

Univerzita Hradec Králové

Přírodovědecká fakulta

Katedra biologie

**Analýza mikroplastových částic ve vodách
Čistírny odpadních vod Havlíčkův Brod**

Bakalářská práce

Autor: Barbora Piskačová
Studijní program: B 1501 Biologie
Studijní obor: Systematická biologie a ekologie
Vedoucí práce: RNDr. Alena Myslivcová Fučíková, Ph.D.



Zadání bakalářské práce

Autor: Barbora Piskačová

Studium: S18BI033BP

Studijní program: B1501 Biologie

Studijní obor: Systematická biologie a ekologie

Název bakalářské práce: **Analýza mikroplastových částic ve vodách Čistírny odpadních vod Havlíčkův Brod**

Název bakalářské práce AJ: Analysis of microplastic particles in the waters of the wastewater treatment plant in Havlíčkův Brod

Cíl, metody, literatura, předpoklady:

Bakalářská práce se zabývá charakteristikou a analýzou mikroplastových částic v odpadních vodách ČOV Havlíčkův Brod. Součástí práce je popis a obecná charakteristika jednotlivých procesů čištění odpadních vod a úvod do problematiky vzniku a možného působení mikroplastů na okolní prostředí, zejména na vodní ekosystémy. Praktická část je věnována popisu konkrétní ČOV v souvislosti s jednotlivými odběry vzorků vody, které byly následně v laboratoři filtrovány a upravovány pro analýzu s využitím skenovacího elektronového mikroskopu. Cílem práce je zjistit, zda a v jakém množství jsou mikroplastové částice dále přítomné ve vyčištěných vodách tekoucích zpět do říčních systémů.

Klíčová slova: mikroplasty, čistírna odpadních vod, skenovací elektronová mikroskopie, filtrace

1. Jo\ {ao Pinto da Costa, Patrícia S.M. Santos, Armando C. Duarte, Teresa Rocha-Santos,
2. (Nano)plastics in the environment – sources, fates and effects, Science of The Total Environment, Vol. 566–567, 2016, pages 15-26, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.05.041>

Garantující pracoviště: Katedra biologie,
Přírodovědecká fakulta

Vedoucí práce: RNDr. Alena Myslivcová Fučíková, Ph.D.

Oponent: Ing. Lenka Vávrová

Datum zadání závěrečné práce: 23.1.2020

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem na celé bakalářské práci pracovala samostatně a uvedla jsem všechny použité prameny a literaturu.

V Hradci Králové dne

.....

Podpis autora

Poděkování

Děkuji vedoucí své práce RNDr. Aleně Myslivcové Fučíkové, Ph.D. za poskytování cenných rad a odborných konzultací při zpracování bakalářské práce. Mé poděkování patří také panu Ing. Zdeňku Zelenému za možnost spolupráce s Čistírnou odpadních vod Havlíčkův Brod a asistenci při odběru vzorků. V neposlední řadě bych ráda poděkovala panu Bc. Marku Vojtovi za pomoc a hodnotné rady při obsluze elektronového mikroskopu.

Anotace

Název: Analýza mikroplastových částic ve vodách Čistírny odpadních vod Havlíčkův Brod

PISKAČOVÁ, B., 2021 Analýza mikroplastových částic ve vodách Čistírny odpadních vod Havlíčkův Brod. Hradec Králové, 2021. Přírodovědecká fakulta Univerzity Hradec Králové, Vedoucí bakalářské práce RNDr. Alena Myslivcová Fučíková, Ph.D. 87 s.

Bakalářská práce se zabývá analýzou mikroplastových částic v odpadních vodách Čistírny Havlíčkův Brod. Úvodní teoretická část práce se specializuje na deskripci a obecnou charakteristiku procesu čištění odpadních vod, vznik mikroplastů a jejich vliv na vodní ekosystémy. Praktická část je věnována vakuové filtraci umožňující zachycení jednotlivých mikroplastových částic, které jsou detekovány pomocí elektronového mikroskopu. Cílem práce je prokázat, že se mikroplastové částice mohou vyskytovat i ve vyčištěných odpadních vodách tekoucích do říčních systémů.

Klíčová slova

Čistírna odpadních vod, elektronová mikroskopie, mikroplasty, odpadní voda, vakuová filtrace

Annotation

Title: Analysis of microplastic particles of the wastewater treatment plant Havlíčkův Brod.

PISKAČOVÁ, B., 2021 Analysis of microplastic particles in the of the wastewater treatment plant Havlíčkův Brod. Hradec Králové, 2021. Faculty of Science, University of Hradec Králové, Thesis supervisor RNDr. Alena Myslivcová Fučíková, Ph.D. 87 pp.

The bachelor thesis deals with the analysis of microplastic particles in the wastewater of the Wastewater Treatment Plant Havlíčkův Brod. The theoretical introductory part of the thesis specializes in the description and general characteristics of the wastewater treatment process, the formation of microplastics and their impact on water ecosystems. The practical part is devoted to vacuum filtration enabling the capture of particular microplastic particles, which are detected by electron microscopy. The aim of this thesis is to prove that microplastic parts can occur in segregated wastewater following into river systems.

Keywords

Electron microscopy, microplastic, vacuum filtration, wastewater, wastewater treatment plant

Obsah

Úvod.....	9
1 Teoretická část – literární přehled	11
1.1 Odpadní voda.....	11
1.1.1 Typy odpadních vod	11
1.1.2 Znečišťující látky v odpadních vodách.....	13
1.1.3 Stokový systém.....	14
1.1.4 Čištění odpadních vod	15
1.2 Legislativa.....	29
1.3 Mikroplasty.....	30
1.3.1 Vznik mikroplastů	31
1.3.2 Vliv mikroplastů na ekosystémy	32
1.3.3 Odstranění mikroplastů.....	34
1.4 Metody analýzy mikroplastů ve vodním prostředí	35
1.4.1 Elektronová mikroskopie	35
1.4.2 Skenovací elektronový mikroskop	36
1.4.3 Transmisní elektronový mikroskop	39
1.4.4 Infračervená spektroskopie	39
1.4.5 Ramanova spektroskopie	40
2 Metodická část.....	41
2.1 Čistírna odpadních vod Havlíčkův Brod	41
2.1.1 Charakteristika čistírny	42
2.2 Odběr a charakteristika vzorků	44
2.2.1 První odběr	44
2.2.2 Druhý odběr.....	47
2.3 Filtrace.....	48
2.3.1 Průběh filtrace	48
2.3.2 Zkouška filtrů	49
2.3.3 Filtrace odpadní vody	50
2.4 Příprava vzorků.....	53
2.4.1 Omezení kontaminace.....	53
2.5 Uchování vzorků	54
2.6 Naprášení vzorků	54

2.7	Pozorování vzorků skenovacím elektronovým mikroskopem.....	55
2.8	EDS analýza.....	56
3	Výsledky	57
3.1	Prázdné vzorky.....	57
3.2	Kontrolní vzorky	59
3.3	Plastový materiál.....	60
3.3.1	Identifikace mikroplastových částic	60
3.3.2	Typy nalezených mikroplastových částic	62
3.3.3	Plastové částice v prvním odběru	63
3.3.4	Plastové částice v druhém odběru	69
3.4	Neplastový materiál.....	72
4	Diskuze.....	74
	Závěr.....	78
	Citovaná literatura	80
	Seznam obrázků	84
	Seznam tabulek.....	86
	Seznam grafů	86
	Seznam zkratk	87

Úvod

Mikroplastové částice jsou celosvětovým problémem a v současné době se nacházejí ve všech koutech přírody. Pomocí proudění vzduchu se dostávají do atmosféry a putují po celém světě. Byly nalezeny také v Mariánském příkopu a i na nejopuštěnějším místě Země, které se nachází v tichomořské oblasti Point Nemo. Jedná se o částice menší než 5 mm, které mají různý tvar i velikost. Podle způsobu vzniku se mikroplastové částice dělí na primární a sekundární. Jako primární se označují částice, které se vyrábějí komerčně do kosmetického i textilního průmyslu. Sekundární mikroplasty vznikají rozpadem větších plastových částic vlivem vnějších podmínek prostředí (sluneční záření, vítr, mořská voda). Vznikat mohou z různých materiálů a mají rozmanitý tvar.

Nejvíce studií a analýz je prováděno v mořských vodách, kde byly zjištěny obrovské koncentrace mikroplastů na metr krychlový a bylo zde objeveno šest odpadkových skvrn. Dalším stupněm v bádání byl rozbor pitné vody, se kterou se každý den lidé setkávají nejčastěji a vnáší tak mikroplastové částice do svého těla. Částice byly objeveny také v balených pitných vodách a to v nemalém množství. Velkým problémem mikroplastových částic je jejich schopnost vázat na sebe chemické látky, které mohou mít negativní vliv na fungování lidského i zvířecího těla. Spousta zvířat, především mořských želv, považuje igelitové sáčky i ostatní plastové částice za potravu, protože jim připomínají medúzy, kterými se živí. Existují i částice menší než mikroplasty, které se nazývají nanoplasty (částice v řádu nanometrů) a mohou pronikat tělem do vnitřních orgánů. Statistik, zda se mikroplastové částice nacházejí také v odpadních vodách, nebylo provedeno mnoho. I přesto bylo zjištěno, že velkým problémem je praní syntetických textilií, jejichž vlákna se dostávají do odpadní vody a čistírny odpadních vod nemají specializované technologie na odstranění mikroplastů, tudíž mohou být transportním místem částic do dalších ekosystémů. Z důvodu těchto znepokojivých zjištění byly zkoumány další důležité složky přírody, mezi které lze zařadit půdu a ovzduší. I v těchto místech byly mikroplastové částice nalezeny. Mikroplasty mají vliv na půdní mikroflóru, která si s nimi nedokáže zcela poradit, a mohou tak ovlivňovat fungování půdního koloběhu živin a provzdušňenost půdy. Mikroplastové částice, vyskytující se v ovzduší, je možné inhalovat a jejich vliv na fungování organismu není dosud znám.

Práce je členěna na dvě základní části, teoretickou a metodickou. V teoretické části je uveden obecný popis procesu čištění odpadních vod, který je v metodické části doplněn o konkrétní průběh čištění vody v Čistírně odpadních vod Havlíčkův Brod. Stručný legislativní přehled vyzdvihuje vodní a odpadový zákon. Literární přehled je věnován také problematice mikroplastových částic, jejich vzniku, tvarům a vlivu na ekosystémy. V závěrečné části jsou zmíněny nejpoužívanější analytické techniky pro výzkum mikroplastových částic ve vodním prostředí. Druhá část práce je věnována potřebné metodice k vlastnímu výzkumu mikroplastových částic nacházejících se v odpadních vodách. Je zde uveden postup odběru odpadní vody a její zpracování. V rámci studie bylo hodnoceno několik filtrů, ze kterých byly vybrány tři, pomocí kterých se odpadní voda filtrovala. Nalezené mikroplasty byly pozorovány skenovacím elektronovým mikroskopem a zjištěná data následně shrnuta v kapitole výsledky.

Hlavním cílem bakalářské práce je:

- Vypracovat literární přehled o problematice čištění odpadních vod, základních informacích v oblasti mikroplastů a jejich výskytu v ekosystémech. Uvést poznatky o nejčastěji využívaných analytických metodách sloužících k identifikaci mikroplastových částic.
- Dokázat přítomnost mikroplastů v odpadních vodách metodou vakuové filtrace a zhodnotit jejich vlastnosti.
- Pomocí skenovacího elektronového mikroskopu a elektronově disperzní spektrometrie potvrdit mikroplastový původ částic.
- Získat praktické zkušenosti ve filtračních laboratorních postupech a analytických metodách, mezi které patří zejména zacházení s přístroji optické mikroskopie.

1 Teoretická část – literární přehled

Teoretická část práce se zaměřuje na literární přehled dané tematiky. Zabývá se základní informacemi o procesu čištění odpadních vod, zmiňuje vznik a charakteristiku mikroplastů včetně problematiky jejich výskytu v ekosystémech a popisuje nejpoužívanější metody analýzy mikroplastů z vodního prostředí.

