



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF ENVIRONMENTAL PROTECTION

APLIKACE FTIR METOD A VYUŽITÍ CHEMOMETRIE V PROBLEMATICE KONTAMINACE PŮD PLASTY A MIKROPLASTY

APPLICATION OF FTIR METHODS AND THE USE OF CHEMOMETRY IN THE FIELD OF SOIL CONTAMINATION BY
PLASTICS AND MICROPLASTICS

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Alena Dvořáková

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Mgr. Helena Doležalová Weissmannová,
Ph.D.

BRNO 2022

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1677/2021 Akademický rok: 2021/22
Ústav: Ústav chemie a technologie ochrany
životního prostředí
Studentka: **Bc. Alena Dvořáková**
Studijní program: Chemie a technologie ochrany
životního prostředí
Studijní obor: Chemie a technologie ochrany
životního prostředí
Vedoucí práce: **Mgr. Helena Doležalová**
Weissmannová, Ph.D.

Název diplomové práce:

Aplikace FTIR metod a využití chemometrie v problematice kontaminace půd plasty a mikroplasty

Zadání diplomové práce:

1. Aplikace FTIR metody pro analýzu půdy s obsahem plastů a mikroplastů.
2. Odběr a příprava vzorků půd.
3. FTIR analýza a interpretace výsledků.
4. Vyhodnocení dat FTIR a aplikace chemometrických metod pro zhodnocení půd s obsahem plastů a mikroplastů.

Termín odevzdání diplomové práce: 13.5.2022:

Diplomová práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu.
Toto zadání je součástí diplomové práce.

Bc. Alena Dvořáková
studentka

Mgr. Helena Doležalová
Weissmannová, Ph.D.
vedoucí práce

prof. Ing. Jiří Kučerík, Ph.D.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2022

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
děkan

Abstrakt

Diplomová práce se zabývá aplikací FTIR metod a využitím chemometrie pro identifikaci mikroplastů v půdách. Byly použity celkem 3 FTIR techniky, DRIFT a ATR pracující ve střední infračervené oblasti a technika TANGO pracující v blízké infračervené oblasti. Pro analýzu byly připraveny směsi modelové půdy a PET o různých koncentracích. Dále byly připraveny směsi reálných vzorků půd a PET o různých koncentracích. Získaná data byla využita pro interpretaci infračervených spekter, sestavení kalibračních a korelačních závislostí PET a vyhodnocení validačních modelů s využitím metod DRIFT, ATR a TANGO.

Abstract

This final thesis deals with application FTIR method and the use of chemometry in the field of the identification of microplastics in soil. A total of 3 FTIR techniques were used, DRIFT and ATR operating in the mid-infrared region and TANGO technique operating in the near-infrared region. Mixtures of model soil and PET of different concentrations were prepared for analysis. In addition, mixtures of real soil samples and PET of different concentrations were prepared. The obtained data were used for interpretation of the infrared spectra, construction of calibration and correlation dependencies of PET and evaluation of validation models using DRIFT, ATR and TANGO methods.

Klíčová slova

FTIR, DRIFT, ATR, TANGO, půdy, mikroplasty

Key words

FTIR, DRIFT, ATR, TANGO, soils, microplastics

Citace

DVOŘÁKOVÁ, Alena. *Aplikace FTIR metod a využití chemometrie v problematice kontaminace půd plasty a mikroplasty*. Brno, 2022. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/139024>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí. Vedoucí práce Helena Doležalová Weissmannová.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být použita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....
Alena Dvořáková

Poděkování

Děkuji Mgr. Heleně Doležalové Weissmannové, Ph.D. za její vedení, čas, odborné rady a ochotu. Velký dík patří i mé rodině za obrovskou podporu při studiu a za jejich rady a trpělivost během studia. Dále bych chtěla poděkovat příteli Martinovi a svým přátelům, kteří to se mnou zvládali po celou dobu studia na VUT.

Obsah

1. Úvod.....	6
2. Teoretická část.....	7
2.1. Plasty a mikroplasty v životním prostředí.....	7
2.2. Mikroplasty v půdách.....	9
2.3. Vliv mikroplastů na půdu	10
2.3.1. Vliv MPs na fyzikálně-chemické vlastnosti půdy.....	11
2.3.2. Vliv MPs na enzymatické aktivity půdy.....	11
2.3.3. Vliv MPs na půdní biotu	12
2.3.4. Toxické účinky	12
2.4. Půdní prostředí.....	13
2.4.1. Půdní organická hmota	14
2.5. Odstranění organické hmoty ze vzorku	15
2.6. Odběr a úprava vzorků půd	16
2.7. Infračervená spektrometrie s Fourierovou transformací.....	18
2.8. Aplikace metod FTIR pro identifikaci mikroplastů praxi.....	20
3. Experimentální část.....	25
3.1. Příprava vzorků.....	25
3.2. Přístroje a postup měření	26
3.3. Zpracování dat	28
3.4. Interpretace vibračních spekter	28
4. Výsledky a diskuze.....	30
4.1. Vyhodnocení směsí modelové půdy a mikroplastu PET	30
4.1.1. Kalibrační závislosti	32
4.1.2. Korelace mezi reálnými a teoretickými daty (FIT vs TRUE).....	38
4.1.3. Validace modelu	43
4.2. Vyhodnocení reálných vzorků půd.....	45
4.2.1. Korelace mezi reálnými a teoretickými daty (FIT vs TRUE).....	48
4.2.2. Validace.....	50
5. Závěr.....	53
6. Zdroje.....	55
7. Seznam použitých zkratk a symbolů.....	58

1. Úvod

Produkce plastů se každým rokem zvyšuje, s čímž se spojuje i snaha o minimalizaci plastového odpadu v životním prostředí. Předpokladem k úspěšnému odstranění vstupu plastů a mikroplastů do složek ekosystému je jejich správná detekce.

Přestože množství publikací zabývajících se analýzou mikroplastů v půdním prostředí se zvyšuje, většina publikací zkoumá především obsah mikroplastů ve vodních a biologických systémech. Detekce mikroplastů v půdě je však neméně důležitá.

Výhodou metod infračervené spektrometrie je především rychlá, nedestruktivní a spolehlivá analýza. Softwary obsahují rozsáhlé knihovny spekter, které obsahují i spektra syntetických polymerů. Je velmi efektivní zejména pro případy, kdy je potřeba analýza velkého množství vzorků.

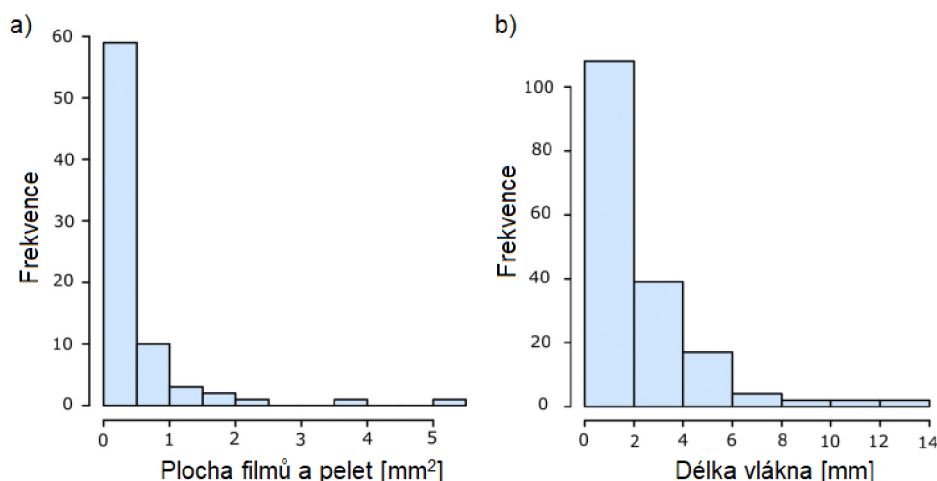
Cílem této práce je aplikace FTIR metod pro analýzu půdy s obsahem mikroplastů. Literární rešerše pojednává o vlivech mikroplastů na půdní prostředí, současném stavu obsahu mikroplastů v analyzovaných půdách, odběru a přípravě vzorků půd, využití infračervené spektrometrie pro identifikaci mikroplastů v půdách a konkrétních aplikacích FTIR metod pro detekci mikroplastů v půdách. Součástí práce je experimentální měření modelové půdy a reálných vzorků půd s obsahem mikroplastu PET.

2. Teoretická část

2.1. Plasty a mikroplasty v životním prostředí

Plasty jsou široce používány po celém světě pro různé účely. Jsou relativně lehké, levné na výrobu, tvárné, pevné a odolné vůči degradaci, což podtrhuje jejich široké použití v obalech, textiliích, stavebních materiálech, domácích potřebách a vozidlech. Třemi nejrozšířenějšími typy plastů jsou polyethylen (PE), polypropylen (PP) a polyvinylchlorid (PVC) [1]. Dále se v životním prostředí ve větší míře vyskytují také polystyren (PS) a akrylát [2].

Mikroplasty (MPs) jsou definovány jako plastové fragmenty o velikosti menší než 5 mm [3]. V životním prostředí se vyskytují primární a sekundární mikroplasty. Primárními MPs jsou plastové částice, které jsou ve výrobě produkovány s velikostí menší než 5 mm. Používají se jako suroviny v průmyslové výrobě nebo kosmetické výrobě. Sekundární MPs vznikají degradací a fragmentací plastů, které původně měly větší rozměry [4]. Nejběžnějším tvarem částic mikroplastů je vlákno (68 %), následované fóliemi (23 %). Fragmenty jsou pozorovány méně často (7 %) a pelety výjimečně (2 %) [2].



Obrázek 1: a) Frekvence výskytu MPs v závislosti na ploše částic filmů a pelet
b) Frekvence výskytu MPs v závislosti na délce vlákna [2]

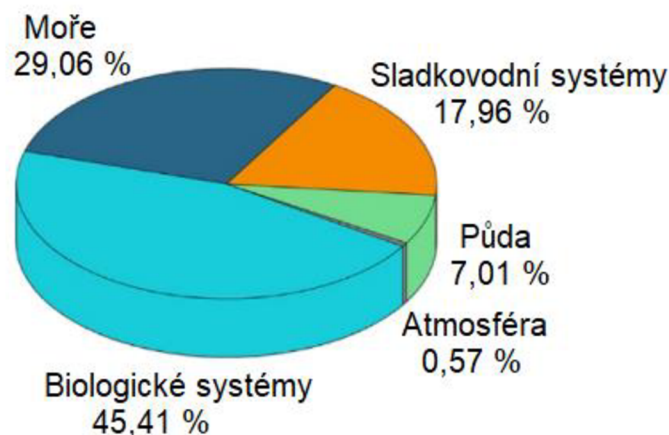
Mikroplasty byly široce pozorovány ve vodách, sedimentech, půdě, vzduchu, sněhu i biotě. Dokonce i nanoplasty (velikost <1000 nm) byly detekovány v mořské vodě a vysokohorském sněhu. Při provádění analýzy se vzorky běžně podrobují separaci podle hustoty nebo filtraci následované vizuálním tříděním pod stereomikroskopem a potvrzením polymeru pomocí infračervené spektrometrie s Fourierovou transformací (FTIR) nebo Ramanovy spektroskopie. Vizuální identifikace třídění však může způsobit chybu až 70 % a chyba se zvyšuje s klesající velikostí částic. V posledních letech byly ke kvantifikaci MPs v environmentálních vzorcích použity metody termické analýzy, termogravimetrie spojená s diferenciální skenovací kalorimetrií a pyrolýzní plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií (Pyr-GC/MS) [3].

Potencionálními zdroji mikroplastů v životním prostředí jsou zemědělství, hornictví, městské prostředí a silnice. V zemědělství se jedná především o použití plastového mulče nebo čistírenského kalu jako hnojiva a o kompost. V hornictví se používají plastové trubky

pro chladicí a ventilační procesy při těžbě nerostů. Plastové trubky se během svého života odírají a mohou tak uvolňovat plasty do životního prostředí [2].

Důvodem rozšíření působnosti mikroplastů v půdě je migrace, zahrnující horizontální a vertikální migraci a biologický i nebiologický transport. Mikroplasty v povrchové vrstvě půdy mohou být přemísťovány povrchovým tokem nebo větrem. Přítomnost MPs v hlubších vrstvách půdy poskytuje důkaz o sestupné migraci mikroplastů. Do hlubších vrstev půdy může poskytovat mikroplastům přístup vznik trhlín v půdě, způsobený suchým klimatem. Porézní povaha půdy umožňuje transport MPs v rozsahu mikrometrů. U větších MPs způsobují migraci vnější síly, například vlivem zemědělské činnosti. Migraci mikroplastů může ovlivnit také pohyb kořenů, expanze kořenů, extrakce kořenové vody a podobně. K vertikálnímu a horizontálnímu transportu MPs v půdě přispívá také půdní fauna. Například žížaly přenášejí a rozptylují mikroplasty adhezí a vylučováním [5].

Ekologická a zdravotní rizika způsobená expozicí mikroplastům jsou ve výzkumu MPs v půdě nejvíce znepokojující. Simulace potravinového řetězce a terénní studie potvrzují hypotézu, že mikroplast se může v rámci potravinového řetězce pohybovat. Tyto studie z jihovýchodního Mexika poskytují důkazy pro přenos MPs z půdy do kuřat. U drůbeže jsou zdravotní rizika požití MPs spojená s toxicitou částic, která způsobila oxidační stres a zánět. U mořských organismů byly prokázány nežádoucí účinky na střeva. MPs se mohou přenášet potravním řetězcem, nelze však vyloučit i jiné cesty, například vdechováním. Zdravotní rizika MPs pro člověka nejsou dosud zcela jasná [5].



Obrázek 2: Množství publikací o znečištění MPs v jednotlivých složkách životního prostředí (k roku 2020) [5]

S rostoucím povědomím o nebezpečnosti plastového odpadu a mikroplastů přitahuje tato problematika také širokou mezinárodní pozornost. Do určité míry lze zmírnění znečištění MPs dosáhnout prostřednictvím lepší legislativy a právních předpisů. Tyto zákony a předpisy zahrnují zákazy, daně a opatření pro nakládání s odpady, která mají zlepšit likvidaci, podporovat opětovné použití, recyklaci a alternativy k plastovým výrobkům. Jedním z prvních směrů je především omezení plastových sáčků a jiných jednorázových plastů. Jednorázové plastové výrobky jsou přísně kontrolovány a je podporováno používání rozložitelných plastů. V současnosti většina monomerů vyrobených z plastu pochází z fosilních uhlovodíků a rychlost jejich biologického rozkladu je extrémně pomalá, což je hlavní příčinou znečištění mikroplasty. Bioplasty jsou plasty vyrobené působením mikroorganismů na bázi přírodních látek, jako je škrob. Důležitým opatřením je také recyklace pevného odpadu. Také přímé

skládkování plastového odpadu je v mnoha zemích omezeno, což pomáhá snížit velkou část plastového odpadu. Dalším nástrojem je odstraňování MPs v čistírnách odpadních vod technickými a biologickými metodami. Účast veřejnosti hraje velmi důležitou roli v nakládání s plastovým odpadem a znečištěním mikroplasty [5].

2.2. Mikroplasty v půdách

Suchozemské půdy jsou ve velké míře kontaminovány mikroplasty v důsledku aplikace čistírenských kalů a odpadních vod, plastového mulčování, odpadků, opotřebovaných pneumatik z komunikací a atmosférické depozice. Nejkomplexnější údaje o počtu i hmotnosti MPs v půdě jsou uvedeny pro plastové mulčování, aplikaci čistírenských kalů a pro městské a venkovské oblasti s produkcí potravin [6].

Přestože doposud neproběhly rozsáhlé programy terénního monitorování přítomnosti a distribuce MPs v půdách, dostupné údaje naznačují, že ke kontaminaci půd mikroplasty dochází. Většina předchozích studií týkajících se detekce MPs v půdě byla provedena v Číně, která je největším producentem plastů na celém světě [7].

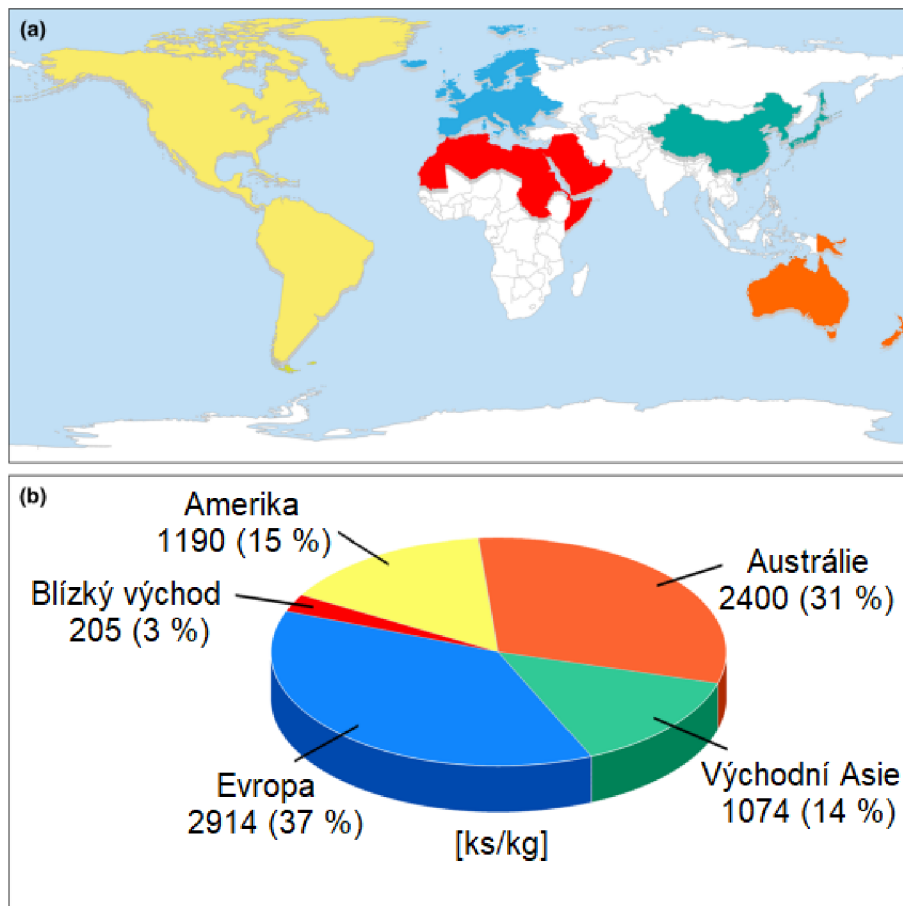
Ve studii zkoumající distribuci půdních mikroplastů a jejich vliv na půdní vlastnosti mokřadů v ústí řeky Jinjiang, byly jako nejrozšířenější a dominantní MPs v půdách regionu identifikovány PET, PE a PP, což naznačuje, že hlavními zdroji MPs ve studované oblasti jsou textilní a oděvní výroba, praní oděvů a odpadní plastové výrobky z každodenního života lidí. Na povrchu MPs bylo zjištěno velké množství kovů. Tam, kde měl povrch MPs prohlubně, praskliny nebo vlákna, bylo složení povrchových prvků rozmanitější a prvky těžkých kovů byly snáze detekovány, což naznačuje, že se stárnutím mikroplastů se zvyšuje pravděpodobnost absorpce těžkých kovů. Množství MPs v půdě pro celou studovanou oblast se pohybovalo v rozmezí od 563,3 do 6 196,7 ks/500 g sušiny. Průměrné množství bylo 2 177,5 ks/500 g sušiny. Většina MPs měla průměr 0,038–0,5 mm (70,9 %). Dále byly zastoupeny mikroplasty o průměru 0,5–1 mm (15,5 %) a 1–2 mm (13,6 %) [8].

V jihozápadní Číně byly MPs ve velké míře zjištěny ve frakcích půdních agregátů jak na zeleninových zemědělských plochách, tak v lužní lesní zóně v okolí jezera Dian s rozsahem koncentrací 7 100–42 960 ks/kg a průměrnou hodnotou 18 760 ks/kg [7].

Kontaminace půdy mikroplasty byla zaznamenána i z jiných oblastí světa. Studie provedená v okolí průmyslové oblasti australského Sydney uvádí, že koncentrace mikroplastů v místních půdách se pohybovala od 300 do 67 500 mg/kg. V jiné studii bylo zjištěno, že 90 % švýcarských záplavových půd je kontaminováno MPs [7].

Ze studií zaměřených na počty a hmotnosti MPs v různých půdních prostředích světa byl získán reprezentativní obraz o běžných stupních kontaminace (viz Obrázek 3). Všechny údaje se vztahují k suché půdě. Rešerše byla provedena pomocí databáze Web of Science Core Collection a zahrnovala 23 studií publikovaných do srpna 2020 s 223 místy odběru. Jednalo se o různorodé oblasti. Například zemědělské a zahradnické lokality, které byly vystaveny působení čistírenských kalů a aplikaci mulčovací fólie vykazovaly většinou koncentrace do 13 000 ks/kg a 4,5 mg/kg. Koncentrace MPs v půdě v blízkosti komunálních oblastí byly desetkrát vyšší ve srovnání s venkovskými lokalitami. Údaje o hmotnostech byly často generovány z mikroskopických analýz pomocí modelů tvaru k hmotnosti namísto přímého měření. Extrémní hodnoty, například na průmyslových lokalitách, převyšují běžné koncentrace o 2 až 4 řády, což lze přičíst nejen využití území, ale také použitým metodám měření. Zátěže pozadí, jako je atmosférická depozice, nebyly často z měření vyloučeny, a studie tak mohly nadhodnocovat konečnou koncentraci. Jiné studie se zaměřily na MPs

o nízké hustotě, např. z mulčovací fólie, a naopak podcenily množství MPs v půdě. Navzdory těmto omezením poskytují údaje představu o spektru globálních koncentrací mikroplastů v půdě, přičemž nejvyšší koncentrace byly detekovány v Evropě, kde průměrně dosahují 2 914 ks/kg a 8,9 mg/kg. Z amerických studií se celkem tři ze čtyř zaměřily na aplikaci čistírenských kalů a vyhodnotily vlákna jako nejčastější typ MPs. Všechny lokality (Kanada, Chile, USA, Mexiko) obsahovaly v průměru 1 190 ks/kg, přičemž nejnižší koncentrace byly v Ontariu (Kanada) [6].



Obrázek 3: Globální průměrné koncentrace mikroplastů v půdě [9]
a) Kontinentální rozložení studovaných koncentrací MPs v půdě
b) Globální procento koncentrací MPs v půdě

2.3. Vliv mikroplastů na půdu

Mikroplasty mají tendenci hromadit se v životním prostředí a představují významnou hrozbu pro ekosystémy po celém světě. Výzkumy v této oblasti dokazují, že MPs mohou ovlivnit fyzikálně-chemické a biologické vlastnosti půdy, což pak ovlivňuje hydrodynamiku a enzymatické aktivity půdy. MPs se postupně integrují do půdních agregátů a v různém stupni integrace (volně ve fragmentových typech a těsněji ve vláknitých typech) mohou ovlivnit biofyzikální vlastnosti půdy ovlivněním pH, půdní struktury, úrodnosti a živin, půdních mikrobů a vodních agregátů. Půdní agregáty jsou základní jednotkou půdní struktury a hrají důležitou roli při utváření biotopu půdních organismů. Kromě toho mají ústřední roli

v porézności půdy, což zase ovlivňuje pohyb plynu a vody a činnost příbuzných mikrobiálních komunit. Účinky závisí na tvaru a velikosti částic MPs [5][10].

Stejně jako různé vlastnosti MPs mohou být příčinou různých účinků, mohou se dopady velmi lišit v závislosti na vlastnostech půdy, tj. na přirozeném původu částic, mineralogii, granulometrii, textuře atd [11].

MPs v půdě mohou působit jako nosiče různých polutantů, jako jsou například těžké kovy, pesticidy a perzistentní organické polutanty (POPs), což může působit toxicky na půdní floru a faunu. Tyto MPs mohou být nakonec přeneseny do řek, oceánů a dalších vodních útvarů [10].

Například při studiu vlastností PET v půdě bylo zjištěno, že PET díky své adsorpční viskozitě může ovlivnit rozložení velikosti částic půdy. Podíl jílových částic v půdě po přidání PET klesal, podíl křídovitých částic zůstával stabilní a podíl pískových částic se zvýšil. S výjimkou pH půdy se všechny ostatní fyzikálně-chemické faktory v reakci na PET významně změnil. Na jedné straně může PET výrazně snížit obsah dusíku a fosforu a aktivitu půdní fosfatázy v mokřadních půdách; na druhé straně může PET urychlit proces nitrifikace v půdě, a tím snížit obsah amoniakálního dusíku, což následně ovlivňuje přeměnu dusíku v půdě [8].

Půda je základem pro většinu suchozemského života a prostředím z něhož má člověk prospěch. Když se plasty dostanou do půdy, jejich nepřirozená struktura, odlišné chemické složení a povrchové vlastnosti mohou v půdě vyvolat řadu náhlých změn. Současné poznatky skutečně naznačují změny základních fyzikálních, chemických a mikrobiologických vlastností půdy. V důsledku toho mohou být ovlivněny vodní a další biogeochemické cykly, jakož i růst rostlin a zdraví zvířat [11].

