

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra zoologie a rybářství



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

Vliv mikroplastů na populace kytovců

Bakalářská práce

Autor práce: Tereza Jelínková

Obor studia: Speciální chovy

Vedoucí práce: Ing. Miloslav Petrtýl, Ph.D.

© 2023 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Vliv mikroplastů na populace kytovců" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 21.4.2023

Poděkování

Ráda bych poděkovala mému vedoucímu práce panu Ing. Miloslavu Petrtýlovi, Ph.D. za pomocnou ruku, dále mé rodině, a hlavně svému partnerovi za obrovskou psychickou podporu při psaní této bakalářské práce.

Vliv mikroplastů na populaci kytovců

Souhrn

Tato bakalářská práce byla psána formou literární rešerše a byla zaměřena na ohrožení kytovců mikroplasty. Cílem této práce je zhodnocení rizik a přítomnosti mikroplastů v kytovcích.

Úvod literární rešerše je zaměřen na popis plastů a jejich historii využívání, dále popis makroplastů, mezoplastů a mikroplastů, které byly následně rozděleny na primární a sekundární a podrobněji popsány.

Další část se zabývá tématem přenosu mikroplastů do vodního prostředí a následně metodami vyšetření mikroplastů ve vodním prostředí. Na tyto kapitoly též navazuje i kapitola řešící negativní dopady mikroplastů a jejich požívání vodními organismy.

Hlavní část této práce je věnována mikroplastům u kytovců, a to jak u ozubených kytovců, tak i u kosticovců. V této části byly popsány potvrzené výskyty mikroplastů v gastrointestinálním traktu nebo trusu u druhů z čeledi vorvaňovcovitých, narvalovitých, delfínovitých, Pontoporiidae, sviňuchovitých a plejtvákovitých. Jsou zde i vědecké práce, které popsaly první výskyt mikroplastů u daných druhů kytovců.

Jako poslední téma se v práci popisuje dopad pandemie COVID-19 na kytovce a jak pandemie zasáhla vodní prostředí. V této části se též zkoumá rozpad jednorázových chirurgických roušek za účelem zhodnocení počtu uvolněných mikroplastů v čisté vodě i v chemických roztocích.

Klíčová slova: mikroplasty, makroplasty, kytovci, ozubení, kosticovci, životní prostředí

Impact of microplastics on cetaceans populations

Summary

This bachelor thesis was written in the form of a literature search and focused on the threat of microplastics to cetaceans. The aim of this thesis is to assess the risks and presence of microplastics in cetaceans.

The introduction of the literature search focuses on the description of plastics and their history of use, followed by a description of macroplastics, mesoplastics and microplastics, which were then divided into primary and secondary and described in more detail.

The next section deals with the topic of the transfer of microplastics into the aquatic environment and subsequently the methods of investigation of microplastics in the aquatic environment. These chapters are also followed by a chapter addressing the negative impacts of microplastics and their ingestion by aquatic organisms.

The main part of this thesis is devoted to microplastics in cetaceans, both toothed whales and baleen whales. In this section, confirmed occurrences of microplastics in the gastrointestinal tract or feces of species from the families of Ziphiidae, Monodontidae, Delphinidae, Pontoporiidae, Phocoenidae, and Balaenopteridae, have been described. There are also scientific papers that have described the first appearance of microplastics in the cetacean species in question.

As a final topic, this section of the thesis describes the impact of the COVID-19 pandemic on cetaceans and how the pandemic affected the aquatic environment. This section also examines the breakdown of disposable surgical masks to assess the number of microplastics released in pure water and in chemical solutions.

Keywords: microplastics, macroplastics, cetaceans, toothed whales, baleen whales environment

Obsah

1	Úvod	7
2	Cíl práce	8
3	Literární rešerše	9
3.1	Historie využívání plastů	9
3.2	Makroplasty	9
3.3	Mezoplasty	9
3.4	Mikroplasty	10
3.4.1	Primární mikroplasty	11
3.4.2	Sekundární mikroplasty	11
3.5	Způsoby přenosu do vodního prostředí	11
3.6	Metody vyšetření přítomnosti mikroplastů ve vodním prostředí	11
3.7	Negativní dopady mikroplastů ve vodním prostředí	14
3.7.1	Dopady požití mikroplastů mořskou faunou	18
3.8	Mikroplasty u kytovců	19
3.8.1	Požítí mikroplastů kytovci	21
3.8.2	Ozubení kytovci	22
3.8.3	Kosticovci	34
3.9	Kytovci a COVID-19	38
4	Závěr	42
5	Literatura	43

1 Úvod

Plast, jako jeden z nejpoužívanějších materiálů na světě, představuje ohrožení nejen nejmenších vodních organismů, ale i velkých kytovců.

Prvním problémem byly makroplasty, které se začaly hojně zkoumat, nyní jsou však mnohem větším problémem mikroplasty, kterým se výzkumy věnují teprve krátkou dobu. V této práci bude vysvětleno, jak mikroplasty ohrožují vodní živočichy a jakou měrou jsou kytovci tímto materiálem zasaženi.

Mikroplasty jsou malé kousky plastových materiálů, které jsou menší než 5 mm v průměru a které se nacházejí v oceánech a vodních tocích po celém světě. Tyto kousky se mohou uvolňovat do prostředí v důsledku rozpadu větších plastových předmětů (makroplastů a mezoplastů) díky fyzikálním, chemickým a biologickým procesům nebo být přímo vyráběny jako mikroplastové částice používané v kosmetických přípravcích a jiných průmyslových procesech.

Mikroplasty mohou mít negativní dopad na kytovce a další vodní organismy, zejména kvůli jejich akumulaci v tělech živočichů a potenciální toxicitě. Kytovci jsou zvláště ohroženi mikroplasty, protože se žijí převážně planktonem a rybami, jež mohou mikroplasty vstřebávat. Tyto mikroskopické částice plastu se poté hromadí v kytovcích a mohou způsobit vážné zdravotní problémy, jako je zánět trávicího traktu, snížení schopnosti těla zpracovávat potravu a vstřebávat živiny, ovlivnění imunitního systému a narušení hormonální rovnováhy.

Existuje řada studií, které ukazují, že kytovci, jak druhy z podřádu ozubení, tak z podřádu kosticovci, mohou být vystaveni mikroplastům až do velmi vysokých koncentrací. Z tohoto důvodu se provádí výzkum, jakým způsobem mikroplasty ovlivňují kytovce a jak je možné ochránit tyto velké savce. Mezi významná opatření pak patří omezení produkce plastů, recyklace, výzkum a sledování hromadění mikroplastů v oceánech a vodních tocích a snaha minimalizovat dopad mikroplastů na životní prostředí.

2 Cíl práce

Cílem této bakalářské práce je literární rešerše zaměřená na hodnocení přítomnosti mikroplastů v mořském prostředí a zhodnocení rizik a vlivu na populace volně žijících kytovců.

3 Literární rešerše

3.1 Historie využívání plastů

Plasty jsou obecně syntetické organické polymery, extrahované z ropy nebo plynu. První plast, bakelit, byl vyroben v roce 1907. Později se zjistilo, že plasty mají mnohoznačné využití a jejich masová výroba byla zahájena v roce 1940 (Plastics Europe 2010). Díky své trvanlivosti jsou plasty dodnes nejpoužívanějším materiálem. Pokud se dnes rozhlédneme kolem, tak plasty můžeme najít opravdu všude, kam se podíváme, a to díky masové výrobě od 40. let 20. století. Mnoho lidí si stále neuvědomuje, že plasty a plastové produkty představují velký problém pro lidskou populaci i pro životní prostředí. Je to totiž materiál, který je velice problematické zlikvidovat. Poslední desetiletí si proto lidé všimají hromadění plastů, jak na zemi, tak v oceánech a mořích. Odhaduje se, že až 10 % vyrobených plastů končí v oceánech, kde mohou přetrvávat a hromadit se (Krause et al. 2006). Jak důležité jsou plasty pro člověka, tak nebezpečné jsou pro mořské živočichy. Díky své odolnosti přetrvávají v životním prostředí stovky let. Dle Jenny Jambeck et al. (2015) se předpokládá, že do roku 2025 by hmotnost makroplastového odpadu v oceánech mohla dosáhnout 250 milionů tun. Většina studií se shoduje na tomto velikostním rozdělení plastů, a to makroplasty (větší jak 20 mm), mezoplasty (5–20 mm) a mikroplasty (menší než 5 mm).

3.2 Makroplasty

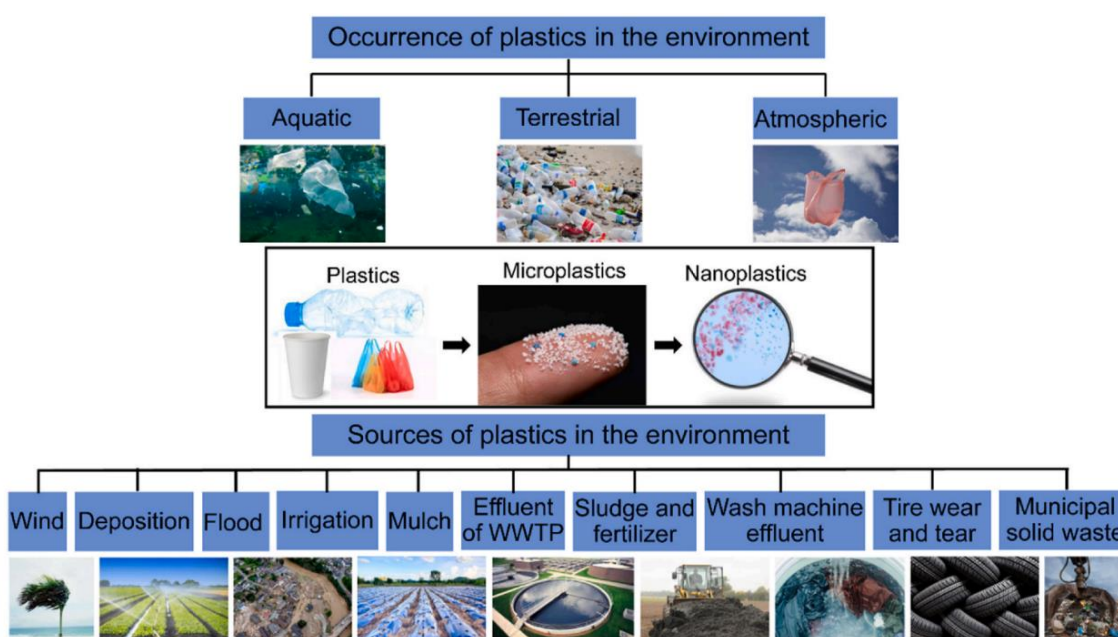
Pod pojmem makroplasty si můžeme představit velké kusy plastů (větší jak 20 mm) nebo celé plastové produkty jako jsou plastové obaly, rybářské sítě, plovoucí plastové odpadky od potravin atd. Makroplasty byly jako první předmětem výzkumu v oblasti životního prostředí a dle Cole et al. (2011) mohou za zranění a smrt mořských ptáků, savců, ryb a plazů v důsledku zamotání se do nich nebo jejich požití. Takto velké kusy plastů mohou sloužit i jako způsob transportu pro invazivní druhy.

3.3 Mezoplasty

Mezoplasty (MEP) jsou specifické malými kousky plastů, které mají velikost mezi 5 mm až 20 mm. Vznikají fragmentací makroplastů, jako jsou plastové tašky, láhve nebo obaly od potravin a dále sami fragmentují na mikroplasty (Bancin et al. 2019). Stejně jako makroplasty a mikroplasty, tak i mezoplasty ohrožují nejen mořské živočichy, ale také poškozují lodě v důsledku zapletení do lodních šroubů, kotev, kormidel a ucpání sacího potrubí a ventilů (Mouat et al. 2010). Tyto malé kousky plastů jsou snadno dostupné a absorbovatelné organismy v mořském prostředí, jako jsou koryši, ryby a další živočichové (např. kytovci). Díky své velikosti jsou mezoplasty snadno pozřeny organismy a tím se stanou součástí potravního řetězce, což může mít negativní dopad na zdraví a plodnost vodních organismů. Problém mezoplastů a mikroplastů neustále roste, protože se plastové odpady v oceánech kontinuálně hromadí.

3.4 Mikroplasty

V dnešní době jsou hlavním předmětem výzkumu mikroplasty (MP). Jde o drobné plastové částice, vlákna a úlomky pocházející z rozkladu makroplastů a mezoplastů, nebo jsou již vyrobeny v mikroskopické velikosti. Mikroplasty jsou definovány velikostí menší než 5 mm v průměru a tato velikost je činí velmi obtížně odstranitelnými z vodního prostředí. Nejvyšší hustota mikroplastů se nachází u pobřeží, ale díky oceánským proudům jsou přenášeny i do méně cirkulovaných vod, anebo jsou vyplavovány na pobřeží (Ivar Do Sul & Costa, 2014). Díky rozpadu makroplastů na menší části se také rozšiřuje jejich vliv na více druhů mořských živočichů, tedy jak na zooplankton, tak i na vrcholové predátory (Cózar et al. 2014). Také díky rozdílnému složení, tvaru a hustotě se mikroplasty mohou nacházet v celém vodním sloupci, a to i v sedimentech dna, mohou plavat na hladině, být neutrálně plovoucí nebo se potápět (Cole et al. 2011). Mezi nejrozšířenější mikroplasty patří polyethylen (PE), polyvinylchlorid (PVC), polypropylen (PP), polystyren (PS), polyester (PES), polyethylentereftalát (PET), polyamid (PA) a polyuretan (PU) (Hidalgo-Ruz et al. 2012; Andrady 2017). Mikroplasty z PS, PE a PP vznikají z primárních plastových výrobků, jako jsou plastové láhve nebo plastové oděvy a obaly na potraviny (Ahmed et al. 2022), zatímco mikroplasty z PES, PA a PET pocházejí z primárních plastů používaných v textilním průmyslu (Hernandez et al. 2017). Na Obrázku 1 můžeme vidět několik zdrojů mikroplastů v prostředí.



Obrázek 1. Zdroje mikroplastů v prostředí (Ahmed et al. 2022).

Mikroplasty se dále rozdělují na primární a sekundární mikroplasty.

3.4.1 Primární mikroplasty

Primární mikroplasty jsou takové plasty, které již byly vyrobeny v mikroskopické velikosti. Hlavní využití mají v kosmetice (exfoliační čisticí prostředky na ruce a peelingové přípravky na obličej) (Zitko & Hanlon 1991), čistících prostředcích a medicíně (Patel et al. 2009). Je nutné ale podotknout, že většina produktů v kosmetice nahradila tyto primární mikroplasty přírodními produkty. Primární mikroplasty se také používají v technologii tryskání vzduchu, kdy se při tomto procesu tryská akrylát, melamin nebo polyester (Cole et al. 2011).

3.4.2 Sekundární mikroplasty

Sekundární mikroplasty vznikají fragmentací a degradací většího plastového odpadu. Jsou to tedy drobné úlomky makroplastu a mezoplastu. K fragmentaci větších kusů plastů dojde za působení fyzikálních, biologických a chemických procesů, jako je sluneční záření, oděr nebo působení vln a působení turbulencí (Browne et al. 2007). Rychlost tohoto zvětvávání neboli degradace, závisí na těchto procesech. Vznikají tedy až v životním prostředí na rozdíl od primárních mikroplastů.

3.5 Způsoby přenosu do vodního prostředí

První zmínka o plasty v mořském prostředí je ze 70. let minulého století (Carpenter & Smith 1972). Plastový odpad se nejčastěji dostává do moří a oceánů řekami, menšími vodními toky, odpadními vodami, domácími či průmyslovými kanalizačními systémy z pevniny, dále díky pobřežnímu cestovnímu ruchu, rekreačnímu a komerčnímu rybolovu, námořním plavidlům a námořnímu průmyslu a též hurikány a záplavy mohou za přenos plastového odpadu z pevniny do moří (Cole et al. 2011). Do roku 2021 bylo zdokumentováno cca 2110 druhů organismů, které byly zasaženy mořským odpadem (Zhu et al. 2019).

3.6 Metody vyšetření přítomnosti mikroplastů ve vodním prostředí

Vzorky mikroplastů určené pro pozdější analýzu se získávají z vodního prostředí odběrem z hladiny, z vodního sloupce, ze sedimentů dna a z pobřeží. Odběrové vzorky mohou být selektivní, hromadné nebo vzorky se sníženým objemem. Selektivní odběr vzorků in situ znamená, že plastové zbytky jsou obvykle rozpoznány pouhým okem a jsou sbírány z povrchu (např. písčné pláže). Tato technika je užitečná při zkoumání plastů, které mají kulovitý tvar a relativně velké rozměry, ale je vysoká šance, že plast bude chybět či bude zaměněn, když je smíchán s jiným odpadem nebo má nepravidelný tvar. Hromadné odběry vzorků se upřednostňují, když není možná vizuální identifikace plasty, tj. když jsou částice smíchány s usazeninami na dně nebo jsou částice příliš malé pro filtraci v místě odběru nebo pro rozpoznání pouhým okem. Hromadné odběry vzorků vody se používají jen zřídka kvůli nižšímu obsahu plastů ve vodě. Odběr vzorků se sníženým objemem je metoda nejvhodnější pro odběr vzorků vody. Tato metoda vychází z redukce objemu výchozího vzorku a pro následnou analýzu zůstane pouze malá část z něj obsahující mikroplasty. Vzorky vody se obvykle

koncentrují filtrací velkých objemů vody přes planktonové sítě. Někdy se tento postup užívá i pro dnové sedimenty (Zobkov & Esiukova 2018).

Pro separaci mikroplastických částic ze vzorků se používají následující postupy dle doporučení NOAA (Národní úřad pro oceán a atmosféru) (Masura et al. 2015) :

- průtoková nanofiltrace nebo nanofrakcionace částic menších než 1 μm
- standardní filtr pro stanovení velikosti částic od 0,2 do 1 μm
- použití neustonové sítě fytoplanktonu pro částice 50–80 μm
- zooplanktonová neustonová síť pro částice 330 μm
- 5 mm síto pro prosévání

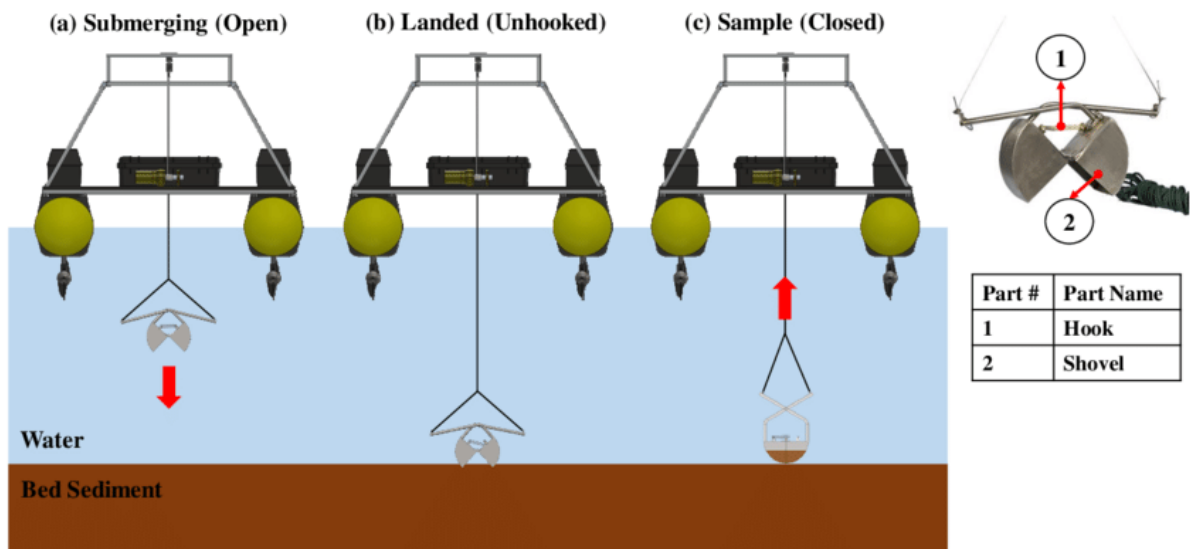
Doporučuje se používat síta s oky 500 μm a odděleně zpracovávat částice zadržené a procházející sítím jako povinnou operaci v rámci každého z výše uvedených postupů, a to umožňuje porovnat výsledky hustotní separace a filtrace s daty získanými analýzou větších frakcí (0,5–5 mm) na sítích.