1.1 Odpadní voda

Voda je v rámci lidské společnosti využívána ve velkém množství, ale z větší části není zcela spotřebována, a tak odtéká jako voda odpadní (Sojka, 2013). V průběhu využívání vody dochází k jejímu znečištění, které je charakteristické změnou fyzikálních, chemických i biologických vlastností. Pokud nelze dále využít vodu k primárnímu účelu, označuje se jako voda odpadní (Švehla, Tlustoš & Balík, 2007). Jednou z nenahraditelných vlastností vody je proces samočištění, při kterém dochází k rozkladu znečišťujících látek na látky jednodušší, popřípadě minerální, které jsou dále využívány vodními organismy. Jedná se o přírodní proces čištění mikroorganismy za pomoci kyslíku i bez. Látky se nadále usazují na dně pomalých toků a vytváří živiny pro vodní organismy. Z důvodu velkého počtu obyvatel a rozvíjejícího se průmyslu samočisticí procesy nestačí. Lidstvo proto musí odstraňovat následky svých činností a znečištěné vody čistit (Hoffman & Novák, 1997). Pomocí kanalizací je odpadní voda odváděna do čistírny odpadních vod (ČOV), kde se následně zpracovává a čistí do takové podoby, aby mohla být vypuštěna do vodních toků nebo nádrží, které se souhrnně nazývají recipienty (Švehla, Tlustoš & Balík, 2007). Čistírny odpadních vod tedy mají za úkol vyčistit vodu využívanou člověkem (Sojka, 2013).

1.1.1 Typy odpadních vod

Sojka (2013) označuje za odpadní vody takové vody, které během svého průchodu domácností, průmyslovou nebo zemědělskou výrobou, zdravotnickými zařízeními nebo dopravními prostředky změnilo svoji jakost (kvalitu, teplotu). Pokud vody průsakové, vody tekoucí ze skládek odpadu, odkališť a vody srážkové ohrozily kvalitu podzemních nebo povrchových vod, lze je také zařadit do skupiny odpadních vod.

Podle původu nebo druhu znečištění lze odpadní vody rozdělit do několika skupin (Hlavínek, Mičín & Prax, 2003).

1.1.1.1 Splaškové vody

Za splaškové vody se považují vody, které vznikají buď činností lidského metabolismu (Sojka, 2013), nebo se tvoří v domácnostech, zdravotnických, stravovacích zařízeních a ubytovnách (Dohányos, Koller & Strnadová, 1998). Splašky jsou tvořeny organickými i anorganickými látkami, mohou obsahovat mikroorganismy, živé i neživé organismy, které se do vody dostávají močí a fekáliemi. Z tohoto důvodu se jedná o potenciálně infekční vody a je potřeba jejich důkladné čištění (Švehla, Tlustoš & Balík, 2007). Jsou charakteristické svým vzhledem i pachem, obsahují veliké množství nerozpustných látek, jsou silně zakalené, šedé až šedohnědé, s teplotou kolem 5-20 °C (Dohányos, Koller & Strnadová, 1998).

1.1.1.2 Srážkové vody

Voda, která se dostává na zemský povrch z dešťových nebo sněhových srážek se označuje jako voda srážková (Sojka, 2013). Pojem zahrnuje také drenážní vodu a vodu vznikající táním ledovců a sněhu (Švehla, Tlustoš & Balík, 2007). Při srážkách odtéká tato voda z parkovišť, komunikací, chodníků, nebo ze střech (Hlavínek, Mičín & Prax, 2003). Srážkové vody jsou poměrně čisté, ale snadno se kontaminují průchodem atmosférou a kontaktem se zemským povrchem (Švehla, Tlustoš & Balík, 2007), z toho důvodu je složení těchto vod značně proměnlivé a ovlivňuje také kvalitu vody (Sojka, 2013). Největší množství nečistot se do vody dostává po dlouhém bezdeštném období, kdy se voda slučuje s pevnými nečistotami na povrchu. Například v zimních měsících je voda značně kontaminovaná chloridy, které vznikají rozpuštěním solí (Sojka, 2013).

1.1.1.3 Průmyslové vody

Jedná se o vody, které vznikají v průmyslových provozech (Sojka, 2013), nebo mohou být produkovány v zemědělství. Koncentrace znečištění souvisí s druhem průmyslu, ze kterého vznikají a jejich vlastnosti a složení jsou značně proměnlivé (Dohányos, Koller & Strnadová, 1998). Průmyslové vody, které jsou charakterově odlišné od splaškových vod se čistí v podnikových čistírnách uzpůsobených pro dané znečištění (Pošta & kolektiv, 2005). Pokud mají podobné vlastnosti, slučují se se splaškovými vodami a čistí se společně, nebo se na čistírnu přivádí odděleně od ostatních druhů vod (Švehla, Tlustoš & Balík, 2007).

1.1.1.4 Balastní vody

Prameny svedené do kanalizačních sítí a dešťové zdroje označujeme jako vody balastní (Švehla, Tlustoš & Balík, 2007). Většinou jsou málo znečištěné, a proto se nejčastěji využívají k ředění silně znečištěných vod (Malý, 1997). Pokud pochází z podzemních zdrojů, mohou v zimních měsících působit negativně, protože ochlazují odpadní vody (Sojka, 2013).

1.1.1.5 Městské vody

Vznikají sloučením splaškových, průmyslových, balastních i srážkových odpadních vod. Z důvodu rozrůstajícího se průmyslu ve městech obsahuje většina městských vod také průmyslové vody (Švehla, Tlustoš & Balík, 2007).

1.1.2 Znečišťující látky v odpadních vodách

Většina vodních toků se v rámci znečištění řadí do třetí nebo horší třídy, pouze 6 % povrchových vod se vyznačuje dobrým ekologickým stavem a 3 % dobrým chemickým stavem. Znečištění je způsobeno výhradně bodovými, plošnými nebo difúzními zdroji (Soldatova, 2020). Pokud se znečišťující látky dostávají do vodního toku jedním konkrétním proudem a místo je snadno lokalizované, jedná se o bodový zdroj znečištění. Plošné zdroje do vodních toků přispívají většinou v nízkých koncentracích z několika míst, proto je velmi komplikované jednotlivé body znečištění lokalizovat (Švehla, Tlustoš & Balík, 2007).

Látky kontaminující odpadní vody mají rozmanitý charakter znečištění a dělí se do několika skupin z hlediska jejich vlastností (rozpuštěné, nerozpuštěné, organické, anorganické, biologicky rozložitelné, biologicky nerozložitelné a usaditelné, neusaditelné). Již z výčtu těchto kategorií je patrné, že nelze vyčistit všechny formy jedním konkrétním způsobem. Většinou se jedná o několik rozdílných procesů, které na sebe navazují (Dohányos, Koller & Strnadová, 1998). **Mechanickými procesy** lze odstranit nerozpuštěné látky. **Biologickými procesy** se odstraňují rozložitelné organické látky a rozložitelné anorganické látky (Švehla, Tlustoš & Balík, 2007).

Bindzar & kolektiv (2009) označují jako speciální druhy znečištění povrchové aktivní látky, mikropolutanty, tepelné záření, radioaktivitu a mikrobiální znečištění. K těmto druhům lze také zařadit kosmetické produkty, zbytky léčiv a veškeré látky narušující hormonální soustavu.

K odstranění alespoň většiny kontaminantů není možné použít pouze jeden způsob čištění vzhledem k různorodému složení vyskytovaných látek (Bindzar & kolektiv, 2009).

1.1.3 Stokový systém

Sítě kanálů, trubek a tunelů spolu s přístroji, které slouží k odvádění a čerpání odpadních vod, tvoří stokový systém. Voda většinou proudí systémem pomocí gravitačního spádu. V místě, kde to není možné, se využívá čerpání. Kanalizace se budují s potřebným sklonem, který umožní samovolné proudění vody až do samotné čistírny odpadních vod. Ta se nejčastěji nachází na nejnižším místě dané lokality v blízkosti vodního toku (Švehla, Tlustoš & Balík, 2007).

Stokové systémy se rozdělují na jednotnou a oddílnou kanalizaci.

V případě **jednotné kanalizace** se stékají všechny odpadní vody do jedné sítě, která je odvádí do čistírny. Problémy nastávají v případě vydatných dešťů, kdy se velké množství srážek dostane do procesu. V tomto případě se využívají dešťové odlehčovače, které po překonání daného průtoku převedou vodu na určitou dobu do dešťových zádrží, ze kterých se voda po vydatných deštích převede zpět do systému a je řádně vyčištěna (Švehla, Tlustoš & Balík, 2007).

V **oddílné kanalizaci** nedochází ke smísení různých druhů vod. Průmyslové a splaškové vody jsou odváděny přímo na čistírnu odpadních vod a tam samostatně vyčištěny. V dnešní době není možné vypouštění dešťových vod do recipientu (nádrží), z důvodu hygienické závadnosti způsobené průchodem průmyslovými nebo zemědělskými oblastmi (Hlavínek, Mičín & Prax, 2003).

1.1.4 Čištění odpadních vod

Odpadní vody se zbavují nečistot pomocí několika technologických principů. Buď probíhají samostatně, anebo ve většině případů na sebe navazují. Nejčastěji se používá kombinace mechanického, biologického a chemického čištění (Herle & Bareš, 1990).

Mechanické čištění zadržuje nečistoty s drsným povrchem, sedimentující pevné látky a látky pevné i kapalné povahy nacházející se na hladině (Hoffman & Novák, 1997). Zajišťuje především odstranění předmětů, které jsou nežádoucí v dalších krocích procesu a které by mohly poškodit přístrojové vybavení. Jeho součástí jsou česle, lapáky šterku, písku a výjimečně se zde mohou nacházet také lapáky tuků. Mechanický proces je ukončen v usazovacích nádržích (Bindzar & kolektiv, 2009).

Biologické čištění obstarávají mikroorganismy, pro které se snažíme vytvořit přirozené podmínky k životu, jako tomu je v přírodních vodách (Herle & Bareš, 1990). V aktivačních nádržích se nacházejí buď ve formě suspenze, nebo biofilmu a od čisté vody se oddělují v dosazovacích nádržích. Po ukončení těchto částí procesu může být voda dostatečně čistá na to, aby byla vypuštěna do recipientu. Pokud stále obsahuje znečištění, podrobuje se dalšímu čištění (Bindzar & kolektiv, 2009).

Terciální čištění zahrnuje chemické a fyzikální postupy, které se volí podle druhu zbývajících znečištění (Bindzar & kolektiv, 2009). Chemické čištění se nevyužívá u splaškových vod, ale je zásadní při čištění průmyslových vod. V tomto procesu se využívají známé chemické reakce, kterými mohou být číření, srážení, neutralizace, hydrolýza a oxidace. Někdy se využívá fyzikálních procesů separace, filtrace, adsorpce nebo reverzní osmózy (Hoffman & Novák, 1997).

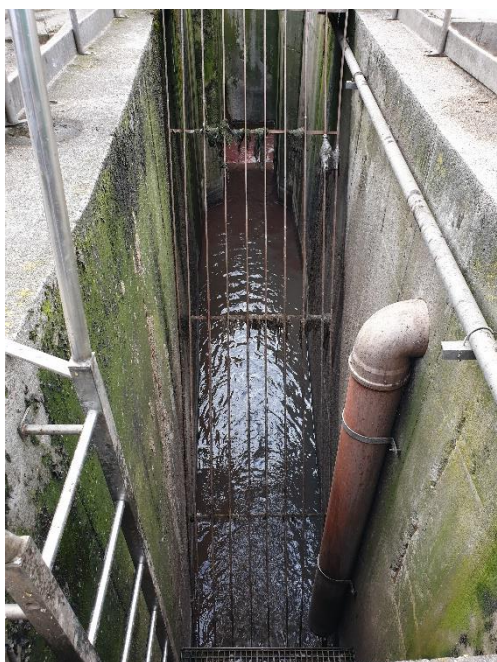
Součástí většiny velkých čistíren jsou také akumulární nádrže pro dešťové vody. Slouží k zadržení a akumulaci vody a uplatňují se v případě přívalových dešťů. V minulosti se často stávalo, že byla i nevyčištěná odpadní voda vypouštěna do recipientu z důvodu velkého průtoku vody čistírnou. Stavbou těchto nádrží by se měl tento problém eliminovat (Bindzar & kolektiv, 2009).

