتایج حذف زیستی، تاثیر کلیه‌ی پارامترها یکسان در نظر گرفته شده و بهینه‌سازی با هدف حداکثر میزان حذف میکروپلاستیک پلی‌اتیلن در نظر گرفته شد. نتایج حاصل از بهینه‌سازی در جدول ۵ آورده شده است.

جدول ۵. بهینه سازی حذف میکروپلاستیک پلی‌اتیلن در محدوده‌ی پارامترهای آزمایش

پارامتر موثر	چگالی نوری	سرعت همزدن (دور بر دقیقه)	سایز (میکرومتر)	درصد حذف
مقدار بهینه	۰/۹۹۲	۱۷۰	۴۵/۳	۴۰/۴۱

با توجه به جدول ۵، درصد بهینه‌ی حذف میکروپلاستیک پلی‌اتیلن در محدوده‌ی پارامترهای آزمایش ۴۰/۴۱ درصد پیش‌بینی شد که در شرایط چگالی نوری ۰/۹۹۲، سرعت همزدن ۱۷۰ دور بر دقیقه و سایز میکروپلاستیک ۴۵/۳ میکرومتر به دست آمده است.

آنالیز FTIR در مطالعه‌ی حاضر با هدف ارزیابی تغییرات در گروه‌های عامل پلی‌اتیلن قبل و بعد از حذف زیستی (نمونه‌های شاهد و بهینه) انجام شد با توجه به شکل ۳-الف. پلی‌اتیلن در نمونه کنترل توسط گروه‌های عاملی آن شامل کشش CH_2 در طول موج حدود ۳۲۵۰، ارتعاش $\text{C}=\text{C}$ در طول موج ۱۶۰۰-۱۴۰۰ و پیوندهای CH در طول موج‌های ۸۷۶ و ۷۵۲ شناسایی شد. شکل ۳-ب نشان می‌دهد که پس از حذف زیستی پلی‌اتیلن با استفاده از ریزجلبک سندسموس، شدت پیوندهای CH_2 در طول موج حدود ۳۲۵۰ کاهش پیدا کرده است. کاهش شدت پیوندهای CH_2 در طول موج ۳۲۵۰ نانومتر پس از حذف زیستی نشان‌دهنده تغییراتی در ساختار پلی‌اتیلن است که احتمالاً به دلیل تجزیه یا تغییر در ساختار شیمیایی آن به وجود آمده است. این تغییرات می‌تواند ناشی از فعالیت‌های میکروجلبک باشد که به تجزیه پلیمر کمک می‌کنند. علاوه بر این، در طول موج حدود ۱۶۵۰، کاهش در شدت گروه کربونیل مشاهده شد که می‌تواند مربوط به آزاد شدن کربن از ساختار میکروپلاستیک باشد. گروه عاملی $\text{C}=\text{C}$ که در نمونه‌ی شاهد در طول موج ۱۶۰۰-۱۴۰۰ مشاهده شده بود نیز پس از حذف زیستی توسط یزجلبک سندسموس دچار کاهش شدت شده و پیک آن حذف شده است (Sugimoto et al., 2013; Bhuyar et al., 2021).



شکل ۳. آنالیز FTIR پلی اتیلن الف) قبل و ب) بعد از حذف زیستی توسط ریزجلبک سندسموس آبلیکوس

آنالیز ژل کروماتوگرافی نمونه شاهد نشان داد که وزن مولکولی پلی اتیلن $26/98 \pm 1/13$ گرم بر مول بود. پس از انجام پروسه‌ی حذف زیستی، وزن مولکولی میکروپلاستیک در نمونه‌ی بهینه حدود ۱۴ درصد کاهش یافته و به $23/17$ گرم بر مول رسید. سایر مطالعات نیز کاهش وزن مولکولی را به عنوان عاملی برای سنجش میزان تجزیه‌ی پلی اتیلن گزارش کرده‌اند (Wang et al., 2023).

۴- نتیجه گیری

مطالعه‌ی حاضر با هدف امکان‌سنجی حذف زیستی میکروپلاستیک پلی‌اتیلن با استفاده از ریز جلبک سندسموس *آبلیکوس* و بررسی اثر غلظت جلبک، سرعت همزدن و سایز ذرات میکروپلاستیک بر راندمان حذف زیستی انجام شد. نتایج نشان داد که حذف زیستی میکروپلاستیک پلی‌اتیلن وابستگی زیادی به غلظت جلبک و سایز میکروپلاستیک داشته و افزودن میکروپلاستیک در سایزهای کوچک به محیط کشت ریز جلبک سندسموس در غلظت بالا، باعث حذف زیستی بالاتری می‌شود. نتایج نشان داد که در چگالی نوری جلبک برابر با ۱، سایز میکروپلاستیک ۴۵ میکرومتر و سرعت همزدن ۱۵۰ دور بر دقیقه، درصد حذف میکروپلاستیک پلی‌اتیلن به ۳۹/۸۳ رسید. همچنین با بررسی نتایج حاصل از آنالیز FTIR مشخص شد که حذف گروه عاملی کربونیل در محدوده‌ی طول موج ۱۶۰۰-۱۴۰۰ می‌تواند به عنوان تایید حذف زیستی میکروپلاستیک پلی‌اتیلن مورد توجه قرار گیرد.