K odběru vzorků z vodní hladiny se používají především sítě neuston, jejichž hlavní výhodou je rychlá filtrace velkých objemů vody a získání koncentrovaného vzorku. Umožňují získat reprezentativní vzorek z vodní hladiny, sbírat plastové částice v řádu milimetrů a současně sbírat mikroplasty a zooplankton pro porovnání jejich množství (Zobkov & Esiukova 2018).

K odběru vzorků z vodního sloupce nejčastěji slouží zooplanktonové sítě, kontinuální záznamník planktonu (CPR) (Thompson et al. 2004), vlečné sítě pro lov bentických organismů (Lattin et al. 2004) a různá ponorná čerpadla.

Odběry vzorků z pobřeží se provádí po celém pobřeží (zde pláži), v několika samostatných zónách, podél zarovnaní různých zón pláže, podél linie maximálního přílivu nebo odlivu a v příkopech za pláží. Odběr vzorků zpravidla zahrnuje horních 5 cm sedimentu, ale může být také omezen pouze na povrch pláže nebo se provádí i do hloubky desítek centimetrů. Pro odběr vzorků plastových granulí a úlomků se často používají jednoduché nástroje (pinzety, kovové lžičky nebo naběračky) nebo se částice jednoduše odebírají ručně pomocí speciální nádoby nebo sáčku. Strategie sběru je různá: lze se pohybovat ve stejném směru podél pobřeží a nabírat materiál lžící či lopatkou nebo se lze pohybovat ve speciálním rámu v určité oblasti.

Postupy pro odběr vzorků u dna usazenin na obsah mikroplastů jsou podobné jako při stanovení jejich chemického složení nebo biologického hodnocení. Vzorky se odebírají pomocí dálkově ovládané sběrné lžice (modely Ekman-Bidge, Van-Veen a Peterson), vlečnou sítí pro lov při dně nebo vrtným jádrem. Model Van Veen lze vidět na Obrázku 2.



Obrázek 2. Dálkově ovládaná sběrná lžíce modelu Van Veen určená ke sběru usazenin dna (Bae et al. 2019).

Je nutné též dodržet zásady skladování a konzervace vzorků, aby plasty zůstaly v původním stavu jako při odběru, a to:

- uchování ve tmě (pokud je to možné, při teplotě 4 °C bez ohledu na matici vzorku)
- zmrazení (až na -20 °C) vzorků dnových sedimentů a filtrů
- použití různých fixačních roztoků (ethanol, DESS, 4–5% roztok formalínu, 5-10% roztok HCl)
- kombinované použití fixačního roztoku a skladování při teplotě 4 °C
- sušení při pokojové teplotě a skladování ve tmě (lodní analýza)

Pro přípravu vzorků existují 4 fáze, a to hustotní separace, filtrace, prosévání a vyhívání organické hmoty. Všechny jsou zaměřeny na separaci mikroplastických částic od hlavního materiálu vzorku (voda, spodní sedimenty a písek) a odstranění organického materiálu.

Mikroplasty identifikujeme vizuálním zkoumáním (pouhým okem nebo mikroskopem) a tříděním koncentrovaných vzorků. Je to často první krok k oddělení plastů od organických zbytků a jiného neplastového odpadu, jako je sklo nebo pryskyřice. V případě vizuálního zkoumání bez mikroskopu je přiřazení částice plastům obvykle založeno na takových vlastnostech, jako je lesk, jas, neobvyklá barva, tvar, struktura, elasticita nebo tvrdost určená pinzetou. Mikroplasty větší než 1 mm lze detekovat pod mikroskopem, pokud chybí buněčná struktura a jiné organické formy částic, vlákna mají jednotnou barvu a tloušťku po celé jejich délce, částice má čistou a jednotnou barvu. Pokud jsou průhledné nebo bílé, měly by být zkoumány fluorescenčním mikroskopem při velkém zvětšení. K identifikaci mikroplastů nižších velikostních skupin by měla být použita pouze spektrometrická metoda. Volba reprezentativní detekční metody má prvořadý význam při hodnocení kontaminace mikroplasty (Zobkov & Esiukova 2018).

Mikroplastické částice nacházející se v mořském prostředí lze dále charakterizovat podle několika kritérií, jako je velikost, tvar, specifická hustota, barva, chemické složení a koncentrace ve vodě. Mikroplastickou analýzu lze proto rozdělit na dvě hlavní složky:

morfologický popis se stanovením fyzikálních a chemických vlastností částic a kvantitativní analýzu se stanovením chemického složení polymerů. Pro morfologickou charakterizaci povrchu plastů se používá skenovací elektronová mikroskopie (SEM) a některé její varianty. Velikost lze určit přímo, pomocí měřicích přístrojů, např. mikroskopu se stupnicí, digitálního mikroskopu nebo nepřímo pomocí sady sít s rozdělením vzorku mikroplastů do velikostních skupin; nebo kombinovaným použitím sít a měřicích přístrojů. Barva je jednou z hlavních charakteristik plastů při použití vizuální identifikace. Nejběžnější barva je bílá nebo jí blízká jako je vybledlá žlutá nebo krémová barva.

K chemické identifikaci mikroplastů se používají analytické techniky:

- **Pyrolýza GC-MS** se používá k posouzení chemického složení mikroplastických částic analýzou plynných produktů jejich tepelného rozkladu. Pyrolýza GC-MS umožňuje s dostatečnou přesností určovat typy polymerů. V případě analýzy mikroplastů má však tento přístup značnou nevýhodu: částice musí být ručně umístěny do trubice pro pyrolýzu, a kromě toho metoda umožňuje analyzovat pouze jednu částici na cyklus, a proto se špatně hodí pro zpracování velkého počtu vzorků.
- **Ramanova spektroskopie** je účinná metoda chemické analýzy. Výhodou této technologie je možnost provádět měření přímo ve vodě za použití skleněných nebo křemenných kyvet pro měření bez přípravy vzorků.
- Kombinací předchozí metody s mikroskopickou analýzou je možné získat výkonnější nástroj pro studium mikroplastů – **Ramanovu mikrospektroskopii**, která také poskytuje informace o krystalové struktuře polymeru a umožňuje určit typ polymeru pro ultramale plastové částice o velikosti až několika mikrometrů.
- **IR spektrometrie** se v současnosti nejčastěji používá k identifikaci mikroplastů. Porovnává IR absorpční spektrum nebo propustnost vzorku se spektry známých syntetických látek. K tomu se používají různé spektrometrické přístroje: infračervený spektrometr, IR Fourierův spektrometr a infračervený spektrometr pro provoz v blízké infračervené oblasti (Zobkov & Esiukova 2018).

3.7 Negativní dopady mikroplastů ve vodním prostředí

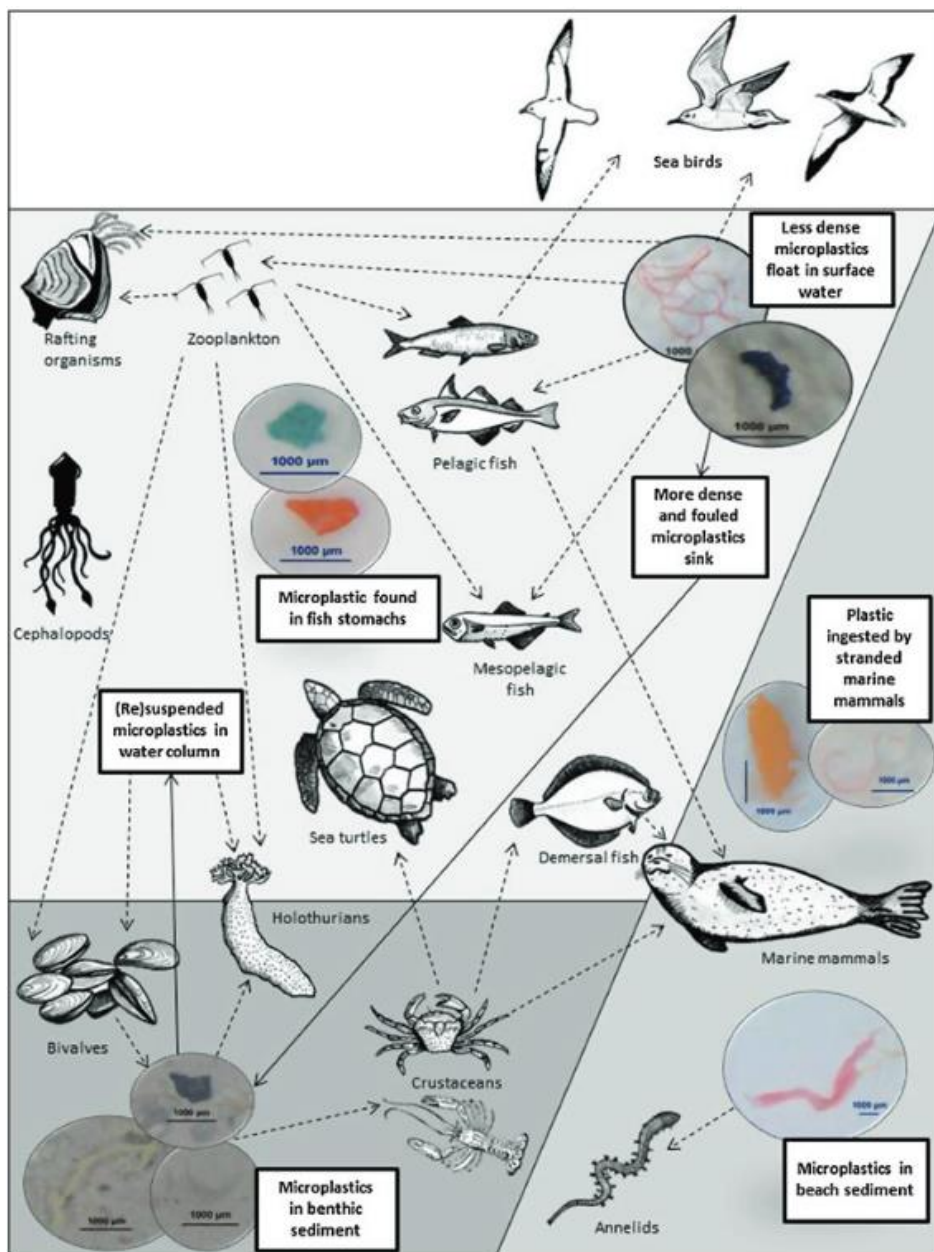
Jak již bylo uvedeno, mikroplasty jsou všudypřítomné ve vodním sloupci, jak plovoucí na hladině, tak i v sedimentech dna, proto s nimi přijde do styku v podstatě každý vodní organismus. Díky malé velikosti jsou mikroplasty požívány mořskou faunou, to má za následek uvolňování toxických látek do těla organismu a dále se takto dostávají mikroplasty i do mořských predátorů díky trofickému přenosu. Tomu bych se chtěla věnovat v této části práce a v další podkapitole pak samotným dopadům tohoto procesu.

Pozření mikroplastů bývá pasivní, protože mořská fauna nedokáže rozlišit mikroplasty od přirozené potravy (Lusher et al. 2016), nebo (jelikož se částičky plastů mohou lišit v barvě, velikosti a tvaru) mohou být pozřeny i aktivně, protože si je může predátor splést s kořistí (Lusher 2015). Organismus může také požírat mikroplasty nepřímo prostřednictvím konzumace kořisti, která již obsahuje úlomky mikroplastů. Mikroplasty se mohou do těla

jedince dostat i díky přenosu z infikovaných dospělců na mláďata prostřednictvím regurgitace (Carey 2011).

Mohli bychom říct, že požití mikroplasty se vyloučí z těla v následujících hodinách, ale bohužel tomu tak není. U mlžů se zjistilo, že mikroplasty zůstaly v jejich žábrech, trávicích žlázách, žaludku a oběhovém systému (Browne et al. 2008; von Moos et al. 2012). Pokud se tedy mořský predátor živí mlži, přijímá tím i mikroplasty. Toto se ale týká i člověka, který mlže také pojídá. Významným pojídačem mikroplastů je i zooplankton, který si též zaměňuje potravu za mikroplasty, což vytváří možnost trofického přenosu na dravé druhy ve vyšších trofických úrovních (Egbeocha et al. 2018). Schéma interakcí a biologických vazeb je znázorněno na Obrázku 3.

Velcí mořští živočichové jsou velice náchylní na pozření mikroplastů, například velryby a jiní kytovci, kteří se živí filtrováním potravy z vody. Existuje zde veliké riziko požití mikroplastů unášených mořským prostředím či přímo obsažených právě v zooplanktonu, rybách a dalších organismech, které jsou jejich potravou. Díky zkoumání střevních buněk na zachycených zvířatech se ukázalo, že v celém trávicím traktu byly přítomny mikroplasty společně s potravou. U dalších vyšetřovaných exemplářů, jako u plejtváka obrovského, bylo zjištěno, že jeho trávicí trakt byl plný mikroplastů, ale nebyla nalezena žádná potrava (Santos et al. 2001; Souza et al. 2005). To potom vyvolává otázku, zda mikroplasty neblokují trávicí trakt. Hlavní příjem mikroplastů do koticovců je tedy společně s potravou při jejím filtrování z obrovského množství vody, kdy kytovec nemůže mikroplasty oddělit. Ozubení kytovci, lachtani, tuleni atd., tedy přijdou k mikroplastům konzumací kontaminované potravy. Jedná se o trofický přenos a je velice významnou nepřímou cestou kontaminace mikroplasty z již ulovené potravy.



Obrázek 3. Interakce mikroplastů v mořském prostředí včetně environmentálních vazeb (plné šipky) a biologických vazeb (přerušované šipky), které zvýrazňují potenciální trofický přenos (Lusher 2015).

V následujících studiích, týkajících se kytovců, se setkáváme s obtížemi získávání vzorků analyzovaných na kontaminaci mikroplasty a jejich rozlišování mezi jejich přímým nebo nepřímým pozřením. Pokud mluvíme o trofickém přenosu, tedy mezi predátorem a kořistí, jedná se o nepřímý způsob pozření mikroplastů.

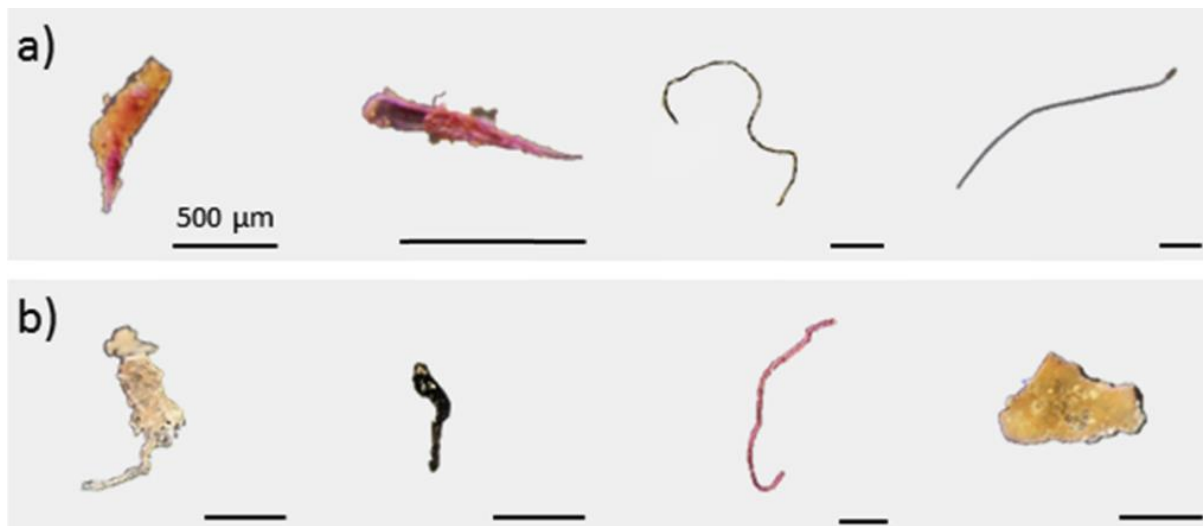
Při výzkumu velkých savců, jako jsou kytovci chovaní v zajetí, je však nutno brát ohled na etická omezení, jako je jejich použití k laboratorním výzkumům. Proto ve studii Nelms et al. (2018) byli použiti k výzkumu trofického přenosu MP (mikroplastů) tuleni kuželozubí (*Halichoerus grypus*) chovaní v zajetí, kteří se krmili z volně chycených makrel obecných (*Scomber scombrus*).

Cílem této studie bylo zhodnotit množství mikroplastů přítomných v trusu tuleňů i v jejich potravě (makrele obecné) a charakterizovat jejich typ, velikost, barvu a typ polymeru. Cílem bylo také zhodnotit účinnost metod použitých k izolaci a identifikaci mikroplastových částic a určit, zda lze přítomnost mikroplastů přičíst trofickému přenosu.