1.1.4.1 Mechanické čištění

První stupeň čištění je založen na mechanických procesech, při kterých se odstraňují především nerozpuštěné látky (Pošta & kolektiv, 2005). Přítomnost hrubých, makroskopických látek by mohla způsobit zanášení technického vybavení ČOV a následně vyvolat závady (Hlavínek, Mičín & Prax, 2003).

1.1.4.1.1 Předčištění

Prvním místem, kam se odpadní voda dostane, jsou česle. Jedná se o zařízení, které slouží k zachycení materiálu, který by vadil dalšímu čištění a mohl by způsobit poruchy přístrojů (Dohányos, Koller & Strnadová, 1998). Jsou situovány pod úhlem 30-60 °C v oblasti přítoku a tvořeny kruhovými, obdélníkovými nebo lichoběžníkovými ocelovými česlicemi. Dělíme se na **hrubé česle**, které zachytávají velký materiál, jako jsou větve, trávy a kusy oblečení (Bindzar & kolektiv, 2009). **Jemné česle** zachytávají nehmotný materiál, kterým je například textil, plasty, folie a hnilobný materiál, mezi který řadíme ovoce, zeleninu a papír (Herle & Bareš, 1990). Hrubé česle jsou nejčastěji sbírány ručně z důvodu malého množství nahromaděného materiálu, jemné česle jsou sbírány strojně (Hlavínek, Mičín & Prax, 2003). Získaný materiál je hygienicky nevyhovující a zpracovává se s maximální opatrností podle složení. Nebezpečné látky jsou páleny při teplotách kolem 700 °C, ostatní látky se upravují, aby byly hygienicky v pořádku a daly se kompostovat nebo zakopat (Bindzar & kolektiv, 2009).



Obrázek 1- Hrubé a jemné česle

Lapače štěrku fungují na principu sedimentace. Jedná se o jímku, ve které dochází ke snížení rychlosti vody a ukládání materiálu, který byl na čistírnu dopraven přívalovými dešti. Jedná se o cihly, štěrk a dlažební kostky (Pošta & kolektiv, 2005).

Lapáky písku odstraňují též nečistoty, které se do vody dostaly pomocí deště, ale jsou jemnější. Může zde být nalezen především písek, kusy skla, kovu, kostí a uhlí (Hoffman & Novák, 1997). V čistírnách se instalují lapáky písku s horizontálním a vertikálním průtokem, nebo s příčnou cirkulací.

- Často využívaným horizontálním lapákem je komorový lapák, ten se vyznačuje obdélníkovým tvarem a obsahuje dva nebo více úzkých žlabů. Většinou má dvě komory, společně jsou však využívány málokdy. Není zde možné regulovat rychlosti průtoku a kvůli tomuto nedostatku byly vytvořeny lapáky písku s konstantní rychlostí, které jsou obohaceny o clonu zvětšující průtočnou plochu.
- Vertikální lapáky mají tvar šachty s hloubkou 3 m. Voda s nečistotami v nich klesá na dno, tam se zachytí písek a samotná voda stoupá vzhůru a odtéká k dalšímu čištění. Průtočná rychlost zde také není konstantní, a proto byl speciální lapák vytvořen tak, aby se s rostoucím průtokem zvětšovala hladina vody v lapáku a bylo možné udržet stále stejný průtok.
- Posledním typem je vírový a provzdušňovaný lapák s příčnou cirkulací. Voda proudí v oblouku a vlivem odstředivých sil se sedimentující materiál ukládá na vnější straně (Bindzar & kolektiv, 2009).

Pro odstranění látek, které jsou lehčí než voda, se využívají **lapače tuků** (Švehla, Tlustoš & Balík, 2007). Působí zde větší vztlaková síla než gravitační síla a lehké látky stoupají ke hladině (Bindzar & kolektiv, 2009). Velká koncentrace tuků a olejů způsobuje zanášení kanalizačních trubek a následný špatný průtok odpadní vody. Pokud by se dostaly až do čistírny odpadních vod, mohly by způsobit značné poškození používaného zařízení a omezit tak jeho funkci (Hoffman & Novák, 1997). Z tohoto důvodu by měly být tuky a oleje odstraněny přímo u zdroje znečištění. Restaurace, jídelny a průmyslové závody musí mít vlastní lapače tuků (Herle & Bareš, 1990).

1.1.4.1.2 Primární mechanické čištění

Usazovací nádrže fungují na principu sedimentace a slouží k separování primárního organického i anorganického znečištění (Pošta & kolektiv, 2005). Zadržené látky se ukládají ve formě primárního kalu, který se musí z nádrží pravidelně odvádět z důvodu anaerobního vyhnívání organických látek. To jinak způsobí produkci plynů a zhoršení kvality vody (Hoffman & Novák, 1997). Ke zvýšení účinnosti separace nerozpuštěných látek v usazovacích nádržích slouží lamelové vestavby, které jsou pod určitým úhlem uloženy v nádrži a umožňují rychlejší usazování (Švehla, Tlustoš & Balík, 2007).

Podle průtoku odpadních vod dělíme usazovací nádrže na kruhové a pravoúhlé s horizontálním průtokem, separující především zrnitý materiál. Radiálně a vertikálně protékané nádrže specializující se na vločkové znečištění.

Voda se v nádrži pohybuje turbulentně (víří se), nebo laminárně (ve vrstvách) a částice mohou sedimentovat několika způsoby. Pokud klesá každá nečistota izolovaně od ostatních, jedná se o **prosté usazování**. **Rušené usazování** nastává v případě, že kontaminanty klesají společně s jinými látkami. Poslední možností je **zahušťování suspenzí**. To se vyznačuje pohybem částic, které jsou ovlivňované gravitačním zrychlením ostatních částic v okolí (Bindzar & kolektiv, 2009).

Usazovací nádrže odpovídají svou stavbou i funkčností nádržím dosazovacím, které náleží do fáze biologického čištění (Dohányos, Koller & Strnadová, 1998).



Obrázek 2- Usazovací nádrž

1.1.4.2 Biologické čištění

Mechanicky vyčištěná odpadní voda se odvádí na biologické čištění a stále obsahuje znečišťující organické látky, které lze odstranit pomocí živých forem organismů (Hoffman & Novák, 1997). K sekundárnímu čištění odpadních vod se využívají mikroorganismy, které považují za substrát pouze biologicky rozložitelné organické látky (Dohányos, Koller & Strnadová, 1998). V čistírnách se snaží vytvořit příznivé podmínky pro život organismů, zajistit proces samočištění vody a podpořit rozklad látek (Herle & Bareš, 1990). Cílem je úplné odstranění organických látek a produkce čisté vody (Švehla, Tlustoš & Balík, 2007).

Biologické čištění je výhodné z hlediska ekonomického i ekologického, protože dochází k odstranění rozložitelného organického materiálu bez chemikálií, a to má dobrý dopad na životní prostředí (Švehla, Tlustoš & Balík, 2007).

Sekundární čištění probíhá v aerobních nebo anaerobních podmínkách.

1.1.4.2.1 Biologické čištění v aerobních podmínkách

Nejčastěji se aerobní technologie využívají při čištění městských odpadních vod, jedná se o jednu z dominantních variant čištění (Švehla, Tlustoš & Balík, 2007). Aerobní mikroorganismy rozkládají ve vodním kyslíkatém prostředí organické látky za pomoci biochemických procesů (Hlavínek, Mičín & Prax, 2003). Aerobního čištění odpadních vod se účastní mikroorganismy, které se snadněji adaptují a nejsou citlivé na změnu podmínek (Hoffman & Novák, 1997).

Aerobní procesy jsou rychlejší než anaerobní, ale organické látky odstraňují pomaleji, vyžadují kyslík a velké množství energie (Herle & Bareš, 1990). V aerobních podmínkách probíhá čištění prostřednictvím aktivačního procesu nebo biofilmových reaktorů (Pošta & kolektiv, 2005).

Aktivační proces

Jedná se o nejrozšířenější způsob biologického čištění. Je tvořen z aktivační nádrže, která představuje biologickou jednotku a dosazovací nádrže, která slouží k separaci. Aktivační směs je označení pro vyčištěnou odpadní vodu a aktivovaný kal přitékající do aktivační nádrže. Kal se od čisté vody odděluje v dosazovacích nádržích, které se označují jako separační jednotka (Bindzar & kolektiv, 2009).

Mikroorganismy, které jsou zodpovědné za biologické čištění odpadních vod, se označují jako **aktivační kal**. Zajišťují odstranění organického materiálu za pomoci kyslíku, který je do nádrže uměle dodáván (Hoffman & Novák, 1997). Mikroorganismy jsou udržovány ve vznosu v aktivační nádrži pravidelným provzdušňováním surové odpadní vody, nebo jsou dopraveny z jiné čistírny odpadních vod, která je již funkční a aktivovaný kal má (Švehla, Tlustoš & Balík, 2007).

Aktivovaný kal je tvořen velkým množstvím organismů, mezi které patří bakterie, plísňe, kvasinky, houby, prvoci, vířníci a hlístice (Dohányos, Koller & Strnadová, 1998). Dělí se podle schopnosti oddělení od vyčištěné vody na vločkotvorné a vláknité. **Vločkotvorné** organismy jsou schopné shlukovat se do vloček, **vláknité** tuto funkci nemají, ale přesto jsou v určité míře nezbytné. Přemnožení vláknitých forem způsobuje špatné usazování a zahušťování kalu, může také způsobit pění v aktivačních nádržích, které vyvolá technické problémy (Švehla, Tlustoš & Balík, 2007).

Aktivační proces je založen hlavně na správné činnosti mikroorganismů, které nemohou fungovat bez kyslíku. Ten je do aktivační nádrže dodáván několika způsoby, nejčastěji pomocí dmyhadla (Švehla, Tlustoš & Balík, 2007).

Existují tři typy provzdušňování v aktivačních nádržích:

- V případě **pneumatického** provzdušňování je vzduch veden ke dnu nádrže a podle velikosti průměru vzduchových bublin se dělí na hrubobublinný, středobublinný a jemnobublinný.
- **Mechanická** aerace je charakterizována dodáváním vzduchu do povrchové vrstvy a rozděluje se na horizontální a vertikální.
- **Hydropneumatické** provzdušňování využívá hydraulické jevy a ve většině případů slouží jako náhradní metoda za předchozí dvě (Bindzar & kolektiv, 2009).

Mechanicky vyčištěná odpadní voda odtéká z usazovací nádrže do aktivační nádrže, kde se smísí s vratným aktivovaným kalem a celý systém je provzdušňován tlakovým vzduchem. V dosazovací nádrži se oddělí vyčištěná voda od aktivovaného kalu, který se vrací na začátek cyklu do aktivační nádrže. Sekundární kal je tvořen přebytečným aktivovaným kalem, který vzniká vyčištěním odpadní vody od organických látek (Švehla, Tlustoš & Balík, 2007).



Obrázek 3- Aktivační nádrž

Dosazovací nádrže

Dosazovací nádrže mohou být kruhové nebo pravoúhlé s horizontálním nebo vertikálním průtokem a maximálním průměrem 55 m. Hloubka není pevně stanovena, ale musí být zajištěn dostatečný prostor na všechny procesy, které se zde odehrávají. Hlavním úkolem je separace kalu od čisté vody, ale také zahuštění a uskladnění kalu.

V aktivačních nádržích je turbulentní prostředí a aktivovaný kal se rozpadá na malé vločky, které se pohybují směrem k dosazovacím nádržím a vlivem snížení rychlosti vody se spojují na makrovločky. Tento proces, tzv. flotace, vyžaduje určitý čas, který je zajištěn ve flotační zóně před sedimentačním prostorem dosazovací nádrže. Vyčištěná odpadní voda odtéká přes přelivovou hranu s přepadem (Bindzar & kolektiv, 2009).



Obrázek 4- Dosazovací nádrž

Biofilmové reaktory

Biofilmové reaktory našly uplatnění při čištění odpadních vod z malých zdrojů a mají nižší nároky na kvalitu vyčištěné vody. Jsou vhodné také na předčištění potravinářských průmyslových vod, než se dostanou do kanalizace (Bindzar & kolektiv, 2009).