2.3.1. Vliv MPs na fyzikálně-chemické vlastnosti půdy

Když je půda znečištěna MPs, mění se její fyzikální vlastnosti, jako je objemová hustota, struktura pórů a schopnost zadržovat vodu. Při přítomnosti MPs se objemová hmotnost půdy snižuje, což způsobuje zcela odlišné nepřímé účinky na celý půdní systém. Podle některých autorů MPs snižují propustnost (pórovitost) a provzdušnění, tedy vstup vzduchu obsahujícího kyslík. MPs v půdě ve velkém měřítku snižují infiltraci z dešťové a závlahové vody, což představuje negativní vliv na schopnost půdy zadržovat vodu a může způsobovat anoxii. Hromadění MPs může zničit strukturální integritu půdy a způsobit vysušení a praskliny na povrchu půdy. Výsledkem může být urychlení odpařování vody tím, že jsou vytvořeny kanály pro pohyb vody. Na druhou stranu MPs také mohou působit jako překážky výparu, což může způsobit zvýšení úrovně půdní vlhkosti [5][10].

2.3.2. Vliv MPs na enzymatické aktivity půdy

Půdní mikroorganismy a rostliny produkují půdní enzymy, které jsou významně spojeny s koloběhem živin a tokem energie a rychle reagují na jakoukoli změnu v půdním prostředí. Půdní enzymy jsou důležitými ukazateli půdní úrodnosti. Přítomnost plastů v půdě výrazně ovlivňuje enzymatickou aktivitu půdy. Novější studie zjistily, že MPs významně ovlivňují aktivity vybraných enzymů (katalázy a ureázy). Dále dospěly k závěru, že na povrchu MPs byla nalezena odlišná mikrobiota, která může měnit základní ekologické funkce a biogeochemické vlastnosti půdy. Akumulace MPs urychluje enzymatickou aktivitu pro aktivaci organických zásobníků fosforu, dusíku a uhlíku, a umožňuje tak jejich hromadění

v rozpuštěné formě. Zvýšená aktivita půdních enzymů se zase podílí na koloběhu minerálních látek C, N a P tím, že rozkládá půdní organickou hmotu (SOM) a recykluje půdní živiny. Existence MPs v půdě ovlivňuje extracelulární enzymatické aktivity. Podle některých studií mohou MPs bránit extracelulárním enzymovým aktivitám, zatímco výsledky jiných výzkumů ukázaly, že MPs mohou extracelulární enzymové aktivity vyvolávat. To dokazuje, že různé typy MPs v půdě mohou mít různé účinky [10].

2.3.3. Vliv MPs na půdní biotu

Změnou fyzikálně-chemických parametrů půdy může být přímo ovlivněna výkonnost rostlin tím, že mění vlastnosti kořenů, stav růstu a proces příjmu živin. Kromě toho by změny půdních vlastností mohly ovlivnit také složení půdního mikrobiálního společenstva a související bioaktivitu, což nepřímo ovlivňuje výkonnost rostlin. Výsledky dokazují negativní vliv MPs folií v množství 1 % (hm.) na růst pšenice a při studiu účinků různých MPs (0,2–2 % čerstvé hmotnosti půdy) na výkonnost jarní cibule bylo zjištěno, že expozice mikroplastům může vyvolat změny v celkové biomase rostlin, prvkovém složení tkání a vlastnostech kořenů, přičemž se účinky lišily podle typu částic. Výzkum ekotoxikologických účinků MPs na půdní faunu je ve srovnání se studii ve vodním prostředí velmi omezený, přičemž většina z nich byla provedena v laboratorním měřítku. Bylo zkoumáno pouze několik druhů půdních živočichů, mezi nimiž převažovaly testované druhy žížal, dále například háďátko, plž a myš. Prokázané toxikologické účinky expozice MPs na žížaly zahrnují především inhibici růstu, poškození střev, pokles hmotnosti, imunitní reakce, změny ve střevním mikrobiálním společenstvu, problémy s reprodukcí, a dokonce i úmrtnost. Vzhledem k malým rozměrům jsou MPs snadno přijímány dalšími drobnými půdními bezobratlými, jako je půdní hmyz, hlístice a plži, což se následně projevuje různými zdravotními účinky, jako například inhibice reprodukce, změny ve střevní mikroflóře a narušení energetického metabolismu [7].

2.3.4. Toxické účinky

Je známo, že MPs fungují jako přenašeče organických i anorganických polutantů z jednoho místa v půdním prostředí na druhé, v důsledku kontaktu s různými změkčovadly, antibiotiky, potenciálně toxickými prvky a perzistentními organickými polutanty [10].

Plastifikátory nebo dispergátory jsou aditiva, která zlepšují kvalitu plastu, upravují plasticitu a snižují viskozitu. Plastifikátory jsou materiály, které se chemicky přidávají v kapalné nebo pevné formě do plastu za účelem změny fyzikálních vlastností. Estery ftalátů (PAE) se skládají z velké skupiny esterů kyseliny ftalové (PA), zahrnující butylbenzylftalát (BBP), dibutylftalát (DBP) a diethylhexylftalát (DEHP). Tyto chemické přísady používané při výrobě plastů a mikroplastů jsou pro půdní organismy smrtelné. Ftalátové estery jsou považovány za sloučeniny narušující endokrinní systém a kontakt s nimi vede k poruchám souvisejícím s endokrinním systémem. Ovlivňují populace mikroorganismů a aktivitu enzymů v půdě. Ftalátové estery jsou silně hydrofobní povahy, snadno se adsorbují v SOM a jejich rezidua mohou zůstat v půdním prostředí trvale. Při rozkladu plastů v půdě se PAE uvolňují a kontaminují půdní prostředí. Ftalátové estery jsou hojně detekovány ve vzorcích půdy, ovoce a zeleniny a obilovin. Plastifikátory mohou způsobovat různá onemocnění u zvířat a lidí. Bylo prokázáno, že během životního cyklu plastových materiálů se mohou přísady, jako jsou změkčovadla, monomery a zpomalovače hoření, vyluhovat do půdního prostředí. Kromě toho mohou plasty díky svému hydrofobnímu povrchu přijímat další toxické látky, jako jsou

kovy, polycyklické aromatické uhlovodíky, polychlorované bifenyly a organochlorové pesticidy (např. DDT a HCH) [10].

Dále se na MPs v půdě mohou sorbovat antibiotika. Antibiotika se v chovu zvířat hojně používají, aby se zabránilo infekcím u zvířat. Po jejich nadměrném používání se však tyto chemické látky stávají součástí půdy prostřednictvím vylučovaného zvířecího trusu. Dřívější výzkumné práce zmiňují, že přítomnost MPs má vliv na adsorpci i rozklad antibiotik. Za absorpci antibiotik jsou zodpovědné dva hlavní mechanismy, a to tvorba vodíkové vazby a vytváření pórové struktury PA. Společný výskyt polutantů, jako jsou antibiotika a MPs, může mít kombinované nepříznivé účinky na půdu. Je zřejmé, že přítomnost MPs brání degradaci antibiotik [10].

2.4. Půdní prostředí

Půdu můžeme popsat jako komplexní a vysoce heterogenní prostředí, v němž se trojrozměrné uspořádání minerálních a organických částic kombinuje s rozmanitým množstvím vodních hladin, mikroskopických forem života a jejich metabolitů. Tento strukturovaný a mnohostranný fyzikální, chemický a biologický celek se označuje jako půdní biofyzikální prostředí a vyvíjel se po miliony let, aby vytvořil systém podpory života, který se dotýká všech živých tvorů na Zemi. Když se v půdě spojí voda a vzduch s anorganickými látkami (jíl, písek, bahno, minerály) a organickými látkami (rozkládající se a rozpadající se rostlinný a živočišný materiál), mohou být zajištěny potřeby rozmanité škály mikro-, mezo- a makrofauny. Závislost na půdě je tedy základem všech suchozemských ekosystémů a má velký význam pro trofické potravní sítě, protože přímo i nepřímo podporuje rozmanitost forem života, které lze ve světě pozorovat. Půda je souborem přírodních částic minerálního i organického původu o různé velikosti, které zachycují plyny, kapaliny a organismy a vzájemně na sebe působí. Zdraví půdy je tedy zásadní pro správné fungování procesů ovlivňujících zemědělství, globální klima nebo i například odolnost měst vůči povodním. Přírodní částice hrají v pozemských systémech důležitou roli. Velmi složitá interakce těchto částic s vodou, vzduchem a přírodními biogeochemickými cykly umožňuje poskytování mnoha environmentálních služeb [11].

Půdu lze definovat jako heterogenní systém směsi kapalného, plynného a pevného materiálu. Jedná se o samostatný přírodní útvar, který vznikl působením půdotvorných faktorů na povrchové zvětraliny zemské kůry a organické zbytky. Jedná se o prostředí, ve kterém žije spousta půdních organismů, stanoviště planě rostoucí vegetace a slouží také k pěstování plodin. Reguluje koloběh látek a funguje jako úložiště a zdroj potenciálně rizikových látek. Půda je dynamickým, stále se vyvíjejícím systémem. Soubor všech půd na Zemi se nazývá pedosféra a jedná se o tenkou vrstvu na styku litosféry, atmosféry, hydrosféry a biosféry [12][13][14].

Půda se skládá z pevné složky (tvořena minerálními částicemi a organickou hmotou), půdního roztoku a vzduchu. Půdní roztok a vzduch zaplňují póry přítomné mezi minerálními částicemi a organickou částí [15].

Struktura půdy významně ovlivňuje edafické podmínky a životní prostředí. Má vliv na zadržování vody v půdě, erozi, recyklaci živin, pronikání kořenů, výnosy plodin a život rostlin a živočichů. Dále má vliv na externí faktory, jako je odtok, znečištění povrchových a podzemních vod a emise CO₂. Jako ukazatel půdní struktury se používá stabilita kameniva [16].

2.4.1. Půdní organická hmota

Organická část půdy má velký vliv na úrodnost půdy, ačkoli často tvoří pouze 2–5 % hmotnosti. Je zastoupena živou částí (kořeny rostlin, edafon) a neživou částí (primární organická hmota, humusové látky) [17]. Půdní organická hmota je zásobárnou uhlíku, dusíku, fosforu a síry [18]. Skládá se z jednodušších cukrů, organických kyselin, pryskyřic, tuků, vosků, tříslovin, celulózy a hemicelulózy, ligninu, popelovin a organických dusíkatých látek [19]. S jejím celkovým obsahem v půdě a kvalitou úzce souvisí odolnost proti biologickému rozkladu. Na složení SOM mají významný vliv půdotvorné faktory, z nichž nejvýraznější vliv má především klima a vegetace. Typ geologického substrátu se v molekulárním složení SOM projevuje v menší míře [20]. Organická hmota v půdě plní několik funkcí. Z praktického a hospodářského hlediska je důležitá především jako zásobárna živin a jako prostředek ke zlepšení struktury půdy, udržení kyprosti a minimalizaci eroze. Organická hmota uvolňuje při rozkladu živiny ve formě dostupné pro rostliny. Aby byl tento systém koloběhu živin zachován, musí se míra přídavku organické hmoty z rostlinných zbytků, hnoje a dalších zdrojů rovnat míře rozkladu a zohledňovat míru příjmu rostlinami a ztráty vyplavováním a erozí. Z hlediska zlepšování struktury půdy se aktivní a některé odolné organické složky půdy spolu s mikroorganismy (zejména houbami) podílejí na vázání půdních částic do větších agregátů. Agregace je důležitá pro dobrou strukturu půdy, provzdušnění, infiltraci vody a odolnost proti erozi a tvorbě krusty. Tradičně se agregace půdy spojuje buď s celkovým obsahem uhlíku nebo s obsahem organického uhlíku. V poslední době se vyvinuly techniky frakcionace C na základě lability (snadnosti oxidace), přičemž se uznává, že tyto dílčí skupiny C mohou mít větší vliv na fyzikální stabilitu půdy a být citlivějšími ukazateli dynamiky uhlíku v zemědělských systémech než celkové hodnoty C. Ukázalo se, že frakce labilního uhlíku je indikátorem klíčových chemických a fyzikálních vlastností půdy. Odolná nebo stabilní frakce organické hmoty v půdě přispívá především ke schopnosti zadržovat živiny (kationtová výměnná kapacita) a k barvě půdy. Tato frakce organické hmoty se rozkládá velmi pomalu. Proto má menší vliv na úrodnost půdy než aktivní organická frakce. Rozklad je biologický proces, který zahrnuje fyzikální rozklad a biochemickou přeměnu složitých organických molekul odumřelého materiálu na jednodušší organické a anorganické molekuly. Rozklad organické hmoty je z velké části biologický proces, který probíhá přirozeně. Jeho rychlost určují tři hlavní faktory: půdní organismy, fyzikální prostředí a kvalita organické hmoty. Při rozkladu se uvolňují různé produkty: oxid uhličitý (CO₂), energie, voda, rostlinné živiny a resyntetizované organické sloučeniny uhlíku. Postupným rozkladem odumřelého materiálu a modifikované organické hmoty vzniká složitější organická hmota zvaná humus. Tento proces se nazývá humifikace. Humus ovlivňuje vlastnosti půdy. Při pomalém rozkladu zbarvuje půdu tmavěji, zvyšuje agregaci a stabilitu půdních agregátů, zvyšuje kationtovou výměnnou kapacitu (schopnost přitahovat a zadržovat živiny) a dodává N, P a další živiny. Půdní organismy, včetně mikroorganismů, využívají půdní organickou hmotu jako potravu. Při rozkladu organické hmoty se přebytečné živiny (N, P a S) uvolňují do půdy ve formě, kterou mohou využít rostliny. Tento proces uvolňování se nazývá mineralizace. Odpadní produkty produkované mikroorganismy jsou rovněž půdní organickou hmotou. Tento odpadní materiál je méně rozložitelný než původní rostlinný a živočišný materiál, ale může být využit velkým množstvím organismů. Tím, že půdní biota rozkládá struktury uhlíku a znovu vytváří nové nebo ukládá C do vlastní biomasy, hraje nejdůležitější roli v procesech koloběhu živin, a tím i ve schopnosti půdy poskytnout plodinám dostatek živin pro sklizeň zdravého produktu. Obsah organické hmoty, zejména stabilnějšího humusu, zvyšuje schopnost zadržovat vodu a ukládat (sekvestrovat) C z atmosféry [21].

2.5. Odstranění organické hmoty ze vzorku

Obtížnost při posuzování mikroplastů v půdním prostředí spočívá v rozlišení MPs od komplexní směsi přírodních organických a anorganických částic. Mohou to být například anorganické částice jako písek a bahno, ale také organické částice pocházející z biofilmů, rostlinných a živočišných zbytků. I s příchodem moderních analytických metod, jako je FTIR a Ramanova spektroskopie, může přirozená matrice stále bránit detekci MPs nebo alespoň značně zvýšit chybový faktor. Tomu lze předcházet zavedením vhodných kroků přípravy vzorku [22].

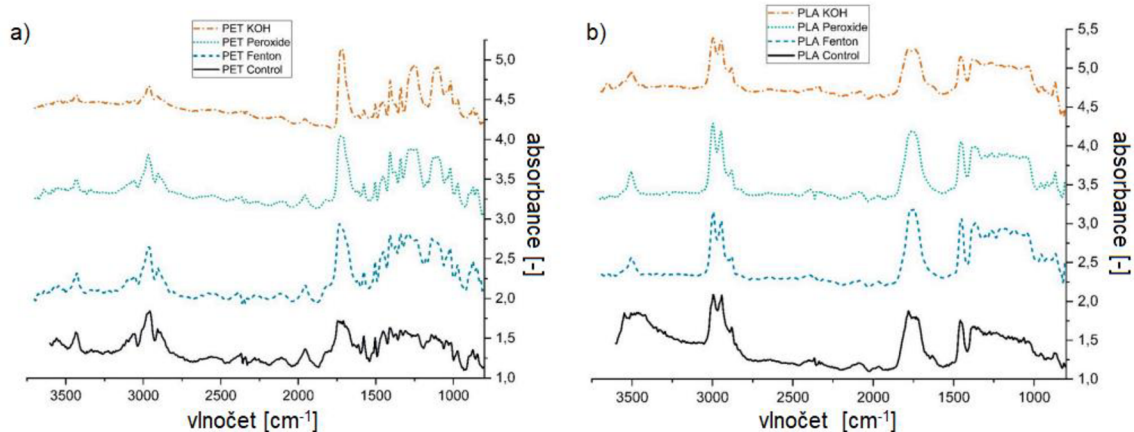
Anorganická hmota se obvykle odděluje od MPs pomocí rozdílů hustoty. Běžné MPs mají hustotu blízkou hustotě vody ($0,8\text{--}1,1\text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$), zatímco většina anorganických složek má vyšší hustoty. Pomocí koncentrovaného roztoku soli, jako je roztok chloridu sodného (NaCl s hustotou $1,2\text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$) nebo roztok jodidu sodného (NaI s hustotou $1,8\text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$), lze oddělit MPs a anorganické látky na základě rozdílu jejich příslušných hustot [22].

Organická hmota má podobnou hustotu jako MPs, proto ji nelze oddělit na základě rozdílů hustoty. Matrice bohaté na organickou hmotu musí být ošetřeny (chemický rozklad oxidační, alkalický, enzymatický). Použití silných chemických činidel však může neúmyslně ovlivnit vlastnosti analyzovaných mikroplastů. Použití metod enzymatického štěpení je pro MPs obvykle bezpečné, ale je časově velmi náročné, což omezuje jejich použitelnost. Kromě toho může být aplikace této digesce nákladná nebo může být neúplná. Metody využívající kyseliny (např. HCl nebo HNO_3) mohou vést k poškození MPs. Studie uvádějí, že některé polymery jsou citlivé na kyseliny a mohou být během procesu ovlivněny nebo rozpuštěny. Použití alkalických úprav (např. NaOH nebo KOH) může způsobit změnu barvy nebo poškození zkoumaných MPs. Obecně platí, že čištění vzorků silně kyselými nebo zásaditými roztoky vede k nekontrolovanému zkreslení výsledného složení MPs ve vzorku [22][23].

Nejúčinnějšími metodami pro odstranění organické hmoty ze vzorku, aniž by byly ovlivněny testované polymery, jsou metoda oxidačního rozkladu využívající peroxid vodíku a Fentonovy reakce [22].

Metoda oxidačního rozkladu využívající peroxid vodíku se používá za různých podmínek: s různými koncentracemi (15–35 %), teplotami (od pokojové až do $70\text{ }^\circ\text{C}$) a reakčními časy (několik hodin až týden). Oxidace vroucím peroxidem vodíku (30 % H_2O_2) se běžně používá při analýze půdy k odstranění organických látek z půdy. Při nižších teplotách se používá také k ničení organických látek v souvislosti s izolací mikroplastů z matric sedimentů bohatých na organické látky. Obecně lze konstatovat, že peroxid vodíku poskytuje účinný rozklad organické hmoty a malou degradaci polymerů při aplikaci za nižších teplot (do $60\text{ }^\circ\text{C}$) a/nebo při kratších reakčních časech (do 24 h) [22][23].

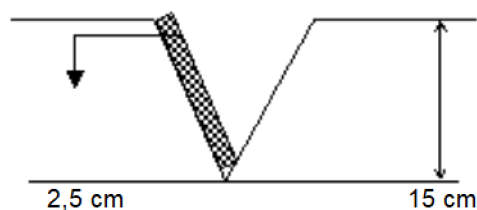
Fentonova reakce je alternativou k peroxidu vodíku, protože obvykle vyžaduje kratší reakční časy, které se pohybují od 20 minut do 24 hodin. Fentonovo činidlo využívá železité kationty ke katalýze oxidace organických složek pomocí H_2O_2 . Bylo úspěšně použito při izolaci částic mikroplastů v odpadních vodách. Zajišťuje efektivní rozklad organické hmoty, přičemž má minimální účinky na zkoumané MPs (viz Obrázek 4). Fentonova reakce je exotermická a neměla by vyžadovat žádné vnější zahřívání k překročení teplot $40\text{ }^\circ\text{C}$. Protože tato metoda je relativně nákladově a časově nenáročná, vykazuje potenciál stát se důležitým krokem při analýze mikroplastů z terestrických vzorků [22][23].



Obrázek 4: a) FTIR spektrum PET po aplikaci KOH, H₂O₂ a Fentonovy reakce
 b) FTIR spektrum PLA po aplikaci KOH, H₂O₂ a Fentonovy reakce [22]

2.6. Odběr a úprava vzorků půd

Odběr vzorků půd a jejich následná úprava ovlivňuje využitelnost výsledků získaných z laboratorní analýzy. Každý odebraný vzorek musí být skutečným reprezentantem odebírané oblasti. Proto je vhodné odebrat velký počet vzorků, aby bylo možné dílčími odběry získat vzorek požadované velikosti. Obecně se odběr vzorků provádí v poměru jeden vzorek na každé dva hektary plochy. Při průzkumu půdy se vzorky odebírají z půdního profilu reprezentativního pro půdu okolní oblasti. K odběru je zapotřebí vzorkovač (např. rýč nebo šnek), vanička nebo kbelík a dostatek vaků pro odběr vzorků. V místě odběru je nutné nejdříve odstranit povrchovou podestýlku. Následně se vzorkovačem zajede do hloubky 15 cm a odebírá se půdní vzorek. Z každé vzorkovací oblasti se odebere 10 až 15 vzorků, které se uloží do kbelíku nebo vaničky. Při práci s rýčem se provádí v místě odběru řez ve tvaru písmene „V“ do hloubky 15 cm (viz Obrázek 5) [24].

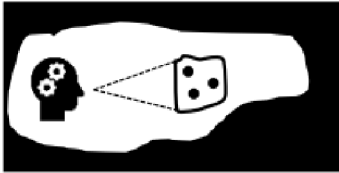
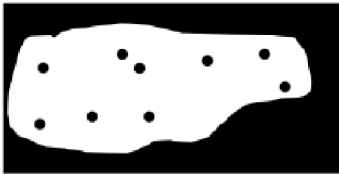
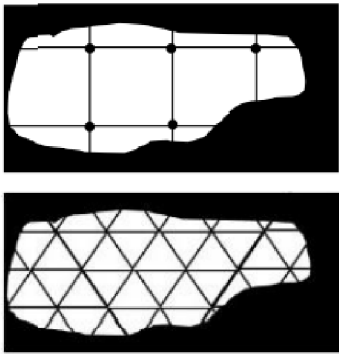
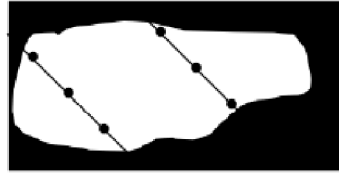
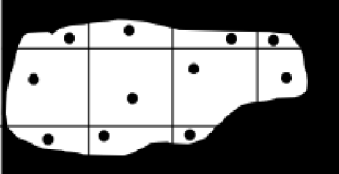


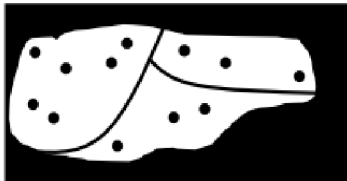
Obrázek 5: Postup při odběru vzorků rýčem [24]

Po odběru je nutné vzorky důkladně promíchat a odstranit cizí materiály, jako jsou kořeny, kameny, oblázky a štěrky. Rozdělením na čtvrtiny nebo oddíly se vzorek zredukuje na přibližně 0,5–1 kg. Rozdělení na čtvrtiny se provádí důkladně promíchaného vzorku na čtyři stejné části. Dvě protilehlé čtvrtiny se vyřadí a zbývající dvě čtvrtiny se znovu promíchají a proces se opakuje, dokud se nedosáhne požadované velikosti vzorku. Rozdělení do oddílů se provádí rovnoměrným rozprostřením půdy na čistý tvrdý povrch a rozdělením na menší oddíly nakreslením čar podél a napříč. Z každého oddělení se odebere malé množství půdy. Tento postup se opakuje, dokud se nezíská požadované množství vzorku. Vzorek se odebere do odběrového vaku, který se označí informacemi jako je například umístění, číslo průzkumu a datum odběru [24].

Zejména pokud se jedná o tak nehomogenní matici, jako je půda, v kombinaci s pevnými analyty, jako jsou mikroplasty, musí být návrh odběru vzorků velmi dobře naplánován, aby bylo dosaženo spolehlivých výsledků. To znamená, že cíl výzkumu, oblast odběru vzorků i hloubka odběru musí být předem přesně definovány. Je třeba vzít v úvahu historii využívání (např. zemědělská půda, na níž bylo použito plastové mulčování) a možné vypouštění z bodových zdrojů (např. odpadkové koše, pikniková místa atd.) nebo difúzních zdrojů, jako jsou blízké silnice. Dále by měly být identifikovány potenciální akumulční zóny, jako jsou prohlubně, kde může docházet k ukládání MPs z povrchového odtoku, nebo hřebeny a lemy, kde se zpomaluje rychlost větru a zvyšuje se ukládání částic přenášených větrem. V závislosti na cíli výzkumu lze použít různé přístupy k odběru vzorků (viz Tabulka 1) [23].