K výzkumu byl použit trus čtyř samců tuleňů kuželozubých z venkovního výběhu v Cornish Seal Sanctuary v Gweeku, Cornwall. Tito samci, pocházející z volné přírody, žili již 4 roky v této stanici a nebyli vystaveni žádným odpadkům antropogenního původu. Jediný plastový předmět v jejich výběhu byla plastová hračka, a proto z ní byly odebrány vzorky pro porovnání s částicemi nalezenými v trusu. Každý týden, přibližně s odstupem tří až čtyř dnů, po dobu 16 týdnů byly odebrány dva vzorky trusu o přibližném objemu 100 ml. Dohromady bylo odebráno 31 vzorků trusu a také vzorek vody z venkovního výběhu, který je možným zdrojem mikroplastů (50 ml). Všechny vzorky byly poté zmrazeny na teplotu $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Makrely obecné, kterými se tuleni krmili, byly rozpitvány a jejich gastrointestinální trakt byl opláchnut a propláchnut vodou, vzniklá tekutina byla poté pomocí vakuové pumpy propasírována přes $40\text{ }\mu\text{m}$ síťový disk. Ten byl následně umístěn do Petriho misky a vysušen. Trus byl rozmrazen při pokojové teplotě a byl prosit přes 4 síta s různými velikosti ok (velikost ok: $2000\text{ }\mu\text{m}$, $1000\text{ }\mu\text{m}$, $500\text{ }\mu\text{m}$ a $200\text{ }\mu\text{m}$). Možný plastový materiál byl zachycen na každém sítu včetně 50 ml kapaliny obsažené v kádince, ve které byla síta držena, aby se zajistilo, že budou zachyceny i částice o velikosti $<200\text{ }\mu\text{m}$. Shromážděný materiál se poté sušil při $60\text{ }^{\circ}\text{C}$. K odstranění přebytečného organického materiálu a k usnadnění vizuální detekce syntetických částic bez jejich poškození byl použit postup enzymatického trávení.

Výsledky pitev ryb potvrdily, že 10 z 31 ryb obsahovalo 18 mikroplastových částic. Počet částic se pohyboval v rozmezí od 0 do 4 částic na rybu. Nejčastější byla vlákna (72 %), zbytek tvořily fragmenty (28 %). Nejčastější barvy byly červená a modrá (obě 28 %), černá (22 %), oranžová a zelená (obě 11 %). Délka vláken se pohybovala od 0,5 do 6,0 mm a průměrná délka částic byla 2,0 mm. Nejrozšířenějšími typy polymerů, jak bylo potvrzeno FTIR (infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací), byly ethylenpropylen a polyethylen (oba 28 %), následované neoprenem (11 %) atd.

Výsledky trusu tuleňů obsahovaly též mikroplasty a z 31 analyzovaných dílčích vzorků trusu jich 15 (48 %) obsahovalo celkem 26 potvrzených mikroplastových částic, přičemž počet částic v jednom vzorku se pohyboval od 0 do 4. Z 26 potvrzených částic bylo 18 fragmentů a 8 vláken. Nejčastěji se vyskytovaly černé částice (27 %), následované čírymi (průhlednými) a červenými (obě 23 %), modrými (15 %) a oranžovými (12 %). Délka vláken se pohybovala od 0,6 do 3,5 mm a u částic byla průměrná délka 1,5 mm. Nejčastějšími typy polymerů identifikovanými pomocí FTIR byly ethylenpropylen a polypropylen (oba 27 %), stejně jako u makrel, následoval polyethylen (12 %).



Obrázek 4. Fotografie plastových částic nalezené v a) rybách a b) trusu tuleňů (Nelms et al. 2018).

Ve vzorku vody nebyly zjištěny žádné částice, které by odpovídaly hračky z venkovního výběhu.

Ze vzorků bylo pouze vyjmuto 5 polypropylenových částic, které byly výsledkem kontaminace vzorků.

Výsledky této studie můžeme shrnout do následujících závěrů. Bylo zjištěno celkem 12 typů polymerů ve vzorcích makrel a v trusu tuleňů. Několik částic, které se našly ve vzorcích najdeme na Obrázku 4. Nejčastěji se u obou vyskytoval ethylenpropylen, což ukazuje na jasnou souvislost mezi tuleni a rybami. Ale jsou tu určité rozdíly mezi typem, barvou a velikostí mikroplastů zjištěných v rybách ve srovnání s mikroplasty nalezenými v trusu. Například většina částic zjištěných v trusu byly fragmenty, zatímco u ryb tomu bylo naopak a nejčastěji se vyskytovala vlákna. Ačkoli se černé, červené a modré částice vyskytovaly jak v rybách, tak v trusu a obsahovaly stejný podíl oranžových částic, trus obsahoval také vysoký podíl čirých částic, které nebyly zjištěny v rybách. V důsledku značné rozmanitosti v množství, typu (fragmenty/vlákna), velikosti, barvě a typu mikroplastů pozorovaných nejen mezi jednotlivci, populacemi a druhy ryb, ale v rámci mořského prostředí obecně, bychom neočekávali úplnou shodu mezi částicemi nalezenými u lachtanů a ryb. Ale studie Sarah E. Nelms et al. (2018) předkládá empirické důkazy, že mikroplastové částice se mohou přenášet napříč trofickými úrovněmi, od ryb až po mořské savce a vrcholové predátory. Jejich zjištění naznačuje, že trofický přenos představuje nepřímou, ale potenciálně významnou cestu příjmu mikroplastů pro všechny druhy, jejichž potravní ekologie zahrnuje konzumaci celé kořisti.

3.7.1 Dopady požití mikroplastů mořskou faunou

Mikroplasty v sobě obsahují chemické přísady jako jsou UV stabilizátory a zpomalovače hoření, které jsou smíchány ve výrobě, nebo se adsorbují na povrch mikroplastu, jakmile se dostanou do vodního prostředí a po jejich požití mohou mikroplasty působit jako vektor pro toxické chemické látky, které se bioakumulují v těle organismu a v celém potravním řetězci (Fossi et al. 2018). Mezi takové chemikálie patří perzistentní organické polutanty (POP), jako

je dichlordifenyltrichlorethan (DDT), polychlorované bifenyly (PCB) a těžké kovy jako olovo a kadmium (Massos & Turner 2017), z nichž mnohé jsou známé neurotoxiny nebo endokrinní disruptory (Sussarellu et al. 2016).

Požítí mikroplastů mořskou faunou může mít za následek částečnou blokádu trávicího traktu způsobující až jeho ucpání. Může to vést k pocitu nasycení, i když organismus hladoví a fyzicky strádá, což by následně mohlo vést ke snížení reprodukční zdatnosti a utlumení reflexů, jako např. ke sníženému vyhýbání se predátorům a úniku před nimi, zhoršenou schopnost přijímat potravu, zředění živin, snížení rychlosti růstu a vstřebávání toxinů, což může vše nakonec vést k úhynu organismu (Egbeocha et al. 2018). Dle Marie Fossi et al. (2018) jen v mořském prostředí vzrostl počet druhů organismů, u nichž byl zaznamenán vliv plastových odpadků v letech 1995-2015 o více než 159 % (z 267 na 693 druhů) a od té doby se během pouhých dvou let zdvojnásobil na 1465 druhů. Lacerace (roztržení) nebo ulcerace (vředovatění) trávicího traktu vedoucí k infekci a vnitřnímu krvácení, přímé ucpání trávicího traktu, snížení nebo předcházení příjmu živin, pocit nasycení (saturace) a následné nechutenství, selhání trávicího traktu, propouštění žaludečních sekretů do oblastí, které nejsou dostatečně chráněny, a retence vedoucí ke zvyšování množství nečistot v trávicí soustavě organismu jsou nejčastěji uváděné zdravotní komplikace při požití plastů.

3.8 Mikroplasty u kytovců

Kytovci, jako apex neboli vrcholoví predátoři oceánů, mají veliký vliv na stav mořského prostředí a ekosystému (Zhu et al. 2019). Bohužel mnoho druhů kytovců čelí vyhubení. Díky zájmu o plastový odpad již bylo zdokumentováno, že průměrně 63 % všech druhů kytovců (více jak 800 druhů) již přišlo do styku s plastovým odpadem, a to jak jeho pozřením, tak i zamotáním se do větších kusů odpadu, které v nejhorších případech může vést k utonutí nebo uškrcení zvířete, nebo také ke zranění a následné smrti. Ale jen málo těchto studií se zaměřuje na mikroplasty, a to díky obtížné extrakci vzorků (Fossi et al. 2018). Omezený počet vzorků, rozdílné potravní vlastnosti a fyzické podmínky zvířat (rozdílné stáří, velikost těla, délka trávicího traktu, množství střevního obsahu a příčiny uvíznutí na mělčině a smrti) ve skutečnosti ztěžují porovnávání údajů o mikroplastech mezi různými druhy kytovců (Zhu et al. 2019).

Nové údaje naznačují, že pokud se rozměry předmětů pozřených mořskými živočichy pohybují v rozmezí milimetrů až nanometrů, může to vést k zánětům poškozených tkání na buněčné úrovni, nebo změně molekulárních drah (Mattsson et al. 2015; Pedà et al. 2016). Celkem 130 dokumentů od roku 1965 do ledna 2018 bylo vydáno s cílem upozornit na střety kytovců s plasty, z toho 44 dokumentů bylo o zamotání kytovců a 86 dokumentů o požití antropogenního odpadu. Požití plastů je tedy nejčastější interakce kytovců s plasty (mikroplasty). Ukázalo se, že pouze 2 čeledi z 13 zdokumentovaných nepřišly do styku se žádným odpadem (Fossi et al. 2018).

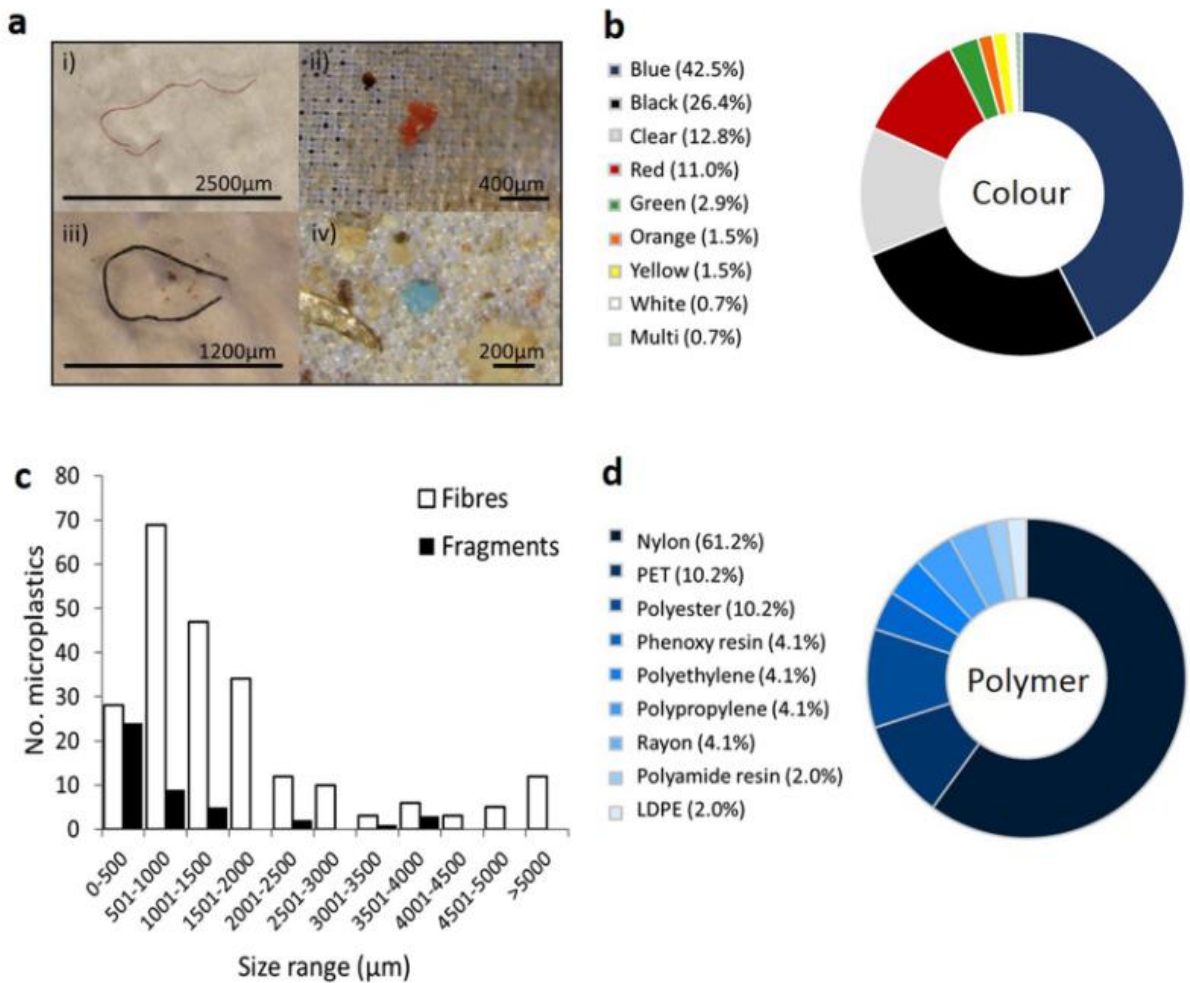
Strach o mořský ekosystém v okolí Británie měla i S. E. Nelms et al. (2019), která se snažila určit dopad mikroplastů na mořské savce s převahou kytovců u pobřeží Británie. Jejich cílem nebylo jen zjistit množství mikroplastů v trávicím traktu uvízlých savců, ale i zda nejsou mikroplasty zadržovány v různých částech trávicího traktu.

Dohromady bylo zkoumáno 50 jedinců z 10 druhů (kytovci- 43 jedinců, 8 druhů; ploutvonožci- 7 jedinců, 2 druhy), kteří uvízli kolem pobřeží Británie. Je nutné zde podotknout, že zkoumaní kytovci byli z malořádu ozubených, a tudíž aktivně loví svými čelistmi a zuby. Posmrtná vyšetření těchto 50 uvízlých mořských savců byla provedena v rámci programu Scottish Marine Animal Strandings Scheme (SMASS) a Programu pro vyšetřování uvíznutí kytovců (CSIP, Institute of Zoology and University of Exeter, Penryn campus), během kterého byly extrahovány gastrointestinální trakty a uchovány pro další vyšetřování v Plymouth Marine Laboratory. Odebrané vzorky byly skladovány při teplotě -20 °C nebo nižší. Na vzorky byl aplikován protokol enzymatického trávení díky velkému obsahu organického materiálu v GIT (gastrointestinální trakt).

Výsledky potvrdily, že každý zkoumaný jedinec obsahoval alespoň 1 syntetickou částici. Celkem bylo detekováno 261 mikroplastů (neboli syntetických částic menších než 5 mm) a 12 částic větších než 5 mm. Schéma a celkové shrnutí nalezených částic lze najít na Obrázku 5.

Většinu částic tvořila vlákna z 84 % (229 kusů), zatímco zbývajících 16 % tvořily úlomky (44 kusů). Částice byly převážně modré a černé (42,5 %, resp. 26,4 %), následovaly čiré (12,8 %), červené (11 %), zelené (2,9 %), oranžové a žluté (obě 1,5 %) a bílé a vícebarevné (obě 0,7 %). Vlákna se pohybovala ve velikosti od 2 cm délky do 0,1 mm (100 μm) se střední délkou 2 mm. Fragменты měly velikost mezi 4 × 2 mm a 100 × 100 μm (průměrná délka = 0,9 mm). Všechny (100 %; 50 kusů; jedna na zvíře) částice úspěšně testované pomocí FTIR byly syntetické, přičemž nejvíce převládal nylon (60 %; 30 kusů) následovaný polyethylentereftalátem (PET) a polyester (všechny 10 %; 5 kusů), fenoxypřiskyřice, polyethylen, polypropylen a umělé hedvábí (všechny 4 %; 2 kusy), polyamidová přiskyřice a polyethylen s nízkou hustotou (oba 2 %; 1 kus). Zjistilo se také, že jedinci, kteří obsahovali více částic (průměr 7,0 částic) uhynuli na infekční onemocnění, zatímco jedinci, kteří uhynuli na trauma, měli menší počet částic (průměr 4,7 částic) stejně jako další příčiny úmrtí (průměr 4,6 částic).

Co se týče zkoumané retence mikroplastů v GIT, zjistilo se, že žaludek, popřípadě žaludky, obsahovaly významně vyšší množství mikroplastů (průměr 3,8 částic) než střeva (průměr 1,7) (Nelms et al. 2019).



Obrázek 5. (a) Fotografie mikroplastů nalezené v trávicím traktu (b) podíl barev částic nalezených u všech zvířat (c) rozsahy velikostí částic nalezených u všech zvířat (d) podíl nalezených typů polymerů (Nelms et al. 2019).

3.8.1 Požití mikroplastů kytovci

Studie a výzkum požití antropogenního odpadu kytovci je nelehký úkol vzhledem k obtížím získávání vzorků u nekropsií a analýze velkých objemů vzorků u velkých koticovců a ozubených kytovců. Při použití standardních protokolů pro detekci a identifikaci mikroplastů v trávicím traktu (Lusher et al. 2015) byly mikroplasty nalezeny v žaludku a střevě 7 druhů ozubených kytovců a pouze jedna studie na velrybách rodů mysticetes (uvízlý keporkak) zaznamenala přítomnost mikroplastů ve střevě, včetně úlomků a vláken (Besseling et al. 2015). Jak zde již bylo řečeno, požití mikroplastů u koticovců je velice jednoduché díky jejich filtračnímu systému, kdy se nemohou zaměřit na jednotlivou kořist a polykají velké množství vody s potravou najednou. Požírají tedy mikroplasty nepřímou cestou, kdy mohou být mikroplasty volně ve vodním sloupci či v kontaminované potravě. Dle Marie Fossi al. (2018) bioakumulace antropogenních kontaminantů v kombinaci s infekčními chorobami, invazními druhy a změnou klimatu představují potenciální nebezpečí pro populace mořských savců a mořských ptáků po celém světě. Možným zdrojem sekundárního přenosu mikroplastů u kytovců mohou být kopinatci, hlavonožci, ryby a zooplanktonní druhy, které také přijímají

mikroplasty. Dle Goldboga et al. (2007) velcí kosticovci jako jsou plejtváci, kteří se žíví hustými shluky krilu ve vodním sloupci, jakož i u hladiny. Na jedno sousto pohltní v průměru 71 m³ vody a potencionálně zkonsumují více než 3000 mikroplastových částic denně spolu se souvisejícími perzistentními bioakumulativními a toxickými chemickými látkami (Fossi et al. 2014).

3.8.2 Ozubení kytovci

Vorvaňovcovití (Ziphiidae) patří k nejméně probádaným ozubeným kytovcům na světě. Žijí a loví ve velkých hloubkách, kde se žíví rybami a hlavonožci, např. olihněmi. Protože žíví v hloubkách a vynořují se jen občas k nadechnutí, je jen malá šance tyto jedince pozorovat (Dalebout et al. 1998). Proto se většina vorvaňovců zkoumala při jejich vyvržení na pobřeží. Je to i vorvaňovec tmavý (*Mesoplodon mirus* True, 1913), který se vyskytuje v severozápadním Atlantiku a méně často u pobřeží Irska, Francie, Pyrenejského poloostrova a Kanárských ostrovů, což naznačuje pravděpodobnou vazbu na Golský proud (MacLeod 2000).