Fungují na principu kultivace mikroorganismů ve formě nárostu na vhodném povrchu (Švehla, Tlustoš & Balík, 2007). Tloušťka vrstvy mikroorganismů je většinou 1 až 3 mm. V případě silného znečištění odpadní vody nebo i v případě malého průtoku může dosáhnout hodnoty 10 mm. Dostatečný průtok vody zajišťuje strhávání částí nárostu a tím udržuje hladinu v optimálních hodnotách. Nevýhodou je nutnost přidávání živin, tvorba velkého množství biokalu a větší energetická náročnost (Hoffman & Novák, 1997).

Biofilmové reaktory mohou být rotační nebo zkrápěné:

- **Rotační** se využívají především pro rodinné domy a malé čistírny odpadní vod. Jsou velmi snadno ovladatelné, nepotřebují stálý dohled a mají nízkou spotřebu energie.
- **Zkrápěné** jsou schopné ohřát nebo ochladit vzduch v biofiltru, aby mohl proudit správným směrem (Bindzar & kolektiv, 2009).

1.1.4.2 Biologické čištění v anaerobních podmínkách

Anaerobní podmínky umožňují čištění odpadních vod obsahujících značný podíl znečištění, suspendovaných látek a těkavých látek, vod s vyšší teplotou nebo některých průmyslových odpadních vod (Švehla, Tlustoš & Balík, 2007). Rozklad je založen na komunikaci a návaznosti několika dílčích procesů, kterých se účastní anaerobní mikroorganismy. Látky vyprodukované jednou skupinou jsou substrátem pro druhou skupinu organismů (Hlavínek, Mičín & Prax, 2003). Během anaerobního čištění se produkuje malé množství biomasy, vzniká energetický zdroj bioplyn, stabilní kal a není potřeba velkého množství energie. Mikroorganismy jsou senzitivní na teplotu a složení odpadní vody (Hoffman & Novák, 1997).

1.1.4.3 Terciární čištění odpadních vod

Mechanicko-biologicky vyčištěná odpadní voda stále vykazuje známky znečištění, které se odstraňuje třetím stupněm čištění odpadních vod. Nejčastěji se jedná o biogenní prvky dusík a fosfor, které jsou vázané v chemických vazbách a jsou základními živinami pro růst a vývoj sinic a řas (Herle & Bareš, 1990).

Přírodní metodou jsou **dočišťovací nádrže** (rybníky), kde voda setrvává minimálně 5 dní, během kterých dojde k sedimentaci nerozpuštěných látek. Hloubka nádrže činí 0,7 až 2 m a předpokládaná účinnost je 40 %. Špatná manipulace a nepravidelné vyklízení může způsobovat přemnožení řas nebo uvolnění sedimentů dna a způsobit znečištění (Švehla, Tlustoš & Balík, 2007).

Běžnou terciární metodou je **filtrace**, kdy pískové filtry zachytávají nerozpuštěné látky (Švehla, Tlustoš & Balík, 2007).

Odstranění **dusíku a fosforu** je velmi důležitou součástí většiny čistíren odpadních vod. Dusík i fosfor lze biologicky odstraňovat společně, jedná se ale o velmi složitý úkol, protože každý prvek požaduje antagonistické (protichůdné) vlastnosti v mikrobiologické i biochemické oblasti (Bindzar & kolektiv, 2009).

Dusík se v přírodě vyskytuje v několika formách, nejčastěji však v amoniakální formě, která má vysoké nároky na spotřebu kyslíku (Dohányos, Koller & Strnadová, 1998). Je jedním z několika prvků, u kterých je nežádoucí, dostat se z odpadní vody do recipientu (Švehla, Tlustoš & Balík, 2007). Poskytuje vhodné podmínky pro růst zelených

organismů a tím podporuje eutrofizaci. Odstraněn může být pomocí biologických principů:

- **Amonifikace** je proces přeměny organického dusíku na dusík amoniakální pomocí hydrolýzy a během proměny nedochází ke změně oxidačního čísla.
- **Nitrifikace** se účastní chemolitotrofní nitrifikační bakterie, které využívají energii vyprodukovanou oxidací anorganických sloučenin a fungují v kyslíkatém prostředí. Nejdříve dochází k oxidaci amoniakálního dusíku na dusík dusitanový a ten se pak oxiduje na dusík dusičnanový.
- **Denitrifikace** se vyznačuje přeměnou dusičnanového i dusitanového dusíku na plynnou formu, která odchází z odpadní vody do ovzduší (Bindzar & kolektiv, 2009).

Fosfor se rozkladem organických látek přeměňuje na orthofosforečnany, jež jsou jeho hlavní formou v odpadních vodách. Hlavním zdrojem fosforu jsou prací prostředky nebo přípravky proti korozi. Odstraňován je v přebytečném kalu. (Bindzar & kolektiv, 2009). Je to biogenní prvek, který napomáhá eutrofizaci a je limitujícím prvkem, jehož obsah v sušině zelených organismů jsou pouze 2 %. Stejně jako dusík je nežádoucí v odpadních vodách, proto je fyzikálně-chemickými nebo biologickými metodami z vody odstraňován (Dohányos, Koller & Strnadová, 1998).

1.1.4.4 Zpracování kalu

Hlavním produktem zpracování odpadních vod je **kal**, jehož vlastnosti a množství závisí na technologii čištění a druhu odpadní vody (Herle & Bareš, 1990). Jedná se o směs pevných látek, které mohou mít organický i anorganický charakter. Anorganický kal vzniká zejména z průmyslových odpadních vod a v městských odpadních vodách se nachází především organický kal. Mechanicko-biologickým principem čištění vzniká primární i sekundární kal. Produktem mechanického čištění je **primární kal**, který vzniká v usazovacích nádržích. **Sekundární kal** se tvoří během biologického čištění v dosazovacích nádržích (Švehla, Tlustoš & Balík, 2007). Hlavním účelem zacházení s kalem je zahuštění, stabilizace, odvodnění a uskladnění kalu před likvidací. Manipulace a dopravování kalu by mělo být velmi šetrné z důvodu rychlé sedimentace a rozkladu na plyny (Hoffman & Novák, 1997).

1.1.4.4.1 Zahuštění kalu

Při procesu zahušťování se redukuje objem a odvádí se přebytečná voda (Hoffman & Novák, 1997). Kal se zahustí tak, aby byl stále v tekuté konzistenci a mohl být dopravován čerpáním (Hlavínek, 1997).

Zahuštění probíhá několika způsoby:

- **Pomocí odstředivky**- Odstředivky používají především velké čistírny odpadních vod, protože proces je velmi energeticky náročný, značně hlučný, ale na druhou stranu při něm nedochází k úniku vlhkosti ani zápachu a není potřeba velké plochy (Hlavínek, Mičín & Prax, 2003). Během procesu je využívána odstředivá síla, která je až 2000x větší než gravitace země a odstředivky fungují na principu rozdílu hustoty mezi vodou a kalem (Hlavínek, 1997).
- **Pomocí dosazovacích nádrží**- Dosazovací nádrže zajišťují především separaci kalu od vyčištěné odpadní vody, zahušťují kal na hodnotu 1 % sušiny z důvodu zabezpečení správné koncentrace vratného kalu a zmenšují množství kalu, který je odváděn na zpracování (Bindzar & kolektiv, 2009).

Mezi další využívané metody zahušťování patří: **gravitační zahušťování, flotace, rotační, pásové, šnekové nebo štěrbinové zahušťovače** (Hlavínek, Mičín & Prax, 2003).



Obrázek 5- Zahušťovací nádrže

1.1.4.4.2 Stabilizace kalu

Hlavním požadavkem stabilizace kalu je dosažení stavu, při kterém je kal biologicky stabilní a nedochází k samovolnému biologickému rozkladu (Švehla, Tlustoš & Balík, 2007).

V rámci městských čistíren, které pracují s průmyslovými a komunálními odpadními vodami, je využívána anaerobní stabilizace neboli vyhnívání (Hoffman & Novák, 1997). V menších čistírnách je preferována aerobní stabilizace (Švehla, Tlustoš & Balík, 2007).

Anaerobní stabilizace probíhá v několika fázích:

- Při prvním stádiu zvaném **hydrolýza** dochází k rozkladu makromolekulárních rozpuštěných i nerozpuštěných organických látek (mezi které patří lipidy, proteiny i polysacharidy) na nízkomolekulární látky rozpustné ve vodě za pomoci hydrolytických enzymů, které produkují fermentační bakterie.
- Během **acidogenese** (druhá fáze) jsou nízkomolekulární látky rozkládány uvnitř buňky na jednodušší organické látky (CO_2 , CO, kyselina mravenčí a metanol).
- Ve třetím kroku (**acetogenesi**) dochází k oxidaci produktu acidogenese na H_2 , CO_2 a kyselinu octovou.
- **Metanogeneze** (posledního stádia) se účastní metanogenní mikroorganismy, které se účastní procesu, při kterém rozkládají jednoduhlíkaté, popř. víceuhlíkaté látky na metan a oxid uhličitý (Švehla, Tlustoš & Balík, 2007).

Většina čistíren využívá mesofilní anaerobní stabilizaci (teplota 30-40 °C), ale některé přechází na termofilní anaerobní stabilizaci (teplota 50-60 °C), která zajišťuje rychlejší rozklad organických látek a vyšší produkci bioplynu. Během procesu ubývá organická hmota na objemu a hmotnosti, uvolňuje se plynný uhlík a chemicky vázaná voda. Zanikají mikroorganismy, které se podílely na biogenní stabilizaci a eliminuje se existence patogenních organismů (Švehla, Tlustoš & Balík, 2007).

Dokonale stabilizovaný kal je bez zápachu, vyznačuje se hygienickou nezávadností (Hoffman & Novák, 1997), neprobíhají v něm intenzivní biologické pochody a podíl organických látek je snížen pod 50 % (Švehla, Tlustoš & Balík, 2007).

Hlavním produktem anaerobního vyhnívání je **bioplyn** (Hoffman & Novák, 1997), který zajišťuje energetické pokrytí celého procesu (Pošta & kolektiv, 2005).

1.1.4.4.3 Odvodnění kalu

Proces odvodnění zajišťuje snížení obsahu vody v kalu a vytváří tuhou hmotu, se kterou se dá velmi dobře manipulovat (Hlavínek, Mičín & Prax, 2003). Odvodněný kal obsahuje 20-30 % sušiny (Pošta & kolektiv, 2005).

Tohoto výsledku lze dosáhnou přirozenou nebo umělou cestou:

- Kalová pole a laguny reprezentují přirozený způsob
- Pásové lisy a odstředivky představují strojený způsob (Hoffman & Novák, 1997). Odstředivky lze využít jak na zahuštění, tak i na odvodnění (Hlavínek, 1997). Jsou značně oblíbené, protože mají nízké nároky na prostor a nekontaminují okolní prostředí (Hlavínek, Mičín & Prax, 2003).

1.1.4.4.4 Likvidace a využití kalu

S kaly se smí zacházet pouze podle platné vyhlášky č. 437/2016 Sb. A existuje několik málo způsobů, jak kal likvidovat.

Kal lze:

- skladovat na skládkách
- zapracovat do stavebních materiálů
- spalovat
- kompostovat a následně využít jako hnojivo (Hlavínek, 1997).

Kal z komunálních čistíren je vhodné kompostovat a následně využít jako hnojivo z důvodu malého obsahu škodlivých látek (Hoffman & Novák, 1997). Během kompostování dochází k odbourávání organické hmoty pomocí aerobních termofilních bakterií. Uvolňuje se teplo, které materiál ohřívá na 60-80 °C po dobu 21 dnů. Vysoká teplota zničí všechny patogenní organismy a kal by měl být uložen a stabilizován při běžné teplotě další měsíc (Hlavínek, Mičín & Prax, 2003). Následně může být využit jako hnojivo pro zemědělské půdy, protože obsahuje značné množství organických látek (Švehla, Tlustoš & Balík, 2007).