Tabulka 1: Přehled možných přístupů vzorkování v závislosti na cíli výzkumu [23]

Přístup k odběru		Popis
Výběr vzorků na základě úsudku		Ověření podezření na kontaminaci
Náhodný výběr		Identifikace kontaminace údajně homogenně kontaminovaného místa
Systematický odběr vzorků z mřížky		Identifikace rozsahu kontaminace, vymezení horkých míst nebo prostorových koncentračních gradientů
Odběr vzorků na příčném řezu		Určení rozsahu kontaminace podél liniových prvků (např. silnice, příkopy, kanály), definice koncentračních gradientů, určení rozsahů kontaminace v oblasti
Odběr vzorků z nezarovnané mřížky		Určení rozsahu kontaminace v oblasti odběru vzorků

Stratifikovaný odběr vzorků		Identifikace rozsahu kontaminace ve vymezených podoblastech v rámci celkové oblasti odběru vzorků
-----------------------------	---	---

Po výběru vhodného přístupu k odběru vzorků podle příslušného výzkumného cíle je třeba se zabývat také počtem míst odběru vzorků v každé lokalitě. Vzorky lze odebrat jako jednotlivé bodové vzorky nebo jako směsné vzorky (několik bodových vzorků stejné velikosti v rámci prostorové jednotky se spojí a homogenizuje do jednoho). Vzhledem k tomu, že částice mikroplastů jsou pevné částice a výrazně se liší svou velikostí, je pravděpodobné, že se výrazně liší i jejich rozložení v půdě. K překonání této heterogenity se může ukázat jako výhodné použití směsných vzorků odebraných z vymezených dílčích jednotek v rámci místa odběru vzorků, aby bylo možné získat reprezentativnější obraz o rozsahu kontaminace mikroplasty, aniž by bylo nutné přepravovat, skladovat a analyzovat příliš mnoho vzorků. Vzhledem k tomu, že půdy jsou trojrozměrným prostředím, je hloubka odběru vzorků nesmírně důležitá a měla by být vždy definována a zdokumentována. Pokud je například v centru pozornosti studie ukládání mikroplastů z povrchu nenarušené půdy, může být dostatečný hromadný odběr vzorků z předem definovaných prvních několika centimetrů. Pokud je třeba zohlednit vertikální rozložení MPs po orbě, je třeba hloubku odběru vzorků odpovídajícím způsobem upravit. Na druhou stranu, má-li být zjištěna kontaminace v různých hloubkách půdy, je nutné provést jádrový odběr vzorků. Doposud byl analyzován především povrch půdy ve svrchních 10 cm, protože v tomto rozmezí se s největší pravděpodobností nachází převážná část částic mikroplastů. [23]. Další úprava vzorku probíhá jeho vysušením a úpravou na požadovanou frakci. Při manipulaci se vzorkem je třeba dbát zvýšené opatrnosti, aby nedošlo ke kontaminaci [24].

2.7. Infračervená spektrometrie s Fourierovou transformací

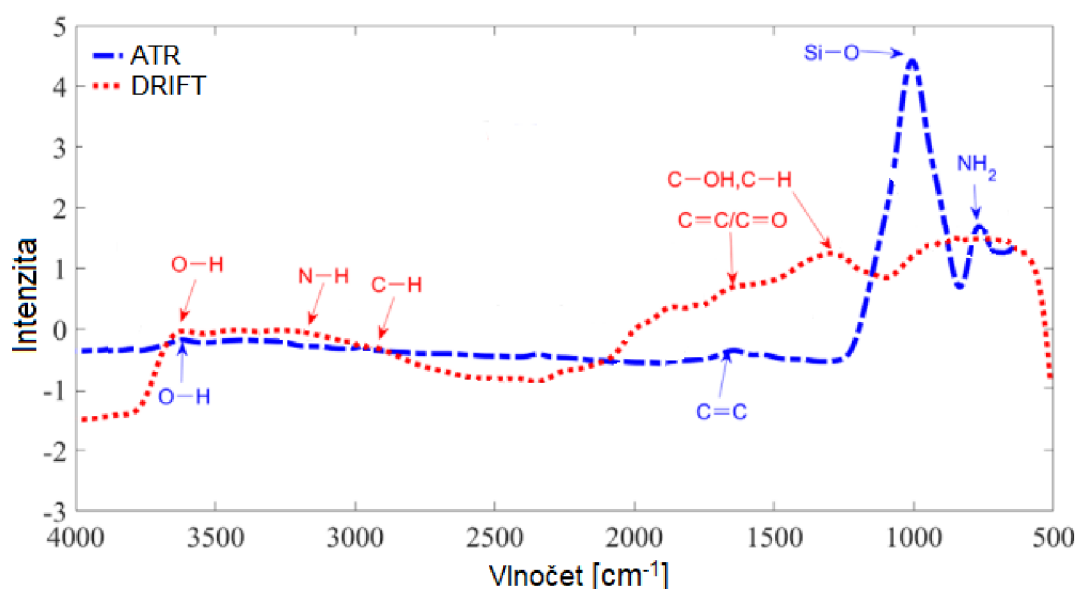
Absorbance v oblasti střední infračervené oblasti MIR (2 500–25 000 nm) je výsledkem základních molekulárních vibrací, které jsou absorbovány na specifických vlnových délkách elektromagnetického záření. Absorbance ve viditelné a blízké infračervené oblasti (vis-NIR; 350–2500 nm) je způsobena podtóny a kombinačními pásy [25].

MIR spektroskopie bývá použita k odvození různých fyzikálních, chemických a biologických vlastností půdy. Absorbance v rozmezí vlnočtů $3\,100\text{--}2\,800\text{ cm}^{-1}$ jsou způsobeny organickými složkami, zatímco široká absorbance střední intenzity mezi $2\,600\text{--}1\,650\text{ cm}^{-1}$ může souviset s minerálními složkami v půdě. Protože absorbance v infračervené spektrometrii je způsobena přechody ve vibračních a rotačních režimech molekul, lze dobře předpovídat vlastnosti půdy, které dobře souvisejí s povrchem a složením pevných látek. Vlastnosti půdy přímo spojené s chromofory (organický uhlík, uhličitany atd.) lze obecně lépe předpovědět než jiné vlastnosti, u kterých se předpověď opírá o jejich korelaci s chromofory v dané spektrální knihovně. Kromě toho může nepřímá interakce mezi chromofory a dalšími vlastnostmi půdy (tj. pH) poskytnout další kvantitativní informace o vlastnostech bez aktivních chromoforů [25]. Střední infračervená spektroskopie ($4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$) se často používá k předpovídání půdních vlastností, jako je půdní organický uhlík (SOC), celkový uhlík (TC), půdní organická hmota (SOM), kationtová výměnná kapacita (CEC), jíl, fosfor (P),

draslík (K) a další. Navíc mnoho funkčních skupin, které jsou obvykle charakteristické výraznými středními infračervenými oblastmi (např. aromáty, karbonyly nebo alifatické látky), nelze kvantifikovat pomocí tradičních chemických analýz [26].

Infračervené techniky se nejčastěji vyvíjejí pro kvalitativní studie. Ovšem pečlivé zkoumání intenzit vede k užitečnému nástroji také pro kvantitativní analýzu. Poskytují informace o struktuře, složení a strukturních změnách po chemické modifikaci [27].

Techniky ATR (měření zeslabeného úplného odrazu) a DRIFT (měření difuzní reflektance) patří mezi techniky střední infračervené spektrometrie. Střední infračervená oblast zahrnuje tzv. základní vibrace molekul. Absorpce infračerveného záření při frekvencích odpovídajících vlastním molekulárním vibracím molekuly má za následek zvýšení amplitudy vibrací při těchto frekvencích. Každá frekvence odpovídá danému množství energie a specifickému molekulárnímu pohybu. Spektrum MIR pak může odhalit druh molekulárních pohybů a vazeb (funkčních skupin), které jsou přítomny v molekule (viz Obrázek 6). Většina funkčních skupin má navíc charakteristické absorpční pásy v infračervené oblasti [28][29].

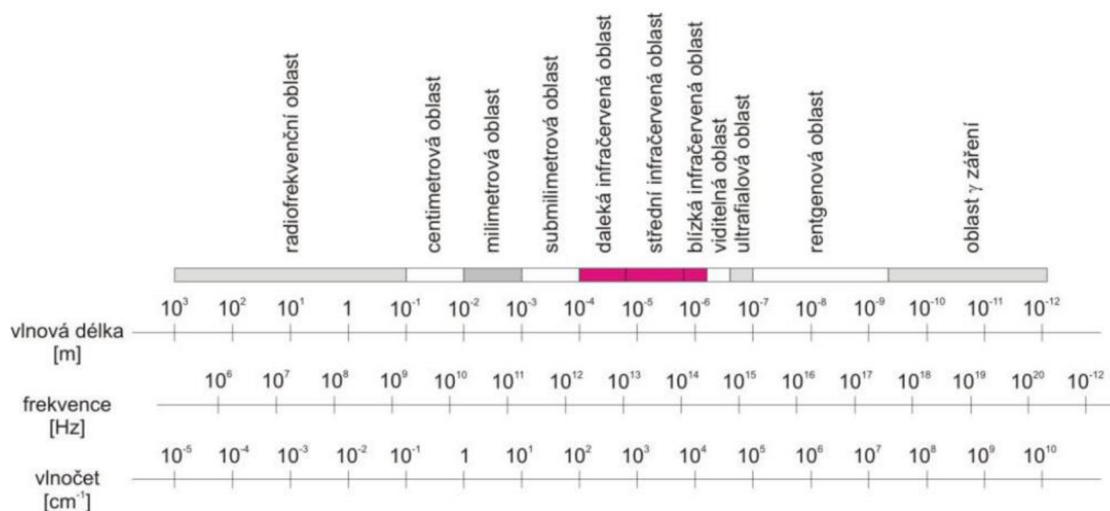


Obrázek 6: Spektra ATR (červené) a DRIFT (modré) rýžové pudy [26]

FTIR spektroskopie je účinným nástrojem pro studium půdy a půdních procesů. Od svého prvního použití ke studiu minerálních a organických složek půd v polovině 20. století nabízí tato technika charakterizaci minerálů, organických látek a procesů, jako je zvětrávání minerálů, redukce – oxidace a vazba iontů a organických sloučenin na povrch minerálů. Vysoká míra experimentální a analytické flexibility, kterou poskytuje FTIR spektroskopie, odráží širokou škálu metod pro sběr spekter a vhodnost půdních složek a procesů pro molekulární analýzu infračervenou spektroskopií. Nástup technik ATR dále posunul FTIR spektroskopii od identifikace a charakterizace půdních složek a sorpčních komplexů oxyaniontů k analýze půdních procesů probíhajících na rozhraní kapalina-pevná látka v reálném čase in situ [30].

Zatímco MIR zaznamenává především dobře rozlišené základní molekulární vibrace, NIR vyplňuje mezeru mezi IR a UV/VIS částí elektromagnetického spektra (viz Obrázek 7). Spektra NIR jsou v rozmezí od 4 000 cm^{-1} do 15 000 cm^{-1} (667–2 500 nm) a vyznačují se

širokými překrývajícími se pásy overtonů a kombinovaných vibrací pro omezený počet molekulových vibrací, většinou typu X–H, např. pro C–H, O–H, N–H. Spektrální vyhodnocení ve smyslu interpretace molekulových struktur z NIR spekter je obecně špatné. Pokud však jde o klasifikační úlohy nebo kvantitativní analýzy, je NIR v kombinaci s chemometrickými metodami mocným nástrojem. Navíc díky nízkým absorpčním koeficientům vyšších overtonů ve srovnání se základními vibracemi může NIR proniknout hlouběji než MIR, a tak zvládnout větší objemy vzorků. Navíc vyniká mnohem nižší citlivostí na vodu a možností pracovat s křemennými materiály pro vlákna a optické prvky [31].

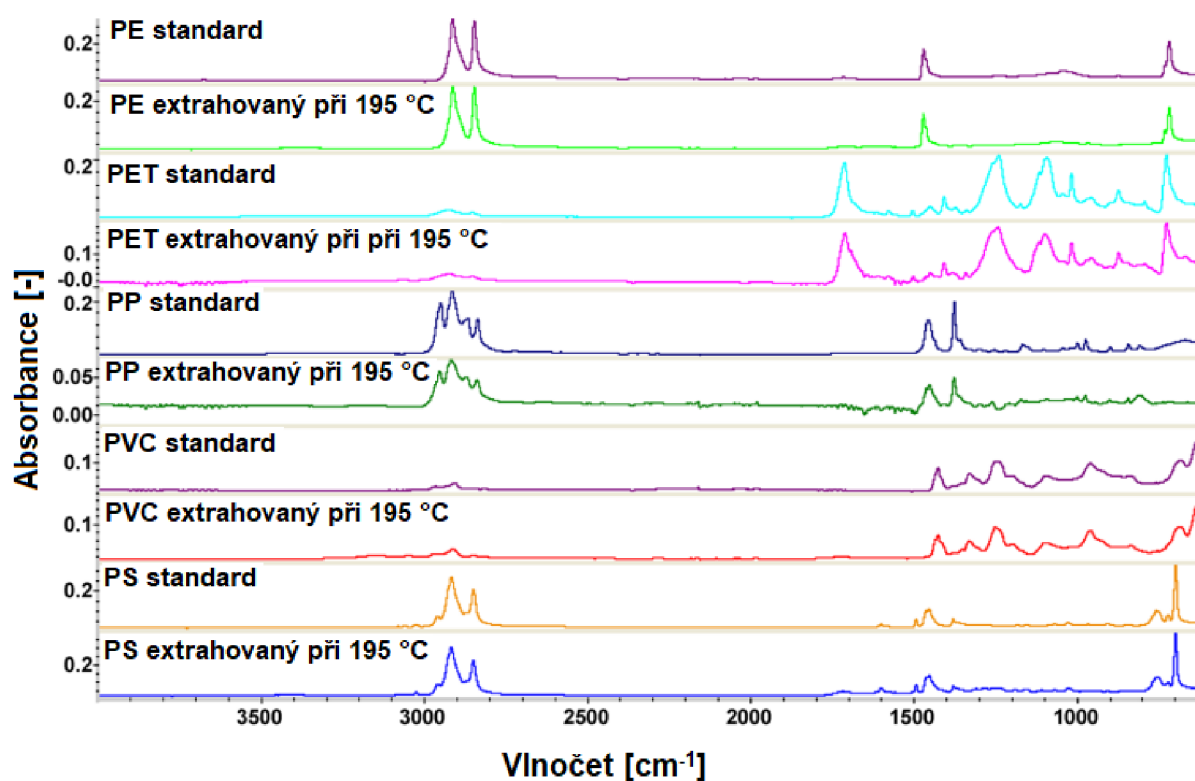


Obrázek 7: Elektromagnetické spektrum s vyznačenou infračervenou oblastí [32]

2.8. Aplikace metod FTIR pro identifikaci mikroplastů praxi

Studie distribuce a morfologie MPs v pobřežních půdách v blízkosti Žlutého moře a Bohajského moře zahrnuje celkem 120 vzorků půdy z 53 lokalit. Mokrý vzorek sedimentu byly homogenizovány a analyzovány ihned po převozu do laboratoře. Obsah vody ve vzorcích půdy byl stanoven na základě úbytku hmotnosti po sušení v sušárně při 105 °C po dobu více než 12 hodin. Množství MPs bylo proto stanoveno na základě hmotnosti suchých vzorků půdy. MPs byly nejdříve ze vzorků půdy separovány pomocí kontinuálního průtokového a plovoucího separačního aparátu, který pomocí přetlaku vyvolaným vzduchem a mokrého síta dokáže účinně oddělit MPs z půdy nebo sedimentů na základě flotace vzduchem a hustotní separace pomocí nasyceného roztoku chloridu sodného. Zbytky byly dále odplavovány pomocí nasyceného roztoku jodidu sodného a filtrovány. Oddělené vzorky byly poté zakryty hliníkovou fólií a vysušeny na vzduchu až do další analýzy v laboratoři. Vzorky byly pozorovány pod lupou nebo stereomikroskopem. Některé MPs mohou být na základě své morfologie nerozeznatelné, a proto byl pro identifikaci polymerů použit infračervený FTIR spektrometr (Nicolet iS10, Thermo Fisher, Waltham, MA) vybaven příslušenstvím ATR-FTIR. Přístroj sestával ze ZnSe krystalu a tlakové svorky. Pracoval s rozlišením 4 cm a středním infračerveným rozsahem 650–4 000 cm⁻¹ a při rychlosti 32 skenů na analýzu. Všechna spektra byla porovnána s databází, aby se ověřila identita plastových částic. Výsledky analýz ukázaly, že v plážové půdě bylo přítomno sedm různých tvarů a polymerní složení MPs zahrnovalo PE, PP, PS, PU a polymerní směs PE i PP. Velikosti pozorovaných MPs se pohybovaly od 0,1 do 5 mm a přibližně 60 % MPs mělo

velikost menší než 1 mm. Prostorové rozložení množství mikroplastů v půdě na pobřeží bylo zřetelně ovlivněno cestovním ruchem, výstavbou přístavů, vypouštěním vody z řek a oceánskými přílivy a bylo v rozmezí 1,3–14 712,5 ks/kg vysušené půdy [33].



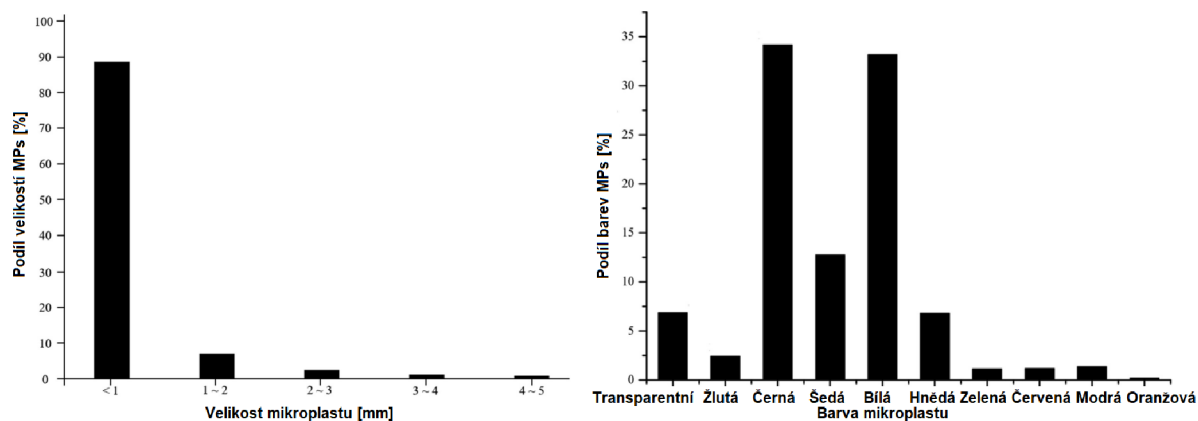
Obrázek 8: FTIR spektra referenčních plastů a plastů po extrakci [34]

Jiná studie využívá techniku extrakce tlakovou kapalinou (PFE) s následnou FTIR detekcí v průmyslové oblasti v Sydney. Terénní fluoerescenční test ukázal vysoké hladiny chloru, avšak testování polotěkavých organických látek nezjistilo ve vzorcích žádné organochlorové sloučeniny. Další analýza půdy na celkový chlor poskytla koncentrace až 30 000 mg/kg, zatímco hodnoty anorganických chloridů rozpustných ve vodě byly nižší než 100 mg/kg. To naznačovalo, že vysoké hodnoty chloru mohly být způsobeny přítomností netěkavých organických sloučenin chloru a vzhledem k tomu, že se v průmyslové lokalitě dříve vyráběly chlorované plasty, byly odebrané vzorky půdy analyzovány. Extrakce tlakovou kapalinou (PFE) je technika, která využívá rozpouštědla za podkritických teplotních a tlakových podmínek, a to především pro získávání poloprůchozích organických látek z pevných materiálů. Tato technika byla přijata jako standardní extrakční technika a běžně se používá v environmentálních laboratořích pro extrakci organických znečišťujících látek z půd, sedimentů a odpadů. Autoři se domnívají, že optimalizací podmínek PFE by bylo možné kvantitativně extrahovat a analyzovat plasty ze vzorků životního prostředí. Technika založená na extrakci plastů prostřednictvím částečné emulgace nebo solubilizace plastů by měla oproti stávajícím fyzikálním separačním postupům značnou výhodu, protože by tento proces pravděpodobně nebyl ovlivněn velikostí částic. Po použití PFE byla rozpouštědla ze zbytků extraktu odstraněna odpařením pod proudem dusíku. Zaschlé zbytky byly zkoumány na FTIR spektrometru (Nicolet 6 700) s technikou ATR z diamantového krystalu se ZnSe čočkou. Identifikace typu plastu byla provedena porovnáním spektra vzorku se spektry

z knihovny pomocí korelačního algoritmu. FTIR analýza zbytků odebraných z většiny vzorků ukázala shodu s referenčním FTIR spektrem PVC (viz Obrázek 8). Zbytková FTIR spektra u dvou vzorků půdy naznačují přítomnost více typů plastů, konkrétně PS a PE. Bylo zjištěno, že vzorky půdy obsahují 0,03 % až 6,7 % mikroplastů [34]. Tato metoda je rychlá, nevyžaduje čištění vzorku a je nezávislá na velikosti částic. Nevýhodou však je, že podobně jako například chromatografické metody, je tato metoda destruktivní a umožňuje pouze hmotnostně-quantitativní analýzu, přičemž neposkytuje informace o počtu, velikosti a tvaru částic polymeru [23].

Další studie, navrhující referenční databázi pro automatizovanou analýzu MPs pomocí FTIR spektrometrie, poskytuje přizpůsobitelnou referenční databázi, kterou lze použít k identifikaci jednotlivých částic i k metodám, jako je FTIR mikroskopie. Návrh databáze je založen na analýze referenčních spekter ve spektrálním rozsahu 3 600 až 1 250 cm^{-1} . Takto vytvořené záznamy v databázi byly optimalizovány pro software pro automatizovanou analýzu s definovanými soubory referenčních dat. Pro vytvoření obecné spektrální databáze byly vzorky polymerů od různých dodavatelů měřeny pomocí spektroskopie ATR-FTIR na systému Bruker Tensor 27 (Bruker Optics GmbH) s diamantovou platinovou ATR jednotkou (Bruker Optics GmbH). Spektra byla zaznamenána v absorpčním režimu v rozsahu od 4 000 do 400 cm^{-1} s rozlišením 4 cm^{-1} a 32 skeny. Každé měření bylo provedeno ve třech opakováních. Návrh byl dále testován z hlediska jeho přizpůsobitelnosti pomocí dalších záznamů. Konečná referenční databáze byla důkladně testována na referenčních souborech dat a vzorcích životního prostředí. Kvalita dat pomocí správné identifikace a zobrazení částic se ve srovnání s předchozími databázemi výrazně zvýšila. Vytvořená databáze byla porovnána se šesti referenčními soubory dat a bylo potvrzeno, že zvolené uspořádání může identifikovat částice různých velikostí a materiálů. Prostřednictvím vzorového testu na vzorku životního prostředí bylo možné prokázat, že databáze je použitelná pro komplexní materiál vzorku. [35].