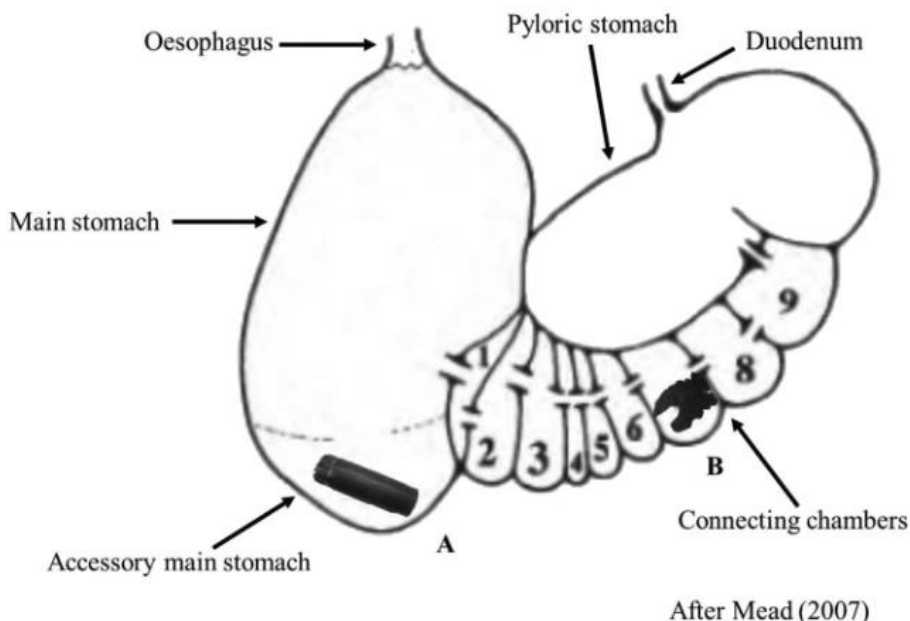
Studie A. L. Lusher et al. (2015) se zabývá vyvrženými vorvaňovci s cílem popsat nalezené plasty v jejich trávicím traktu. Tato studie je též první studií, která se cíleně zaměřuje na mikroplasty u kytovců.

V květnu 2013 uvízli na severním a západním pobřeží Irska 3 vorvaňovci tmaví (2 dospělé samice a 1 mládě) a obsah jejich žaludku a střev byl analyzován na přítomnost antropogenních zbytků.

Tito 3 vorvaňovci byli posmrtně vyšetřeni podle standartních protokolů. Každé zvíře bylo změřeno, určeno jeho pohlaví a vyšetřeno na vnější léze a jiné anomálie. Samice s mládětem byla převezena do veterinární laboratoře k provedení pitvy. Další dospělá samice nebyla převezena, vzhledem k její velikosti se pitva provedla in-situ přímo na pláži, kde uvízla. Všem zvířatům se odebrala biopsie a byl odstraněn celý trávicí trakt (jícen, žaludek a střeva). Vzorky kůže byly zaslány k identifikaci, potvrzení druhu a případné genetické příbuznosti jedinců.

Trávicí trakt jednoho jedince byl analyzován na mikroplasty i makroplasty. Ostatní 2 jedinci byli analyzováni pouze na makroplasty. Výsledky vzorů kůže potvrdily, že se jedná o 3 jedince vorvaňovců tmavých a že jedna samice a mládě, jejichž nález byl ve stejné lokaci, jsou geneticky příbuzní. Mohlo by tedy jít o matku s mládětem. Příčinu smrti těchto 3 jedinců nebylo možné určit. Výsledky také prokázaly, že obě dospělé samice měly v trávicím traktu makroplasty, které jsou vidět na Obrázku 6. U jedné dospělé samice, která byla analyzována na mikroplasty se skutečně potvrdil jejich výskyt v každých částech žaludku a v 85 % střev. Celkově bylo nalezeno 29 částic mikroplastů v žaludku a 59 částic mikroplastů ve střevě. U mláděte se neprokázaly makroplasty a na mikroplasty nebylo analyzováno. Zbytek obsahu trávicího ústrojí se skládal z jejich přirozené potravy, jako jsou zooplankton a hlavonožci. Mikroplasty byly nalezeny v celém trávicím traktu, což naznačuje, že kytovci mohou mikroplasty i vylučovat. Je tady i myšlenka o trofickém přenosu z kořisti na predátora, to se ale bohužel nepovedlo potvrdit ani vyvrátit.

Tito vorvaňovci přispěli k dalším výzkumům mikroplastů u kytovců, jelikož u nich se poprvé identifikovaly mikroplasty o velikosti menší než 5 mm (Lusher et al. 2015).



Obrázek 6. Žaludek vorvaňovce tmavého (podle Mead 2007), ukazující polohy makroplastických předmětů nalezených u obou dospělých samic. (A) 7,1 × 2,2 cm brokový náboj nalezený v žaludku první dospělé samice a (B) 4,2 × 3,1 cm fragment nalezený ve spojovacích komorách druhé dospělé samice (Lusher et al. 2015).

Dalšími ozubenými kytovci, u kterých se našly mikroplasty v jejich trávicím traktu, jsou běluhy severní (*Delphinapterus leucas* (Pallas, 1776)) z čeledi narvalovití (Monodontidae). Díky studii Moore et al. (2019) se podařilo odebrat vzorky GIT traktu sedmi běluh mezi lety 2017 až 2018 z východní populace Beaufortova moře, kde jsou běluhy loveny pro obživu místních obyvatel podél pobřeží severní Aljašky a západní části Kanadské Arktidy za spolupráce Hendrickson Island Beluga Monitoring Program a komunity Tuktoyaktuk.

Vzorky byly odebrány ze 7 dospělých samců běluh v rámci každoročního odlovu na ostrově Hendrickson v severozápadních teritoriích. Běluhám byly vyjmuty celé žaludky a následně se svázal konec jícnu a dvanáctníku, aby byl obsah žaludku kompletně zachován. Každému jedinci bylo též odebráno 6 dílčích částí střeva, každý o délce 30 cm. Dle Rhiannon Moore et al. (2019) výběr těchto 6 úseků byl náhodný v rámci typu tkáně a obsahoval úseky tenkého střeva, tlustého střeva a další část tlustého střeva (colon). Také byly odebrány vzorky výkalů z oblasti tlustého střeva do vzdálenosti 24 palců od řitního otvoru. Všechny odebrané vzorky byly zmrazeny při -20 °C a převezeny do laboratoře Ocean Wise Plastics Lab k další podrobné analýze.

Extrakce mikroplastů ze vzorků měla být provedena stejnými metodami jako tomu bylo u vorvaňovců (Lusher et al. 2015), tedy použití kovových sít a předcedění vzorků. Avšak novější studie ukázaly, že při použití těchto kovových sít může dojít ke ztrátě mikroplastových částic (zejména vláken). Proto při této analýze síta nebyla použita, aby se zabránilo ztrátám částic a dosáhlo se lepšího a přesnějšího počítání částic (Covernton et al. 2019). Vyextrahované

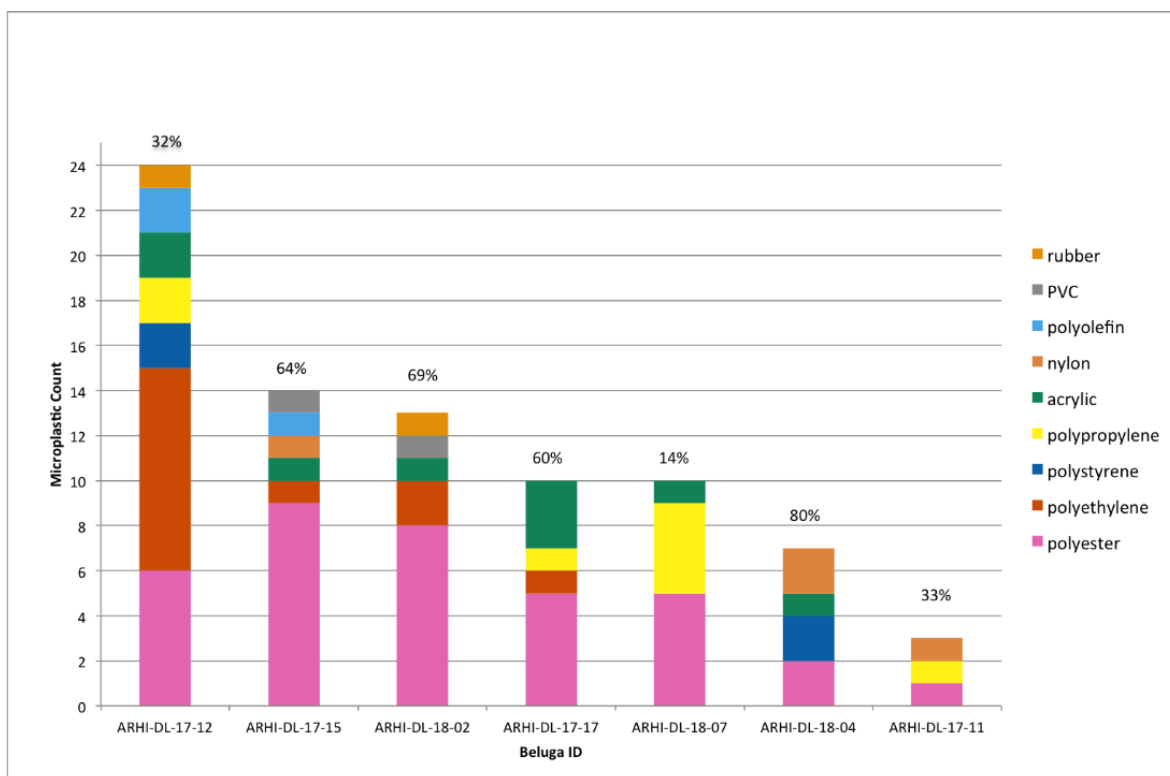
žaludky byly rozmrazeny při pokojové teplotě po dobu dvou dnů, poté byly žaludky omyty filtrovanou vodou a filtrovanou vodou byly též propláchnuty a voda z žaludků byla shromážděna ve skleněných nádobách. Do sklenic byly přidány sušené vločky hydroxidu draselného za účelem vzniku 10% koncentračního roztoku, určeného k filtraci vzorků. Dle Edwina Foekema et al. (2013) použití desetiprocentního roztoku hydroxidu draselného je účinné pro odstranění biologického materiálu ve vzorcích a zároveň má malý vliv na plastové polymery. Roztok byl ponechán 2 týdny při pokojové teplotě a poté byl přefiltrován přes 20 µm polykarbonátový filtrační papír, který byl uchován v Petriho misce na pozdější analýzu.

Vzorky střev byly též rozmrazeny po dobu jednoho dne při pokojové teplotě a opláchnuty filtrovanou vodou, aby se odstranil veškerý vnější sediment. Vzorky střev byly potom umístěny do pitevních misek, kde byly vypláchnuty filtrovanou vodou. Tato voda, stejně jako u žaludků, potom byla přemístěna do skleněných nádob, aby se zachytil střevní obsah. A stejně jako u žaludků byly přidány sušené vločky hydroxidu draselného, aby vznikl desetiprocentní koncentrovaný roztok. Tento roztok byl potom ponechán po dobu 2 týdnů při pokojové teplotě a následně vakuově filtrován přes 20 µm karbonátový filtrační papír.

Stejný postup byl použit i u vzorků výkalů, těch bylo přibližně 100 mililitrů v tekutém stavu. K výkalům byl přidán desetiprocentní roztok hydroxidu draselného, ten byl ponechán 2 týdny při pokojové teplotě a následně filtrován přes 20 µm polykarbonátový filtrační papír.

U všech vzorků, kde byla provedena filtrace přes tento 20 µm polykarbonátový filtrační papír, byly provedeny další analýzy použitých filtračních papírků pomocí pitevního mikroskopu (Olympus SZX16 mikroskop s Olympus DP22 kamerou a DP2-SAL softwarem, Shinjuku, Tokyo, Japan). Filtrační papírky byly analyzovány na přítomnost podezřelých mikroplastů, a pokud zde byly nalezeny podezřelé mikroplasty, byly katalogizovány podle velikosti, tvaru a barvy a každá částice byla změřena a vyfotografována.

U všech odebraných vzorků ze sedmi běluh bylo identifikováno 350 podezřelých mikroplastů. U 81 částic bylo potvrzeno, že se jedná o plastové částice, ze zbylých 269 částic bylo 55 % potvrzeno jako polosyntetické částice, 14 % jako přírodní částice a 7 % částic nebylo možné identifikovat. Mikroplasty tedy byly nalezeny ve všech vzorcích včetně výkalů. Mikroplasty tak byly zjištěny u každého jedince (průměr 11.6 na jedince) a výsledky této studie naznačují, že množství mikroplastů může být nerovnoměrně rozloženo v celém střevním traktu. Odhaduje se tedy, že celý GIT těchto velryb, u kterých se odebraly vzorky, může obsahovat od 18 do 147 mikroplastových částic. Ze vzorků bylo identifikováno více než 8 typů plastových polymerů, z nichž nejvýznamnějším polymerem byl polyester, který tvořil 44 % částic nalezených v gastrointestinálních traktech (viz Obrázek 7). Ve vzorcích se ale nenašly žádné mezoplastové nebo makroplastové předměty, což napovídá, že běluhy nepozrou kusy plastu přímo nebo záměrně. Proto se také předpokládá, že většina mikroplastů nalezených u těchto 7 běluh pochází z trofického přenosu z kořisti (Moore et al. 2019).



Obrázek 7. Počty mikroplastů a jejich polymery z gastrointestinálního traktu sedmi analyzovaných běluh. Procento těchto částic, které byly vlákny, je označeno číslem na vrcholu každého jednotlivého sloupce (Moore et al. 2019).

Dalšími kytovci z čeledi delfínovití (Delphinidae), u kterých se provedla analýza na přítomnost mikroplastů, jsou delfíni indočíňští (*Sousa chinensis* (Osbeck, 1765)). Práce Zhu et al. (2019) přinesla první důkazy o mikroplastech vyskytujících se v trávicím traktu těchto delfínů.

Vzorky, kterými byl celý střevní trakt každého jedince, byly odebrány ze 2 dospělých jedinců (1 samec, 1 samice) a 1 mláděte (samice) roku 2015 z Guangxi Beibu zálivu v Číně. Tyto vzorky byly potom převezeny do laboratoře a před pitvou zmrazeny při teplotě $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Metody sběru střevního obsahu byly stejné jako u vorvaňovce tmavého z předchozí kapitoly (Lusher et al. 2015). Byly tedy použity první metody analýzy mikroplastů. Každý střevní trakt byl změřen a poté rozdělen do tří částí (přední střevo, střední střevo a zadní střevo) podle celé délky. Každá část z těchto tří pak byla rozřezána na dalších 5 kusů o délce 80-100 cm. Obsah střev byl potom analyzován na mikroplasty ze dvou náhodných nařezaných kusů střev. U mláděte byl použit jeho celý střevní trakt kvůli jeho krátké délce. Pro tuto analýzu mikroplastů nebyly použity u dospělých jedinců celé střevní trakty z důvodu použití střevního obsahu pro další účely. Dle Zhu et al. (2019) tato studie obdržela povolení od místní rybářské správy k nekropsii a odběru vzorků a tyto postupy byly prováděny systematicky v souladu se všemi etickými směrnici a zákonnými požadavky v Číně.

Před samotnou analýzou byly všechny kapaliny (kohoutková voda, hydroxid draselný) filtrovány přes $5\text{ }\mu\text{m}$ filtrační papír, aby se zabránilo kontaminaci. Také veškeré skleněné nádoby a nádoby z nerezové oceli byly umyty filtrovanou vodou. Dva náhodné nařezané kusy

střev od každého jedince byly rozmrazeny a jejich střevní obsah byl potom zvážen a shromážděn do skleněné nádoby, která obsahovala 10% roztok KOH (množství KOH bylo třikrát větší, než bylo biologického materiálu) (Foekema et al. 2013). Tyto skleněné nádoby se vzorky a roztokem byly potom inkubovány při 40 stupních Celsia a 80 otáčkách za minutu po dobu 48 až 96 hodin, dokud nebyl zcela rozpuštěn biologický materiál v roztoku (Karami et al. 2017). S použitím vakuového systému byly potom vzorky přefiltrovány přes filtr o průměru 47 mm s filtračním papírem o velikosti 5 μm (Su et al. 2016). Použité filtrační papíry byly potom přemístěny do čistých Petriho misek s víčkem a byly vysušeny při pokojové teplotě pro další analýzu mikroplastů. Materiál, který byl usazen na dně skleněných nádob, byl potom přemístěn do dalších Petriho misek pro mikroskopické pozorování (Yang et al. 2015).

K pozorování filtrů byl použit stereomikroskop Cnoptec SZ680 a všechny snímky byly pořízeny digitální kamerou AxioCam. Všechny viditelné mikroplasty a neurčitelné předměty na filtru byly vybrány a ověřeny pomocí infračervené spektroskopie s mikrofourierovou transformací (μ -FT-IR, Thermo Nicolet iN10 MX). Odstraněním ověřených částic neplastového původu byl přepočítán konečný počet mikroplastů (Su et al. 2016). Pro statistickou analýzu dat o mikroplastech byl použit program SPSS 23.0.

Výsledky ukázaly, že průměrně se nachází v celém traktu jedince 0,2-0,6 kusů/g mikroplastu. Množství mikroplastů v předním střevě dvou dospělých jedinců *Sousa chinensis* bylo 0,3 a 0,8 kusů/g a ve středním střevě 0,2 a 0,8 kusů/g, zatímco v zadním střevě nebyly nalezeny žádné mikroplasty, proto bylo stanoveno, že je průměr 0,2-0,6 kusů/g. U mláděte bylo nalezeno 0,6 kusů/g mikroplastu. Z pozorovaných částic bylo 68 % identifikováno jako mikroplasty, 24 % jako jiné materiály a 8 % jako neidentifikované částice. Byly identifikovány různé typy mikroplastů, včetně polyamidu (PA), polybutylentereftalátu (PBT), polyethylenu (PE), polyesteru (PES), polypropylenu (PP) a celulózy (CL). Byly identifikovány také některé neplastové částice (32 %), jako je papír, bavlna a ovčí vlna. Nejčastějším typem plastů byl polyester a vlákna byla nejdominantnější složkou. Převaha bílých a modrých mikroplastů z polyesteru a vláken, která jsou podobná lanům a rybářským sítím používanými rybáři naznačuje, že jde o zdroje z akvakultury nebo rybolovu. U všech tří jedinců se vyskytovala podílem 50-83 % a tvořila 70,3 % z celkového množství mikroplastů. Ve střevním obsahu mláděte delfína byla zjištěna jak vlákna, tak úlomky mikroplastů. V porovnání se středními střevy byla v předních střevech zjištěna vyšší diverzita mikroplastů, která zahrnovala 22 % fragmentů a 11 % vloček. Průměrná velikost mikroplastů ve střevním traktu tří delfínů byla 2,2 mm. Nejmenší velikost byla 0,1 mm a maximální 4,8 mm.

Sousa chinensis obývá mělké vody v těsné blízkosti lidských aktivit, což pravděpodobně přispívá k vysoké míře požití mikroplastů. Tyto negativní výsledky ukazují potenciální hrozbu znečištění mikroplasty pro pobřežní mořské ekosystémy a člověka (Zhu et al. 2019).