1.1.4.4.5 Využití bioplynu

Při procesu anaerobní stabilizace kalu vzniká jako vedlejší produkt **bioplyn**, který je hodnotnou energetickou surovinou (Dohányos, Koller & Strnadová, 1998). Hlavní složkou bioplynu je methan, který je bez barvy a zápachu. Samotný bioplyn zapáchá, to je způsobeno malým množstvím H_2S (Švehla, Tlustoš & Balík, 2007). Bioplyn je díky vysokému podílu metanu a tím pádem velké výhřevnosti řazen mezi ušlechtilé zdroje energie. Skladuje se v plynojemě a využívá se na provoz vyhnívacích nádrží a provozních budov čistíren (Pošta & kolektiv, 2005).



Obrázek 6- Plynojem

1.2 Legislativa

Zákon č. 544/2020 Sb. (vodní zákon) vypovídá o ochraně povrchových a podzemních vod včetně na ně vázaných ekosystémů. Zabývá se tvorbou, zneškodňováním, odvodňováním a akumulací odpadních vod, zkoumá nebezpečně závadné látky, stanovuje povinnosti při haváriích a mnoho dalšího. Citlivé oblasti jsou zde označeny jako místa, na která se kladou vyšší nároky na čištění odpadních vod nebo místa, která by se mohla využívat jako zdroj pitné vody (dle zákona č. 544/2020 Sb.)

V rámci ČSN 75 7221 jsou povrchové vody zařazeny do 5 tříd podle jakosti:

I. třída neznečištěná voda: status povrchové vody nebyl výrazně změněn lidskou činností, naměřené hodnoty kvality vody odpovídají přirozenému toku

II. třída mírně znečištěná voda: povrchová voda byla ovlivněna lidskou činností, ale stále poskytuje podmínky pro bohatý, vyvážený a udržitelný ekosystém

III. třída znečištěná voda: lidská činnost měla vliv na povrchové vody tak, že již nemusí vytvářet vhodné podmínky pro fungující ekosystém

IV. třída silně znečištěná voda: kvalita povrchové vody byla změněna natolik, že vytváří výhradně nevyrovnaný ekosystém

V. třída velmi znečištěná voda: vlivem lidského působení na povrchové vody, byly naměřeny hodnoty, které jsou schopny vytvořit pouze silně nevyvážený ekosystém

Zákon č. 275/2013 Sb. o vodovodech a kanalizacích je v platnosti od 21. 8. 2013, ve znění vyhlášky č. 448/2017 Sb., ve které byl změněn názor na kvalitu surové vody. Surová voda byla tímto rozdělena do tří kategorií A1, A2, A3. Zabývá se provozem, evidencí a rozvojem vodovodů a kanalizací, odvodem odpadních vod a ochranou kanalizační stoky (dle zákona č. 275/2013 Sb.).

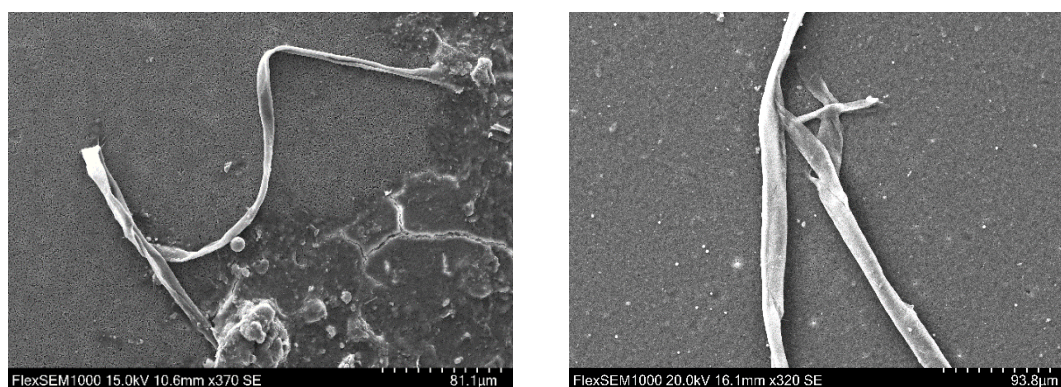
Kalem z ČOV se zabývá zákon č. 541/2020 Sb. o odpadech. Vymezuje pojem odpad, zabývá se jeho zařazením, skladováním a zpracováním. Hodnotí a prověřuje nebezpečné vlastnosti odpadů. Stanovuje povinnosti nakládání s odpady a velký důraz klade na využití odpadů. Vyhláška č. 437/2016 Sb. Ministerstva životního prostředí se specializuje na využití čistírenských kalů na zemědělských půdách (dle zákona č. 541/2020 Sb.)

1.3 Mikroplasty

Mikroplastové částice jsou heterogenní skupinou částic, lišící se tvarem, velikostí, měrnou hustotou a chemickým složením (Duis & Coors, 2016). Jedná se o malé částičky plastů s velikostí menší než 5 mm (Kropáček, 2018). Nejmenší plastové částice se označují jako nanoplasty a jejich velikost je <100 nm nebo μm .

Mikroplasty (MP) mají různý tvar a velikost. Nejčastěji se jedná o fragmenty, filmy, folie, kuličky, pěny, pelety a vlákna. **Vláknité** mikroplasty jsou charakteristické dlouhým a tenkým vzhledem, **sférické** se vyznačují jasně kruhovým tvarem a ostatní částice se nazývají **fragmenty** (Pivokonsky & al., 2018). V odpadních vodách jsou nejvíce zastoupeny vlákna a fragmenty (Mason & al., 2016).

MP objevující se ve vodním prostředí mají různé složení. Jedná se nejčastěji o akryl, polyamid (PA), polyester (PES), polyethylen (PE), polypropylen (PP), polystyren (PS) a polyvinylchlorid (PVC) (Pivokonsky & al., 2018). V závislosti na tvaru, složení a hustotě materiálu, ze kterého mikroplasty vznikly, se vyskytují v různých částech vody. Mohou být vztahové, neutrální nebo klesající. Plasty s nízkou hustotou jako jsou PE a PP se většinou nacházejí jako plovoucí materiál **na hladině** vody. PVC, PES, PA a PS mají vysokou hustotu a klesají ke dnu, lze je nalézt v **sedimentech** (Anderson, Park & Palace, 2016).



Obrázek 7- Mikroplasty v odpadních vodách

1.3.1 Vznik mikroplastů

Mikroplasty vznikají z různých zdrojů ve formě **primárních** a **sekundárních** mikroplastů.

Mikroskopické velikosti jsou charakteristické pro **primární mikroplasty**, které se využívají nejen v kosmetickém, ale i těžebním průmyslu. Konkrétně se jedná o prostředky na čištění rukou, obličeje, pokožky i zubní pastu. Další využití našly ve vrtných kapalinách pro těžbu ropy a zemního plynu, nebo v průmyslových brusivech (Duis & Coors, 2016). Mikroplastové částice mohou pocházet ze splaškových vod vznikajících během praní. Syntetické textilie obsahují velké množství polyesterových a akrylových vláken. Během praní jednoho umělého oblečení v pračce se uvolní více než 1900 mikroplastových vláken. Pokud nebudou dostatečně separovaná během čištění odpadních vod, mohou být zdrojem mikroplastů v mořském prostředí (Browne & al., 2011). Jako potenciální přispěvatele mikroplastů do životního prostředí označují Wagner & kolektiv (2014) čistírny odpadních vod, jejich odtoky spolu s odtoky z městských, zemědělských a průmyslových oblastí. Za zmínku také stojí čistírenský kal, ve kterém se nalézá větší množství mikroplastů než v odpadních vodách a nejčastěji se ukládá na skládkách nebo je využit jako hnojivo zemědělských půd, ze kterých se velmi lehce dostává do sladkovodních ekosystémů a pomocí povodí řek do moří (Wagner & kolektiv, 2014).

Větší úlomky se označují jako **sekundární mikroplasty**. Ty se vlivem vnějších podmínek prostředí rozpadají na menší částice (Wagner & kolektiv, 2014). Velké množství plastů se vyrábí jako obalový materiál s velmi krátkou životností a do životního prostředí se dostává hlavně špatným zacházením (Duis & Coors, 2016). Barnes & al. (2009) zmiňují ve svém článku, že velmi často dochází k odfouknutí tohoto plastového odpadu přímo z kontejnerů.

Hromadná výroba plastů začala v padesátých letech dvacátého století a v současnosti tvoří **7 %** z celkového odpadu v Evropě. Roční celosvětová produkce je značně vysoká a míra recyklace je nízká (Barnes & al., 2009).

1.3.2 Vliv mikroplastů na ekosystémy

Plastové výrobky, ze kterých se v přírodě vlivem podmínek prostředí stávají sekundární mikroplasty, se nacházejí ve vodě (sladké i slané), půdě, atmosféře i v živých organismech. Životnost plastových výrobků je odhadována na stovky až tisíce let, ale některé druhy se nerozloží nikdy. Riziko pro živočichy představují zejména kvůli možnosti udušení se plastovým materiálem, nebo protože jsou schopny absorbovat toxické chemikálie (Barnes & al., 2009).

1.3.2.1 Mikroplasty ve vodě

Většina plastů a plastových úlomků pochází z **pevniny**. Povrchové vody slouží jako transportní prostředí pro přenos mikroplastů do mořského prostředí (Wagner & kolektiv, 2014). Stejně jako mořské ekosystémy jsou sladkovodní ekosystémy záchytným místem plastových částic (Imhof & al., 2013). Existuje menší množství dat poukazující na osud a dopad mikroplastů na pevnině a ve sladkovodních ekosystémech. Značné úsilí bylo vynaloženo na výzkumy pobřeží a mořských oblastí (Barnes & al., 2009). Mikroplasty v balených pitných vodách se nacházejí v poměrně velkých koncentracích. Pocházejí nejen z materiálu láhve, ale také z jiných zdrojů (z ovzduší nebo kontaminované vody). Do sladkých vod se mohou mikroplastové částice dostávat z čistíren odpadních vod, které mají schopnost některé částice zachytit, ale přesto se jich stále mnoho dostává do recipientu (Pivokonsky & al., 2018). Talvitie & al. (2017) ve svých výzkumech zjistili, že většina mikroplastů je zachycena již během předčištění, anebo v aktivačních nádržích.

1.3.2.2 Mikroplasty v živých organismech

Částice mikroplastů vstupují do organismů s vodou i potravou. Byly nalezeny v mořských i sladkovodních organismech, které lidé využívají jako potravu a nejčastěji se jedná o ryby a mořské plody. Mikroplasty obsahuje také 83 % veškerých zásob **pitných vod** (Vojtěchová, 2018), včetně vod balených (Kropáček, 2018).

Mikroplasty se v organismech nezačleňují do endokrinního systému z důvodu **velké molekulární velikosti**, která jim nedovoluje pronikat buněčnými stěnami. Nesou však chemické látky s menší velikostí pronikající do buněk a narušující endokrinní systém. Například polypropylen a polyvinylchlorid absorbují méně organických kontaminantů než polyethylen právě z důvodu velké velikosti molekuly (Teuten & al., 2009).

Dichlordifenyltrichlorethan (DDT) narušuje hormonální soustavu a polychlorované bifenyly (PCB) jsou považovány za lidské karcinogeny a způsobují reprodukční problémy (Kropáček, 2018). Čím menší je plastová částice, tím se zvyšuje šance na akumulaci v živých organismech od planktonu po ryby, ptáky i savce (Wagner & kolektiv, 2014).

1.3.2.3 Mikroplasty půdě

Do půdního prostředí se plasty dostávají nejčastěji nelegální skládkou odpadu, mulčováním a kompostováním nevhodných materiálů (Qinglan & al., 2019). Na sekundární mikroplasty se rozkládají vodní erozí, orbou, slunečním zářením, nebo biodegradací (Thomas & al., 2020). Představují velké riziko pro půdní ekosystém, protože mohou vázat těžké kovy a organické znečišťující látky. Půdní minerální částice mohou mikroplasty zakrýt, nebo se s nimi spojit dohromady a vytvořit stabilní půdní agregáty (Qinglan & al., 2019). Do půdy se mikroplasty mohou dostat prostřednictvím kalů z čistíren odpadních vod, protože až 90 % mikroplastů se během čištění zachytí v kalu (Talvitie & al., 2017).