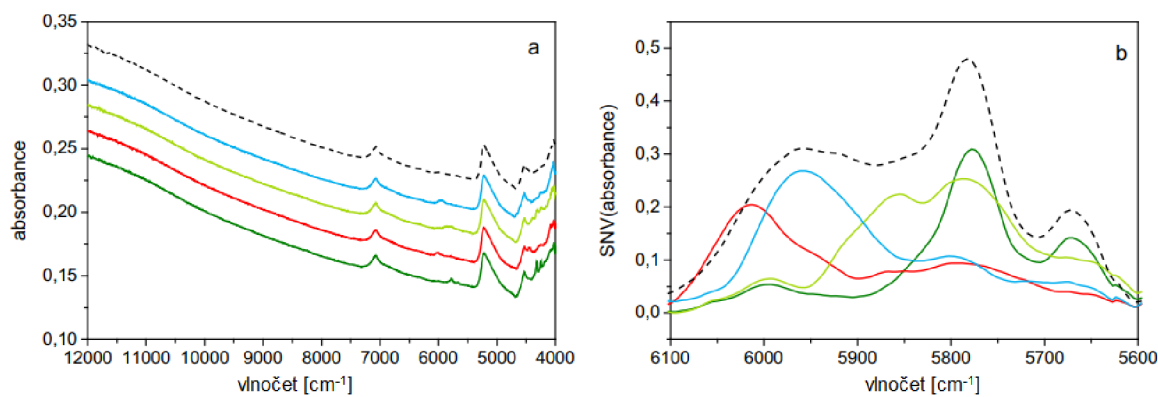
Jiná studie zavádí metodu charakterizace mikroplastů v komplexním půdním substrátu pomocí FTIR spektrometrie. MPs byly separovány podle hustoty bez odstranění půdní organické hmoty, aby byly MPs chráněny před poškozením. Jednalo se o automatickou, přímou a kontinuální charakterizaci plastů o velikosti mikronů. Dále bylo odebráno 33 vzorků půdy z oblasti demontáže elektronického odpadu v čínské provincii Guangdong, s různým využitím půdy. Každý vzorek byl analyzován pomocí ATR-FTIR s rozlišením 4 cm^{-1} a středním infračerveným rozsahem 4 000–500 cm^{-1} , při rychlosti 16 skenů na analýzu. Plasty o mikronové velikosti (<800 μm) byly identifikovány pomocí Micro FTIR spektrometru (Nicolet iN10 MX, Thermo Fisher, USA) s rozlišením 8 cm^{-1} , rozsahem 4 000–675 cm^{-1} a 16 skeny na analýzu. Všechna spektra byla porovnána s databází. Výsledky ukázaly, že MPs se vyskytovaly ve 30 vzorcích a jejich množství se mezi jednotlivými půdami značně lišilo a pohybovalo se v rozmezí od žádného do 34 100 ks/kg, což znamená, že místa demontáže elektronického odpadu se stala ohnisky výskytu MPs. Bylo zjištěno 60 druhů mikroplastů 6 různých tvarů a 10 barev. Tvořily je především technické plasty a modifikované plasty, 88,61 % z nich mělo velikost <1 mm (viz Obrázek 9). Povrchová morfologie MPs vykazovala známky stárnutí a degradace, pravděpodobně v důsledku primitivních metod demontáže a dlouhodobého působení půdy. Zjištěny byly také průměrné koncentrace těžkých kovů v detekovaných mikroplastech (Pb 20,94 $\mu\text{g/g}$, Cd 0,67 $\mu\text{g/g}$, Cr 11,82 $\mu\text{g/g}$, Ba 308,78 $\mu\text{g/g}$, Cu 4,11 $\mu\text{g/g}$, Co 1,26 $\mu\text{g/g}$ a As 3,06 $\mu\text{g/g}$) [36].



Obrázek 9: Procentuální zastoupení velikostí a barev detekovaných MPs [36]

Studie z Dánska analyzuje pomocí FTIR vzorky sedimentu, vody a vodních živočichů (ryby a pijavice) z retenční nádrže. Vzorky sedimentu byly prosety, vysušeny mrazem a organická hmota byla odstraněna pomocí H_2O_2 . Poté byla použita gravimetrická separace k oddělení anorganických a organických frakcí. Konečné koncentrované vzorky plastových částic byly suspendovány v ethanolu a analyzovány pomocí FTIR v reflexním režimu (částice $>80 \mu m$) a transmisním režimu (částice $<80 \mu m$). Na základě FTIR analýzy byla stanovena konečná koncentrace plastů v sedimentu na $5,2 \cdot 10^5$ částic/kg suchého sedimentu, což odpovídá 26 mg/kg [37].

Větší množství organické hmoty v půdách může bez vhodné předúpravy rušit signál FTIR technik využívajících střední infračervenou oblast. Analýza v blízké infračervené oblasti v kombinaci s chemometrií může překonat nevýhody spojené s analýzou v MIR a poskytnout rychlé posouzení chemického složení MPs bez jakékoli chemické předúpravy [38]. Blízké infračervené záření může proniknout hlouběji než střední infračervené záření, což umožňuje analýzu částic, i když jsou potaženy silným biofilmem, a metoda obecně není citlivá na vodu [23]. Studie využívající NIR spektrometrii v kombinaci s chemometrií k detekci MPs v půdě popisuje analýzu MPs PE, PP, PS, PET a PVC. NIR spektra byla měřena spektrometrem Matrix-F (Bruker), vybaveným optickou reflexní sondou. Spektra jsou v rozsahu $12\ 000\text{--}4\ 000\text{ cm}^{-1}$ a následné zpracování spočívá v SNV transformaci, vyhlazení a korekci základní linie (viz Obrázek 10), což rozšíří spektrální vlastnosti testovaných polymerů v rozsahu $5\ 300\text{--}6\ 100\text{ cm}^{-1}$. Po minimální úpravě vzorku (např. prosévání a sušení), tak lze v půdě spolehlivě detekovat přibližně 1 % hmotnosti. V závislosti na použitém vybavení, např. typu spektrometru a optické sondy, lze v krátkém čase testovat větší objemy vzorků. V tomto případě byl použit procesní FT-NIR spektrometr spojený s reflexní sondou. Délka měření byla celkem 5 minut, včetně vložení vzorku do přístroje. Následné chemometrické hodnocení NIR spekter MPs v půdě by mohlo být použito jako screeningová metoda umožňující určit počet, velikost a stav stárnutí polymerů. Jde o snadno použitelnou a vysoce výkonnou metodu, která umožní rychle odhadnout, zda je určitý vzorek kontaminován (mikro)plasty, či nikoli [31].



Obrázek 10: a) NIR spektra směsi (1 % hm.) PE (tmavě zelená), PET (červená), PP (světle zelená) nebo PS (modrá) v modelové půdě (přerušovaná čára); b) zpracovaná spektra: první podtóny [31]

Techniky FTIR jsou v současnosti jedním z nejčastěji používaných přístupů při identifikaci a kvantifikaci MPs a představují slibný nástroj pro automatizovanou analýzu. Je třeba věnovat více výzkumu zlepšení metodologie automatizované analýzy, aby se zkrátila doba identifikace a zvýšila se přesnost [3].

3. Experimentální část

Práce se věnuje kvalitativní a kvantitativní detekci mikroplastu PET v půdách za použití infračerveného spektrometru Alpha II (Bruker, Německo) a spektrometru TANGO (Bruker, Německo). U spektrometru Alpha II byly použity techniky ATR a DRIFT, které měří ve střední infračervené oblasti (MIR). Spektrometr TANGO měří v blízké infračervené oblasti (NIR).

3.1. Příprava vzorků

Vzorek PET byl již předem namletý a dodán ústavem *Chemie a technologie ochrany životního prostředí*. Jako referenční půdní materiál byl použit standardní půdní materiál o známém složení, označený Metranal 34 (M34) hlinitá půda (viz Tabulka 2).

Tabulka 2: Složení referenčního půdního materiálu Metranal 34 [39]

Oxidy	SiO ₂	AlO ₃	CaO	MgO	Fe ₂ O ₃	K ₂ O	Na ₂ O	P ₂ O ₅	TiO ₂
% hm.	64,35	13,10	2,07	1,29	5,82	2,55	0,72	0,45	1,32

Mikroplasty PET byly v různých koncentracích smíšené s modelovou půdou. Byly připraveny směsi půdy a plastu obsahující 0,1 % hm., 1 % hm., 2,5 % hm., 5 % hm. a 7 % hm. plastu (viz Tabulka 3).

Tabulka 3: Připravené vzorky směsí modelové půdy a mikroplastu PET

Koncentrace [% hm.]	Metranal 34 [g]	PET [g]
0,1	6,0	0,006
1,0	6,0	0,060
2,5	6,0	0,150
5,0	6,0	0,300
7,0	6,0	0,420

Nasušené reálné vzorky půd byly dodány ústavem *Chemie a technologie ochrany životního prostředí* včetně charakteristik (viz Tabulka 4). Vzorky půd byly upraveny na frakci 0,5 mm. Pro identifikaci PET v půdách byly použity půdy bez přidaného plastu a následně ve směsích o různých koncentracích PET.

Tabulka 4: Vzorky půd a jejich charakteristiky

Vzorek	pH	C [%]	N [%]	Hg [mg/kg]	Cu [mg/kg]	Zn [mg/kg]
T3	7,33	5,0109	0,25947	0,196	51,7	254,0
T6	7,57	1,6376	0,09894	0,076	14,5	120,0
T7	5,35	2,3022	0,13699	0,155	12,4	84,7
T9	4,52	2,3258	0,15574	0,119	13,9	92,1
T10	7,28	4,0211	0,27488	0,146	23,4	151,0
O3	6,3	2,3524	0,11211	0,091	11,4	73,2
O4	5,37	3,3654	0,23125	0,150	14,2	71,1
O7	6,37	4,6015	0,19443	0,158	28,2	106,0
O9	7,62	3,1135	0,09393	0,245	28,6	131,0
O10	7,34	1,4152	0,05259	0,067	12,9	57,3

Směsi reálných vzorků půd a mikroplastu PET byly připraveny o koncentracích 0,1 % hm., 1 % hm., 2,5 % hm. a 5 % hm. plastu (viz Tabulka 5).

Tabulka 5: Navážky pro přípravu směsí reálných vzorků půd (T3, T6, T7, T9, T10, O3, O4, O7, O9, O10) a mikroplastu PET

Koncentrace [% hm.]	Půda [g]	PET [g]
0,1	6,0	0,006
1,0	6,0	0,060
2,5	6,0	0,150
5,0	6,0	0,300

3.2. Přístroje a postup měření

Analýza a identifikace mikroplastů v půdách byla provedena pomocí přístrojů značky Bruker. Byl použit FTIR spektrometr Alpha II s moduly Platinum ATR a DRIFT a spektrometr TANGO. Nejdříve bylo před měřením u všech třech technik změřené pozadí přístroje, aby se předešlo nežádoucím interferencím. Parametry měření se lišily v závislosti na použité technice (viz Tabulka 6). Vzorky nebylo nutné před měřením dále upravovat, byly pouze zhomogenizovány v achátové třecí misce pomocí tloučku. Pro zamezení chyb a následné statistické vyhodnocení byl každý vzorek měřen třikrát. Výstupem měření bylo infračervené spektrum závislosti intenzity absorbance (osa y) na vlnočtu v cm^{-1} (osa x). Při zobrazování a vyhodnocování naměřených spekter byl použit program *Opus 8.1*.

Tabulka 6: Parametry měření pro ATR, DRIFT a TANGO

	ATR	DRIFT	TANGO
Rozlišení [cm^{-1}]	4	8	32
Vlnočty [cm^{-1}]	4 000–400	8 000–350	12 000–4 000
Počet skenů	32	24	256
Doba skenování [s]	40	22	180

V případě měření s DRIFT modulem (viz Obrázek 11) bylo potřeba malé množství vzorku nadávkovat do speciálního kovového pohárku až po okraj a následně mohl být vzorek umístěn do přístroje. Před začátkem měření a po každých čtyřech měřeních byla pro minimalizaci šumu pozadí a ke korekci přístroje použita reference zlata.



Obrázek 11: FTIR spektrometr Alpha II s DRIFT modulem [40]

U techniky ATR (viz Obrázek 12) bylo malé množství vzorku nanášeno na krystalovou destičku s integrovaným ATR krystalem. Před spuštěním měření byl vzorek pomocí hlavice krystalu přitlačen. Pozadí přístroje bylo měřeno bez přítomnosti vzorku.



Obrázek 12: FTIR spektrometr Alpha II s modulem Platinum ATR [41]

Spektrometr TANGO (viz Obrázek 13) nabízí různé možnosti měření (ve vialkách, v miskách nebo v různých rotačních zařízeních a šálcích), přičemž v této práci bylo měřeno v rotačních nádobkách, což vyžaduje výrazně větší množství vzorku než předešlé techniky, ale zajišťuje optimální prezentaci vzorku. Do speciální rotační nádoby bylo vždy naváženo minimálně 6 g vzorku půdy, plastu či směsi, aby bylo překryté celé dno nádoby.



Obrázek 13: FTIR spektrometr TANGO [42]

3.3. Zpracování dat

Součástí softwarového zázemí přístrojů Bruker je program *Opus 8.1*, v němž byla naměřená data vyhodnocena zkoumáním jednotlivých absorpčních pásů FTIR spekter a následným vytvořením kalibračních závislostí a validačních modelů. Infračervená spektra technik TANGO, ATR i DRIFT obsahují charakteristické absorpční pásy půdy i polymerů. V některých oblastech dochází k překryvu spekter půdy a plastu, proto jsou pro následnou analýzu vybrány jen ty nejvhodnější pásy v závislosti na použité funkci.

Funkce *Setup Quant Method* byla použita pro vytvoření korelačních a kalibračních závislostí. U jednotlivých technik byly vybrány rozmezí vlnočtů, v nichž silně absorbuje plast a půda minimálně. Jako stanovovaná komponenta bylo zvoleno hmotnostní procento plastu ve vzorku. Byly vytvořeny závislosti reálných naměřených hodnot plastů k predikovaným hodnotám (FIT vs. TRUE). Výsledkem byla lineární závislost a výsledný korelační koeficient potvrdil vhodnost vybraných pásů k vytvoření kalibračních závislostí. Výsledkem byla závislost intenzity absorpce jednotlivých směsí půdy a plastu, na procentu plastu ve vzorku.

Funkce *Setup Quant 2 Method* byla použita k vytvoření validačních modelů (cross validation) vybraných charakteristik u skupiny vzorků. Funkce posuzuje vhodnost použití metody pro danou analýzu. Při vytváření validačních modelů u vzorků půd, do nichž nebyl uměle přidán plast, byly u jednotlivých technik vybrány rozmezí vlnočtů, v nichž má charakteristické absorpční pásy půda. Funkce *Setup Quant 2 Method* byla použita i pro vytvoření validačního modelu půd do nichž byl uměle přidán PET. Sledovanou složkou byl obsah uhlíku v monomerní jednotce polymeru. Výstupem byl graf závislosti vypočítaného obsahu uhlíku v plastu, na teoretických hodnotách stanovených programem. Mezi výsledné parametry určující přesnost a vhodnost metody patří koeficient determinace R^2 , střední kvadratická chyba křížového ověřování modelu (z angl. Root Mean Square Error of Cross Validation) RMSECV a RPD (z angl. Residual Prediction Deviation).

3.4. Interpretace vibračních spekter

Pro přesnou identifikaci funkčních skupin v molekulách jsou potřeba tabulky vlnočtů charakteristických vibrací, v nichž jsou pro každou funkční skupinu na základě empirické zkušenosti uvedeny intervaly vlnočtů, ve kterých se daná funkční skupina musí projevit absorpcí. Obsahují i relativní intenzitu příslušného absorpčního pásu. Šířka intervalu vlnočtů závisí na ovlivnění vibrace dané funkční skupiny zbytkem molekuly. Některé skupiny jsou charakterizovány několika absorpčními pásy, jiné pouze jediným. Má-li být daná funkční skupina v molekule prokázána, musí být nalezeny všechny její absorpční pásy a měly by korespondovat i intenzity, respektive poměry intenzit (jejich absolutní hodnota je totiž závislá na zastoupení skupin v molekule). Z nepřítomnosti absorpčních pásů v určitých oblastech lze přítomnost některých funkčních skupin nebo vazeb naopak vyloučit. Většina organických i anorganických látek vykazuje v oblasti infračerveného spektra intenzivní absorpci. Absorbance je podle Lambertova-Beerova zákona přímo úměrná koncentraci aktivní látky ve vzorku a tloušťce měřené vrstvy vzorku. Při samotné interpretaci je vhodné nejprve odečíst ze spektra polohu maxim významných absorpčních pásů a jejich relativní intenzitu. Následně lze přiřadit pozorované absorpční pásy jednotlivým funkčním skupinám, přičemž je vhodné začít zjištěním typu skeletu (aromatický, alifatický nasyc., nenasyc. atp.) a následně analyzovat možné substituenty [32].

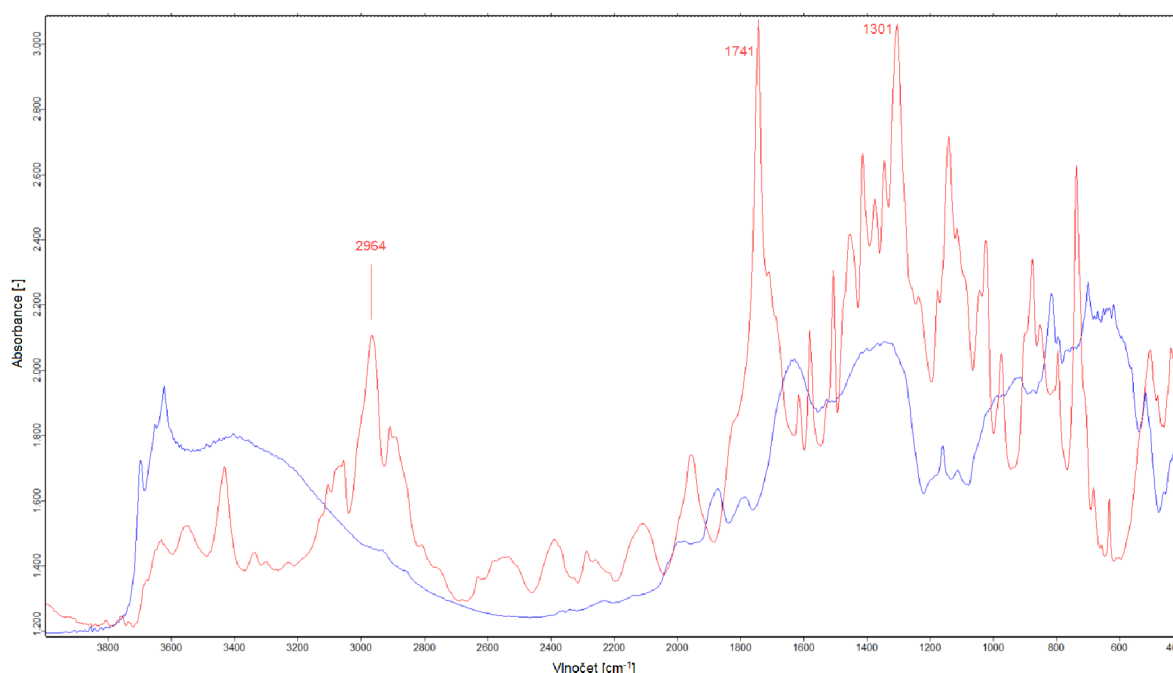
V MIR se v rozmezí $4\ 000\text{--}1\ 250\ \text{cm}^{-1}$ nachází oblast charakteristických vibrací funkčních skupin, která obsahuje charakteristické pásy jednotlivých vazem, které odpovídají převážně

valenčním vibracím. Druhá oblast, oblast otisku prstu, se nachází v rozmezí $1\ 250\text{--}400\text{ cm}^{-1}$ a obsahuje pásy odpovídající převážně deformačním vibracím. Charakterizuje každou molekulu jako celek. Spektra NIR obsahují málo intenzivní signály a jedná se především o kombinální přechody, vyšší harmonické přechody (overtones) [43].

4. Výsledky a diskuze

4.1. Vyhodnocení směsi modelové půdy a mikroplastu PET

Pomocí infračervené spektrometrie byla pomocí technik ATR, DRIFT a TANGO nejprve změřena čistá modelová půda M34 a čistý mikroplast PET. U každé techniky byly vybrány 3 charakteristické hodnoty vlnočtu, u nichž byla naměřena silná absorpce PET, která výrazně převyšovala absorpenci půdy. V těchto místech byly následně vybrány charakteristické pásy (rozmezí vlnočtů), pro vytvoření korelací naměřených dat na predikovaných hodnotách a validačních modelů vypočítaného uhlíku v plastu na teoretických hodnotách stanovených programem. Infračervená spektra modelové půdy M34 a mikroplastu PET se u jednotlivých použitých technik výrazně lišila a poskytují odlišné charakteristické absorpční píky pro vytvoření kalibračních závislostí.

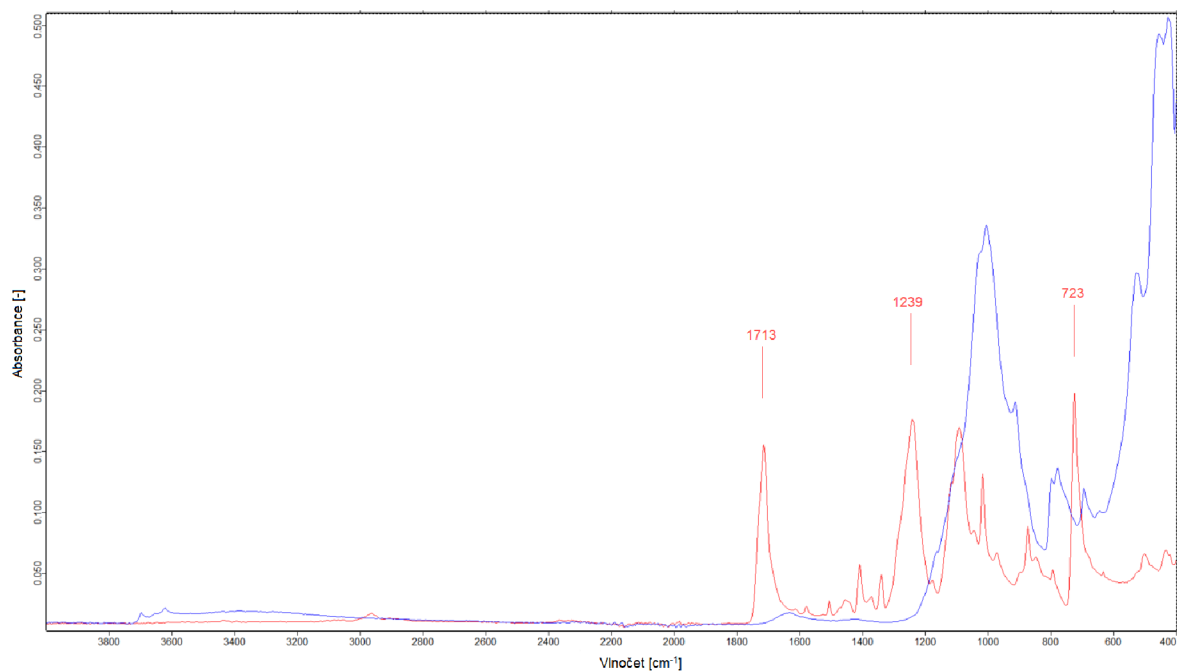


Obrázek 14: DRIFT spektrum modelové půdy M34 (modrá) a mikroplastu PET (červená)

Pomocí techniky DRIFT (viz Obrázek 14) bylo naměřeno bohaté spektrum na absorpční píky u půdy i mikroplastu PET. Byly vybrány vlnočty $2\,964\text{ cm}^{-1}$, $1\,741\text{ cm}^{-1}$ a $1\,301\text{ cm}^{-1}$.

Tabulka 7: Přiřazené funkční skupiny k charakteristickým píkům PET u techniky DRIFT [32]

Vlnočet [cm ⁻¹]	2 964	1 741	1 301
Přiřazené funkční skupiny	-CH ₃	C=O -CHO -COOH -CO-O-	-CH ₃ -C=O-O -COOH -CH=CH-



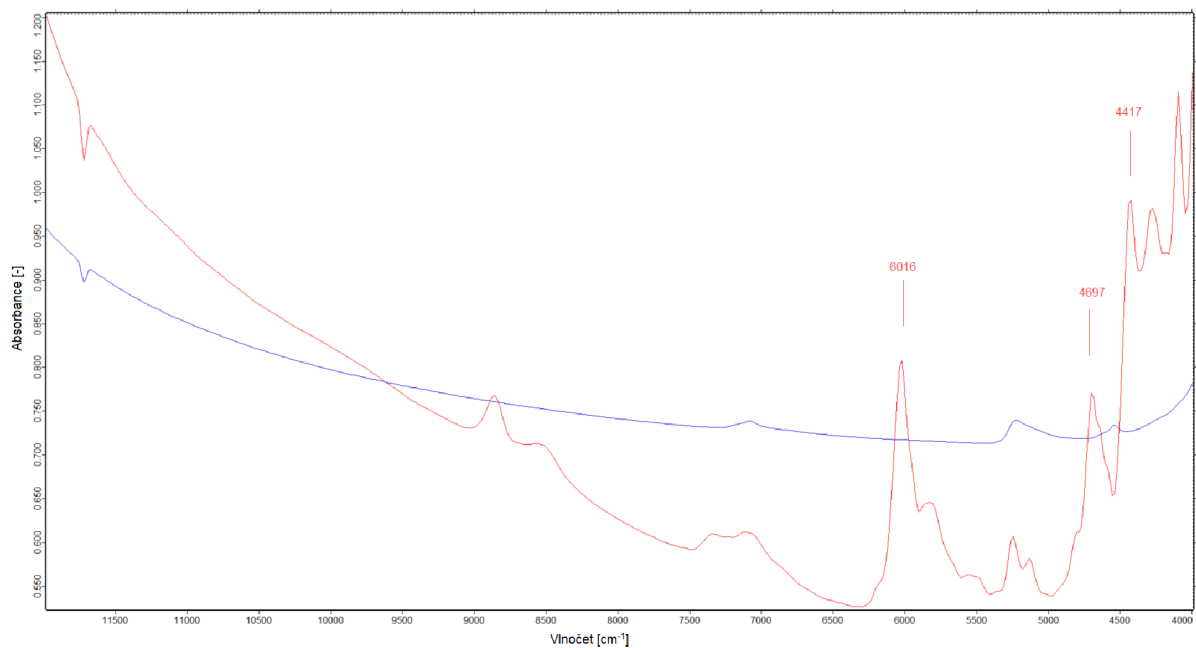
Obrázek 15: ATR spektrum modelové půdy M34 (modrá) a mikroplastu PET (červená)

Pomocí techniky ATR bylo naměřeno spektrum obsahující méně absorpčních píků (viz Obrázek 15), z něhož byly vybrány vlnočty $1\,713\text{ cm}^{-1}$, $1\,239\text{ cm}^{-1}$ a 723 cm^{-1} . Vizualně lze pozorovat silnou absorbanci u půdy v oblasti $1\,200\text{--}800\text{ cm}^{-1}$, proto v této oblasti nebyly vybrány žádné píky k dalšímu sledování.