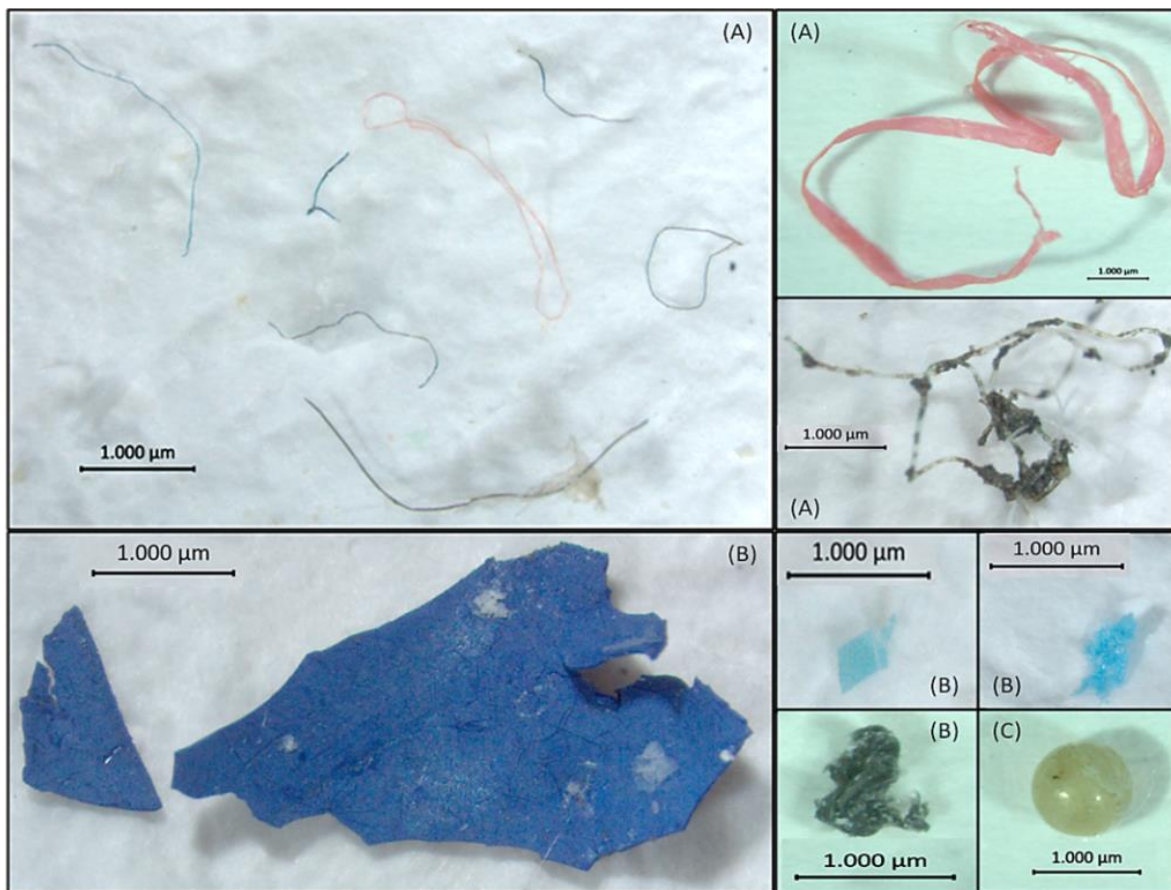
Delfín obecný (*Delphinus delphis* Linnaeus, 1758) byl také zkoumán na obsah mikroplastů v jeho žaludečním obsahu. Cílem práce Hernandez-Gonzaleze et al. (2018) bylo popsat, spočítat a změřit mikroplasty v žaludcích a porovnat výskyt mikroplastů mezi

pohlavími a různými velikostmi jedinců. Výzkum byl proveden na 35 vzorcích žaludečních obsahů z 35 uvízlých delfínů obecných z oblasti Galicie z let 2005-2010.

Vzorky byly odebrány přímo na místě vyvrženého jedince do skleněné nádoby s 70% ethanolem. U všech zvířat, která posloužila k výzkumu, byly k dispozici informace o datu vyvržení, poloze, pohlaví a o stavu rozkladu, ve kterém byl jedinec nalezen. Pět jedinců bylo v pokročilém stádiu rozkladu a zbylých 30 bylo středně nebo mírně rozložených. Obsah žaludků uložených v ethanolu byl propláchnut přes sadu čtyř sít s různými velikostmi ok (5 mm, 1 mm, 0,5 mm a 0,355 mm). Zbytky potravy a nalezení parazitů byly opláchnuty, odstraněny, roztrženy a uskladněny. Materiál, který zbyl po propláchnutí sít, byl umístěn do sterilizovaných skleněných nádob s 10% roztokem KOH, kterého bylo, co se objemu týče, trojnásobek zachyceného materiálu ze sít. Materiál se po dobu 3 týdnů rozpouštěl a poté byl zbývající roztok filtrován pod vakuovou pumpou pomocí Buchnerova filtru a skleněných mikrofiltrů. Tyto skleněné mikrofiltry byly poté umístěny do uzavřených Petriho misek a sušeny v peci 4 hodiny při teplotě 50 °C. Mikroplasty byly poté vizuálně identifikovány pomocí stereoskopického mikroskopu Leica S8 APO s kamerou Carl Zeiss AxioCam ERc5s a změřeny díky programu ZEN, Blue edition. Analyzované mikroplasty byly rozděleny do tří skupin podle jejich tvaru na vlákna, fragmenty a kuličky a zaznamenána byla též jejich barva i velikost.

U všech 35 jedinců byly nalezeny mikroplasty. Byl nalezen pouze 1 mezoplast, a to vlákno o délce 5,88 mm, což je těsně nad hranicí pro mikroplasty, proto byl použit do analýzy společně s mikroplasty. Celkem bylo získáno 411 mikroplastů, z toho 397 vláken, 13 fragmentů a 1 kulička. Vzorky mikroplastů jsou vidět na Obrázku 8. Vlákna byla nejčastějšími a objevila se ve všech 35 žaludcích, fragmenty se objevily v 11 ze 35 žaludků a průměrně připadlo 12 kusů mikroplastu na jednoho jedince (počet se pohyboval od 3 do 41 kusů). Mikroplasty měly nejčastěji barvu modrou (186 kusů), dále černou (101 kusů), zelenou (64 kusů), červenou (59 kusů) a žlutou (1 kus).

Tato studie se jako první zabývá mikroplasty u delfína obecného u Pyrenejského poloostrova. Hlavním problémem stále zůstává kontaminace vzorků během jejich pořízení, zpracování a analýzy. Existuje též riziko kontaminace vzduchem (Hernandez-Gonzalez et al. 2018).



Obrázek 8. Vzorky mikroplastů nalezených z žaludků delfínů obecných (A) vlákna, (B) fragmenty a (C) kulička (Hernandez-Gonzalez et al. 2018).

Delfínovec laplatský (*Pontoporia blainvillei* (Gervais & d'Orbigny, 1844)) z čeledi Pontoporiidae také posloužil k výzkumu výskytu mikroplastů u kytovců v práci Denuncio et al. (2011). Jednalo se o jedince žijící ve vodách severní Argentiny od Bahía Samborombón (36°26'0 j. š., 57°07'0 z. d.) po Mardel Plata (38°00'0 j. š., 57°33'0 z. d.), o celkové délce cca 350 km, kteří byli odloveni v rámci lokálního rybolovu. Jelikož v oblasti, kde byli delfíni odloveni, převládá komerční rybolov a turistika, předpokládalo se, že jedinci pozřou více plastového odpadu ze sítí a turistického odpadu. V letech 2007-2010 bylo v ústí řek i v pobřežním mořském prostředí nalezeno celkem 106 delfínovců, kteří se zapletli do rybářských sítí. Délka těl se pohybovala mezi 72 a 160 cm (průměr 118 cm) a většina delfínů (90 %) byla pohlavně nedospělá (Botta et al. 2010).

Při nekropsii byly odstraněny kompletní zažívací trakty a zbytky kořisti byly ihned filtrovány a fixovány (formalín nebo etanol) pro analýzu stravy. Celý trávicí trakt (jícen, žaludek a střeva) byl poté kompletně prohlédnut za účelem zjištění plastového odpadu a později nalezené plastové předměty byly spočítány, změřeny a klasifikovány podle typu a zdroje. Byly identifikovány dva hlavní zdroje plastového odpadu: předměty související s rybolovem (monofilové vlasce, lana, fragmenty sítí) a odpad z obalů (plastové gumičky, celofán, plastové sáčky atd.). Ostatní zbytky (úlomky tvrdých plastů) nebyly do těchto kategorií zařazeny a byly považovány za neznámý zdroj. Údaje byly vyjádřeny v relativní četnosti výskytu, definované jako počet výskytů plastového odpadu v trávicím traktu delfínů. Výskyt plastového odpadu byl

analyzován podle pohlaví, délkových kategorií (v 10 cm intervalech, dle Kasuya & Brownell 1979) a různých oblastí odběru vzorků (ústí řek a mořské prostředí) pomocí chí-kvadrát testu četností a log-lineární analýzy. K testování rozdílů ve složení potravy u delfínů s požitím plastového odpadu a bez něj byla použita jednosměrná neparametrická permutační vícerozměrná analýza rozptylu (PERMANOVA).

Plastové částice se našly pouze v žaludcích 28,1 % delfínovců. U 64,3 % delfínovců byly nalezeny zbytky z obalů, menší část delfínovců pozřela úlomky související s rybolovem (35,7 %) a úlomky neznámého původu (25,0 %). Zbytky obalů tvořily především celofánové pásky (52 %), sáčky (11,4 %) a plastové gumové pásky (6,8 %), zatímco úlomky lan (12,7 %), monofilních vlasců (8,1 %) a sítí (4,5 %) představovaly zbytky související s rybolovem. 53,6 % delfínovců mělo v žaludku pouze jeden plastový fragment, zatímco 46,4 % mělo v žaludku 2 až 5 plastových předmětů. Celkový průměr činil 1,81 kusů na žaludek. Velikost nalezených PO (plastový odpad) se pohybovala mezi 0,2 a 11,4 cm (průměr 7,45 cm), přičemž nejdelší byly celofánové pásky z cigaretových krabiček (11,4 cm). Povrch PO (plastový odpad) byl menší než 7,5 cm² (průměr 2,01 cm²), přičemž největší byly úlomky plastových sáčků. Výskyt PO se rychle zvyšoval u ročních mláďat a dosahoval maxima výskytu mezi 110 a 130 cm délky těla, přičemž u dospělých jedinců (>130 cm) byly hodnoty menší. To může naznačovat nezkušenost mláďat, která ještě neznají vhodnou potravu a došlo k chybné identifikaci kořisti, nebo v rámci hry mohlo dojít k požití PO (Baird & Hooker, 2000). Oblast, ve které se tito delfínovci nacházeli, je vyhledávanou turistickou destinací, proto byly v žaludcích nalezeny hlavně obaly a další antropogenní odpad. Obalový materiál, který delfínovci pozřou (celofánové pásky, plastové sáčky), se snadno přenáší vodou a může pocházet z jiných oblastí povodí a odtékat do ústí, kde delfínovci žijí, ale malý počet a velikost úlomků nalezených u zdravých delfínů naznačuje, že tento materiál není smrtící. Delfínovci totiž neměli vředy podél trávicího traktu ani nebyly odhaleny významné obstrukce (Denuncio et al. 2011).

V roce 2022 se našly mikroplasty i v trávicím traktu plískavice šedé (*Grampus griseus* (G. Cuvier, 1812)) z čeledi delfínovitých, která uvízla v březnu roku 2022 na pobřeží Turecka v severovýchodní části Středozemního moře. Tento druh již byl dříve zkoumán na obsah mikroplastů v žaludku, ale nalezeny byly pouze makroplasty, mikroplasty nikoliv. U této studie jde o první report prezentující existenci mikroplastů v celém trávicím traktu u tohoto druhu, který byl často pozorován jak ve Středozemním moři, tak i v Egejském a v Marmarském moři. Z těchto oblastí existují záznamy o pozorování plískavic šedých, záznamy o jejich lovení i o uvízlých jedincích, ale od roku 2020 se populace plískavic rapidně snížila a tento druh byl nakonec zařazen na červený seznam ohrožených druhů IUCN. Práce Nebila Yücela et al. (2022) je první, která objevila mikroplasty u tohoto druhu.

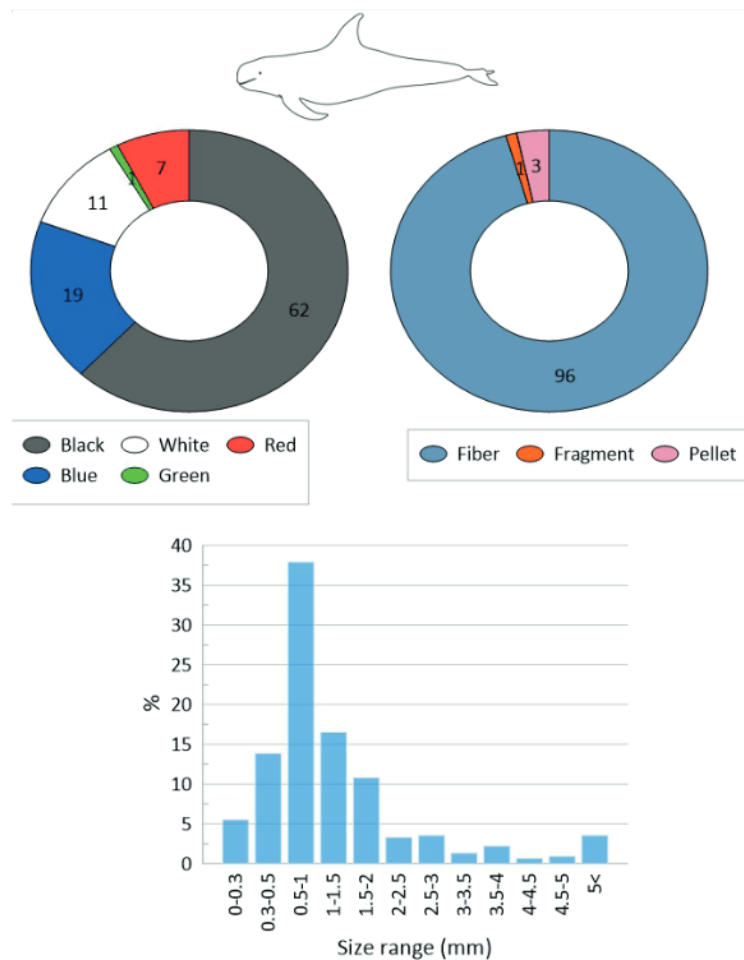
Čerstvě uhynulé vyvržené tělo samice plískavice šedé bylo převezeno k nekropsii a dalším analýzám na Technical University, Faculty of Marine Science and Technology v Turecku, kde všechny nástroje a zařízení (použité k dalším postupům s tělem) byly důkladně vydezinfikovány filtrovaným ethanolem, a ještě opláchnuty destilovanou vodou. Bylo určeno pohlaví, zváženo a změřeno tělo (délka byla 294 cm a hmotnost 370 kg) a před samotnou nekropsií byla zkontrolována tlama plískavice, zda se v ní nenacházejí makroplastické

materiály. Následně byl vyjmut celý gastrointestinální trakt od hltanu po řitní otvor, který byl převezen do laboratoře. Vnější povrch gastrointestinálního traktu byl opláchnut destilovanou vodou a vnitřek trávicího traktu byl nejprve vyprázdněn stlačením (obsah traktu byl dán do sklenic) a poté promyt destilovanou vodou. Obsah traktu byl filtrován přes 5 ocelových sít o velikosti ok 2000 μm , 1000 μm , 750 μm , 200 μm a 50 μm . Použité filtry se následně zakryly alobalem, aby se zabránilo kontaminaci do dalšího vyšetření.

Použité filtry byly zkoumány na přítomnost mikroplastových částic pod mikroskopem Olympus SZX7 s připojenou digitální kamerou Olympus DP 20. Za částice podobné mikroplastovým byly považovány částice bez buněčných nebo organických struktur, vlákna se stejně silným koncem, barevné částice a zkroucené ploché pásy (Mohamed Nor & Obbard 2014). Všechny pozorované částice, které byly identifikovány jako plastové, byly vystaveny horké jehle, aby se zjistilo, zda se určitě jedná o částice plastového původu (Hanke et al. 2013). Také organické zbytky ze sít byly důkladně prozkoumány, zda se v nich nezachytily mikroplasty. Nakonec byly všechny mikroplastové částice spočítány, změřeny, určeny byly barvy a typ mikroplastu (peleta, fragment nebo vlákno).

V předním žaludku byla nalezena nestrávená, či částečně strávená potrava včetně 9 velkých zobáků olihní. Další žaludky byly prázdné. Z GIT samice plískavice šedé bylo získáno celkem 484 částic, z toho vláken bylo 96 %. Menší část identifikovaných mikroplastových částic tvořily pelety a fragmenty z neidentifikovatelných větších předmětů. Velikostně byla 4 % extrahovaných mikroplastů zařazena do třídy mezoplastů (5-20 mm) a zbylých 96 % bylo zařazeno do mikropastů (<5 mm). Většina částic měřila 0,5-1,0 mm (38 %) a průměrná velikost extrahovaných vláken byla 1,3 mm. Většina extrahovaných mikroplastů měla černou barvu (62 %), ale našly se také mikroplasty bílé, černé, modré, zelené a červené. Celý přehled extrahovaných mikroplastů lze najít na Obrázku 9.

Celkově v této studii bylo z gastrointestinálního traktu plískavice šedé (*Grampus griseus*) ze severovýchodní části Středoziemního moře získáno 454 mikroplastových částic (Yücel et al. 2022). Dle Sharmy et al. (2021) je koncentrace mikroplastů ve Středozemním moři až 4krát větší než v severním Tichém oceánu.



Obrázek 9. Charakterizace extrahovaných mikroplastů podle barvy (%), tvaru (%) a velikosti (mm) (Yücel et al. 2022).