با توجه به نتایج به نظر می‌رسد که نیاز است مطالعات بیشتری بر روی اثر پارامترهای سلولی جلبک بر میکروپلاستیک پلی‌اتیلن انجام شده و داده‌های کامل‌تری در رابطه با اثر سمیت سلولی، تاثیر مواد پلیمری خارج سلولی ریز جلبک (EPS) بر راندمان حذف و همچنین اثر غلظت میکروپلاستیک بر راندمان حذف گردآوری شود. همچنین برای بررسی بیشتر تاثیر سایز میکروپلاستیک بر راندمان حذف، اثر سایه باید در مطالعات آتی مورد توجه قرار گیرد. از طرفی با توجه به عدم وجود مطالعات کافی در رابطه با مکانیسم‌های حذف زیستی میکروپلاستیک‌ها توسط ریز جلبک، بررسی مکانیسم‌های تجزیه در مطالعات آتی پیشنهاد می‌شود.

۵- منابع

An, L., Liu, Q., Deng, Y., Wu, W., Gao, Y. and Ling, W., (2020), Sources of microplastic in the environment. *Microplastics in terrestrial environments: Emerging contaminants and major challenges*, pp.143-159. ISSN 1616-864X.

Bhuyar, P., Sundararaju, S., Feng, H.X., Rahim, M.H.A., Muniyasamy, S., Maniam, G.P. and Govindan, N., (2021), Evaluation of Microalgae's Plastic Biodeterioration Property by a Consortium of Chlorella sp. and Cyanobacteria sp. *Environmental Research, Engineering and Management*, 77(3), pp.86-98. <https://doi.org/10.5755/j01.erem.77.3.25317>.

Boucher, J., (2017), Primary microplastics in the oceans: a global evaluation of sources. <https://doi.org/10.2305/IUCN.CH.2017.01.en>.

Cheng, Y.R. and Wang, H.Y., (2022), Highly effective removal of microplastics by microalgae *Scenedesmus abundans*. *Chemical Engineering Journal*, 435, p.135079. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.135079>.

Chia, R.W., Lee, J.Y., Kim, H. and Jang, J., (2021), Microplastic pollution in soil and groundwater: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 19(6), pp.4211-4224. <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01297-6>.

Cunha, C., Faria, M., Nogueira, N., Ferreira, A. and Cordeiro, N., (2019), Marine vs freshwater microalgae exopolymers as biosolutions to microplastics pollution. *Environmental pollution*, 249, pp.372-380. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.03.046>.

Cunha, C., Silva, L., Paulo, J., Faria, M., Nogueira, N. and Cordeiro, N., (2020), Microalgal-based biopolymer for nano-and microplastic removal: a possible biosolution for wastewater treatment. *Environmental Pollution*, 263, p.114385. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114385>.

Cutroneo, L., Reboa, A., Besio, G., Borgogno, F., Canesi, L., Canuto, S., Dara, M., Enrile, F., Forioso, I., Greco, G. and Lenoble, V., (2020), Microplastics in seawater: sampling strategies, laboratory methodologies, and identification techniques applied to port environment. *Environmental Science and Pollution Research*, 27, pp.8938-8952. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-07783-8>.

Fan, X., Kong, L., Wang, J., Tan, Y., Xu, X., Li, M. and Zhu, L., (2024), Surface-programmed microbiome assembly in phycosphere to microplastics contamination. *Water Research*, 262, p.122064. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2024.122064>.

Geyer, R., Jambeck, J.R. and Law, K.L., (2017), Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science advances*, 3(7), p.e1700782. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1700782>.

Hadian-Ghazvini, S., Hooriabad Saboor, F. and Safaee Ardekani, L., (2022), Bioremediation techniques for microplastics removal. In *Microplastics Pollution in Aquatic Media: Occurrence, Detection, and Removal* (pp. 327-377). Singapore: Springer Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-16-8440-1_15.

Iyare, P.U., Ouki, S.K. and Bond, T., (2020), Microplastics removal in wastewater treatment plants: a critical review. *Environmental Science: Water Research & Technology*, 6(10), pp.2664-2675. <https://doi.org/10.1039/d0ew00397b>.

Li, J., Zheng, X., Liu, X., Zhang, L., Zhang, S., Li, Y., Zhang, W., Li, Q., Zhao, Y., Chen, X. and Wang, X., (2023), Effect and mechanism of microplastics exposure against microalgae: Photosynthesis and oxidative stress. *Science of the Total Environment*, 905, p.167017. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.167017>.