Tabulka 8: Přiřazené funkční skupiny k charakteristickým píkům PET u techniky ATR [32]

Vlnočet [cm^{-1}]	1 713	1 239	723
Přiřazené funkční skupiny	R-CO-R' -CHO -COOH -CO-O-	=C-O-C -C=O-O-	-CH ₂

Technika TANGO poskytovala z použitých technik nejméně bohaté spektrum na absorpční píky pro modelovou půdu M34 a pro PET poskytovala výrazné absorpční píky od $6\,200\text{ cm}^{-1}$ (viz Obrázek 16). Vybrané byly píky na vlnočtech $6\,016\text{ cm}^{-1}$, $4\,697\text{ cm}^{-1}$ a $4\,417\text{ cm}^{-1}$.



Obrázek 16: TANGO spektrum modelové půdy M34 (modrá) a mikroplastu PET (červená)

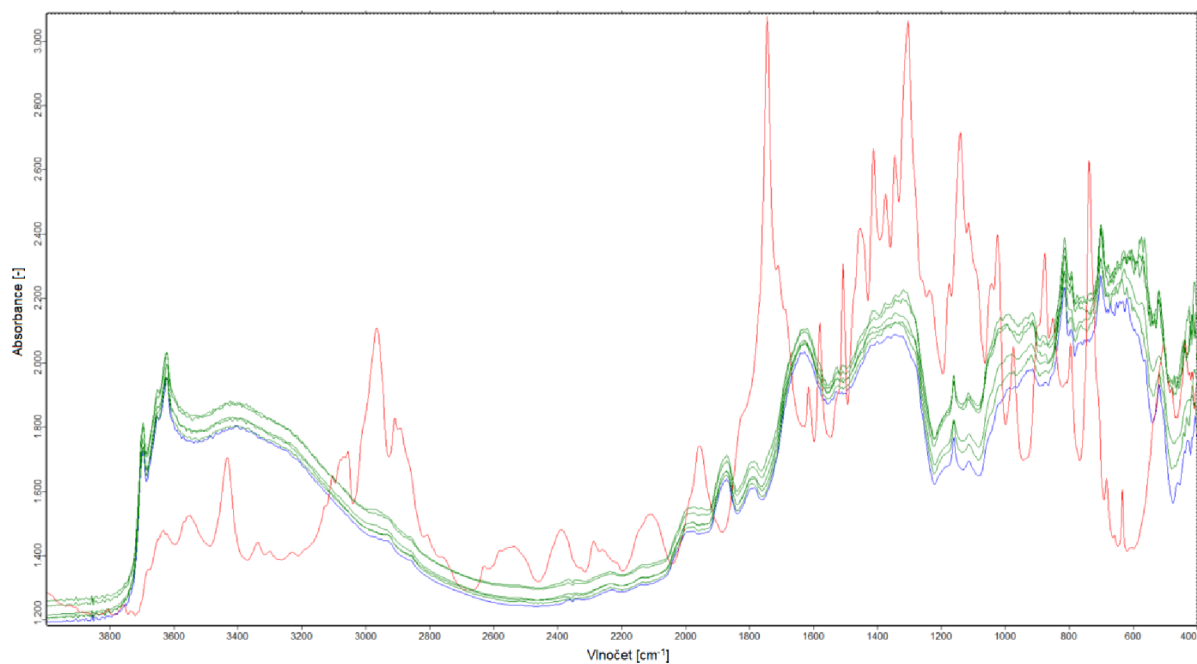
4.1.1. Kalibrační závislosti

Metoda kalibrace vyjadřuje závislost absorpce na koncentraci mikroplastu PET v modelové půdě M34. K vytvoření kalibračních závislostí byly použity vybrané charakteristické píky PET a intenzity odečtené ze spekter jednotlivých směsí v daném místě vlnočtu.

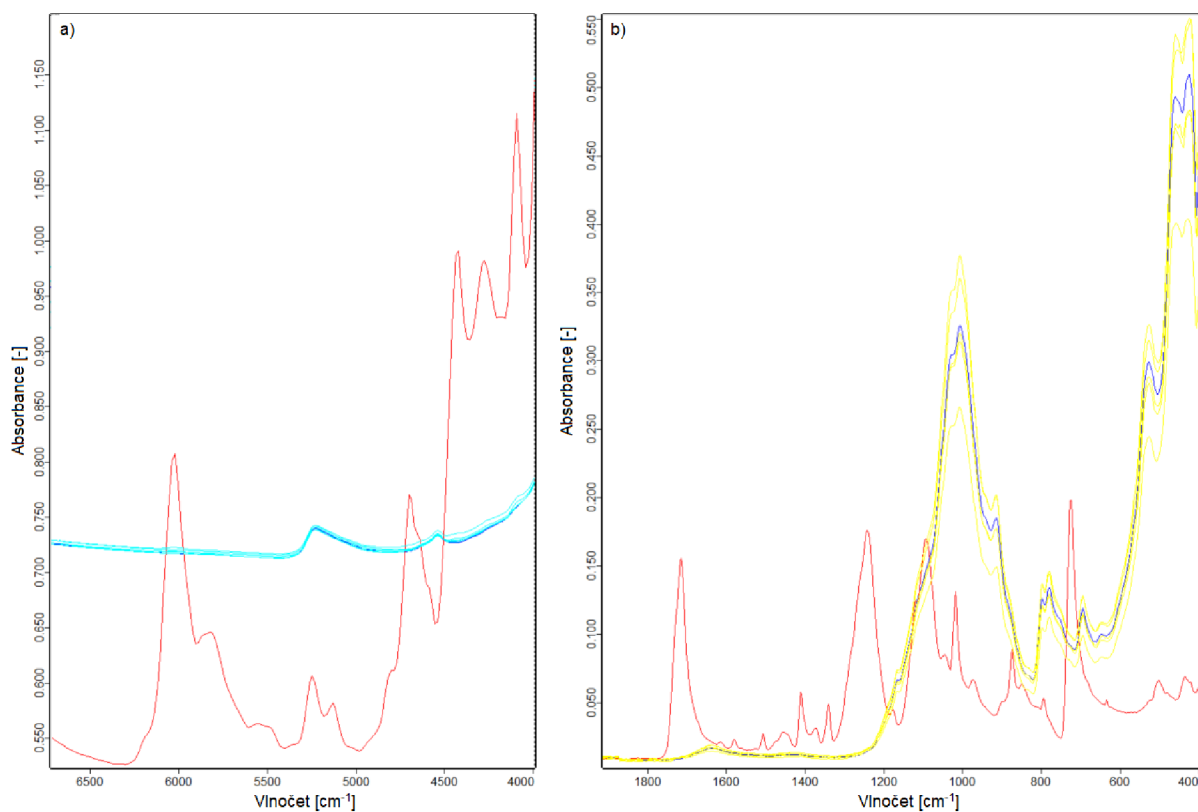
Podle Wanga a kol., půda obsahující již koncentraci plastu 0,1 % hmotnosti je považovaná za znečištěnou [10]. Fuller a Gautam našli 0,03–6,7 % plastů v půdách na území průmyslové oblasti [31]. Kalibrační závislosti byly sestaveny pro směsi modelové půdy a mikroplastu PET o koncentraci 0,1–7 % hmotnosti. U všech technik byla důležitá důkladná homogenizace vzorku.

Vzhledem k tomu, že směsi obsahují jen malé množství PET, vizuálně nelze ze spekter (viz Obrázek 17, Obrázek 18) pozorovat výrazné charakteristické píky přítomnosti PET a spektra směsí v podstatě kopírují spektrum modelové půdy M34. Až po přiblížení spekter lze vyčíst malé změny v absorbanci u charakteristických píků.

Výsledky kalibračních závislostí u všech metod potvrdily trend nárůstu absorpce v IČ oblasti se stoupající koncentrací plastu ve vzorku půdy. Pro testované koncentrace mikroplastu PET v modelové půdě byly zjištěny nejvyšší hodnoty R^2 u techniky TANGO (0,987–0,996) a DRIFT (0,975–0,993). Metoda ATR poskytla velmi dobré výsledky u vlnočtů $1\,713\text{ cm}^{-1}$ a $1\,239\text{ cm}^{-1}$ ($R^2 = 0,988$). U píky 723 cm^{-1} byla hodnota R^2 i po přeměření nižší (0,799).

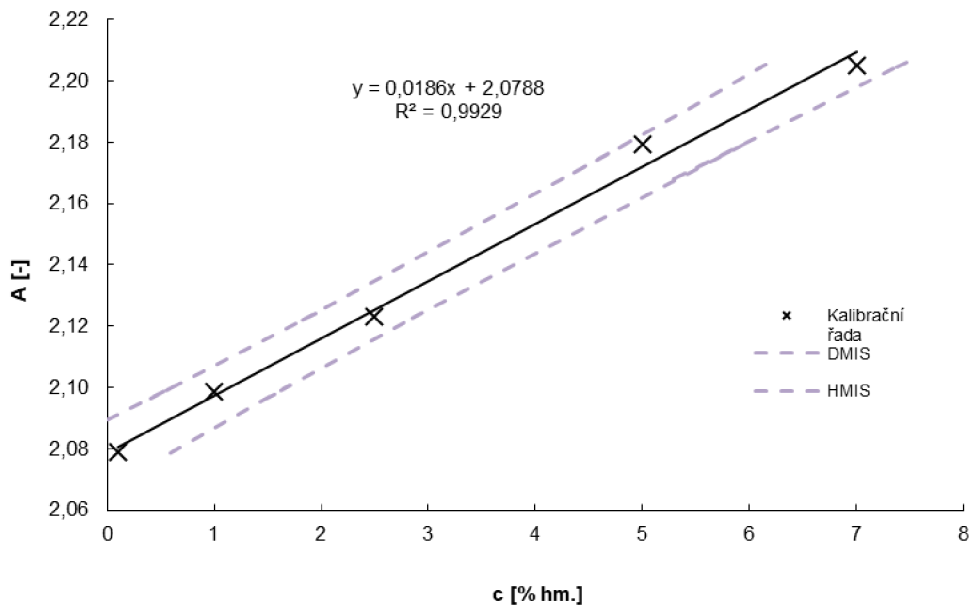


Obrázek 17: DRIFT spektrum připravených směsí modelové půdy M34 a PET (zelená), čistého PET (červená) a M34 (modrá)

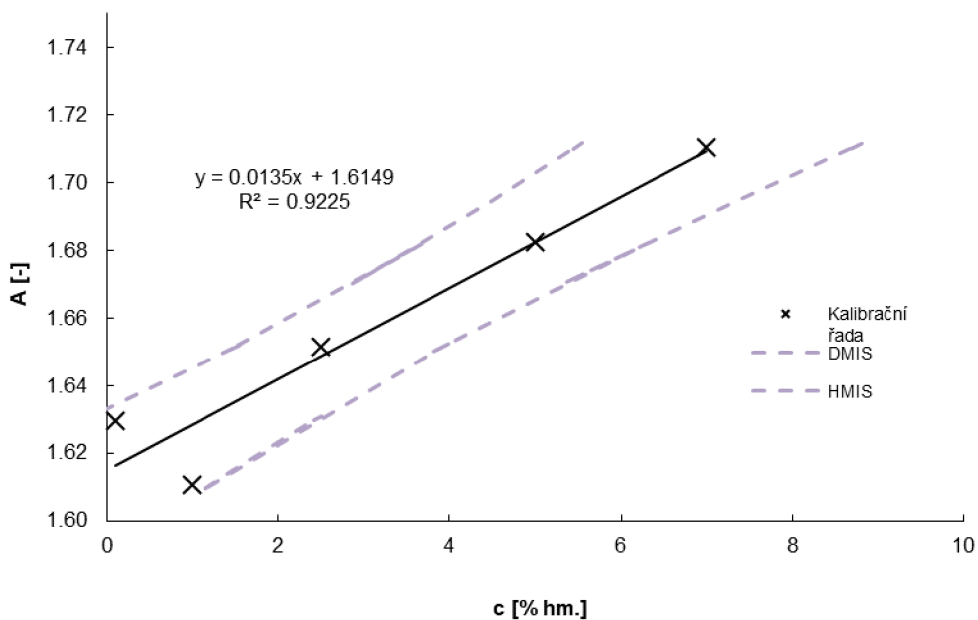


Obrázek 18: IČ spektra připravených směsí modelové půdy M34 a PET (TANGO světle modrá, ATR žlutá), modelové půdy (modrá) a PET (červená) pro techniky a) TANGO a b) ATR

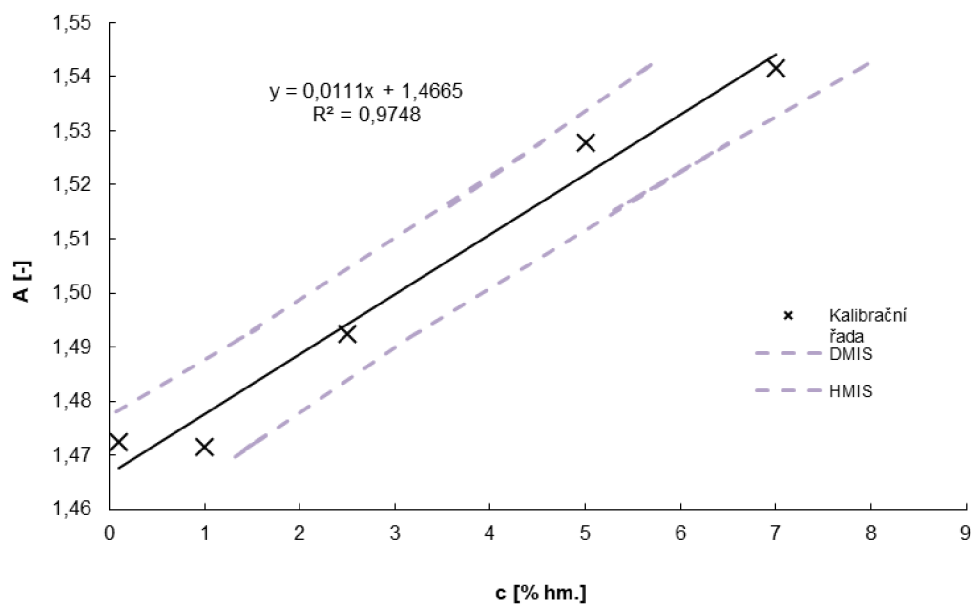
U kalibračních závislosti techniky DRIFT (viz Obrázek 19 – Obrázek 21) hodnoty koeficientu R^2 získané z regresních rovnic dosahují 0,993 pro $1\ 301\ \text{cm}^{-1}$, 0,923 pro $1741\ \text{cm}^{-1}$ a 0,975 pro $2\ 964\ \text{cm}^{-1}$.



Obrázek 19: Kalibrační závislost DRIFT absorpčního píku $1\ 301\ \text{cm}^{-1}$

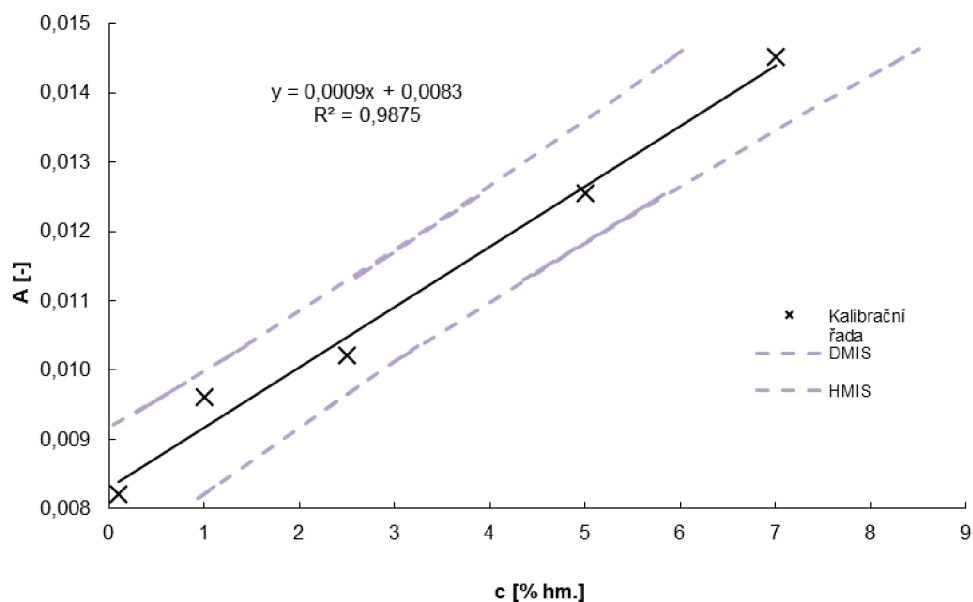


Obrázek 20: Kalibrační závislost DRIFT absorpčního píku $1741\ \text{cm}^{-1}$

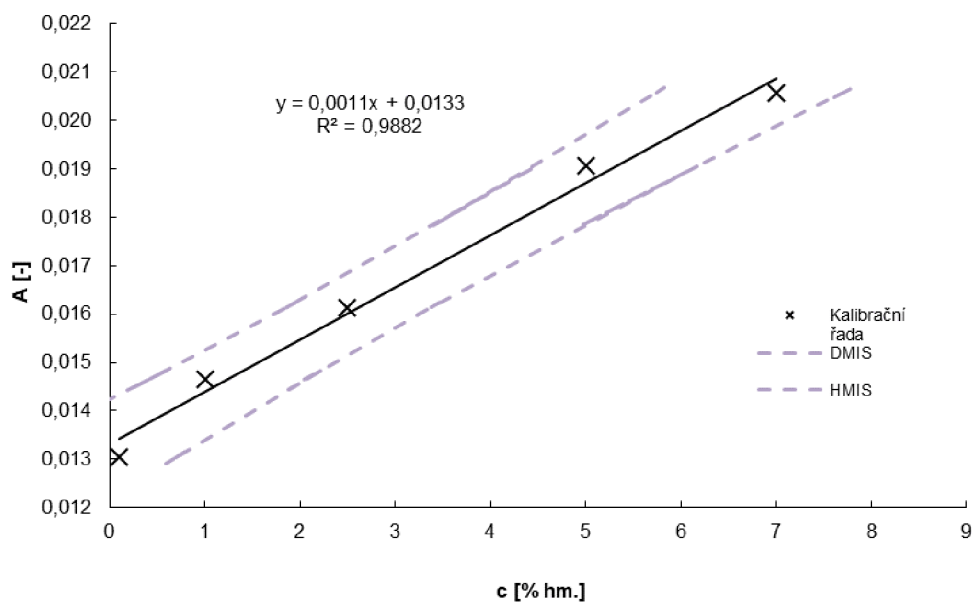


Obrázek 21: Kalibrační závislost DRIFT absorpčního píku 2 964 cm⁻¹

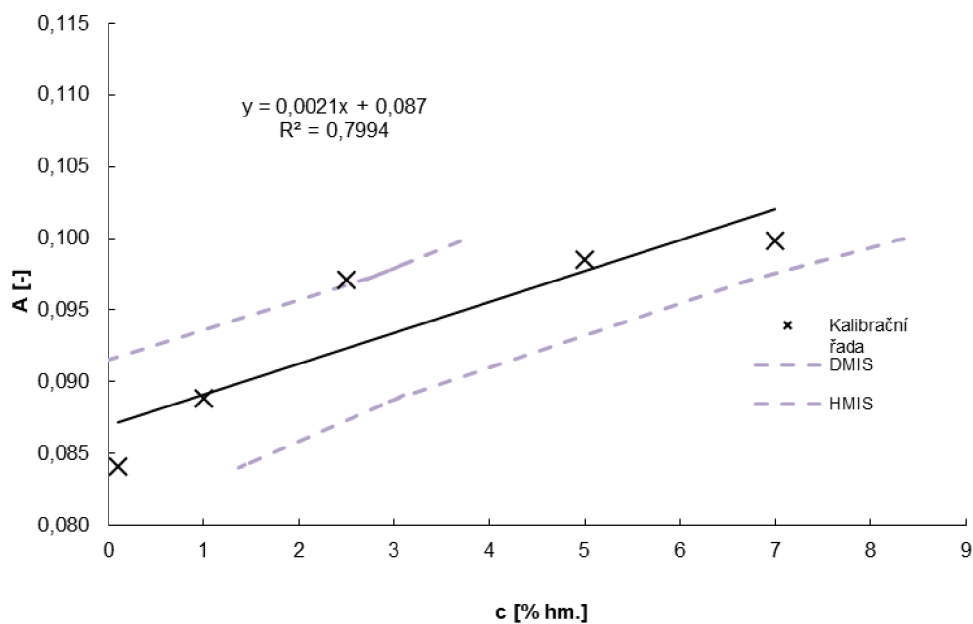
U kalibračních závislosti techniky ATR (viz Obrázek 22 – Obrázek 24) hodnoty koeficientu R^2 získané z regresních rovnic dosahují 0,988 pro 1 713 cm⁻¹, 0,988 pro 1 239 cm⁻¹ a 0,799 pro 723 cm⁻¹.



Obrázek 22: Kalibrační závislost ATR absorpčního píku 1 713 cm⁻¹

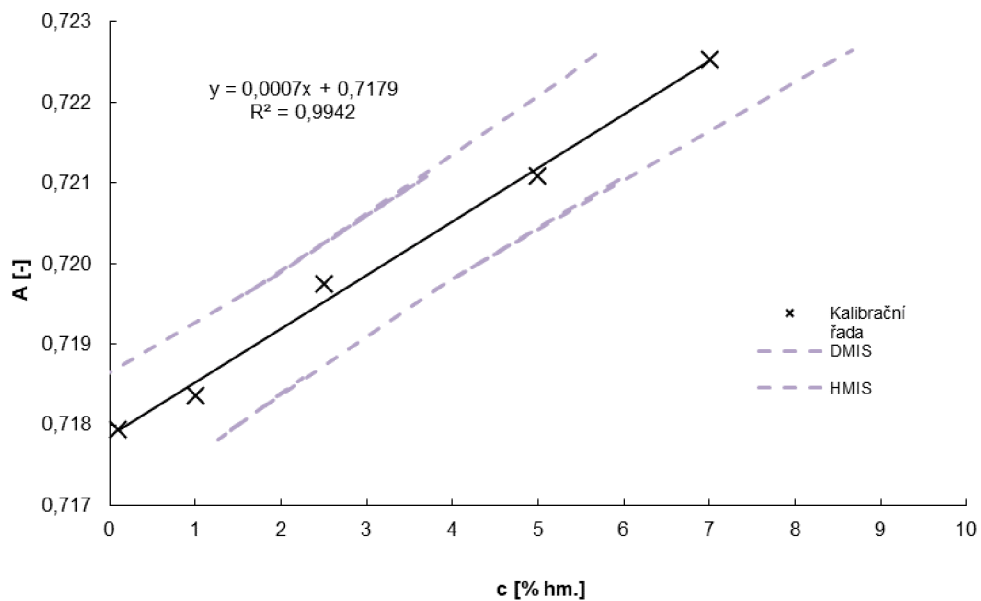


Obrázek 23: Kalibrační závislost ATR absorpčního píku 1 239 cm⁻¹

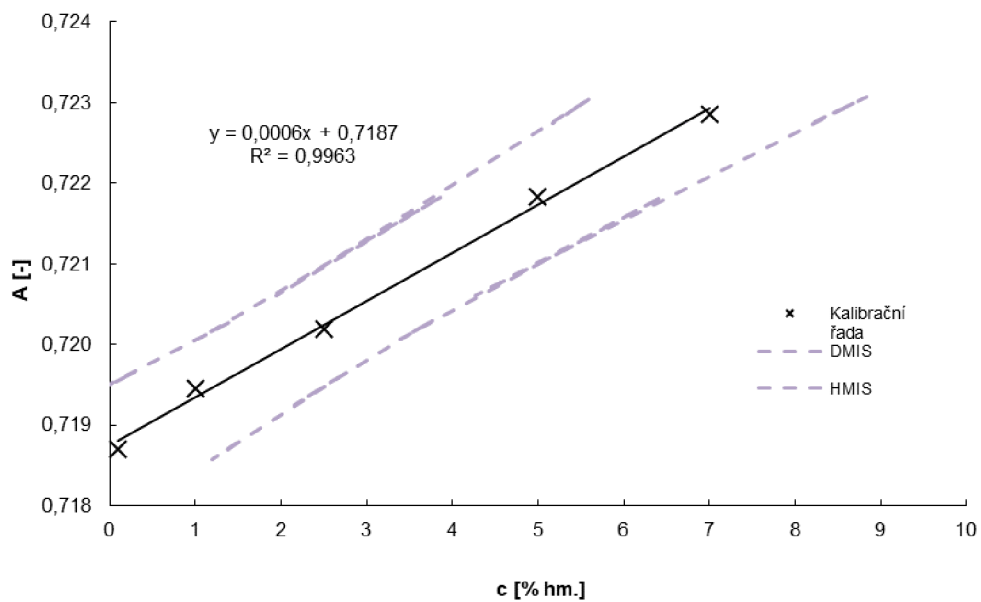


Obrázek 24: Kalibrační závislost ATR absorpčního píku 723 cm⁻¹

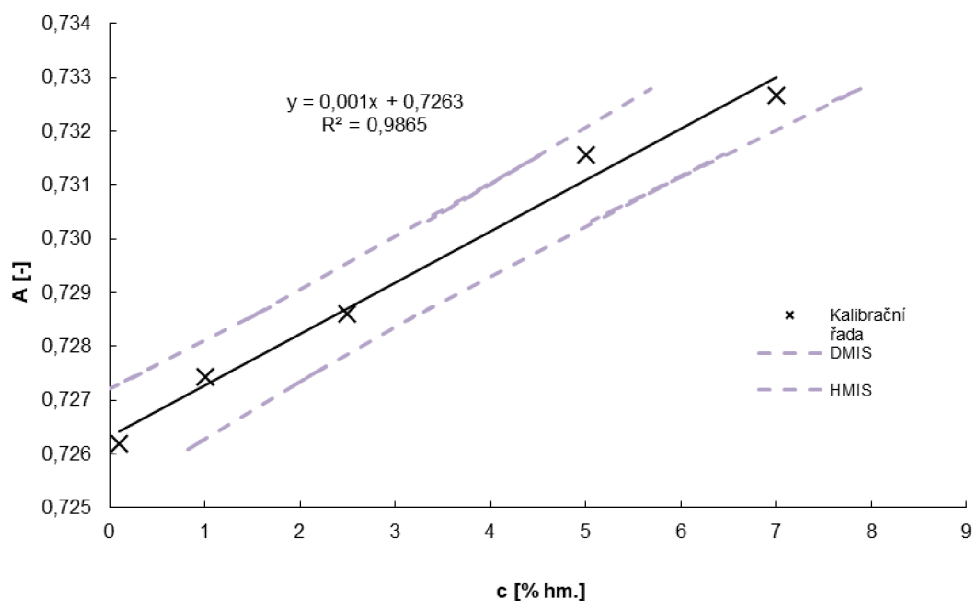
U kalibračních závislosti techniky TANGO (viz Obrázek 25 – Obrázek 27) hodnoty R^2 získané z regresních rovnic dosahují 0,994 pro 6 016 cm⁻¹, 0,996 pro 4 697 cm⁻¹ a 0,987 pro 4 417 cm⁻¹.