Dalším významným kytovcem z malořádu ozubených je sviňucha obecná (*Phocoena phocoena* (Linnaeus, 1758)) z čeledi sviňuchovití (Phocoenidae), která byla též zkoumána na požití mikroplastů v letech 2003 až 2013 v holandských pobřežních vodách. Dle van Franekera et al. (2018) bylo celkově analyzováno 654 žaludků sviňuch obecných nalezených uhynulých na nizozemském pobřeží v letech 2003 až 2013. Dva pitvaní jedinci byli z roku 2003, 268 jedinců z let 2005 až 2009 a 384 jedinců z let 2010 až 2014. Celkově 7 % zvířat byli novorozenci (telata), 72 % byla nedospělá zvířata a 21 % byli dospělí. Od roku 2003 do roku 2007 prováděl mezinárodní tým patologů mořských savců pitvy na nizozemském ostrově Texel a od roku 2008 dosud na Fakultě veterinární univerzity v Utrechtu. Základní údaje pro každou sviňuchu obecnou zahrnovaly datum nálezů a umístění, celkovou délku, hmotnost, pohlaví a věk. Pro výzkum složení stravy byly odebrány žaludky, vizuálně zkontrolovány na abnormality během pitvy a uloženy při -20 °C do další analýzy obsahu žaludku ve Wageningen Marine Research (WMR). Žaludky byly opláchnuty a propláchnuty. Tato směs byla uchována a proseta přes kovové síto o velikosti ok 1 mm a látky hromadící se na sítu byly shromážděny pro analýzu pomocí abinokulárního mikroskopu a cíleného hledání abnormálních částic. Plastové částice byly individuálně zváženy a analyzovány na jejich polymerní složení, pomocí ručního

infračerveného analyzátoru materiálu Phazir (NIR; DTS-PHAZIR-1624 pro 1600-2400 nm). Phazir porovnává spektra s integrovanou referenční knihovnou: výsledky byly akceptovány, když přístroj indikoval 80 % nebo vyšší shodu mezi měřenou částicí a referencí. Charakterizace polymeru pomocí NIR byla provedena na 66 částicích. 31 z nich (47 %) však vykazovalo méně než 80 % shodu s látkami v referenční knihovně, což je nedostatečné pro spolehlivou identifikaci. Z 35 částic se spolehlivými shodami s referenční knihovnou bylo 46 % polyethylenových (PE, 16 částic), 40 % polypropylen (PP, 14 částic), 6 % polyamid (PA, 2 částice), 6 % polyvinylchlorid (PVC, 2 částice) a 3 % polyethyltereftalát (PET, 1 částice).

Zhruba 80 % žaludků obsahovalo zbytky jídla. Z 654 analyzovaných žaludků byl nalezen antropogenní odpad v 47 z nich. Ve 44 případech se jednalo o plastový odpad, ve třech případech o nesyntetický odpad a jeden případ obsahoval plasty i nesyntetický odpad. Celkem bylo evidováno 76 kusů steliva (71 kusů plastu, 3 kusy papíru, 1 nesyntetické lano a 1 rybářský háček). Ve většině případů byl pouze jeden kus na jednotlivce, maximálně pět kusů.

V 654 vzorcích žaludků byla frekvence výskytu plastového odpadu 7 % s méně než 0,5 % další přítomností nesyntetického umělého odpadu. Ukazuje se však, že při dodržení vyhrazeného standardního protokolu pro detekci plastů, podstatně vyšší procento (15 % z 81 žaludků sviňuch obecných z období 2010–2013) obsahovalo plastový odpad. Výsledky tedy silně závisely na použitých metodách a uvažovaném časovém období. Výskyt odpadu v žaludku koreloval s přítomností jiných nepotravinových zbytků, jako jsou kameny, skořápky, bažinaté dřevo atd., což naznačuje, že odpad byl často náhodně pozřen, když zvířata sháněla potravu blízko dna (van Franeker et al. 2018).

I vrcholoví predátoři z malořádu ozubených se setkávají s mikroplasty. Mluvíme zde o kosatkách dravých (*Orcinus orca* (Linnaeus, 1758)) z čeledi delfínovití. Studie Jenny Harlacher (2020) je první, která identifikuje přítomnost mikroplastů ve výkalech kosatek a porovnává mikročástice ve dvou populacích kosatek, a to u jižní residentní populace (18 vzorků) a u aljašské residentní populace kosatek (15 vzorků).

Vzorky trusu jižní residentní populace byly odebírány v letech 2007-2019 a vzorky trusu aljašské residentní populace byly odebrány v letech 2016-2018 postupně při občasných pozorováních. Odebraný trus z hladiny byl poté zpočátku skladován v průhledných polyethylenových plastových sáčkích nebo 50 ml zkumavkách na ledových sáčkích. Později byly vzorky trusu před analýzami přeneseny do dlouhodobého skladování při -20 °C nebo -80 °C. Vzorky výkalů byly vybrány ze sbírky vzorků výkalů kosatek archivovaných v Northwest Fisheries Science Center (NOAA Fisheries, Seattle, WA). Aby se zabránilo kontaminaci vzorků, byl nošen nesyntetický oděv s pláštěm ze 100% bavlny a veškeré náčiní použité pro práci se vzorky bylo vydezinfikováno. Pokud se se vzorky nepracovalo, byly zakryté fólií a veškerá laboratorní práce se prováděla pod odvětráváním a filtrací vzduchu. Vzorky stolice byly vyjmuty z mrazáku, rozmrazeny a přibližně 3-4 ml vzorku byly přeneseny do sterilní, předem zvážené baňky. Tyto jednolitrové skleněné baňky byly opláchnuty filtrovanou deionizovanou vodou, vysušeny ve speciální mikroplastové inkubační peci při 60 °C a zváženy. Byla zaznamenána hmotnost vzorku za mokra. Baňky byly pokryty čistou fólií a inkubovány

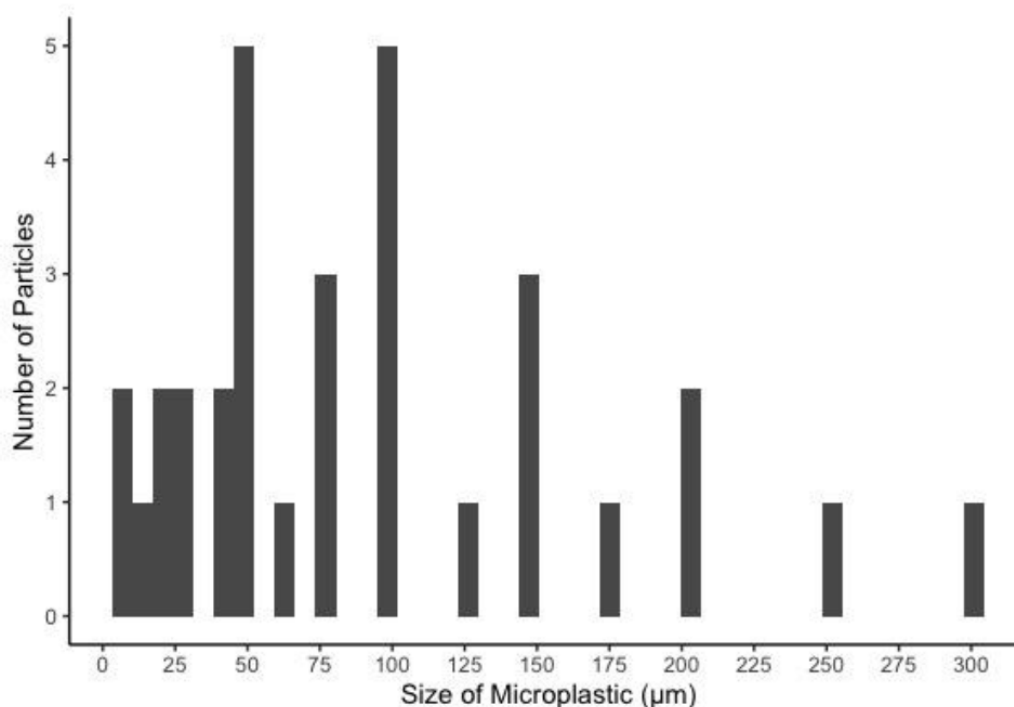
v sušicí peci při 60 °C, dokud se výkaly vizuálně zdály vlhké po dobu 24-48 hodin. Po vysušení byly baňky zváženy, aby se získala suchá hmotnost fekálního materiálu za účelem normalizace vzorků podle suché hmotnosti v důsledku různých velikostí vzorků stolice. Poté bylo přidáno 200 ml filtrovaného roztoku peroxidu vodíku do každé baňky, které byly následně opatřeny folií a byly umístěny do oscilačního inkubátoru při 60 °C a 80 otáčkách za minutu na 24–48 hodin. Po 24 hodinách byly baňky vizuálně zkontrolovány a pokud byl materiál převážně stráven roztokem, ohřev se vypnul a nechal se oscilovat po dobu 24-36 hodin. Poté, co byly vzorky stolice zcela stráveny, bylo přidáno 800 ml filtrovaného 0,25 g/ml roztoku chloridu sodného (NaCl) a každá baňka byla pokryta parafilmem neboli folií a poté třikrát převrácena, aby se promíchala. Baňky byly ponechány přes noc v digestoři, aby se obsah usadil a umožnil materiálu s nižší hustotou stoupat a materiálu s vyšší hustotou klesat. Jakmile se obsah baněk úplně usadil, každý roztok se přefiltroval přes nitrocelulózovou filtrační membránu o velikosti pórů 1 µm, případně přes membránu o velikosti pórů 5 µm, pokud se 1 µm membrána ucpala. Filtry byly umístěny do sterilních a označených Petriho misek a sušeny po dobu 21-48 hodin.

Vysušené filtry byly vizuálně kontrolovány stereomikroskopem Nikon SMZ745 a fotografovány fotoaparátem Nikon 5300 a všechny mikročástice byly katalogizovány podle typu a barvy, které byly seskupeny do kategorií (tmavá, světlá, vícebarevná, červená). Bílá, černá a oranžová barva byla ponechána odděleně. Za účelem ověření mikročastic jako mikroplastů, určení typu polymeru a velikosti mikročástice byla vybrána Ramanova mikrospektroskopie (RMS). Byl použit mikroskop Renishaw inVia Raman vybavený invertovaným optickým mikroskopem Leica DMIRBE s excitačními lasery 514 nm a 785 nm k provádění spektrální analýzy izolovaných mikročastic. Každá nalezená částice byla také vyfotografována a změřena. Výkon laseru a doby akvizice se měnily v závislosti na citlivosti vzorku na tepelné poškození, aby se minimalizovalo poškození mikročastic. K identifikaci typů polymerů pro každou mikroplastickou částici byla použita spektrální referenční knihovna a porovnání spektrogramů bylo provedeno pomocí automatizovaného softwaru a spektrálních referenčních knihoven, nebo v případě potřeby ručně spárováno.

Ze vzorků trusu bylo identifikováno celkem 2 723 mikročastic (podezřelé mikroplasty) ve 33 vzorcích výkalů kosatek z východního severního Pacifiku, a to celkem 1 356 mikročastic ve vzorcích aljašské rezidentní populace kosatek (AK; 15 jedinců) a 1 368 mikročastic ve vzorcích jižní rezidentní populace kosatek (SR; 18 jedinců). Pouze jeden vzorek trusu neobsahoval žádné mikročástice, ale u ostatních vzorků se počet častic pohyboval v průměru 82,5. V populaci AK bylo identifikováno v průměru 173 mikročastic/gram stolice a v populaci SR bylo identifikováno průměrně 165 mikročastic/gram stolice. Díky těmto výsledkům můžeme říct, že mezi těmito dvěma populacemi kosatek nebyl pozorován žádný významný rozdíl v počtu mikročastic v trusu. Toto zjištění bylo překvapivé, protože tyto populace obývají zcela odlišné regiony i co se týče osídlených oblastí. Avšak co se týče typů mikročastic, bylo nalezeno více úlomků v trusu SR a v trusu AK bylo nalezeno více vláken. Dále bylo identifikováno šestnáct různých barev mikročastic a seskupeno do sedmi barevných kategorií. Nejběžnější barvy byly bílá (63 %) a černá (17 %), které tvořily 80 % izolovaných mikročastic. Zbývající barvy byly světlé (8 %), oranžové (5 %), tmavé (3 %), červené (2 %) a vícebarevné (1 %). Skupina 89 mikročastic

byla zkoumána a analyzována pomocí Ramanovy mikrospektroskopie a z těchto částic bylo 34 (38 %) ověřených syntetických mikroplastů (45 %, polyethylen (12 kusů), nylon (12 kusů) a polyamid (10 kusů)), 40 mikročástic fluoreskovalo (mělo vysokou interferenci fluorescence a slabý Ramanův signál, což bránilo naší schopnosti identifikovat tyto částice) a zbývajících 15 mikročástic bylo určeno jako fragmenty filtračního papíru. Velikosti mikroplastů analyzovaných pomocí Ramanovy mikrospektroskopie lze vidět na Obrázku 10. Všechny nalezené mikročástice byly spotřebitelské částice vznikající degradací antropogenního odpadu.

Syntetické mikroplasty byly nalezeny v obou populacích kosatek. Podobnost v počtech mikročástic může být ve společné potravě obou populací, kterou je hlavně losos (National Marine Fisheries Service 2016). Ten může konzumovat mikroplasty. Další zdroj plastových úlomků pocházejících z moře by mohl pocházet z rybářského průmyslu, protože obě populace kosatek obývají oblasti, kde je podporován komerční rybolov (Harlacher 2020).



Obrázek 10. Distribuce velikosti (μm) mikroplastických částic izolovaných ze vzorků výkalů kosatek a analyzovaných pomocí Ramanovy mikrospektroskopie (Harlacher 2020).

3.8.3 Kosticovci

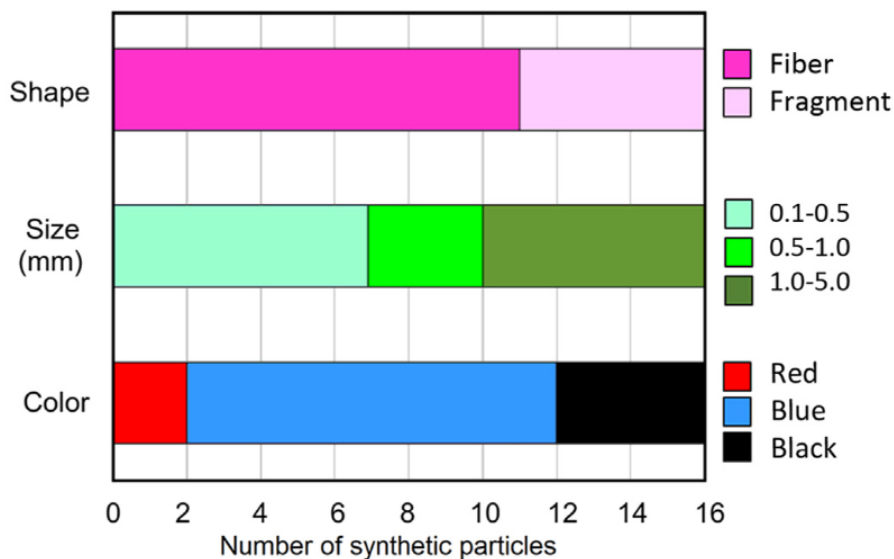
Kosticovci neboli kytovci živí se filtrováním vody za pomoci kistic, jsou mikroplasty mnohem více ohroženi. Filtrováním vody pasivně přijímají obrovské množství plastů i mikroplastů, které mohou způsobit ucpání filtračního aparátu nebo trávicího traktu jedince.

Jedním ze zkoumaných kytovců z řádu kosticovců je plejtvák myšok neboli plejtvák tmavý (*Balaenoptera physalus* (Linnaeus, 1758)) z čeledi plejtvákovití (Balaenopteridae). V práci Garcia-Garina et al. (2021) bylo zkoumaných 25 jedinců plejtváků myšoků, kteří se živí

u západního pobřeží Islandu. Všichni tito jedinci byli odloveni v roce 2018 při příležitosti komerčního lovení velryb v Islandských vodách. Plejtvák, jakožto kosticovec, se živí filtrací vody, tudíž jeho hlavní složkou potravy je převážně kril, v tomto případě u těchto jedinců je to severní kril neboli světélkovec atlantský (*Meganyctiphanes norvegica* (M. Sars, 1857)). Severní kril, který je hlavní potravou pro plejtváky myšky, také konzumuje mikroplasty, které si plete s potravou. To potvrdil Desforges et al. (2015). Existují dva způsoby, jak se kosticovci mohou infikovat mikroplasty. Jak zde již bylo zmíněno, první způsob je přímo z kořisti, v tomto případě ze severního krilu, který požívá mikroplasty, druhý způsob je nepřímo z vodního sloupce.

Všem 25 jedincům byla odebrána první komora jejich žaludku společně s pozřeným krilem. Z každého žaludku bylo odebráno okolo 20 gramů biologického materiálu, který byl následně uložen do skleněných nádob. Také veškerý kril byl ze žaludku odebrán a zkontrolován, zda na něm nejsou přítomny plastové částice. Všechny vzorky byly poté zmrazeny na -20 °C až do podrobné analýzy v laboratoři. Bylo také odebráno 11 gramů vzorků krilu, který byl použit při analýze mikroplastů. Vzorky byly rozmrazeny a vloženy do skleněné kádinky v poměru 1:20 (w/v) H₂O₂ (15% H₂O₂) a zahřívány při teplotě 55-65 °C až do odpaření H₂O₂. Do kádinky byly postupně přidávány alikvotní části 10 ml H₂O₂, dokud nebyly všechny organické látky rozloženy (Tsangaris et al. 2020). Vzorky byly poté zředěny 50 ml Milli-Q a vakuově filtrovány na sklolaminátových filtrech (velikost pórů 1,2 μm), které byly sušeny při pokojové teplotě po dobu 24 hodin a následně uloženy do Petriho misek. Filtry byly zkoumány pod stereomikroskopem Nikon SMZ1000 (10x až 40x) ve spojení s kamerou DS-Fi2. Syntetické částice nalezené ve filtrech byly vyfotografovány, spočítány a klasifikovány podle velikosti (0,1-0,5, 0,5-1,0 a 1-5 mm), barvy (modrá, červená, černá a bílá) a tvaru (fragment, vlákno a kulička) (Lusher et al. 2020). Devatenáct potenciálních syntetických částic bylo analyzováno pomocí mikroskopu Thermo Scientific Nicolet™iN™MXmFT-IR (Micro-Fourier Transform Infrared Spectroscopy) a následně porovnáno s knihovnou polymerů za účelem identifikace typu polymeru. Aby se zabránilo kontaminaci vzorků, bylo provedeno několik opatření, jako je sterilizace laboratorního náčiní, filtrace vzduchu, vhodný oděv, který zahrnoval gumové rukavice a bavlněný bílý plášť (v případě možné kontaminace je zde možnost vyloučit bílá vlákna z plášťů), filtry byly opatřeny víky atd.

Díky Víkingsson (1997) který odhadl, že denní příjem krilu jednoho jedince plejtváka myšoka se pohybuje od 678 do 1356 kg krilu, vědci vynásobili tyto hodnoty počtem syntetických částic zjištěných ve vzorcích (57 kusů/kg), aby dostali denní počet pozřených syntetických částic. Přehled částic zjištěných ve všech zkoumaných vzorcích krilu je znázorněn na Obrázku 11. Denní počet syntetických částic pozřených velrybami byl odhadnut na 38 646 až 77 292.