Obrázek 8- Vznik sekundárních mikroplastů v půdě

1.3.2.4 Mikroplasty ve vzduchu

Vláknité mikroplasty byly zaznamenány ve vnitřním i venkovním prostředí i v atmosféře. Spolu se vzduchem mohou být inhalovány a některé z nich zachyceny nosním řasinkovým epitelem, ale jiné pronikají až do plic, kde mohou působit záněty hlavně u jedinců se sníženou imunitní schopností. V krajních případech se na ně mohou navázat toxické látky, které vedou ke karcinogenním a mutagenním účinkům (Gasperi & al., 2018).

1.3.3 Odstranění mikroplastů

Životnost plastů, které se staly odpadem, je velmi variabilní, závisí nejen na chemickém složení materiálu, ale i na vlastnostech prostředí. Některé mohou být biologicky rozloženy kompostováním nebo pomocí větru, deště a slunečního záření (Andrady & Neal, 2009).

Hlavním zdrojem mikroplastů, které se z domácností dostávají na **čistírny odpadních vod**, jsou prací a kosmetické prostředky (Wagner & kolektiv, 2014). Velké kusy mikroplastů se odstraňují v rámci prvního kroku mechanického čištění odpadních vod pomocí česlí. Těžké částice jako písek jsou odstraněny lapáky písku a plovoucí částice prostřednictvím lapáků tuků. Žádné z těchto zařízení není ale schopné zachytit mikroplasty. Pouze mikroplasty s vysokou hustotou sedimentují a mohly by se zadržet v lapácích písku, nebo v procesu čištění kalu. Stabilizace čistírenského kalu je prováděna mechanickým mícháním, změnou teploty i pH, při kterém může být ovlivněna velikost a forma vláken mikroplastů (Duis & Coors, 2016).

Duis & Coors (2016) uvádí, že v současnosti existuje pouze málo studií zaměřujících se na účinnost čistíren v rámci odstraňování mikroplastů z odpadních vod. Odstraňování mikroplastů ze životního prostředí je obtížnější než odstranění makroplastů a problém nastává v případě, že jsou plastové částice pozřeny organismy. K uvolnění kontaminantů do těla a narušení endokrinního a imunitního systému dochází nejčastěji u ptáků, ryb a bezobratlých. Velké kusy plastů, mezi které můžeme zařadit igelitové tašky a láhve, ucpávají trávicí trakt savců, želvám i dalším organismům (Barnes & al., 2009). Jediným řešením jak zamezit plnění živých organismů plasty je zákaz využívání, opětovné používání nebo recyklace (Vojtěchová, 2018).

Úroveň výroby plastových materiálů je v dnešní době ještě pořád vysoká a zdá se velmi pravděpodobné, že bude v budoucnosti nadále narůstat. Je nutné studovat vlivy těchto látek a jejich fragmentů a eliminovat je v životním prostředí (Barnes & al., 2009).

1.4 Metody analýzy mikroplastů ve vodním prostředí

Každý MP je jedinečný, proto nemůže existovat jednotný přístup k detekci a na identifikaci existuje několik analytických technik (Silva, & al., 2018). Metody pro určování se vybírají podle velikostí MP-čím je menší, tím bude jeho analýza složitější (Renner, Schmidt & Schram, 2017).

K identifikace větších plastů se nejběžněji využívá vizuální identifikace, která umožňuje pomocí barvy, tvaru a povrchu oddělit plastové částice od ostatních částic (Silva & al., 2018). Jedná se o jednoduchou, levnou a rychlou metodu, která využívá stereomikroskop k pozorování částic menších než 500 μm (Renner, Schmidt & Schram, 2017). Při zkoumání menších vzorků však nastávají komplikace a vznikají tak falešné pozitivní výsledky. Z tohoto důvodu je vizuální metoda doplňována analýzou chemického složení, v kombinaci s optickými a spektroskopickými metodami. Mezi velmi účinné metody patří elektronová mikroskopie, infračervená spektroskopie a Ramanova spektroskopie (Silva & al., 2018). Renner, Schmidt & Schram (2017) sdělují ve svém článku další méně využívané metody jako je plynová chromatografie a fluorescenční mikroskopie.

1.4.1 Elektronová mikroskopie

Optický přístroj využívající skleněné čočky a sloužící k pozorování velmi malých objektů pomocí světelných svazků se nazývá mikroskop (Jäger & Gärtnerová, 2017). Jedná se o zařízení umožňující pozorování drobných struktur, které jsou pouhým okem neviditelné (Kočárek, Pánek & Novotná, 2010).

Elektronový mikroskop obsahuje elektronové dělo a elektromagnetické čočky. Z důvodu nechtěných interakcí mezi elektrony a atmosférou musí být použitý vzorek i zdroj elektronů umístěn ve vakuu. Elektronové mikroskopy jsou schopny dosáhnout vyššího rozlišení vzhledem ke kratší vlnové délce, než má viditelné světlo (Jäger & Gärtnerová, 2017). Umožňují fotografické zachycení obrazu a pozorování předmětů, které jsou nerozlišitelné mikroskopem optickým (Dienstbier, 1982).

Elektronové mikroskopy lze rozčlenit na dvě kategorie – **skenovací elektronový mikroskop** (SEM) a **transmisní elektronový mikroskop** (TEM). Pokud je dostatečně velká vakuová komora pro umístění vzorků, lze skenovacím elektronovým mikroskopem

analyzovat povrchy libovolně velkých objektů. Jestliže jsou potřeba informace o vnitřní struktuře vzorku a jednotlivých atomech je vhodné využít transmisní elektronový mikroskop. Ten však vyžaduje složitější interpretaci výsledků a úpravu vzorku, který musí být dostatečně tenký (Jäger & Gärtnerová, 2017).

1.4.2 Skenovací elektronový mikroskop

Získává informace o materiálu, který tvoří povrch různých vzorků a tato data lze velmi jednoduše interpretovat (Jäger & Gärtnerová, 2017). Mezi jeho přednosti patří velká hloubka ostrosti, která dokáže najít ve dvourozměrných fotografiích trojrozměrné hledisko. Při interakci elektronů se vzorkem vniká značné množství signálů, které poskytují další cenné informace o preparátu. Je možné určit prvky, ze kterých je vzorek vytvořen a jejich kvantitativní zastoupení (Nebesářová, 2001). Jedná se o systém nepřímého pozorování a snímání obrazu z důvodu urychleného řádkování předmětů elektronovým svazkem, jehož uvolněné elektrony jsou zaznamenány detektorem (Navrátil, Rosina & kolektiv, 2005).

1.4.2.1 Konstrukční složení SEM

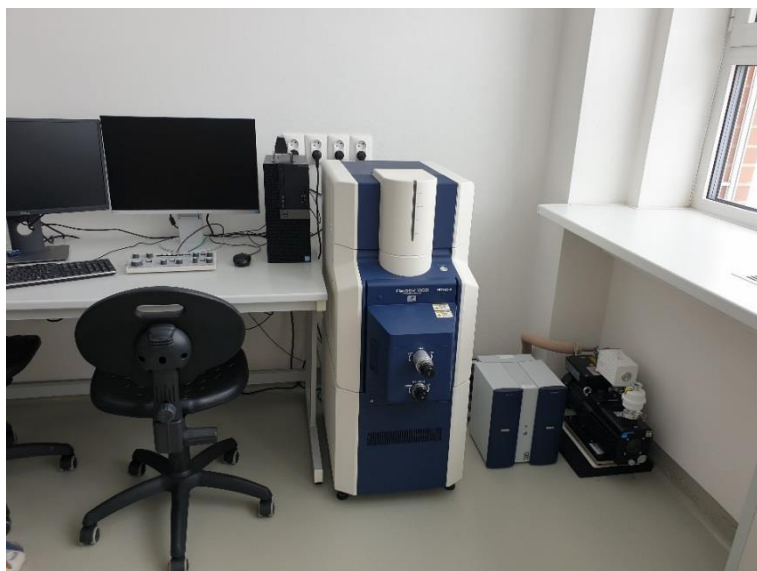
Skenovací elektronový mikroskop nemá v tubusu zabudovanou soustavu čoček, která tvoří zobrazovací systém u TEM a tím pádem obsahuje kratší tubus. Zdrojem elektronů může být například žhavené wolframové vlákno, nebo Schottkyho dioda, které se nacházejí ve špičce tubusu a zajišťují rozlišovací schopnost 10 až 15 nm (Nebesářová, 2001). Proud elektronů je uvolňován ze žhavené katody o napětí 1–20 kV. Prochází elektromagnetickými čočkami kondenzoru a mechanickou clonou, pomocí které lze vybrat elektrony, dopadající na vzorek (Kočárek, Pánek & Novotná, 2010). Nachází se zde jedna nebo dvě kondenzorové čočky a objektivová čočka. Elektromagnetické čočky zmenšují průměr svazku elektronů a koncentrují paprsek primárních elektronů na cívkou tak, aby byl rozpořehován a pokrýl řádky. Je možné měnit počty řádků i rychlost průběhu paprsku jedním řádkem. Spodní část tubusu obsahuje rozměrově velkou komoru, v níž je umístěn stolek, který pomocí držáku upevňuje preparáty a umožňuje jejich pohyb a náklon (Nebesářová, 2001).

1.4.2.2 Tvorba obrazu pomocí SEM

Obraz je získáván vzájemným kontaktem mezi primárním svazkem elektronů a povrchem preparátu. Produkty těchto interakcí poskytují informace o fyzikálních a chemických vlastnostech daného preparátu. Jestliže je mikroskop vybaven čidlem, lze tyto signály účinně zachytit. Interakce můžeme rozdělit do dvou skupin na elastické a neelastické kolize. Povrch preparátu je zobrazen sekundárními elektrony, které mají nízkou energii. Sekundární elektrony se dostávají z vyvýšenin na povrch vzorku do detektoru ve větším množství, to způsobí větší intenzitu signálu z detektoru a vytvoří se světlé místo na obrazovce. S prohlubněmi je to naopak.

Z důvodu elektrické izolace musí být objekty vysušené a je nutné je potáhnout tenkou vrstvou elektricky i tepelně vodivého kovu. Pozorování závisí na značném množství parametrů, mezi které můžeme zařadit stigmatismus, velikost clony, nastavení jasu a kontrastu, typ preparátu a způsob přípravy.

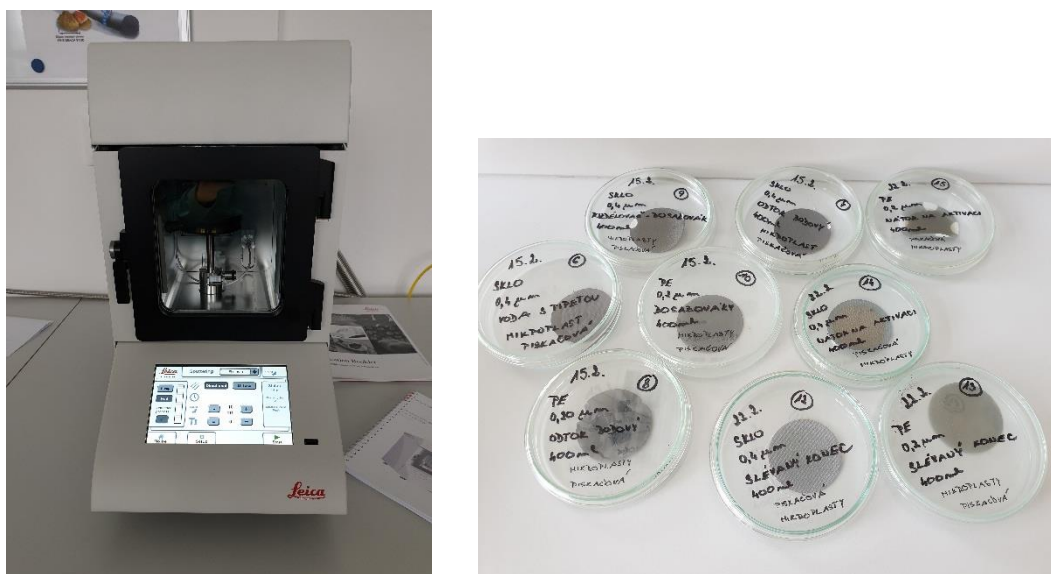
Záznam vzorku je viditelný nejen na obrazovce, na které se vzorek pozoruje, ale součástí je také foto monitor s vysokým rozlišením, ke kterému je připojen fotoaparát. Výstupem ze skenovacího elektronového mikroskopu je fotografie (Nebesářová, 2001).