Obrázek 25: Kalibrační závislost TANGO absorpčního píku 6 016 cm^{-1}



Obrázek 26: Kalibrační závislost TANGO absorpčního píku 4 697 cm^{-1}



Obrázek 27: Kalibrační závislost TANGO absorpčního píku 4 417 cm⁻¹

4.1.2. Korelace mezi reálnými a teoretickými daty (FIT vs. TRUE)

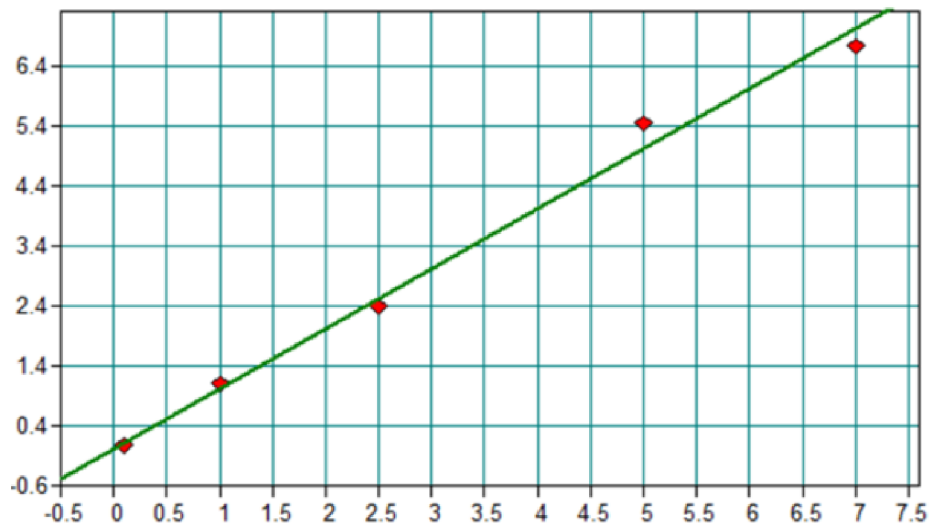
Korelační závislosti poskytují informaci o tom, jak se naměřené hodnoty liší od hodnot predikovaných. Pásky pro analýzu byly vybrány v oblastech vybraných charakteristických píků PET. Byla použita funkce *Setup Quant Method* pro vyhodnocení naměřených spekter směsí modelové půdy M34 a PET technikami DRIFT, ATR a TANGO. Výstupem je graf korelace mezi reálnými hodnotami koncentrace PET v modelové půdě a hodnotami teoretickými vypočítanými programem a příslušný korelační koeficient.

Hodnota korelačního koeficientu byla u všech technik vyšší než 0,9, což je považováno za výborný predikční model.

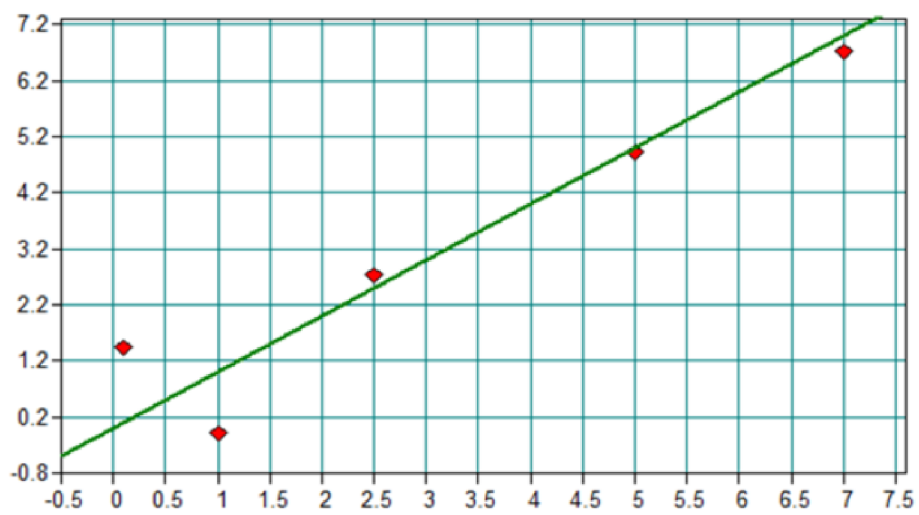
U techniky DRIFT byly vytvořeny korelace v oblastech 1 310–1 295 cm⁻¹ (viz Obrázek 28), 1 770–1 700 cm⁻¹ (viz Obrázek 29) a 3 000–2 940 cm⁻¹ (viz Obrázek 30) a korelační koeficienty byly v rozmezí 0,950–0,996 (viz Tabulka 9).

Tabulka 9: Regresní rovnice a korelační koeficienty pro vybrané oblasti spektra DRIFT

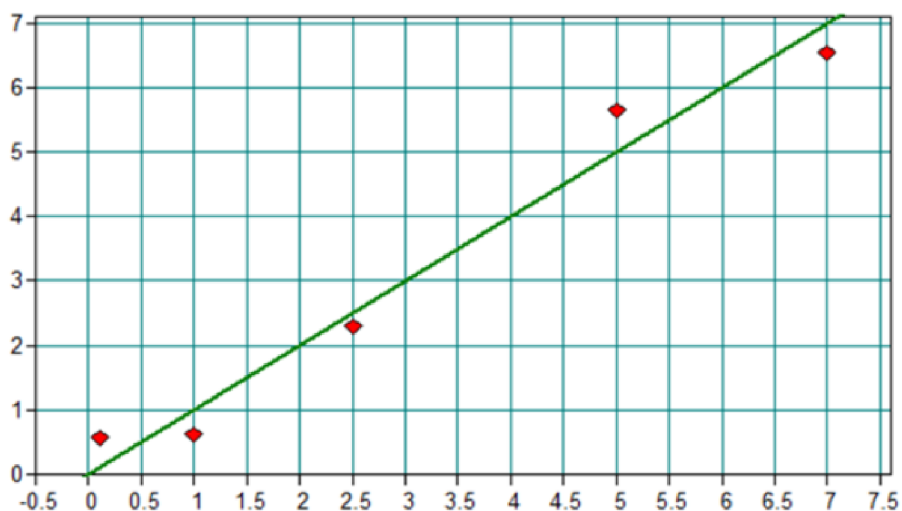
Oblast [cm ⁻¹]	Regresní rovnice	Korelační koeficient, r
1 310–1 295	$Y = -109,92 + 3,5229 \cdot X$	0,996
1 770–1 700	$Y = -129,04 + 1,1183 \cdot X$	0,950
3 000–2 940	$Y = -132,99 + 1,5101 \cdot X$	0,984



Obrázek 28: Korelace mezi reálnými a predikovanými hodnotami koncentrace směsí PET a modelové půdy M34 u techniky DRIFT v oblasti 1 310–1 295 cm^{-1}



Obrázek 29: Korelace mezi reálnými a predikovanými hodnotami koncentrace směsí PET a modelové půdy M34 u techniky DRIFT v oblasti 1 700–1 770 cm^{-1}

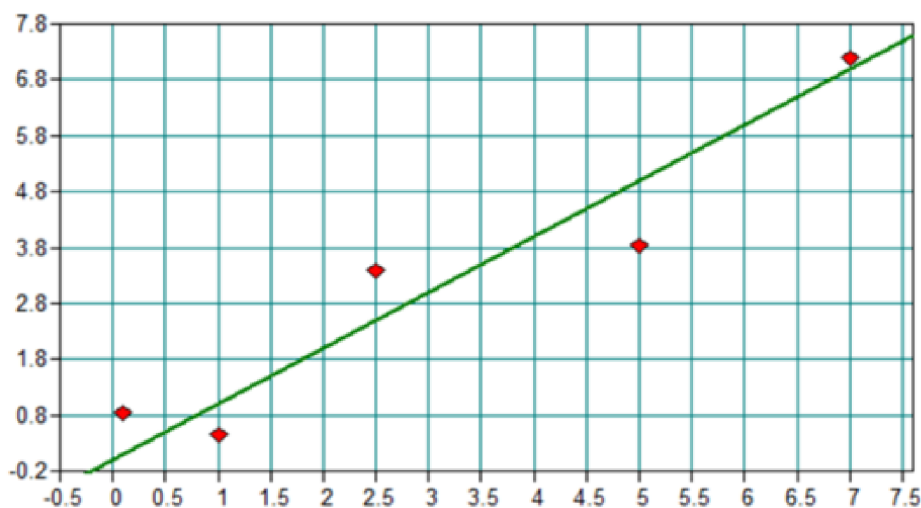


Obrázek 30: Korelace mezi reálnými a predikovanými hodnotami koncentrace směsí PET a modelové půdy M34 u techniky DRIFT v oblasti 3 000–2 940 cm^{-1}

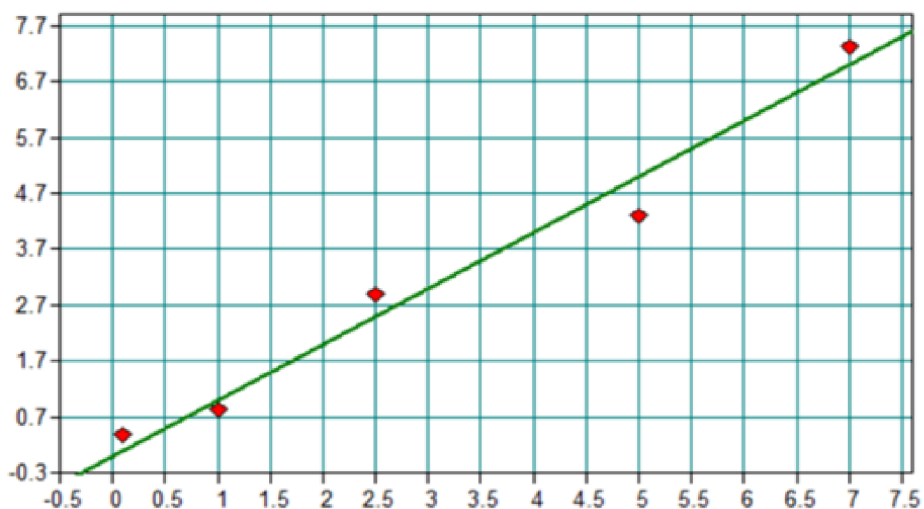
Korelace pro techniku ATR byly vytvořeny pro oblasti 730–715 cm^{-1} (viz Obrázek 31), 1 300–1 200 cm^{-1} (viz Obrázek 32) a 1 750–1 665 cm^{-1} (viz Obrázek 33) a korelační koeficienty byly v rozmezí 0,953–0,987 (viz Tabulka 10).

Tabulka 10: Regresní rovnice a korelační koeficienty pro vybrané oblasti spektra ATR

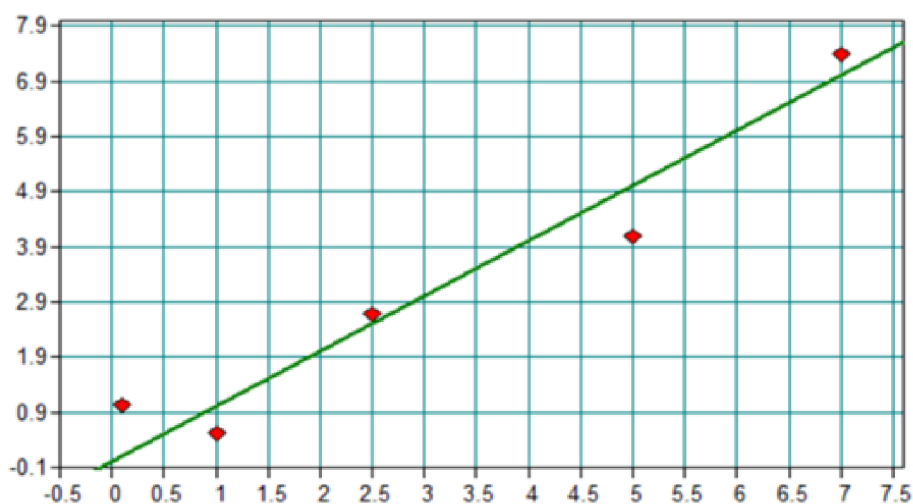
Oblast [cm^{-1}]	Regresní rovnice	Korelační koeficient, r
730–715	$Y = 34,669 - 23,073 \cdot X$	0,953
1 300–1 200	$Y = 41,078 - 23,723 \cdot X$	0,987
1 750–1 665	$Y = 43,816 - 46,708 \cdot X$	0,967



Obrázek 31: Korelace mezi reálnými a predikovanými hodnotami koncentrace směsí PET a modelové půdy M34 u techniky ATR v oblasti 715–730 cm^{-1}



Obrázek 32: Korelace mezi reálnými a predikovanými hodnotami koncentrace směsí PET a modelové půdy M34 u techniky ATR v oblasti 1 200–1 300 cm⁻¹

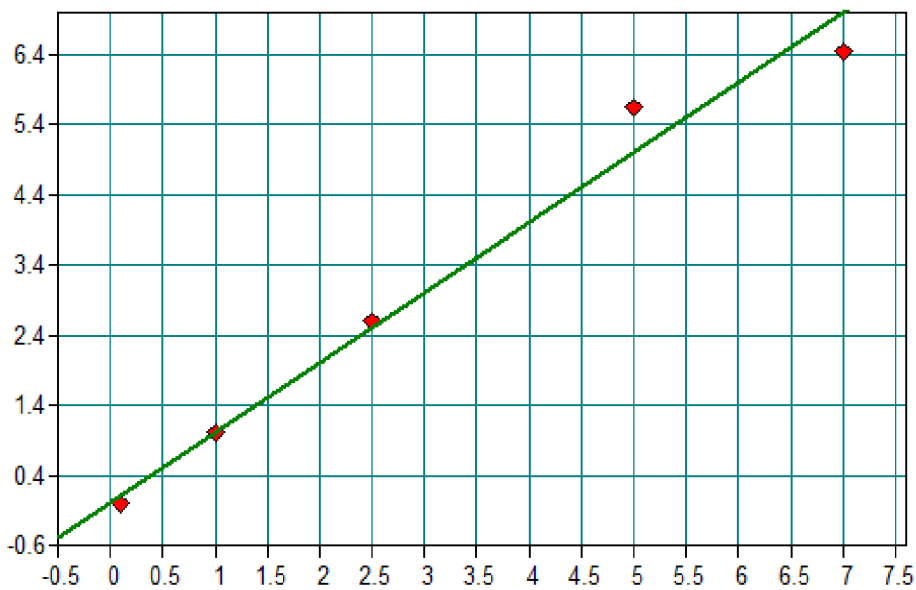


Obrázek 33: Korelace mezi reálnými a predikovanými hodnotami koncentrace směsí PET a modelové půdy M34 u techniky ATR v oblasti 1 665–1 750 cm⁻¹

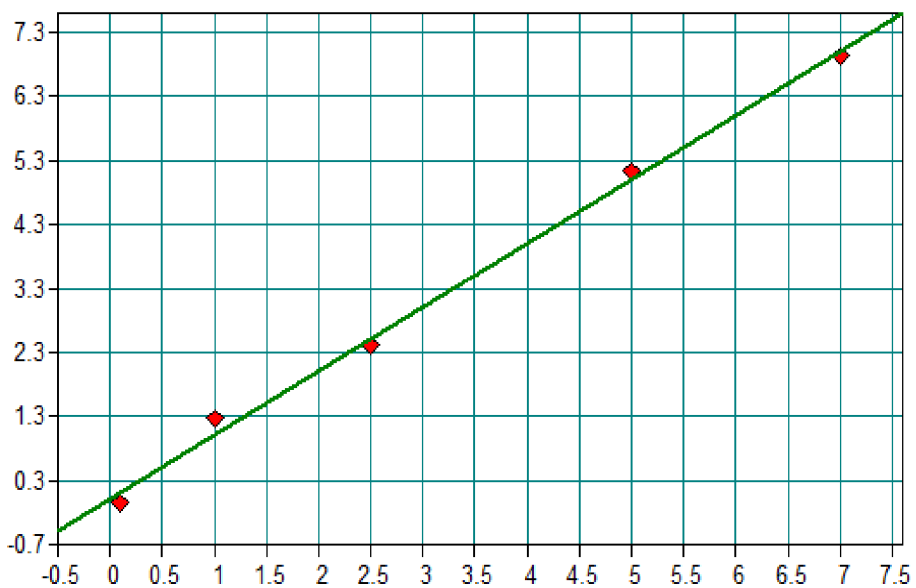
U techniky TANGO byly vytvořeny korelace v oblastech 4 500–4 000 cm⁻¹ (viz Obrázek 34), 4 720–4 627 cm⁻¹ (viz Obrázek 35) a 6 067–5 968 cm⁻¹ (viz Obrázek 36) a korelační koeficienty byly v rozmezí 0,988–0,998 (viz Tabulka 11).

Tabulka 11: Regresní rovnice a korelační koeficienty pro vybrané oblasti spektra TANGO

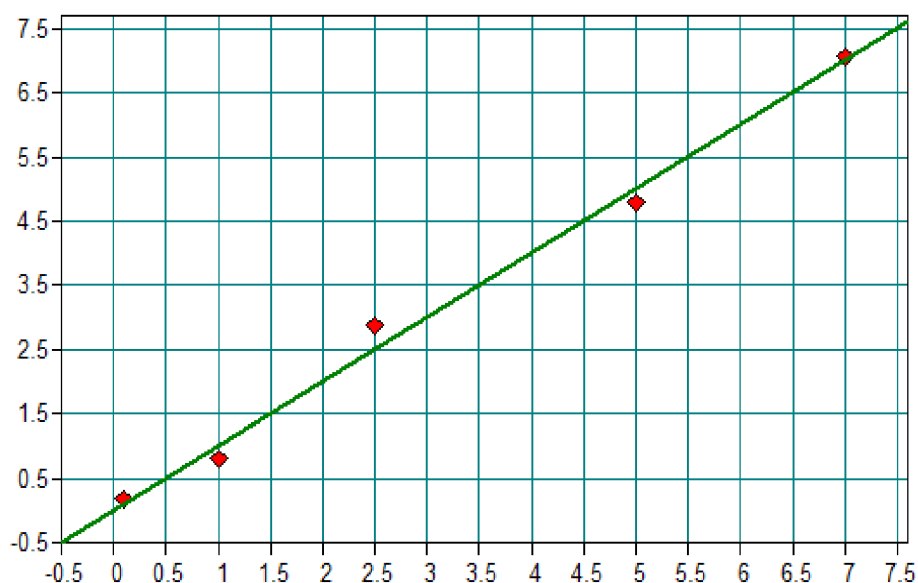
Oblast [cm ⁻¹]	Regresní rovnice	Korelační koeficient, r
4 500–4 000	$Y = -931,36 + 2,5125 \cdot X$	0,988
4 720–4 627	$Y = -1303,3 + 19,464 \cdot X$	0,998
6 067–5 968	$Y = -1139,8 + 16,038 \cdot X$	0,996



Obrázek 34: Korelace mezi reálnými a predikovanými hodnotami koncentrace směsí PET a modelové půdy M34 u techniky TANGO v oblasti 4 500–4 000 cm^{-1}



Obrázek 35: Korelace mezi reálnými a predikovanými hodnotami koncentrace směsí PET a modelové půdy M34 u techniky TANGO v oblasti 4 720–4 627 cm^{-1}



Obrázek 36: Korelace mezi reálnými a predikovanými hodnotami koncentrace směsí PET a modelové půdy M34 u techniky TANGO v oblasti 6 067–5 968 cm^{-1}

4.1.3. Validace modelu

Validační modely vytváří korelaci mezi predikovanými a skutečnými hodnotami určité charakteristiky. Modely jsou vytvořeny z naměřených spekter směsí modelové půdy M34 a PET. Pro sestavení validačního modelu byly použity vypočítané hodnoty obsahu uhlíku v přidaném PET (viz Tabulka 12). K výpočtu byly použity molární hmotnosti C (12,01 g/mol) a PET (222,24 g/mol). Vybrané regiony pro vytvoření validačních modelů (viz Tabulka 13) byly totožné s pásy pro vytvoření korelačních závislostí. Validace byla provedena pomocí funkce *Setup Quant 2 Method*.

Výslednými parametry, které určují přesnost a vhodnost metody jsou hodnoty R^2 , RMSECV a RPD. Za lepší jsou považovány ty validační modely, u nichž je hodnota koeficientu determinace R^2 a parametru RPD vysoká a hodnota odchylky RMSECV nízká. Validací modely s hodnotami R^2 vyššími než 0,60 se označují jako dobré predikční modely. Jako výborné se označují validační modely s hodnotami R^2 vyššími než 0,80 [44][45].