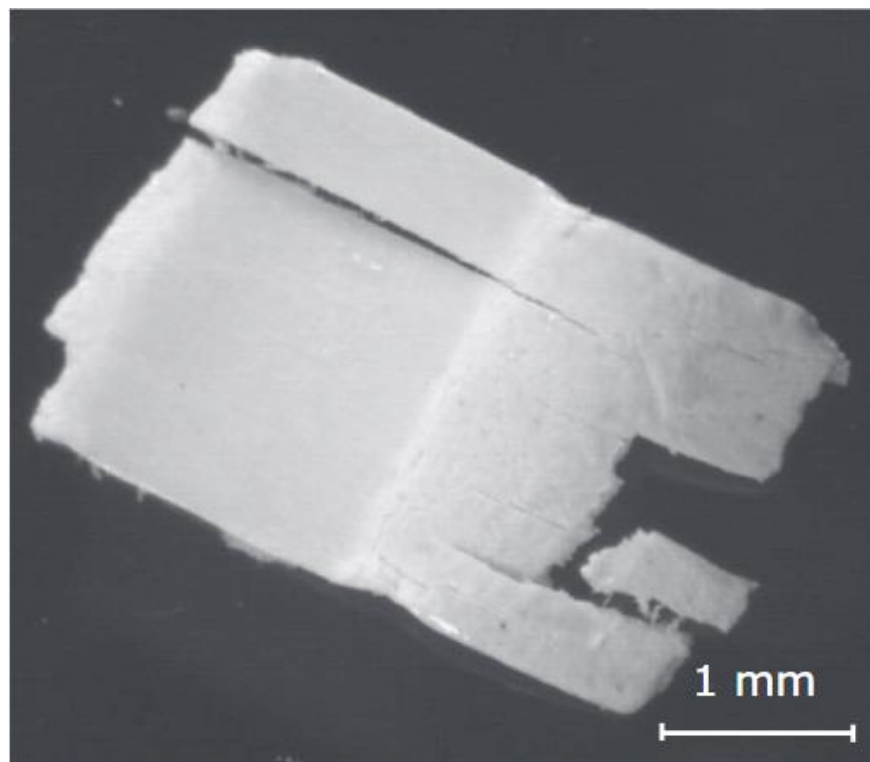


Obrázek 11. Tvar, velikost a barva syntetických částic zjištěných ve všech zkoumaných vzorcích krilu (Garcia-Garin et al. 2021).

Ve 25 zkoumaných vzorcích bylo nalezeno celkem 19 částic, ale jedna byla z výsledků vyloučena, protože byla považována za vzdušnou kontaminaci. Ze zbývajících 18 částic byla 1 částice z modifikované celulózy, 1 z křemičitanových minerálů a zbývajících 16 částic bylo považováno za syntetické částice. Z 16 syntetických částic bylo 5 (37,5 %) identifikováno jako modifikovaná celulóza (tj. celulóza s pigmenty nebo rayon); 3 (18,8 %) jako polyetylen, 3 (18,8 %) jako polystyren, 3 (18,8 %) jako polypropylen a 1 (6,1 %) jako akrylonitril. Počet syntetických částic se pohyboval od 0 do 2 na vzorek. Četnost výskytu, vypočtená jako procento vzorků se syntetickými částicemi z celkového počtu vzorků, byla 52 %. Průměrná koncentrace syntetických částic v jednom vzorku, s ohledem na všechny vzorky, byla 0,64 (průměr) a průměr koncentrace syntetických částic na gram krilu byla 0,057. Nejčastějším tvarem, barvou a velikostí syntetických částic byla vlákna (69 %), modrá barva (62,5 %) a velikost menší než 0,5 mm (44 %) (Garcia-Garin et al. 2021).

První studií, která dokázala pozření mikroplastů keporkaky (*Megaptera novaeangliae* (Borowski, 1781)) je práce Besseling et al. (2015). Ve studii byla zkoumána 16 tunová samice keporkaka, která uvízla 12. 12. 2012 na pobřeží mezi městem Den Helder a ostrovem Texel v Nizozemsku. Po čtyřech dnech od uvíznutí uhynula. Dva dny po jejím uhynutí byla provedena nekropsie a odebrání tkání, i části trávicího traktu (pětina až desetina délky trávicího traktu), které byly zmrazeny při teplotě -18 °C do dalšího zkoumání. Dalším postupem bylo rozmrazení vzorků a jejich prosetí přes dvě síta o velikosti ok 1 milimetr a 0,5 milimetrů. Biologický materiál, který byl prosit, byl následně rozpuštěn v 10% roztoku hydroxidu draselného. Zbytky byly promyty podle předchozích metod v pračce ve dvojitých pracích sáčcích, přičemž vnitřní sáček měl velikost ok 300 µm a vnější sáček 120 µm (Bravo Rebolledo et al. 2013). Po vyprání byly vzorky sušeny po dobu tří hodin při 70 stupních Celsia. Případné částice syntetického polymeru byly potom vybrány ze zbylého materiálu. Ve vzorcích

z gastrointestinálního traktu bylo nalezeno celkem 45 částic možného syntetického původu. Z těchto 45 částic mělo 45,7 % syntetický původ, 25,7 % mělo přírodní původ a u 28,6 % nebyla získána odpovídající spektra. Byly identifikovány polymery, jako je polyetylén, nylon, polypropylen (viz Obrázek 12), polyvinylchlorid a PET. 12,5 % syntetických částic mělo maximální rozměr 2,5 až 17 cm. Jednalo se tedy o makroplasty a byla to hlavně vlákna o průměru 0,1 až 0,23 milimetrů, 50 % syntetických částic mělo rozměry 5,8 – 12 mm × 0,3 - 8,2mm a šlo tedy o mezoplasty. Zbývajících 37,5 % tvořily pláty a fragmenty mikroplastů o velikosti 1,1 až 4,7 mm × 0,4 až 2,4 mm. Vzhledem k tomu, že částice se mohou rozpadnout během postupu trávicím traktem, při odběru vzorků nebo zpracování, diskutujeme o objemu částic místo o jejich počtu. Všechny nalezené plastové částice měly objem menší než 3,5 milimetrů krychlových na částici. Většinu částic z celkového objemu 13,7 milimetrů krychlových plastů tvořil polyethylen a nylon. Jelikož se jednalo o pětinu až desetinu celkové délky trávicího traktu, byl celý počet částic vynásoben délkou celého traktu, která je až pětikrát delší než tělo keporkaka (až 57 m). Po vynásobení se odhaduje až 160 malých plastových částic nebo objem až 137 milimetrů krychlových plastových částic v celém gastrointestinálním traktu keporkaka (Besseling et al. 2015).



Obrázek 12. Polypropylenová (PP) částice nalezená ve vzorcích gastrointestinálního traktu studovaného keporkaka (Besseling et al. 2015).

Díky studii Burkhardt-Holm & N'Guyen (2019) se podařilo zjistit požívání mikroplastů u druhů plejtváka malého (*Balaenoptera acutorostrata* Lacépède, 1804) a plejtváka sejvala (*Balaenoptera borealis* Lesson, 1828) díky porovnání dalších studií o jejich potravě.

Byly porovnány dokumenty o potravě těchto plejtváků a dokumenty o nalezených mikroplastech v potravě plejtváků.

Ukázalo se, že potrava plejtváka malého je velice různorodá a liší se napříč lokacemi. Nejdůležitější potravou jsou druhy čeledi smačkovitých (Ammodytidae) v pobřežních oblastech Tichého a Atlantského oceánu a také v Severním moři, a rovněž i druhy z dalších čeledí jako jsou sledřovití (Clupeidae), treskovití (Gadidae), sardelovití (Engraulidae) nebo rohoretkovití (Scomberesocidae) a koruškovití (Osmeridae) v pobřežních oblastech.

U plejtváka sejvala byla potrava také různorodá. Hlavní složku potravy tohoto druhu tvoří klanonožci (Copepoda) v pobřežních oblastech severozápadního Pacifiku a dále druhy z čeledí sledřovitých, sardelovitých, makrelovitých (Scombridae) a krilu v pobřežních oblastech severozápadního Pacifiku a treskovitých v pobřežních oblastech severovýchodního Pacifiku. Tyto kořistní druhy byly poté přezkoumány na přítomnost mikroplastů z dalších studií.

V severním Tichém oceánu kril a klanonožci vykazovali nízkou míru příjmu mikroplastů (2,2 % až 5,9 % všech odebraných vzorků) (Desforges et al. 2015), zatímco příjem mikroplastů u druhů z čeledi sardelovití byl vyšší (76,6 %) (Tanaka & Takada 2016). Makrelovití z pobřežních oblastí jižního Tichého oceánu vykazovali nízkou úroveň příjmu MP (mikroplastů) (0 % až 3,3 %).

Treskovití vykazují vysokou míru příjmu MP v Lamanšském průlivu (38,1 %), střední míru v pobřežních oblastech Severního moře (6,9 %) a nízkou míru v pobřežních oblastech severovýchodního i severozápadního Atlantiku (2,4 až 3 %) a Baltského moře (1,4 %) (Burkhardt-Holm & N'Guyen 2019). Nejvyšší míra požití MP byla zjištěna u makrelovitých z pobřežních oblastí severovýchodního Atlantiku (31,2 %), Lamanšského průlivu (32,2 %), Baltského moře (30,8 %) a Středozemního moře (71,4 %), ale makrelovití v pobřežních oblastech Severního moře vykazovali nízkou míru požití MP (4,1 %). Sledřovití z pobřežních oblastí Severního moře (1,5 %) a pobřežních oblastí Baltského moře (1,8 %) vykazovali nízkou míru příjmu MP, zatímco sledřovití z pobřežních oblastí Baltského moře vykazovali střední míru příjmu MP (19,7 %).

Z těchto výsledků se odvodilo, že populace plejtváků malých žijících v pobřežních oblastech, má vysoký potenciál pro příjem mikroplastů z potravy, kterou tvoří převážně ryby z čeledi makrelovitých, treskovitých, sardelovitých a sledřovitých.

Plejtváci sejvalové mají vysoké riziko kontaminace mikroplasty z druhů čeledí makrelovitých, sledřovitých a sardelovitých, zejména v pobřežních oblastech severozápadního Pacifiku. Populace plejtváků žijících v severovýchodním Tichém oceánu má nižší riziko kontaminace mikroplasty díky tomu, že se živí klanonožci, kteří mají nízký příjem mikroplastů (Burkhardt-Holm & N'Guyen 2019).

3.9 Kytovci a COVID-19

Od počátku pandemie COVID-19 se zvýšila produkce jednorázových zdravotních pomůcek a plastového materiálu, který je pro nás v tuto chvíli nezbytný, ale pro životní prostředí se stává nesmírnou zátěží. Dle odhadů COVID-19 způsobil, že se každý měsíc

celosvětově použilo 129 miliard jednorázových chirurgických roušek a 65 miliard rukavic (Prata et al. 2020). Bohužel se nejedná jen o zdravotní pomůcky, ale i o další předměty na jedno použití jako jsou plastové příbory, talíře, kelímky, plastové nákupní tašky atd. Díky práci Einfeld-Pierantonio et al. (2022) sjednocující všechny články a zprávy o kytovcích, kteří pozřeli plastový odpad od ledna 2018 do května 2021, máme údaje, jak závažně kytovce zasáhla pandemie COVID-19. Práce dokazuje, že 61 druhů kytovců z 90 bylo zasaženo plastovým odpadem, a to buď jeho pozřením, či zamotáním se do něj. 31 druhů bylo zapleteno a 57 druhů pozřelo plasty, nejčastěji makroplasty jako plastové sáčky, obaly, plastové fólie, fragmenty velkých plastových nádob a v menší míře plastové láhve. Velkou část pozřeného materiálu tvoří také předměty spojené s rybolovem, jako jsou části lan, sítí, vlasců a háčků (Einfeld-Pierantonio et al. 2022). Z tohoto přehledu vyplývá, že více než dvě třetiny druhů kytovců jsou ovlivněny odpadky a plasty v mořích a že počet ovlivněných druhů zjevně roste a do budoucna lze důvodně předpokládat další růst. Na začátku pandemie byly zprávy plné příběhů o volně žijících zvířatech, kterým se lépe dařilo díky nepřítomnosti lidí a menší míře znečištění, ale nyní se po celém světě vyplavují na pobřeží jednorázové plastové rukavice, chirurgické roušky, respirátory a další odpad. Největším problémem z hlediska mikroplastů jsou chirurgické roušky, ze kterých se může uvolnit tisíce vláken díky zvětrávání, a to pouze z jedné roušky (Einfeld-Pierantonio et al. 2022). Tomuto problému se věnuje následující práce.

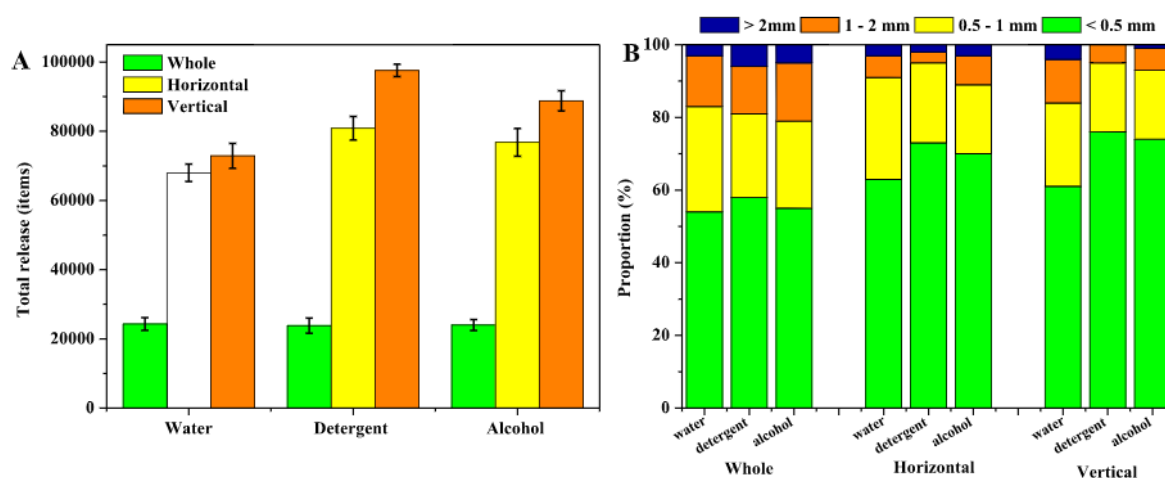
Studie Shen et al. (2021) experimentovala s jednorázovými nepoužitými chirurgickými rouškami a jejím cílem bylo zhodnotit uvolňovací schopnost mikroplastů a nanoplastů jednorázových chirurgických roušek a její ovlivňující faktory v simulovaném vodním prostředí.

Na této roušce se provedly tři experimenty. Prvním experimentem bylo vložení roušky do 3 litrů vody, kde byla míchána při pokojové teplotě po dobu 24 hodin v míchačce (120 otáček za minutu). Po omytí masky a jejím uschnutí při pokojové teplotě byl proveden druhý experiment, kde omytá maska opakovala první experiment. Pro druhém experimentu byla maska opět omyta a osušena a jako třetí experiment se opět opakoval první experiment. Ke stanovení uvolňování mikroplastů byly použity také roztoky detergentu neboli roztoky saponátu (koncentrace dodecylbenzensulfonátu sodného 10 mg/l) a alkoholové dezinfekční roztoky (75% koncentrace), aby bylo možné systematicky studovat uvolňování mikroplastů v rouškách. Protože vlákna v roušce byla uspořádána v určitém směru, byla rouška rozřezána do vodorovných a svislých tvarů, aby bylo možné pochopit uvolňovací mechanismus. Horizontální a vertikální tvary byly také vloženy do kádinky a byly přidány 3 litry vody, detergentu a roztoku alkoholu. Experimentální podmínky byly stejné jako v prvním experimentu s uvolňováním a fragmenty byly také dvakrát vyčištěny. Po každém mycím cyklu byl vzorek roušky vyjmut ze skleněné kádinky očištěnou pinzetou a po dobu 30 sekund odkapáván, aby se vypustila přebytečná kapalina. Uvolňovací roztok byl nepřetržitě míchán, aby se udržela stejnoměrnost suspenze. Roztok byl poté zfiltrován filtračním systémem sestávajícím z filtrační jednotky a vakuové pumpy. Uvolňovaná voda byla filtrována přes nitrocelulózovou membránu s velikostí pórů 0,45 μm . Aby se zabránilo nahromadění příliš velkého množství vláken na membráně, byl stanoven objem uvolňované vody s cílem

100 až 200 mikroplastických vláken na filtr (Cai et al. 2020). Membrána byla okamžitě vložena do čisté skleněné misky a vysušena při teplotě 40 °C pro další studium. Všechny experimenty byly třikrát opakovány a všechny skleněné nástroje byly před použitím třikrát vyčištěny vodou a alkoholem.

Výsledky ukázaly, že chirurgická rouška dokáže uvolňovat mikroplastové vlákno za všech podmínek, tedy u všech experimentů. S nárůstem počtu cyklů roušky se zvýšilo i uvolňování mikroplastů. Množství uvolněných mikroplastů jednou rouškou se zvýšilo z 24 300 částic při prvním použití na 36 400 částic při druhém použití a poté na 55 900 částic při třetím použití ve vodním prostředí. Když byla rouška dezinfikována a vyčištěna saponátem nebo alkoholem, výrazně se zvýšilo uvolňování mikroplastů z 28 800 a 27 000 částic při prvním použití na 50 000 a 43 200 částic při druhém použití, poté na 88 000 a 76 800 částic při třetím použití pod roztokem detergentu a alkoholu. Po trojnásobném umytí bylo celkové množství uvolněných mikroplastů 116 600, 168 800 a 147 000 částic jednou rouškou ve vodě, v roztoku detergentu a v roztoku alkoholu. Přidání detergentu a roztoku alkoholu může zvýšit uvolňování mikroplastických vláken a zvýšit podíl vláken s menší velikostí částic. Důvodem tohoto jevu může být to, že detergent může urychlit lámání plastového vlákna a rozpustit některé uzly, takže se plastové vlákno může zbavit vazby a dostat se do vody. Délka uvolněných mikroplastových vláken se pohybovala od <0,5 mm do 3,8 mm, z nichž 50 % bylo menších než 0,5 mm a 80 % bylo menších než 1 mm.

Celkový počet uvolněných mikroplastových vláken celou rouškou, horizontálními fragmenty a vertikálními fragmenty byl 24 300, 68 000 a 72 900 částic pod ultračistou vodou a 23 800, 80 900 a 97 600 částic pod roztokem detergentu a 24 000, 76 800, 88 800 částic pod alkoholovým roztokem. Na Obrázku 13 můžeme vidět, že kapacita uvolňování mikroplastových vláken z fragmentů vertikální masky byla větší než kapacita z fragmentů horizontální masky, kdy hlavním důvodem bylo zvětšení expoziční plochy.



Obrázek 13. Vliv řezání na uvolňování mikroplastových vláken chirurgické roušky. (A) množství uvolněných mikroplastových vláken při různých metodách řezání a (B) distribuce délek uvolněných mikroplastových vláken (Shen et al. 2021).

Po dvou měsících přirozeného zvětrávání se jednorázové roušky staly velmi křehkými plastovými úlomky. Rozbité kusy staré masky se zcela proměnily v mikroplasty. Plně zestárlá jednorázová chirurgická rouška by uvolnila do životního prostředí miliardy mikroplastových vláken.

Tato studie ukázala, že jednorázové chirurgické roušky mohou uvolnit velké množství mikroplastových vláken, pokud jsou místo správné likvidace odhozeny do životního prostředí, a že fragmentace roušky zvětší její expoziční plochu a zvýší uvolňování mikroplastových vláken a částic (Shen et al. 2021).