Obrázek 9- Skenovací elektronový mikroskop

1.4.2.3 Příprava vzorků do SEM

Vzorke pozorované v SEM je nutné kvůli elektrické izolaci naprášit pomocí **naprašovačů kovů**. Vhodné je to pro materiál, který je nevodivý, nebo špatně vodivý. Využívá se uhlík nebo kovy, nejčastěji zlato, platina, paladium nebo měď. Naprašování se provádí vakuovým odpařováním nebo iontovým rozprašováním. Procesem naprašování se na povrchu vzorku vytvoří tenká vrstvička kovu a umožní zafixování vzorku, ale také minimalizuje poškození preparátu, odvádí negativní náboj a podílí se na větší produkci sekundárních elektronů (Cais, 2015).



Obrázek 10- Naprašovač kovů a naprašované vzorky

1.4.2.4 Elektronově disperzní spektrometr

Součástí SEM je několik detektorů, mezi které patří mimo jiné také **elektronově disperzní spektrometrický (EDS) detektor** příslušného rentgenového (RTG) záření. EDS detektor zaznamenává rentgenové záření, které vzniká při kontaktu primárních elektronů se vzorkem.

EDS analýza stanovuje kvalitativní i semikvantitativní složení vzorku. Provádí analýzu chemického složení a tím dokáže zjistit celkové **prvkové zastoupení** zkoumaných vzorků nebo přítomnost konkrétních prvků. Výstupem EDS analýzy je graf obsahující **píky**, které charakterizují příslušné prvky a jejich výška je úměrná koncentraci prvků ve vzorku. Každý prvek poskytuje RTG záření jinou energií, a proto lze rozpoznat o jaký prvek se jedná. Výhodou je přehlednosti, rychlost, jednoduchá obsluha a možnost porovnávání (Cais, 2015).

1.4.3 Transmisní elektronový mikroskop

Byl sestaven dříve než skenovací elektronový mikroskop a zajišťuje pozorování objektů o velikosti desetin nanometru (velikost atomu). Ve skutečnosti se používá například k pozorování molekul bílkovin nebo nukleových kyselin a jde o systém přímého pozorování (Kočárek, Pánek & Novotná, 2010).

Aby byl obraz dostatečně reprezentativní, je třeba zajistit přijatelně tenký vzorek, který by ideálně neměl přesáhnout hodnotu 100 nm z důvodu neschopnosti elektronů vzorkem projít. Preparát nesmí obsahovat velké množství vody. Voda by se vypařila a neumožnila by pozorování živých organismů (Kočárek, Pánek & Novotná, 2010).

1.4.3.1 Tvorba obrazu pomocí TEM

Proud elektronů i jejich zdroj jsou umístěny ve vakuu. Elektronové dělo je zdrojem elektronů, které prochází dlouhým tubusem. Jejich průchod je urychlen anodou. Uprostřed tubusu je umístěn vzorek, kterým je většina elektronů pohlcena a zbylá část elektronů prochází do stínítka. To obsahuje fluorescenční vrstvu, která umožňuje převedení pro lidské oko neviditelného obrazu do viditelné části spektra. Vzniklý obraz je černobílý. Elektromagnetické čočky jsou schopny měnit směr elektronů, kondenzorové čočky upravují sílu a průměr elektronů dopadající na vzorek. Objektívové čočky 50x zvětšují obraz a jsou nejvýkonnějším elektromagnetem. Projektorové čočky směřují elektrony na stínítko a zajišťují koncové zvětšení a vytváří obraz (Kočárek, Pánek & Novotná, 2010).

1.4.4 Infračervená spektroskopie

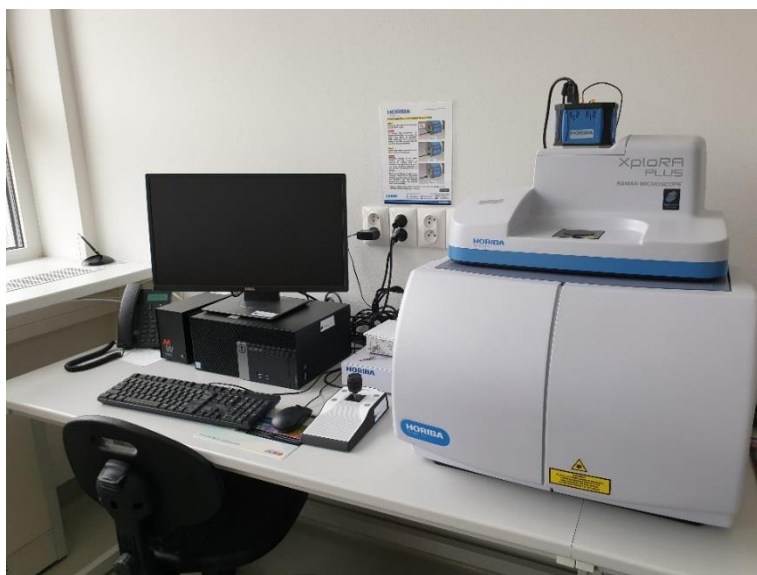
Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací je analytická metoda, které se využívá spolu s Ramanovou spektroskopií a často se vzájemně doplňují.

Využívá absorpci světla a studuje změny dipólových momentů. Věnuje se spektrální charakteristice speciálních vibrací molekul, které jsou velmi důležité na určení zkoumané látky. Výrazně se zde projevují velké změny v dipólech. Tato metoda by měla být zvolena v případech, že se zkoumají reakce v kapalně fázi, reakce, u nichž reaktanty, rozpouštědla a reakční složky fluoreskují, nebo se vyznačují nízkou koncentrací (Hicks & Wittkamp, 2020).

1.4.5 Ramanova spektroskopie

Bohatě využívanou metodou na analýzu mikroplastů je Ramanova spektroskopie (Silva & al., 2018). Jedná se o molekulovou spektroskopickou metodu, získávající informace o struktuře a vlastnostech zkoumaného materiálu kontaktem se světlem (Hicks & Wittkamp, 2020). Touto metodou lze definitivně potvrdit přítomnost a identitu MP částic menších než 1 mm a větších než 1 μm (Silva & al., 2018). Ramanovou spektroskopií se získávají poznatky o vnitromolekulárních i mezimolekulárních vibracích, velmi specifickou vlastností je získání dat o krystalické mřížce (Hicks & Wittkamp, 2020). Limitujícím faktem může být zničení vzorků působením UV záření (Silva & al., 2018).

Metoda funguje na principu Ramanova jevu, který dokazuje, že 1 foton z 10 milionů se rozptýlí při jiné frekvenci, než je frekvence ostatních dopadajících fotonů. Tento jev umožňuje poznat strukturu a sledovat interakce s ostatními molekulami. Ramanův posun je označení pro rozdíl mezi energií dopadajícího a rozptýleného fotonu. Metoda pracuje na sledování změn polarizovatelnosti molekulárních vazeb. Analýza se provádí Ramanovým spektrometrem, který mimo jiné obsahuje také laser jako excitační zdroj pro podnětí rozptylu (Hicks & Wittkamp, 2020).



Obrázek 11- Ramanův spektroskop

2 Metodická část

Metodická část práce je věnována popisu Čistírny odpadních vod Havlíčkův Brod a charakteristice procesů čištění, které v ní probíhají. Zabývá se odběry vzorků, jejich deskripcí, uchováváním vzorků a zvolenou metodikou zpracování. Zaměřuje se také na práci s naprašovacím zařízením, elektronovým mikroskopem a doprovodnými programy na analýzu mikroplastových částic.

2.1 Čistírna odpadních vod Havlíčkův Brod

Akciová společnost Vodovody a kanalizace Havlíčkův Brod (VaK HB) byla založena v roce 1993 a zajišťuje provoz vodovodů a kanalizací, s tím spojené zemní práce a zabezpečuje nakládání s nebezpečnými odpady. Tato společnost provozuje 708 km vodovodních sítí, které zásobují 69 tisíc obyvatel a 162 km kanalizačních sítí, 9 čistíren odpadních vod s denní kapacitou 109 tisíc m³. Mezi provozované čistírny patří mimo jiné také Čistírna odpadních vod Havlíčkův Brod.

Celková plocha její kanalizační sítě je 400 ha a je na ní připojeno cca 20 879 obyvatel. Stoková síť je jak jednotná, tak oddílná. Odpadní vodu z bytové zástavby, občanských a technických vybavení města, menšího průmyslu a veškerých zpevněných ploch odvádí jednotná kanalizace. Ta obsahuje také dešťové odlehčovače a slouží k oddělení dešťových přívalů. Rizikové části, kde hrozí vyšší vodní stavy, jsou obohaceny o hradítka, která zabraňují zpětnému toku vody z řeky.

Průmyslové vody jsou dopravovány na ČOV oddílným systémem průmyslového sběrače a nemají možnost odlehčovačů do řeky. Mezi hlavní průmyslové znečišťovatele patří Amylon, Pleas a.s. a Pivovar Rebel. Během roku je ČOV zatížena různě z důvodu velkého podílu průmyslových odpadních vod. V období výroby pšeničného a bramborového škrobu jsou hodnoty mezi 7-8 t BSK₅/den¹, pro srovnání mimo toto období jsou na úrovni 4-5 t BSK₅/den.

¹ BSK₅ je biochemická spotřeba kyslíku za den, je definována jako množství kyslíku spotřebovaného mikroorganismy při biochemických pochodech na rozklad organických látek ve vodě při aerobních podmínkách na 5 dní.

2.1.1 Charakteristika čistírny

Trvalý provoz Čistírny odpadních vod Havlíčkův Brod byl zahájen v roce 1992. Do současné doby prošla několika změnami a nyní se jedná o mechanicko-biologickou čistírnu.

Odpadní voda přitékající na ČOV je nejdříve mechanicky předčištěna **hrubými česlemi** a **lapáky štěrku**, které jsou charakteristické zmenšeným průtokem a prohloubeným přítokovým žlabem. Nečistoty z česlí jsou sbírány ručně a znečištění zachycené v lapácích štěrku je jeřábem vytahováno ze dna do kontejneru a vyváženo na skládku. Následně je voda směřována šnekovým čerpadlem na **jemné česle** (odstraňují malé nečistoty), které jsou dopravníkem transportovány taktéž do kontejneru. **Lapáky písku** jsou dvoukomorové, za běžných podmínek pracuje pouze jedna komora, v případě dešťů pracují obě. Těžký materiál sedimentuje u dna a provzdušňováním jsou lehčí nečistoty uvolňovány do systému. Písek zůstává na dně a je mamutkovým čerpadlem dopravován do pískové jámky, která je po určité době bagrována. Vzduch je dodáván pomocí dmychadel. Čistírna neobsahuje **lapače tuků**. Součástí mechanického čištění jsou také **usazovací nádrže** obdélníkového tvaru s horizontálním průtokem, ve kterých dochází k oddělení organického a anorganického materiálu od odpadní vody metodou sedimentace. Nečistoty jsou hrablem pojezdového mostu ukládány jako primární kal do jámky usazovacích nádrží a čerpány do **zahušťovacích nádrží**. Mechanicky vyčištěná odpadní voda je vedena na biologické čištění.