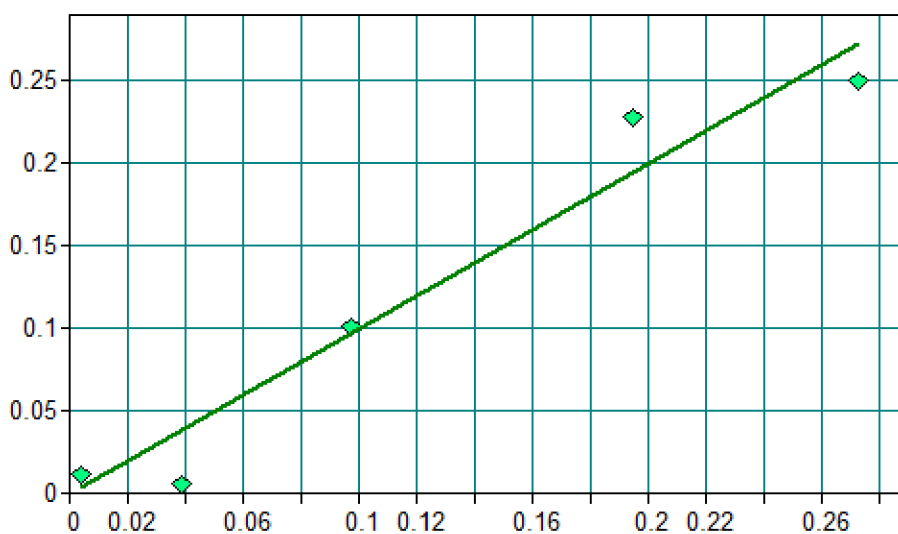
Tabulka 12: Hmotnosti PET a hmotnosti C v PET pro modelovou půdu M34

% PET	m_{PET} [g]	m_{C} [g]
0,1	0,006	0,0039
1,0	0,060	0,0389
2,5	0,150	0,0973
5,0	0,300	0,1945
7,0	0,420	0,2724

Tabulka 13: Vybrané regiony jednotlivých metod pro vytvoření validačních modelů

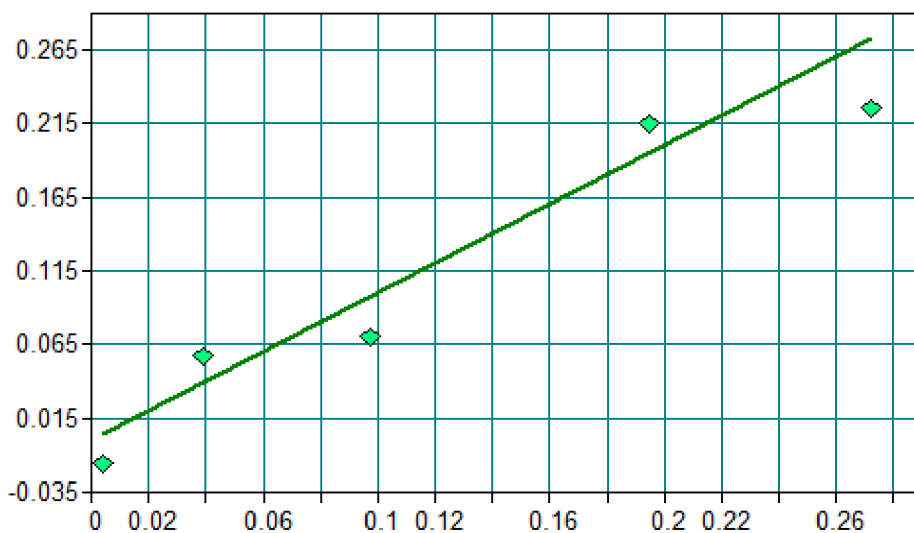
Metoda	Vybrané regiony [cm^{-1}]		
DRIFT	1 310–1 295	1 770–1 700	3 000–2 940
ATR	730–715	1 300–1 200	1 750–1 665
TANGO	4 500–4000	4 720–4 627	6 067–5 968

U validačního modelu IČ dat s využitím DRIFT (viz Obrázek 37) byly zjištěny hodnoty R^2 94,45, RMSECV 0,0234 a RPD 4,28.



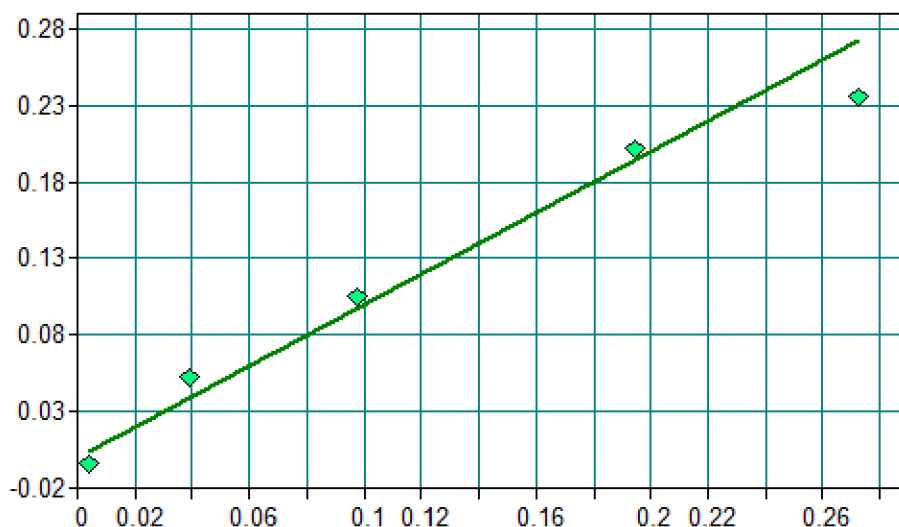
Obrázek 37: Validace modelu pro stanovení uhlíku v PET u techniky DRIFT

U validačního modelu IČ dat s využitím ATR (viz Obrázek 38) byly zjištěny hodnoty R^2 91,76, RMSECV 0,0285 a RPD 3,82.



Obrázek 38: Validace modelu pro stanovení uhlíku v PET u techniky ATR

U validačního modelu IČ dat s využitím techniky TANGO (viz Obrázek 39) byly zjištěny hodnoty R^2 96,38, RMSECV 0,0189 a RPD 5,38.



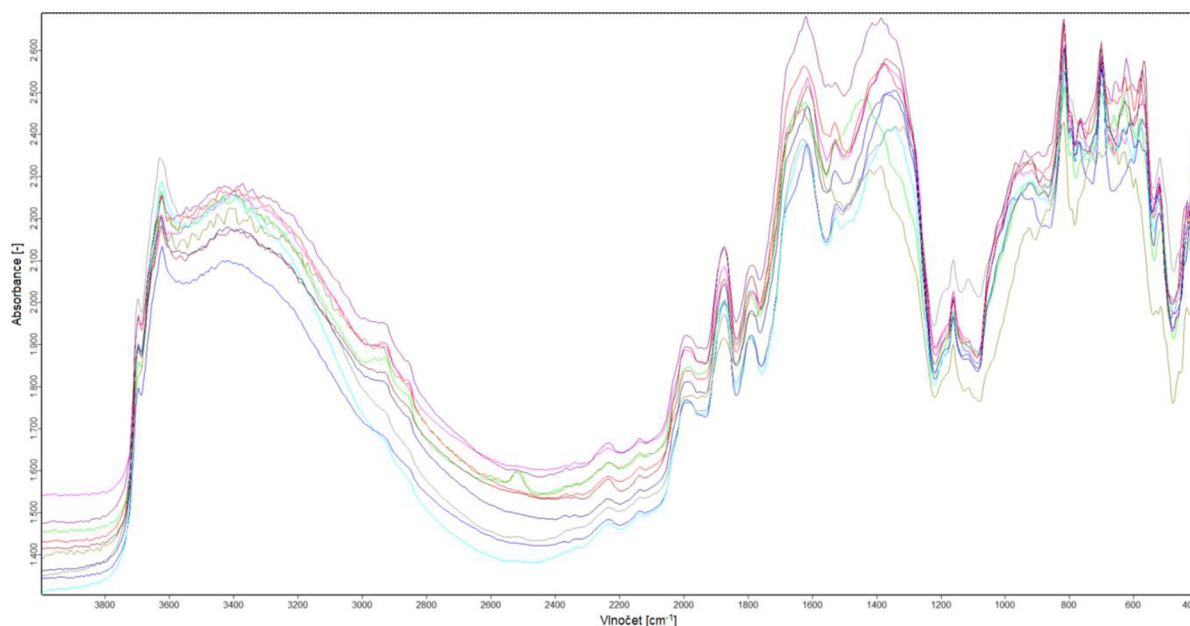
Obrázek 39: Validace modelu pro stanovení uhlíku v PET u techniky TANGO

Všechny metody poskytly velmi dobré validační modely. Parametry potvrzují, že pomocí technik TANGO, DRIFT i ATR se dá dobře predikovat obsah uhlíku v PET. Hodnoty R^2 byly u všech technik vyšší než 90 a parametr RMSECV se blížil nule. Nejlepší výsledky poskytla technika TANGO, dále DRIFT a nakonec ATR.

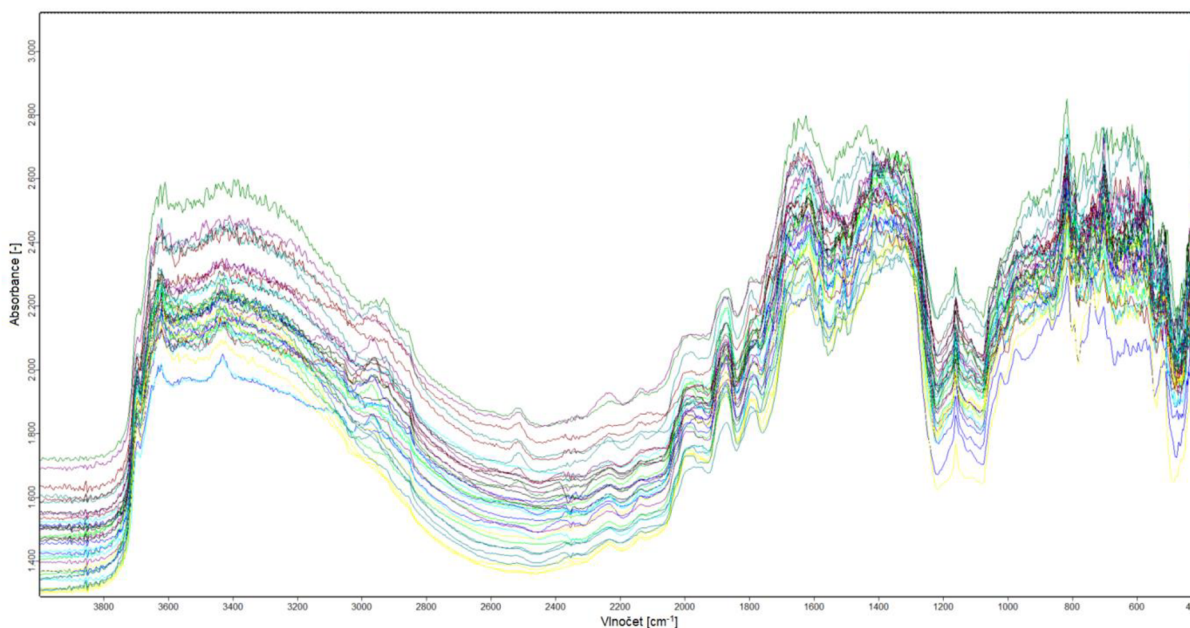
4.2. Vyhodnocení reálných vzorků půd

Naměřená IČ spektra reálných vzorků půd u všech metod téměř kopírují spektra modelové půdy M34. Liší se především hodnoty absorpance charakteristických píků půdy, což je pravděpodobně zapříčiněno odlišným zastoupením jednotlivých složek půdy. Naměřená spektra směsí modelové půdy a PET (viz Obrázek 41, Obrázek 42 b), Obrázek 43 b)) jsou vzhledem k nízké koncentraci plastu ve vzorku (0,1–5 % hm.) velmi podobná spektrům bez přidaného plastu. Spektra některých směsí mají viditelné zvýšení absorpance u charakteristických píků PET.

DRIFT spektra reálných vzorků půd (viz Obrázek 40) jsou velmi bohatá, co se týče počtu píků v celém rozsahu spektra. V oblasti $3\ 623\text{ cm}^{-1}$ je zřetelná odezva -OH vazby. V oblasti $3\ 500\text{--}3\ 000\text{ cm}^{-1}$ je tvar spektra způsoben přítomností kationtů vodíku. Oblast v rozmezí $1\ 950\text{--}1\ 500\text{ cm}^{-1}$ je bohatá na vazby C=O , C=C , C=N a N=O . Oblasti okolo 500 cm^{-1} je charakteristická pro Si-O [32].

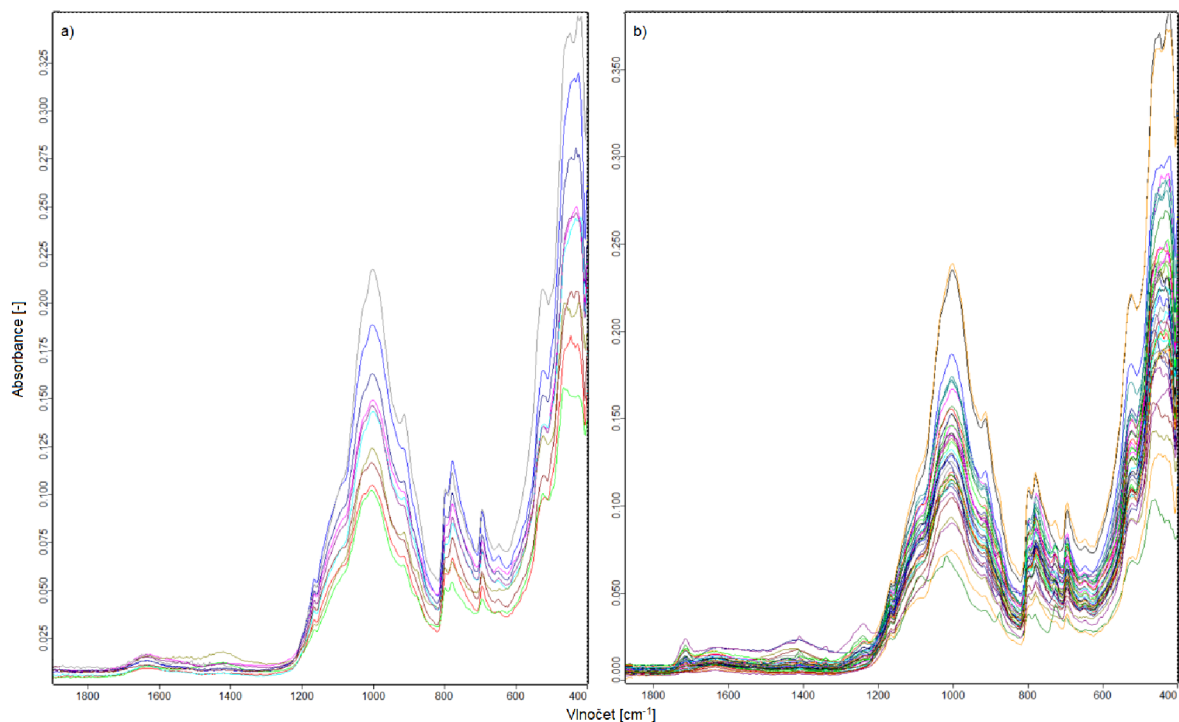


Obrázek 40: IČ spektra reálných vzorků půd (T3, T6, T7, T9, T10, O3, O4, O7, O9, O10) měřena technikou DRIFT



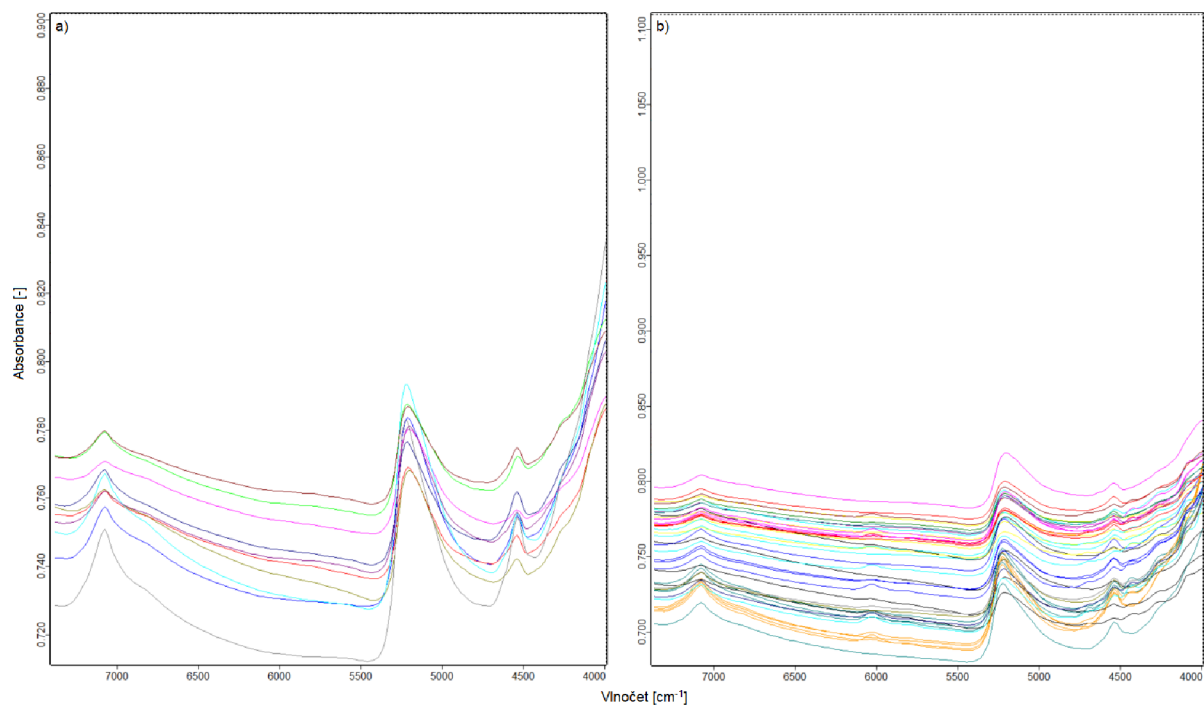
Obrázek 41: IČ spektra směsí reálných vzorků půd a PET měřena technikou DRIFT

ATR spektra reálných vzorků půd (viz Obrázek 42) vykazují odezvu v oblasti 1200–400 cm^{-1} . V okolí 1 000 cm^{-1} je zřetelná přítomnost $-\text{NH}_2$. Slabší odezva v okolí 780 cm^{-1} je zapříčiněna vazbou $-\text{CH}_2-\text{CH}_x$ ($x \neq 2$) a slabý pík 693 cm^{-1} odpovídá $-\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$. Na kraji spektra okolo 500 cm^{-1} je i u této metody zřetelná silná absorbance Si–O [32].



Obrázek 42: a) IČ spektra reálných vzorků půd měřena technikou ATR
 b) IČ spektra směsí reálných vzorků půd a PET měřena technikou ATR

Spektra reálných vzorků půd naměřená technikou TANGO (viz Obrázek 43) mají slabou odezvu v rozmezí 7 400–7 000 cm^{-1} a v okolí 4 450 cm^{-1} . Silnější absorpenci vykazují oblasti 5 400–5 000 cm^{-1} a kraj spektra blíží se vlnočtu 4 000 cm^{-1} .



Obrázek 43: a) IČ spektra reálných vzorků půd měřena technikou TANGO
 b) IČ spektra směsí reálných vzorků půd a PET měřena technikou TANGO

4.2.1. Korelace mezi reálnými a teoretickými daty (FIT vs. TRUE)

Ze směsí reálných vzorků půd a PET byly vytvořeny korelační závislosti reálné koncentrace PET a predikovaných hodnot pomocí funkce *Setup Quant Method*. Korelační rovnice a příslušné korelační koeficienty směsí všech vzorků pro jednotlivé techniky jsou obsaženy v tabulkách Tabulka 14 – Tabulka 16.

Tabulka 14: Regresní rovnice a korelační koeficienty pro vybrané oblasti spektra DRIFT z naměřených dat směsí reálných vzorků půd a PET

Vzorek	Oblast	Regresní rovnice	Korelační koeficient
O3	3 000–2 940	$Y = -30,916 + 0,29027 \cdot X$	0,928 6
	1 770–1 700	$Y = -28,449 + 0,20143 \cdot X$	0,876 2
	1 310–1 295	$Y = -39,107 + 1,0657 \cdot X$	0,713 1
O4	3 000–2 940	$Y = -23,309 + 0,2185 \cdot X$	0,431 4
	1 770–1 700	$Y = -30,396 + 0,21544 \cdot X$	0,593 8
	1 310–1 295	$Y = -46,498 + 1,276 \cdot X$	0,957 0
O7	3 000–2 940	$Y = -41,87 + 0,3611 \cdot X$	0,884 7
	1 770–1 700	$Y = -37,504 + 0,25308 \cdot X$	0,886 5
	1 310–1 295	$Y = -42,223 + 1,1608 \cdot X$	0,788 5
O9	3 000–2 940	$Y = -119,94 + 1,0081 \cdot X$	0,925 6
	1 770–1 700	$Y = -41,75 + 0,28039 \cdot X$	0,556 7
	1 310–1 295	$Y = -129,34 + 3,6627 \cdot X$	0,755 7
O10	3 000–2 940	$Y = -48,99 + 0,49855 \cdot X$	0,989 4
	1 770–1 700	$Y = -41,994 + 0,32576 \cdot X$	0,985 0
	1 310–1 295	$Y = -152,7 + 4,3873 \cdot X$	0,968 7
T3	3 000–2 940	$Y = 26,329 - 0,18501 \cdot X$	0,312 7
	1 770–1 700	$Y = 74,112 - 0,42976 \cdot X$	0,516 6
	1 310–1 295	$Y = -33,354 + 0,95296 \cdot X$	0,451 3
T6	3 000–2 940	$Y = -45,673 + 0,44512 \cdot X$	0,599 8
	1 770–1 700	$Y = -51,954 + 0,39529 \cdot X$	0,911 7
	1 310–1 295	$Y = -58,746 + 1,6915 \cdot X$	0,740 7
T7	3 000–2 940	$Y = 68,024 - 0,54053 \cdot X$	0,935 0
	1 770–1 700	$Y = 78,229 - 0,48399 \cdot X$	0,997 1
	1 310–1 295	$Y = 87,358 - 2,2266 \cdot X$	0,915 4
T9	3 000–2 940	$Y = 70,663 - 0,59716 \cdot X$	0,994 4
	1 770–1 700	$Y = 85,105 - 0,55185 \cdot X$	0,980 5
	1 310–1 295	$Y = 98,684 - 2,6076 \cdot X$	0,512 7
T10	3 000–2 940	$Y = -60,393 + 0,52651 \cdot X$	0,615 8
	1 770–1 700	$Y = -96,462 + 0,64695 \cdot X$	0,907 4
	1 310–1 295	$Y = -63,232 + 1,7356 \cdot X$	0,488 2

Korelace sestavené z IČ spekter směsí reálných vzorků půd a PET naměřených technikou DRIFT poskytují vysoké korelační koeficienty u alespoň dvou pásů u vzorků O3, O10, T7 a T9. Jedná se o vzorky s obsahem uhlíku 1,42–2,35 %. Nízké korelační koeficienty u alespoň dvou pásů byly zjištěny u směsí vzorků O4, O9, T3 a T10, což jsou vzorky s obsahem uhlíku 3,1–5,01 %.

Tabulka 15: Regresní rovnice a korelační koeficienty pro vybrané oblasti spektra ATR z naměřených dat směsí reálných vzorků půd a PET

Vzorek	Oblast	Regresní rovnice	Korelační koeficient
O3	1 750–1665	$Y = -0,36223 + 3,4269 \cdot X$	0,910 8
	1 300–1200	$Y = -0,82609 + 2,3424 \cdot X$	0,944 2
	730–715	$Y = -8,5566 + 10,26 \cdot X$	0,944 3
O4	1 750–1665	$Y = -5,5318 + 8,9023 \cdot X$	0,914 6
	1 300–1200	$Y = -5,8056 + 5,6079 \cdot X$	0,945 4
	730–715	$Y = -10,544 + 13,229 \cdot X$	0,880 4
O7	1 750–1665	$Y = -6,4654 + 12,289 \cdot X$	0,869 9
	1 300–1200	$Y = -6,1112 + 6,8927 \cdot X$	0,937 8
	730–715	$Y = -10,977 + 16,683 \cdot X$	0,902 8
O9	1 750–1665	$Y = -5,5646 + 14,459 \cdot X$	0,929 2
	1 300–1200	$Y = -5,8122 + 8,1001 \cdot X$	0,987 7
	730–715	$Y = 18,059 - 26,243 \cdot X$	0,712 9
O10	1 750–1665	$Y = -2,8925 + 7,4737 \cdot X$	0,995 6
	1 300–1200	$Y = -2,8995 + 4,59 \cdot X$	0,995 7
	730–715	$Y = -8,6849 + 11,87 \cdot X$	0,942 2
T3	1 750–1665	$Y = -1,7754 + 4,1984 \cdot X$	0,749 3
	1 300–1200	$Y = -2,9294 + 2,7871 \cdot X$	0,815 3
	730–715	$Y = -5,9463 + 10,313 \cdot X$	0,713 7
T6	1 750–1665	$Y = -6,7098 + 12,5 \cdot X$	0,951 1
	1 300–1200	$Y = -6,128 + 7,2535 \cdot X$	0,938 5
	730–715	$Y = -18,318 + 20,578 \cdot X$	0,833 3
T7	1 750–1665	$Y = -4,0966 + 10,052 \cdot X$	0,988 4
	1 300–1200	$Y = -2,4884 + 4,2173 \cdot X$	0,971 5
	730–715	$Y = -8,2596 + 12,264 \cdot X$	0,882 3
T9	1 750–1665	$Y = -6,7411 + 15,681 \cdot X$	0,942 9
	1 300–1200	$Y = -6,1275 + 8,6253 \cdot X$	0,946 4
	730–715	$Y = -10,211 + 16,34 \cdot X$	0,824 5
T10	1 750–1665	$Y = -2,4819 + 6,1355 \cdot X$	0,999 8
	1 300–1200	$Y = -2,7377 + 3,7559 \cdot X$	0,999 9
	730–715	$Y = -5,4579 + 9,2742 \cdot X$	0,891 5

Korelace sestavené z IČ spekter směsí reálných vzorků půd a PET naměřených technikou ATR poskytovaly nižší korelační koeficienty (0,713–0,815) pouze u vzorku T3. Jedná se o půdu s nejvyšším obsahem uhlíku (5,01 %) z použitých půd. Ostatní vzorky měly vždy alespoň dva pásy, ve kterých byl korelační koeficient vyšší než 0,9.