4 Závěr

Cílem této bakalářské práce bylo zhodnotit rizika mikroplastů a zjistit jejich přítomnost u populací kytovců. Plasty byly v práci rozděleny na makroplasty, mezoplasty a mikroplasty a popsány, stejně tak i jejich způsoby přenosu do vodního prostředí, kterými jsou hlavně vodní toky či odpadní vody. Diskutovány byly i metody jejich vyhledávání a analýzy ve vodním prostředí. Byly zde i popsány negativní dopady mikroplastů na vodní organismy, a to hlavně dopady jejich požívání, mezi které patří blokáda trávicího traktu, bioakumulace toxických chemických látek či snížení příjmu živin a další vážné zdravotní problémy. Pro dosažení cílů práce jsem vytvořila obsáhlou rešerši ze zdrojů zabývajících se výskytem mikroplastů v kytovcích. Na tento krok navázala má analýza získaných údajů. Jak jsem v této práci zjistila, mikroplasty představují velké riziko nejen pro kytovce. Jedná se o nebezpečný materiál, který ohrožuje celý vodní ekosystém včetně vrcholových predátorů, jako jsou kosatka dravá, tak i další z největších savců, např. plejtváky a mnoho dalších kytovců. Vzhledem k aktuální situaci ve světě jsem přidala poznatky o uvolňování mikroplastů z jednorázových chirurgických roušek v čisté vodě i chemických roztocích, které dosahují téměř 100 000 uvolněných mikroplastů z jedné chirurgické roušky.

Existuje mnoho zdrojů plastů v oceánech, jako jsou nezpracované odpady, plastové pytle, balící materiály a mikroplasty z kosmetických výrobků. Abychom snížili jejich množství, bude nutné se zaměřit na recyklaci a omezování používání jednorázových plastů, jako jsou igelitové tašky a plastové přístroje. Nutné je také podporovat iniciativy na čištění oceánů a zvyšování povědomí o dopadech plastů na život v oceánech.

Tato práce představuje shrnutí informací o mikroplastech a kytovcích a poukazuje na nebezpečí, které mikroplasty představují.

5 Literatura

- Ahmed R, Hamid AK, Krebsbach SA, He J, Wang D. 2022, April 1. Critical review of microplastics removal from the environment. *Chemosphere* 133557.
- Andrady AL. 2017, June 15. The plastic in microplastics: A review. *Marine pollution bulletin* **119.1**: 12-22.
- Bae JH, Min BC, Luo S, Kannan SS, Singh Y, Lee B, Voyles RM, Postigo-Malaga M, Zenteno EG, Aguilar LP. 2019. Development of an unmanned surface vehicle for remote sediment sampling with a van veen grab sampler. *OCEANS 2019 MTS/IEEE Seattle, OCEANS 2019*. Institute of Electrical and Electronics Engineers Inc.
- Baird RW, Hooker SK. 2000. Ingestion of Plastic and Unusual Prey by a Juvenile Harbour Porpoise. *Marine Pollution Bulletin* **8.40**: 719-720.
- Bancin LJ, Walther BA, Lee YC, Kunz A. 2019. Two-dimensional distribution and abundance of micro – and mesoplastic pollution in the surface sediment of Xialiao Beach, New Taipei City, Taiwan. *Marine Pollution Bulletin* **140**:75–85. Elsevier Ltd.
- Besseling E et al. 2015. Microplastic in a macro filter feeder: Humpback whale *Megaptera novaeangliae*. *Marine Pollution Bulletin* **95**:248–252. Elsevier Ltd.
- Botta S, Secchi ER, Muelbert MMC, Danilewicz D, Negri MF, Cappozzo HL, Hohn AA. 2010. Age and growth of franciscana dolphins, *Pontoporia blainvillei* (Cetacea: Pontoporiidae) incidentally caught off southern Brazil and northern Argentina. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* **90**:1493–1500. Cambridge University Press.
- Bravo Rebolledo EL, Van Franeker JA, Jansen OE, Brasseur SMJM. 2013. Plastic ingestion by harbour seals (*Phoca vitulina*) in The Netherlands. *Marine Pollution Bulletin* **67**:200–202.
- Browne M, Galloway T, Thompson R. 2007. Microplastic--an emerging contaminant of potential concern?. *Integrated environmental assessment and Management* **3.4**: 559-561.
- Browne MA, Dissanayake A, Galloway TS, Lowe DM, Thompson RC. 2008. Ingested microscopic plastic translocates to the circulatory system of the mussel, *Mytilus edulis* (L.). *Environmental Science and Technology* **42**:5026–5031.
- Burkhardt-Holm P, N’Guyen A. 2019. Ingestion of microplastics by fish and other prey organisms of cetaceans, exemplified for two large baleen whale species. *Marine Pollution Bulletin* **144**:224–234. Elsevier Ltd.
- Cai Y, Yang T, Mitrano DM, Heuberger M, Hufenus R, Nowack B. 2020. Systematic Study of Microplastic Fiber Release from 12 Different Polyester Textiles during Washing. *Environmental Science and Technology* DOI: 10.1021/acs.est.9b07395. American Chemical Society.
- Carey MJ. 2011. Intergenerational transfer of plastic debris by Short-tailed Shearwaters (*Ardenna tenuirostris*). *Emu* **111**:229–234.
- Carpenter EJ, Smith KL. 1972. Plastics on the Sargasso sea surface. *Science* **175**:1240–1241.
- Cole M, Lindeque P, Halsband C, Galloway TS. 2011, December. Microplastics as contaminants in the marine environment: A review. *Marine Pollution Bulletin* **62**: 2588-2597.

- Covernton GA, Pearce CM, Gurney-Smith HJ, Chastain SG, Ross PS, Dower JF, Dudas SE. 2019. Size and shape matter: A preliminary analysis of microplastic sampling technique in seawater studies with implications for ecological risk assessment. *Science of the Total Environment* **667**:124–132. Elsevier B.V.
- Cózar A et al. 2014. Plastic debris in the open ocean. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **111**:10239–10244. National Academy of Sciences.
- Dalebout ML, Van Helden A, Van Waerebeek K, Baker CS. 1998. Molecular genetic identification of southern hemisphere beaked whales (Cetacea:Ziphiidae). *Molecular Ecology* **7**: 687-694.
- Denuncio P, Bastida R, Dassis M, Giardino G, Gerpe M, Rodríguez D. 2011. Plastic ingestion in Franciscana dolphins, *Pontoporia blainvillei* (Gervais and d'Orbigny, 1844), from Argentina. *Marine Pollution Bulletin* **62**:1836–1841.
- Desforges JPW, Galbraith M, Ross PS. 2015. Ingestion of Microplastics by Zooplankton in the Northeast Pacific Ocean. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **69**. Springer Science and Business Media, LLC.
- Egbeocha CO, Malek S, Emenike CU, Milow P. 2018. Feasting on microplastics: Ingestion by and effects on marine organisms. *Aquatic Biology* **27**: 93-106.
- Eisfeld-Pierantonio SM, Pierantonio N, Simmonds MP. 2022, May 1. The impact of marine debris on cetaceans with consideration of plastics generated by the COVID-19 pandemic. *Environmental Pollution* 118967.
- Foekema EM, De Gruijter C, Mergia MT, Van Franeker JA, Murk AJ, Koelmans AA. 2013. Plastic in north sea fish. *Environmental Science and Technology* **47**:8818–8824.
- Fossi MC, Coppola D, Baini M, Giannetti M, Guerranti C, Marsili L, Panti C, de Sabata E, Clò S. 2014. Large filter feeding marine organisms as indicators of microplastic in the pelagic environment: The case studies of the Mediterranean basking shark (*Cetorhinus maximus*) and fin whale (*Balaenoptera physalus*). *Marine Environmental Research* **100**:17–24. Elsevier Ltd.
- Fossi MC, Panti C, Baini M, Lavers JL. 2018, May 23. A review of plastic-associated pressures: Cetaceans of the Mediterranean Sea and Eastern Australian Shearwaters as case studies. *Frontiers in marine science* **5**: 173.
- Garcia-Garin O, Aguilar A, Vighi M, Víkingsson GA, Chosson V, Borrell A. 2021. Ingestion of synthetic particles by fin whales feeding off western Iceland in summer. *Chemosphere* **279**. Elsevier Ltd.
- Goldbogen JA, Pyenson ND, Shadwick RE. 2007. Big gulps require high drag for fin whale lunge feeding. *Marine Ecology Progress Series* **349**:289–301.
- Hanke G et al. 2013. Guidance on Monitoring of Marine Litter in European Seas DOI: 10.2788/99475. Available from <http://europa.eu/>.
- Harlacher J. 2020. Whale, what do we have here? Evidence of microplastics in top predators: analysis of two populations of Resident killer whale fecal samples. University of Washington

- Hernandez E, Nowack B, Mitrano DM. 2017. Polyester Textiles as a Source of Microplastics from Households: A Mechanistic Study to Understand Microfiber Release During Washing. *Environmental science & technology* **51.12**: 7036-7046.
- Hernandez-Gonzalez A, Saavedra C, Gago J, Covelo P, Santos MB, Pierce GJ. 2018. Microplastics in the stomach contents of common dolphin (*Delphinus delphis*) stranded on the Galician coasts (NW Spain, 2005–2010). *Marine Pollution Bulletin* **137**:526–532. Elsevier Ltd.
- Hidalgo-Ruz V, Gutow L, Thompson RC, Thiel M. 2012. Microplastics in the marine environment: A review of the methods used for identification and quantification. *Environmental Science and Technology* **46**:3060–3075.
- Ivar Do Sul JA, Costa MF. 2014, February. The present and future of microplastic pollution in the marine environment. *Environmental pollution* **185**: 352-364.
- Jambeck JR, Geyer R, Wilcox C, Siegler TR, Perryman M, Andrady A, Narayan R, Law KL. 2015. Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science* **347**:768–771. American Association for the Advancement of Science.
- Karami A, Golieskardi A, Choo CK, Romano N, Ho Y bin, Salamatinia B. 2017. A high-performance protocol for extraction of microplastics in fish. *Science of the Total Environment* **578**:485–494. Elsevier B.V.
- Kasuya T, Brownell RL. 1979. Age determination, reproduction, and growth of the franciscana dolphin, *Pontoporia blainvillei*. *Scientific Reports of the Whales Research Institute* **31**: 45-67.
- Krause JC, von Nordheim H, Bräger S. 2006. Marine Nature Conservation in Europe. *Proceedings of the Symposium* p. 107-116.
- Lattin GL, Moore CJ, Zellers AF, Moore SL, Weisberg SB. 2004. A comparison of neustonic plastic and zooplankton at different depths near the southern California shore. *Marine Pollution Bulletin* **49**:291–294.
- Lusher A. 2015. Microplastics in the marine environment: Distribution, interactions and effects. *Marine anthropogenic litter* 245–307.
- Lusher AL, Bråte ILN, Munno K, Hurley RR, Welden NA. 2020. Is It or Isn't It: The Importance of Visual Classification in Microplastic Characterization. *Applied Spectroscopy* **74**:1139–1153. SAGE Publications Inc.
- Lusher AL, Hernandez-Milian G, O'Brien J, Berrow S, O'Connor I, Officer R. 2015. Microplastic and macroplastic ingestion by a deep diving, oceanic cetacean: The True's beaked whale *Mesoplodon mirus*. *Environmental Pollution* **199**:185–191. Elsevier Ltd.
- Lusher AL, O'Donnell C, Officer R, O'Connor I. 2016. Microplastic interactions with North Atlantic mesopelagic fish. *ICES Journal of Marine Science* **73**:1214–1225. Oxford University Press.
- MacLeod CD. 2000. Distribution of beaked whales of the genus *Mesoplodon* in the North Atlantic. *Mamm. Rev.*
- Massos A, Turner A. 2017. Cadmium, lead and bromine in beached microplastics. *Environmental Pollution* **227**:139–145. Elsevier Ltd.

- Masura, J., Baker, J., Foster, G., Arthur, C., & Herring, C. 2015. Laboratory Methods for the Analysis of Microplastics in the Marine Environment: Recommendations for quantifying synthetic particles in waters and sediments. NOAA Marine Debris Program National Oceanic and Atmospheric Administration US Department of Commerce.
- Mattsson K, Ekvall MT, Hansson LA, Linse S, Malmendal A, Cedervall T. 2015. Altered behavior, physiology, and metabolism in fish exposed to polystyrene nanoparticles. *Environmental Science and Technology* **49**:553–561. American Chemical Society.
- Mead JG. 2007. Stomach anatomy and use in defining systemic relationships of the Cetacean family Ziphiidae (Beaked whales). *Anatomical Record* **290**:581–595.
- Mohamed Nor NH, Obbard JP. 2014. Microplastics in Singapore’s coastal mangrove ecosystems. *Marine Pollution Bulletin* **79**:278–283.
- Moore RC, Loseto L, Noel M, Ross PS. 2019. Microplastics in beluga whales (*Delphinapterus leucas*) from the Eastern Beaufort Sea. *Marine Pollution Bulletin* **150**: 110723.
- Mouat J, Lozano RL, Bateson H. 2010. Economic Impacts of Marine Litter. Available from <https://www.kimointernational.org/>.
- National Marine Fisheries Service. 2016. Southern Resident Killer Whales (*Orcinus orca*) 5 – Year Review: Summary and Evaluation Photo: Northwest Fisheries Science Center National Marine Fisheries Service West Coast Region Seattle, WA. Seattle. Available from www.westcoastfisheries.noaa.gov.
- Nelms SE, Barnett J, Brownlow A, Davison NJ, Deaville R, Galloway TS, Lindeque PK, Santillo D, Godley BJ. 2019. Microplastics in marine mammals stranded around the British coast: ubiquitous but transitory? *Scientific Reports* **9**. Nature Publishing Group.
- Nelms SE, Galloway TS, Godley BJ, Jarvis DS, Lindeque PK. 2018. Investigating microplastic trophic transfer in marine top predators. *Environmental Pollution* **238**:999–1007. Elsevier Ltd.
- Patel MM, Goyaî BR, Bfiadada S v, Bhatt S, Amin AF. 2009. Getting into the Brain Approaches to Enhance Brain Drug Delivery. *CNS drugs* **23**: 35-58.
- Pedà C, Caccamo L, Fossi MC, Gai F, Andaloro F, Genovese L, Perdichizzi A, Romeo T, Maricchiolo G. 2016. Intestinal alterations in European sea bass *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758) exposed to microplastics: Preliminary results. *Environmental Pollution* **212**:251–256. Elsevier Ltd.
- Plastics Europe. 2010. Plastics-the Facts 2010, an analysis of European plastics production, demand and recovery for 2009. Available from <https://plasticseurope.org/>.
- Prata JC, Silva ALP, Walker TR, Duarte AC, Rocha-Santos T. 2020. COVID-19 Pandemic Repercussions on the Use and Management of Plastics. *Environmental Science and Technology* **54**:7760–7765. American Chemical Society.
- Santos MB, Pierce GJ, Herman J, Lo´pezlo´pez A, Guerra A, Mente E, Clarke MR. 2001. Feeding ecology of Cuvier’s beaked whale (*Ziphius cavirostris*): a review with new information on the diet of this species. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* **81.4**: 687-694.

- Sharma S, Sharma V, Chatterjee S. 2021, May 5. Microplastics in the Mediterranean Sea: Sources, Pollution Intensity, Sea Health, and Regulatory Policies. *Frontiers Media S.A. Frontiers in Marine Science* **8**: 634934.
- Shen M, Zeng Z, Song B, Yi H, Hu T, Zhang Y, Zeng G, Xiao R. 2021. Neglected microplastics pollution in global COVID-19: Disposable surgical masks. *Science of the Total Environment* **790**:148130. Elsevier B.V.
- Souza SP, Siciliano S, Cuenca S, Sanctis B. 2005. A True's beaked whale (*Mesoplodon mirus*) on the coast of Brazil: adding a new beaked whale species to the Western Tropical Atlantic and South America. *Latin American Journal of Aquatic Mammals* 129-136.
- Su L, Xue Y, Li L, Yang D, Kolandhasamy P, Li D, Shi H. 2016. Microplastics in Taihu Lake, China. *Environmental Pollution* **216**:711–719. Elsevier Ltd.
- Sussarellu R et al. 2016. Oyster reproduction is affected by exposure to polystyrene microplastics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **113**:2430–2435. National Academy of Sciences.
- Tanaka K, Takada H. 2016. Microplastic fragments and microbeads in digestive tracts of planktivorous fish from urban coastal waters. *Scientific Reports* **6**:34351. Nature Publishing Group.
- Thompson RC, Olsen Y, Mitchell RP, Davis A, Rowland SJ, John AWG, Mcgonigle D, Russell AE. 2004. Lost at Sea: Where Is All the Plastic?. *Science* **304.5672**: 838-838.
- Tsangaris C et al. 2020. Using Boops boops (osteichthyes) to assess microplastic ingestion in the Mediterranean Sea. *Marine Pollution Bulletin* **158**:111397. Elsevier Ltd.
- van Franeker JA, Bravo Rebolledo EL, Hesse E, Ijsseldijk LL, Kühn S, Leopold M, Mielke L. 2018. Plastic ingestion by harbour porpoises *Phocoena phocoena* in the Netherlands: Establishing a standardised method. *Ambio* **47**:387–397. Springer Netherlands.
- Víkingsson GA. 1997. Feeding of fin whales (*Balaenoptera physalus*) off Iceland – diurnal and seasonal variation and possible rates. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science* **22**.
- Von Moos N, Burkhardt-Holm P, Köhler A. 2012. Uptake and effects of microplastics on cells and tissue of the blue mussel *Mytilus edulis* L. after an experimental exposure. *Environmental Science and Technology* **46**:11327–11335.
- Yang D, Shi H, Li L, Li J, Jabeen K, Kolandhasamy P. 2015. Microplastic Pollution in Table Salts from China. *Environmental Science and Technology* **49**:13622–13627. American Chemical Society.
- Yücel N, Kılıç E, Turan C, Demirhan S. 2022. Microplastic Occurrence in the Gastrointestinal Tract of a Risso's Dolphin *Grampus griseus* in the Northeastern Mediterranean Sea. *Aquatic Sciences and Engineering*. Istanbul University.
- Zhu J, Yu X, Zhang Q, Li Y, Tan S, Li D, Yang Z, Wang J. 2019. Cetaceans and microplastics: First report of microplastic ingestion by a coastal delphinid, *Sousa chinensis*. *Science of the Total Environment* **659**:649–654. Elsevier B.V.
- Zitko V, Hanlon M. 1991. Another Source of Pollution by Plastics: Skin Cleaners with Plastic Scrubbers. *Marine pollution bulletin* **22.1**: 41-42.

Zobkov MB, Esiukova EE. 2018. Microplastics in a Marine Environment: Review of Methods for Sampling, Processing, and Analyzing Microplastics in Water, Bottom Sediments, and Coastal Deposits. *Oceanology* **58**:137–143. Pleiades Publishing.