López-Pacheco, I.Y., Castillo-Vacas, E.I., Castañeda-Hernández, L., Gradiz-Menjívar, A., Rodas-Zuluaga, L.I., Castillo-Zacarias, C., Sosa-Hernández, J.E., Barceló, D., Iqbal, H.M. and Parra-Saldívar, R., (2021), CO₂ biocapture by *Scenedesmus* sp. grown in industrial wastewater. *Science of the Total Environment*, 790, p.148222. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148222>.

Magalhães, S., Alves, L., Medronho, B., Romano, A. and Rasteiro, M.D.G., (2020), Microplastics in ecosystems: from current trends to bio-based removal strategies. *Molecules*, 25(17), p.3954. <https://doi.org/10.3390/molecules25173954>.

Miloloža, M., Cvetnić, M., Kučić Grgić, D., Ocelić Bulatović, V., Ukić, Š., Rogošić, M., Dionysiou, D.D., Kušić, H. and Bolanča, T., (2022), Biotreatment strategies for the removal of microplastics from freshwater systems. A review. *Environmental chemistry letters*, 20(2), pp.1377-1402. <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01370-0>.

Nava, V. and Leoni, B., (2021), A critical review of interactions between microplastics, microalgae and aquatic ecosystem function. *Water research*, 188, p.116476. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116476>.

Park, H. and Park, B., (2021), Review of microplastic distribution, toxicity, analysis methods, and removal technologies. *Water*, 13(19), p.2736. <https://doi.org/10.3390/w13192736>.

Prata, J.C., da Costa, J.P., Lopes, I., Andrady, A.L., Duarte, A.C. and Rocha-Santos, T., (2021), A One Health perspective of the impacts of microplastics on animal, human and environmental health. *Science of the Total Environment*, 777, p.146094. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146094>.

Priya, A.K., Jalil, A.A., Dutta, K., Rajendran, S., Vasseghian, Y., Karimi-Maleh, H. and Soto-Moscoso, M., (2022), Algal degradation of microplastic from the environment: Mechanism, challenges, and future prospects. *Algal Research*, 67, p.102848. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102848>.

Sarmah, P. and Rout, J., (2020), Role of algae and cyanobacteria in bioremediation: prospects in polyethylene biodegradation. In *Advances in cyanobacterial biology* (pp. 333-349). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819311-2.00022-X>.

Silambarasan, S., Logeswari, P., Sivaramakrishnan, R., Incharoensakdi, A., Kamaraj, B. and Cornejo, P., (2023), *Scenedesmus* sp. strain SD07 cultivation in municipal wastewater for pollutant removal and production of lipid and exopolysaccharides. *Environmental Research*, 218, p.115051. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.115051>.

Su, Y., Gao, L., Peng, L., Diao, X., Lin, S., Bao, R. and Mehmood, T., (2023), Heterogeneous aggregation between microplastics and microalgae: May provide new insights for microplastics removal. *Aquatic Toxicology*, 261, p.106638. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2023.106638>.

Sugimoto, M., Shimada, A., Kudoh, H., Tamura, K. and Seguchi, T., (2013), Product analysis for polyethylene degradation by radiation and thermal ageing. *Radiation Physics and Chemistry*, 82, pp.69-73. <https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2012.08.009>.

Wang, C., Liu, Y., Chen, W.Q., Zhu, B., Qu, S. and Xu, M., (2021), Critical review of global plastics stock and flow data. *Journal of Industrial Ecology*, 25(5), pp.1300-1317. <https://doi.org/10.1111/jiec.13125>.

Wang, X., Zhao, Y., Zhao, L., Wan, Q., Ma, L., Liang, J., Li, H., Dong, J. and Zhang, M., (2023), Effects of microplastics on the growth, photosynthetic efficiency and nutrient composition in freshwater algae *Chlorella vulgaris* Beij. *Aquatic Toxicology*, 261, p.106615. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2023.106615>.

Wang, Z., Chen, H., Zhang, Y. and Wang, Q.,(2023), Study on the Mechanism of Molecular Weight Reduction of Polyethylene Based on Fe-Montmorillonite and Its Potential Application. *Polymers*, 15(6), p.1429. <https://doi.org/10.3390/polym15061429>.

Wu, X., Zhao, X., Chen, R., Liu, P., Liang, W., Wang, J., Teng, M., Wang, X. and Gao, S., (2022), Wastewater treatment plants act as essential sources of microplastic formation in aquatic environments: A critical review. *Water Research*, 221, p.118825. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2022.118825>.

Yu, Y., Zhou, D., Li, Z. and Zhu, C., (2018), Advancement and challenges of microplastic pollution in the aquatic environment: a review. *Water, air, & soil pollution*, 229, pp.1-18. <https://doi.org/10.1007/s11270-018-3788-z>.

Zhang, C., Chen, X., Wang, J. and Tan, L., (2017), Toxic effects of microplastic on marine microalgae *Skeletonema costatum*: interactions between microplastic and algae. *Environmental pollution*, 220, pp.1282-1288. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.11.005>.