Tabulka 16: Regresní rovnice a korelační koeficienty pro vybrané oblasti spektra TANGO z naměřených dat směsí reálných vzorků půd a PET

Vzorek	Oblast	Regresní rovnice	Korelační koeficient
O3	6 067–5 968	$Y = 564,51 - 7,9861 \cdot X$	0,986 0
	4 720–4 627	$Y = 443,28 - 6,6114 \cdot X$	0,996 9
	4 500–4 000	$Y = 1192 - 3,1915 \cdot X$	0,895 9
O4	6 067–5 968	$Y = -307,96 + 4,0653 \cdot X$	0,996 3
	4 720–4 627	$Y = -329,84 + 4,6267 \cdot X$	0,994 9
	4 500–4 000	$Y = -257,67 + 0,65998 \cdot X$	0,996 1
O7	6 067–5 968	$Y = 1450,7 - 16,868 \cdot X$	0,965 2
	4 720–4 627	$Y = 1028,5 - 12,762 \cdot X$	0,988 0
	4 500–4 000	$Y = 1746,4 - 3,9811 \cdot X$	0,938 6
O9	6 067–5 968	$Y = 419,73 - 4,9224 \cdot X$	0,912 3
	4 720–4 627	$Y = 399,99 - 4,9712 \cdot X$	0,970 0
	4 500–4 000	$Y = 525,41 - 1,1858 \cdot X$	0,914 2
O10	6 067–5 968	$Y = 447,52 - 6,2747 \cdot X$	0,990 7
	4 720–4 627	$Y = 374,11 - 5,5419 \cdot X$	0,996 3
	4 500–4 000	$Y = 578,28 - 1,527 \cdot X$	0,951 3
T3	6 067–5 968	$Y = 162,51 - 1,7489 \cdot X$	0,990 6
	4 720–4 627	$Y = 165,18 - 1,9098 \cdot X$	0,993 2
	4 500–4 000	$Y = 178,84 - 0,37886 \cdot X$	0,992 9
T6	6 067–5 968	$Y = -510,2 + 7,4247 \cdot X$	0,853 6
	4 720–4 627	$Y = -437,02 + 6,6811 \cdot X$	0,840 5
	4 500–4 000	$Y = -297,31 + 0,80004 \cdot X$	0,973 6
T7	6 067–5 968	$Y = 362,17 - 4,9148 \cdot X$	0,935 3
	4 720–4 627	$Y = 350,44 - 5,0387 \cdot X$	0,941 5
	4 500–4 000	$Y = 493,35 - 1,2792 \cdot X$	0,844 2
T9	6 067–5 968	$Y = 191,74 - 2,4855 \cdot X$	0,729 7
	4 720–4 627	$Y = 179,42 - 2,4679 \cdot X$	0,709 0
	4 500–4 000	$Y = 161,36 - 0,4033 \cdot X$	0,578 0
T10	6 067–5 968	$Y = 165,42 - 2,1275 \cdot X$	0,791 8
	4 720–4 627	$Y = 161,73 - 2,2022 \cdot X$	0,802 7
	4 500–4 000	$Y = 164,11 - 0,40505 \cdot X$	0,728 0

Korelace sestavené z IČ spekter směsí reálných vzorků půd a PET naměřených technikou TANGO poskytovaly vysoké korelační koeficienty u vzorků O3, O4, O7, O9, O10 a T3. Jedná se o půdy s obsahem uhlíku 1,42–5,01 %. U vzorků T7, T9 a T10 byly korelační koeficienty nižší.

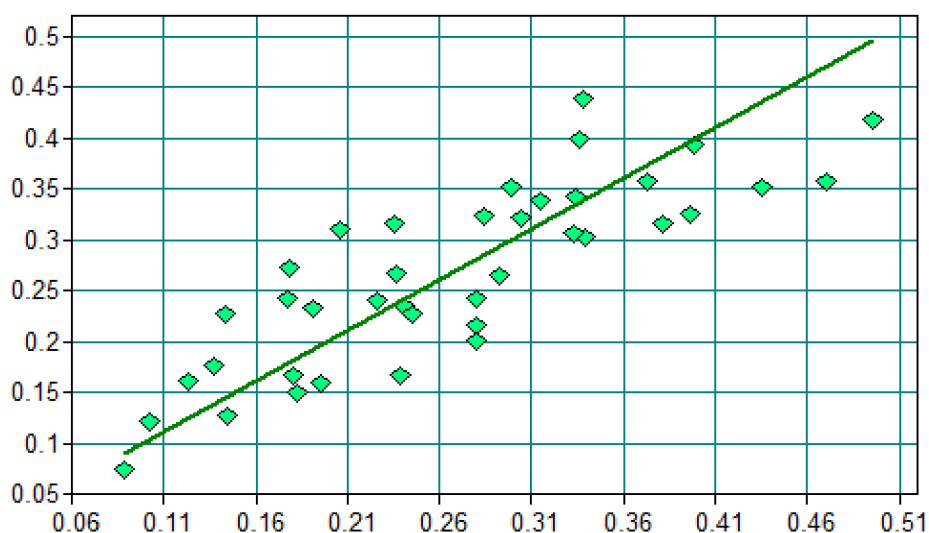
4.2.2. Validace

Naměřená data směsí reálných vzorků půd a PET byla použita pro vytvoření validačních modelů v programu *Opus 8.1* pomocí funkce *Quant 2 Method*. Validace byla provedena pro všechny 4 směsi (0,1 %, 1 %, 2,5 % a 5 %) každého vzorku, celkem se tedy jednalo o 40 vzorků. K sestavení validačního modelu byly použity vypočítané hodnoty obsahu uhlíku v přidaném PET a dodané hodnoty obsahu uhlíku ve vzorcích půdy (viz Tabulka 17).

Tabulka 17: Obsah uhlíku v reálných vzorcích půd a připravených směsích jednotlivých půd a PET

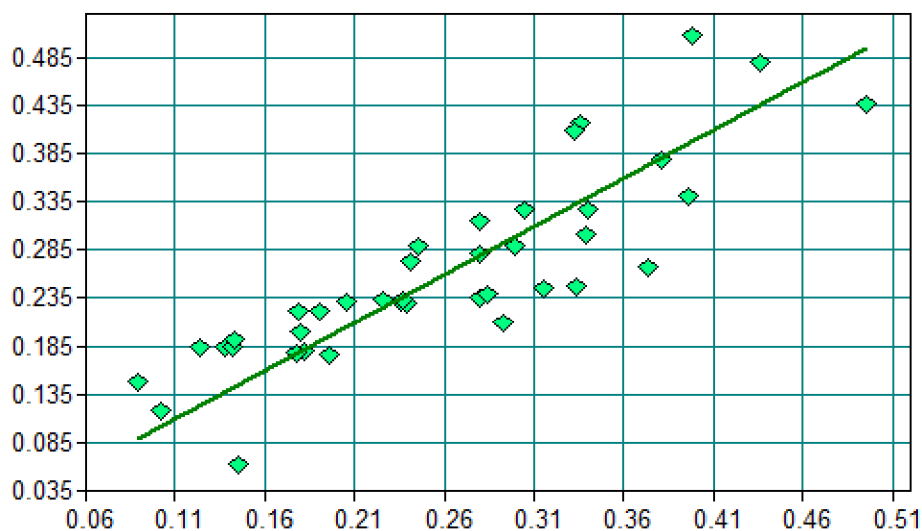
Vzorek	C [%]	m _c [g]	m _c 0,1% směs [g]	m _c 1% směs [g]	m _c 2,5% směs [g]	m _c 5% směs [g]
T3	5,0109	0,3007	0,3045	0,3396	0,3979	0,4952
T6	1,6376	0,0983	0,1021	0,1372	0,1955	0,2928
T7	2,3022	0,1381	0,1420	0,1770	0,2354	0,3327
T9	2,3258	0,1395	0,1434	0,1785	0,2368	0,3341
T10	4,0211	0,2413	0,2452	0,2802	0,3385	0,4358
O3	2,3524	0,1411	0,1450	0,1801	0,2384	0,3357
O4	3,3654	0,2019	0,2058	0,2408	0,2992	0,3965
O7	4,6015	0,2761	0,2800	0,3150	0,3734	0,4706
O9	3,1135	0,1868	0,1907	0,2257	0,2841	0,3814
O10	1,4152	0,0849	0,0888	0,1238	0,1822	0,2795

U validačního modelu IČ dat s využitím techniky DRIFT (viz Obrázek 44) byly zjištěny hodnoty R^2 68,77, RMSECV 0,055 7 a RPD 1,79. Z grafu byla odstraněna odlehlá hodnota spektra 0,1% směsi vzorku T7.



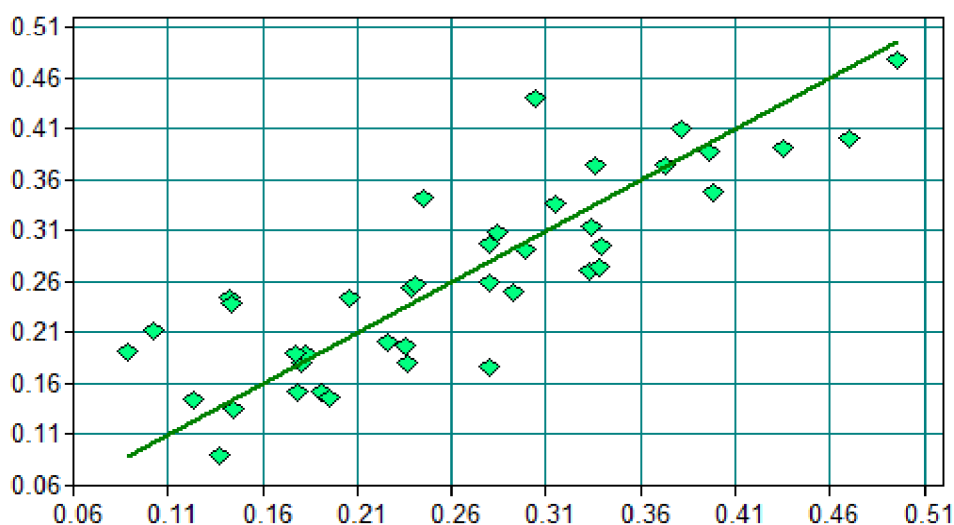
Obrázek 44: Validace modelu pro stanovení uhlíku ve směsích reálných vzorků půd a PET u techniky DRIFT

U validačního modelu IČ dat s využitím techniky ATR (viz Obrázek 45) byly zjištěny hodnoty R^2 72,76, RMSECV 0,050 1 a RPD 1,92. Z grafu byl odstraněn odlehlý bod spektra 5% směsi vzorku O7.



Obrázek 45: Validace modelu pro stanovení uhlíku ve směsích reálných vzorků půd a PET u techniky ATR

U validačního modelu IČ dat s využitím techniky TANGO (viz Obrázek 46) byly zjištěny hodnoty R^2 69,89, RMSECV 0,055 1 a RPD 1,82.



Obrázek 46: Validace modelu pro stanovení uhlíku ve směsích reálných vzorků půd a PET u techniky TANGO

Techniky DRIFT, ATR i TANGO poskytují dobré predikční modely pro stanovení uhlíku. Nejlepší predikční model pro stanovení uhlíku ve směsích reálných vzorků půd a PET byl sestaven z dat naměřených metodou ATR.

5. Závěr

Tato diplomová práce byla zaměřena na aplikaci FTIR metod a využití chemometrie pro analýzu půdy s obsahem mikroplastů. Experimentální měření bylo provedeno na modelové půdě s obsahem mikroplastu PET 0,1–7 % hmotnosti a na reálných vzorcích půd s obsahem mikroplastu PET 0,1–5 % hmotnosti.

Měření probíhalo s využitím infračerveného spektrometru Alpha II s moduly ATR a DRIFT a na spektrometru TANGO. Následně byla naměřená IČ spektra vyhodnocena v softwaru Opus 8.1. Ze směsí modelové půdy a PET byly po odečtení intenzit sestrojeny kalibrační závislosti absorpance na koncentraci. Dále byly použity funkce *Setup Quant Method* pro sestrojení korelačních závislostí reálné koncentrace mikroplastu v půdě na predikované hodnotě a *Quant 2 Method* pro vytvoření validačních modelů na základě vypočítaného množství uhlíku.

Z infračervených spekter jednotlivých technik byly vybrány charakteristické píky a pásy náležící PET, na nichž bylo provedeno chemometrické zhodnocení. Výsledky kalibračních závislostí směsí modelové půdy a mikroplastu PET potvrdily u všech metod lineární trend nárůstu absorpance s koncentrací polymeru ve vzorku. Hodnoty koeficientu R^2 se pohybovaly v rozmezí 0,987–0,996 pro techniku TANGO, 0,923–0,993 pro techniku DRIFT a 0,799–0,988 pro techniku ATR. Výsledkem korelačních závislostí reálných koncentrací mikroplastu v půdě na predikované hodnotě u modelové půdy s obsahem PET byly korelační koeficienty v rozmezí 0,988–0,998 pro techniku TANGO, 0,950–0,996 pro techniku DRIFT a 0,953–0,987 pro techniku ATR. Výsledkem validačních modelů pro vypočítaný obsah uhlíku v přidaném PET do modelové půdy byly hodnoty determinačního koeficientu R^2 96,38 pro techniku TANGO, 94,45 pro techniku DRIFT a 91,76 pro techniku ATR. Tyto výsledky společně s nízkými hodnotami parametru RMSECV a vyššími hodnotami RPD potvrdily vhodnost a správnost metody.

Výsledkem korelačních závislostí koncentrace plastu na predikovaných hodnotách u reálných vzorků půd s obsahem mikroplastu PET u techniky TANGO byly poměrně vysoké korelační koeficienty u většiny vzorků nezávisle na obsahu uhlíku v půdě. U metody DRIFT byly poměrně vysoké korelační koeficienty u půd s nízkým až středním obsahem uhlíku z pozorovaných vzorků. Technika DRIFT poskytovala nízké korelační koeficienty u vzorků půd, u nichž byl vyšší obsah uhlíku v půdě. Technika ATR poskytovala výborné výsledky korelačních koeficientů u všech vzorků půd kromě vzorku s nejvyšším obsahem uhlíku (5,01 %).

Vytvořené validační modely na základě vypočítaného množství uhlíku v reálných vzorcích půd s obsahem PET poskytly u všech metod dobré predikce. Výsledkem byla hodnota koeficientu determinace R^2 69,89 pro techniku TANGO. Pro techniku DRIFT byla po odstranění odlehlého bodu 0,1% směsi vzorku T7 hodnota R^2 68,77 a pro techniku ATR po odstranění odlehlého bodu 5% směsi vzorku O7 byla hodnota R^2 72,76. Odstraněné odlehlé body odpovídaly směsím o nejnižším obsahu PET a o nejvyšším obsahu PET.

Po zhodnocení modelové půdy s obsahem PET poskytovala nejlepší výsledky technika TANGO, po zhodnocení reálných vzorků půd s obsahem PET poskytovala nejlepší výsledky technika ATR. Technika DRIFT u modelové půdy i u reálných vzorků půd poskytovala výsledky, které se nacházely mezi výsledky získanými pomocí ATR a TANGO. Všechny metody poskytovaly dobré výsledky bez výrazných rozdílů, z čehož lze usoudit, že metody jsou zastupitelné. Z pohledu časové náročnosti nejrychlejší měření včetně umístění vzorku do přístroje poskytovala technika ATR, následovaná technikou DRIFT. Měření pomocí spektrometru TANGO vyžadovalo delší čas měření, přesto se jednalo o poměrně rychlé

získání dat. Technika TANGO vyžadovala výrazně větší objem vzorku než techniky ATR a DRIFT, díky čemuž je spektrum výsledkem reprezentativnější části vzorku. Především u techniky ATR se pro měření vzorku odebírá opravdu malé množství vzorku. Všechny techniky vyžadovaly důkladnou homogenizaci vzorku pro získání správných výsledků.

Vzhledem k tomu, že půdy obsahující koncentraci plastu 0,1 % hmotnosti jsou považovány za znečištěné, použité FTIR techniky ATR, DRIFT a TANGO jsou vhodné pro posouzení kontaminace.

6. Zdroje

- [1] JACQUES, O.; PROSSER, R. S. A probabilistic risk assessment of microplastics in soil ecosystems. *Science of The Total Environment*, 2021, 757: 143987.
- [2] CORRADINI, Fabio, et al. Microplastics occurrence and frequency in soils under different land uses on a regional scale. *Science of the Total Environment*, 2021, 752: 141917.
- [3] CHEN, Yiyang, et al. Identification and quantification of microplastics using Fourier-transform infrared spectroscopy: Current status and future prospects. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 2020, 18: 14-19.
- [4] YA, Haobo, et al. Recent advances on ecological effects of microplastics on soil environment. *Science of The Total Environment*, 2021, 798: 149338.
- [5] YANG, Ling, et al. Microplastics in soil: A review on methods, occurrence, sources, and potential risk. *Science of The Total Environment*, 2021, 146546.
- [6] BÜKS, Frederick; KAUPENJOHANN, Martin. Global concentrations of microplastics in soils—a review. *Soil*, 2020, 6.2: 649-662.
- [7] WANG, Wenfeng, et al. Environmental fate and impacts of microplastics in soil ecosystems: Progress and perspective. *Science of the total environment*, 2020, 708: 134841.
- [8] HU, Bo, et al. Distribution characteristics of microplastics in the soil of mangrove restoration wetland and the effects of microplastics on soil characteristics. 2022.
- [9] CHIA, Rogers Wainkwa, et al. Microplastic pollution in soil and groundwater: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 2021, 19.6: 4211-4224.
- [10] SAJJAD, Muhammad, et al. Microplastics in the soil environment: A critical review. *Environmental Technology & Innovation*, 2022, 102408.
- [11] de Souza Machado, A.A., Horton, A.A., Davis, T., Maaß, S. (2020). Microplastics and Their Effects on Soil Function as a Life-Supporting System. In: He, D., Luo, Y. (eds) *Microplastics in Terrestrial Environments*, 2020, 199-222. The Handbook of Environmental Chemistry, vol 95. Springer, Cham.
https://doi.org/10.1007/698_2020_450
- [12] JURY, William A. a Robert HORTON. Soil physics. Sixth edition. Hoboken, [2004]. ISBN 04-710-5965-X
- [13] ŠPAK, Josef. Rozmanitost života a zdraví ekosystémů. Praha: Akademie věd České republiky, 2014, 1-80.
- [14] Definice, význam a funkce půdy [online].
- [15] ŠANTRŮČKOVÁ, Hana, Eva KAŠTOVSKÁ, Jiří BÁRTA, Ladislav MIKO a Karel TAJOVSKÝ. Ekologie půdy. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, 2018. ISBN 978-80-7394-695-1.
- [16] BRONICK, Carol Jean; LAL, Rattan. Soil structure and management: a review. *Geoderma*, 2005, 124.1-2: 3-22.
- [17] BACH, Elizabeth M., Kelly S. RAMIREZ, Tandra D. FRASER a Diana H. WALL. Soil Biodiversity Integrates Solutions for a Sustainable Future. Sustainability.
- [18] TOMÁŠEK, Milan. Atlas půd České republiky. Praha: Český geologický ústav, 1995. ISBN 80-707-5198-3
- [19] ŠARAPATKA, Bořivoj. Pedologie a ochrana půdy. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2014. ISBN 978-80-244-3736-1.
- [20] JIMÉNEZ-GONZÁLEZ, Marco A., Ana M. ÁLVAREZ, Pilar CARRAL a Gonzalo ALMENDROS. Influence of soil forming factors on the molecular structure of soil
- [21] BOT, Alexandra; BENITES, José. *The importance of soil organic matter: Key to drought-resistant soil and sustained food production*. Food & Agriculture Org., 2005.

- [22] AL-AZZAWI, Mohammed SM, et al. Validation of sample preparation methods for microplastic analysis in waste water matrices — reproducibility and standardization. *Water*, 2020, 12.9: 2445.
- [23] MÖLLER, Julia N.; LÖDER, Martin GJ; LAFORSCH, Christian. Finding microplastics in soils: a review of analytical methods. *Environmental science & technology*, 2020, 54.4: 2078-2090.
- [24] *Soil Sampling Procedure* [online]. Dostupné z: https://agritech.tnau.ac.in/agriculture/agri_soil_sampling.html
- [25] NG, Wartini, et al. Mid-infrared spectroscopy for accurate measure mentofan extensive set of soil properties for assessing soil functions. *Soil Security*, 2022, 100043.
- [26] MA, F., et al. Investigation of soil properties using different techniques of mid-infrared spectroscopy. *European Journal of Soil Science*, 2019, 70.1: 96-106.
- [27] CANNANE, N. Oumabady Alias; RAJENDRAN, M.; SELVARAJU, R. FT-IR spectral studies on polluted soils from industrial area at Karaikal, Puducherry State, South India. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2013, 110: 46-54.
- [28] RAPHAEL, Linker. Application of FTIR spectroscopy to agricultural soils analysis. *Fourier Transforms — New Analytical Approaches and FTIR Strategies*, 2011, 385-404.
- [29] GARCÍA-SÁNCHEZ, Francisco, et al. Using near-infrared spectroscopy in agricultural systems. Kyprianidis KG, Skvaril J. *Developments in near-infrared spectroscopy*. London: Intech Open, 2017, 97-127.
- [30] MARGENOT, Andrew J., et al. IR Spectroscopy, soil analysis applications. In: *Encyclopedia of spectroscopy and spectrometry*. Elsevier, 2016. p. 448-454.
- [31] PAUL, Andrea, et al. High-throughput NIR spectroscopic (NIRS) detection of microplastics in soil. *Environmental Science and Pollution Research*, 2019, 26.8: 7364-7374.
- [32] KANIA, Patrik. Infračervená spektrometrie. PRAHA: VŠCHT PRAHA. Dostupné z: <https://www.vscht.cz/files/uzel/0005766/Infra%C4%8Derven%C3%A1+spektrometrie.pdf?redirected>
- [33] ZHOU, Qian, et al. The distribution and morphology of microplastics in coastal soils adjacent to the Bohai Sea and the Yellow Sea. *Geoderma*, 2018, 322: 201-208.
- [34] FULLER, Stephen; GAUTAM, Anil. A procedure for measuring microplastics using pressurized fluid extraction. *Environmental science & technology*, 2016, 50.11: 5774-5780.
- [35] PRIMPKE, Sebastian, et al. Reference database design for the automated analysis of microplastic samples based on Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 2018, 410.21: 5131-5141.
- [36] CHAI, Bingwen, et al. Soil microplastic pollution in an e-waste dismantling zone of China. *Waste Management*, 2020, 118: 291-301.
- [37] OLESEN, Kristina Borg, et al. Analysis of microplastics using FTIR imaging: application note. *Agilent Application Note Environment*, 2017.
- [38] HE, Defu, et al. Microplastics in soils: Analytical methods, pollution characteristics and ecological risks. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2018, 109: 163-172.
- [39] Hlinitá půda (kovy), zvýšený obsah rizikových prvků 80g. In: *Analytika* [online]. Dostupné z: <https://www.analytika.net/referencni-materialy/referencni-materialy->

- analytika/matricove-referencni-materialy/hlinita-puda-kovy-zvyseny-obsah-rizikovych-prvku-80g/
- [40] Compact FT-IR Spectrometer ALPHA II Copyright © 2020. Dostupné z: <https://www.bruker.com/products/infrared-near-infrared-and-raman-spectroscopy/ft-ir-routine-spectrometers/compact-ftir-alpha-ii.html>
- [41] Rapid Analysis of Polymeric Materials Using FT-IR Spectrometry Copyright © 2020. Dostupné z: <https://www.azom.com/article.aspx?ArticleID=5957>
- [42] TANGO FT-NIR SPECTROMETER [online]. Dostupné z: <https://www.bruker.com/en/products-and-solutions/infrared-and-raman/ft-nir-spectrometers/tango-ft-nir-spectrometer.html>
- [43] *Infračervená spektrometrie* [online]. [Dostupné z: https://web.vscht.cz/~koplikr/IR_4.pdf]
- [44] ZORNOZA, R., et al. Near infrared spectroscopy for determination of various physical, chemical and biochemical properties in Mediterranean soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40.7: 1923-1930
- [45] SILA, Andrew M.; SHEPHERD, Keith D.; POKHARIYAL, Ganesh P. Evaluating the utility of mid-infrared spectral subspaces for predicting soil properties. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 2016, 153: 92-105.

7. Seznam použitých zkratk a symbolů

FTIR – Infračervená spektrometrie s Fourierovou transformací

ATR – Zeslabená úplná reflektance (metoda FTIR)

DRIFT – Difúzní reflektance (metoda FTIR)

PET – Polyethylen tereftalát

r – Korelační koeficient

R² – Koeficient determinace

RMSECV – Střední kvadratická chyba predikce

RPD – Zbytková predikční odchylka

SOM – Půdní organická hmota

POP – Perzistentní organická znečišťující látka