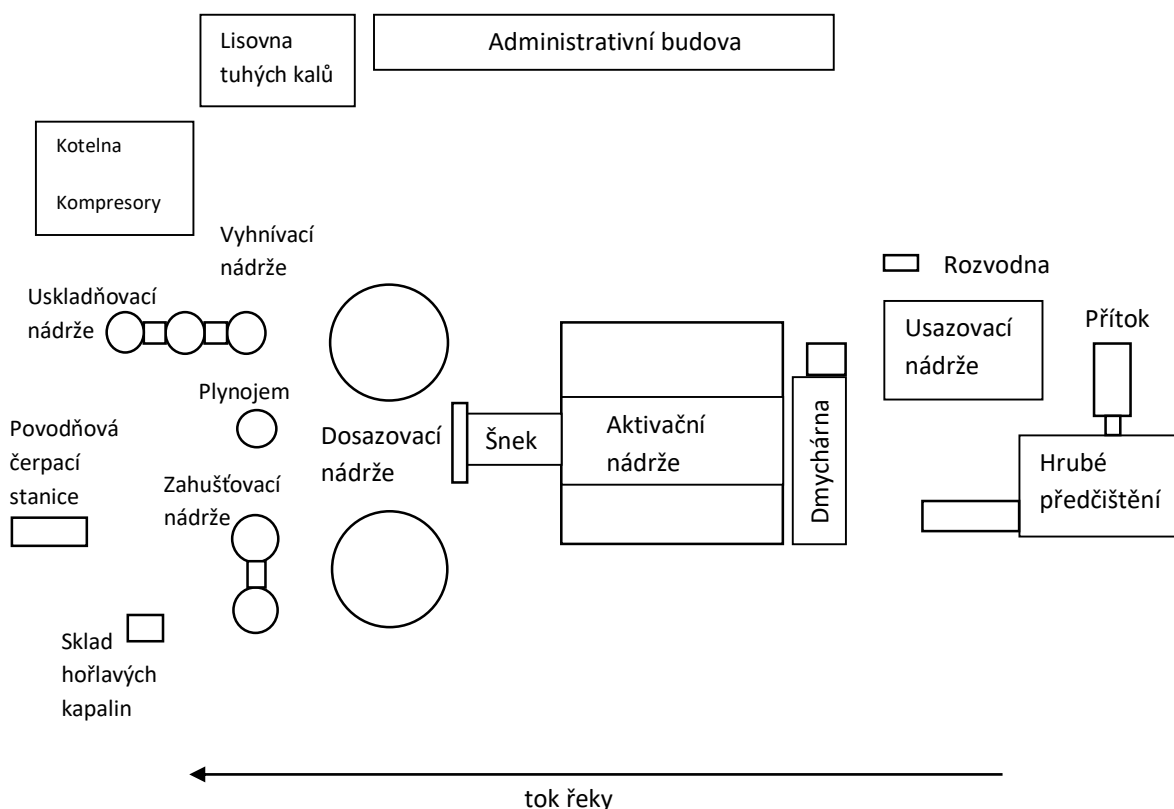
Značnou část prostoru pro biologické čištění zabírají **aktivační nádrže** s mikroorganismy, které se vyskytují v aerobních podmínkách a odstraňují z odpadní vody organické látky. Kyslík je dodáván pomocí dmychadel a aerační systém je jemnobublinný. Poté se voda dostává do **dosazovacích nádrží**, kde se vytváří sekundární kal. Ten je přepravován čerpadlem vratného kalu do aktivace.

Terciální čištění je zajištěno biologickým i chemickým odstraněním fosforu. Vyčištěná odpadní voda je přes hřebínky vypouštěna do řeky Sázavy.

Ze zahušťovacích nádrží je kal přečerpáván do **vyhňivacích nádrží** a nadbytečný kal je transportován do zahušťovací odstředivky, jejímž úkolem je zahuštění kalu na 5-6 % sušiny a podle možností je čerpán do vyhňivacích nádrží. Ty slouží k anaerobnímu vyhňívání při teplotě 35-45 °C za stálého míchání. Po dvaceti dnech, kdy je kal tekutý

a hygienicky stabilní, se umísťuje do uskladňovacích nádrže. Odsud je odváděn do odstředivky tak, aby byl vytvořen podíl sušiny mezi hodnotami 20-24 %. Poté je dopravníkem přesunut do kontejneru. Vyhníváním vzniká kalový plyn, který obsahuje 53-65 % metanu a je ukládán v plynojem. Kalové hospodářství obsahuje dvě kogenerační jednotky zajišťující výrobu tepelné i elektrické energie potřebné pro provoz ČOV.

Schéma Čistírny odpadních vod Havlíčkův Brod



Obrázek 12- Schéma ČOV Havlíčkův Brod

2.2 Odběr a charakteristika vzorků

V zimních měsících bylo na ČOV Havlíčkův Brod odebráno několik vzorků odpadní vody. Toto roční období bylo zvoleno kvůli nežádoucí kontaminaci řasami a sinicemi, které by komplikovaly manipulaci s odpadní vodou. V únoru byl proveden první odběr z jednotlivých procesů čištění, v rámci druhého odběru se v březnu odebírala voda pouze z odtokové oblasti. Odběry vykonával kvalifikovaný personál ČOV pomocí šoufku (kbelík na tyči). Voda byla následně přelita do sterilizovaných čirých lahví z borosilikátového skla. Po naplnění byla láhev ihned uzavřena, aby nedošlo k případné kontaminaci.

2.2.1 První odběr

V únoru bylo na ČOV odebráno celkem 12 lahví o objemu 1 l se vzorky z různých procesů čištění. Z každé fáze byly odebrány dvě lahve (2 l). Během odběru byla teplota vody 6 °C a teplota vzduchu 0 °C. Personál na ČOV vybral celkem 5 míst v procesu čištění, ve kterých by se mohly mikroplasty zachytit a nekontaminovat říční systémy. Odpadní voda byla odebrána v těchto pěti oblastech:

- přítok na ČOV- odpadní voda, průmyslová voda
- hrubé česle
- nátok na aktivaci
- nátok do dosazovacích nádrží
- odtok z ČOV



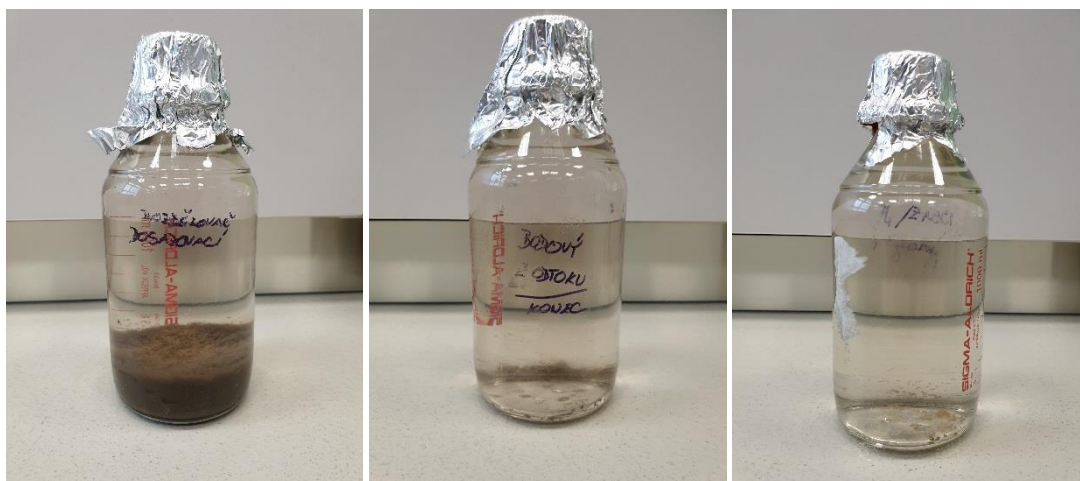
Obrázek 13- Vzorky odpadní vody

Jednalo se jak o vzorky z mechanického, tak i biologického čištění. Jako první byl odebrán vzorek přítoku surové odpadní vody na ČOV, který byl zcela zakalený, světle hnědý až khaki zelený s menším množstvím sedimentu uloženým na dně láhve. Následoval vzorek za hrubými česlemi, zbavený pouze velkých nečistot, mezi které lze zařadit PET lahve, kusy dřeva nebo oblečení, tudíž vypadal zcela podobně. Dále byl proveden odběr vody po jemných česlích, které zachytávají drobný hnilobný i nehnídný materiál jako jsou zbytky cigaret, víčka od plastových lahví, papír apod. Vzorek byl plně odlišný od předchozích dvou, byl skoro průhledný s velkým množstvím kalu, který se do 30 minut usadil na dně.



Obrázek 14- Vzorky z mechanické fáze čištění

Další materiál byl již odebírán v části biologického čištění, konkrétně po aktivačním procesu a před vstupem do dosazovacích nádrží. Při aktivačním procesu je pomocí dmychadel dodáván kyslík udržující mikroorganismy ve vznosu. Dosazovací nádrže slouží k separaci kalu od vyčištěné vody. Kal byl ve vzorku separovaný na dně nádoby, ale voda v horní části byla průhledná. Poslední odběr byl uskutečněn na samém konci procesu, odebrána byla voda z rozdělovače odtoku. Láhve s vyčištěnou odpadní vodou byly zcela průhledné, neobsahovaly kal na dně nádoby, ale pouze plovoucí drobné nečistoty.



Obrázek 15- Vzorky z biologické fáze čištění

Pro zajímavost byl odebrán vzorek průmyslové odpadní vody přitékající na ČOV, která je směsí odpadní vody z několika firem. Jedou z nich je firma Pleas a.s., která se specializuje na výrobu denního i nočního prádla. Jde o potenciálního poskytovatele syntetických vláknitých mikroplastů do odpadní vody, která prochází procesy na ČOV.



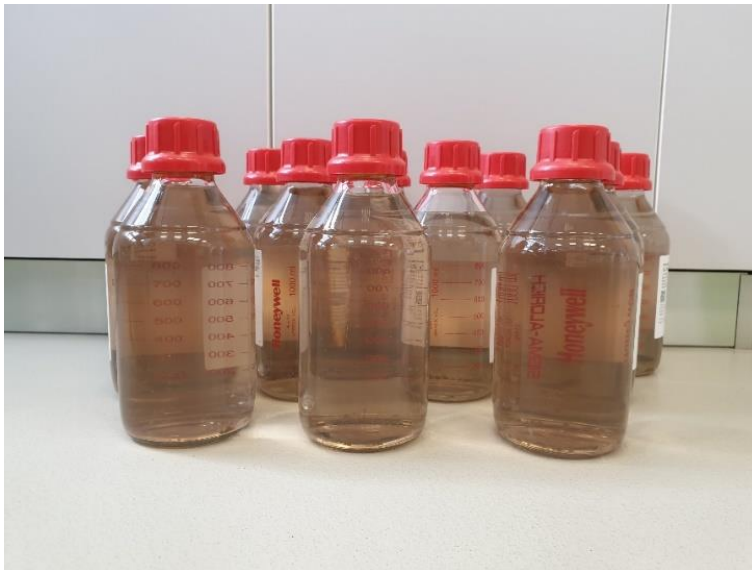
Obrázek 16- Vzorek průmyslové odpadní vody

V rámci prvního odběru byl ještě z dosazovací nádrže odebrán vzorek kalu, protože i ten může vytvářet potenciální skrýš pro mikroplastové částice. Mikroplasty se ve vodním prostředí vyskytují v různých vrstvách vody podle hustoty materiálu, ze kterého jsou složeny. Mohou být nalezeny jak v sedimentech, tak i na hladině. Vzhledem k tomuto zjištění byl pipetou s nástavcem odebrán do zkumavky vzorek sedimentu z odpadní vody. Usazený kal byl rozložen na filtr, usušen a podroben pozorování v elektronovém mikroskopu.

2.2.2 Druhý odběr

V březnu bylo odebráno 12 litrů vyčištěné odpadní vody vytékající z ČOV. Odpadní voda byla odebrána kvalifikovaným personálem pomocí šoufku jako předešlé vzorky z prvního odběru, ale pouze z jednoho místa (z odtokové oblasti). Slévala se do čirých lahví s červeným šroubovacím uzávěrem. Lahve jsou vyrobené z borosilikátového skla SIMAX, jejich teplotní odolnost je 180 °C a lze je sterilizovat pomocí autoklávu.

V době odběru měla voda teplotu 2 °C a teplota vzduchu se pohybovala kolem -1°C. Vyčištěná odpadní voda obsahovala drobné sedimentující nečistoty, byla průhledná, ale měla světle růžovou barvu. Ta byla pravděpodobně způsobena přítokem velkého množství obarvené červené vody z pletářenské firmy Pleas a.s., kde v rámci provozu dochází k barvení vyrobeného oblečení. Firma se specializuje na výrobu dámského, pánského i dětského prádla. Čistírenské procesy na ČOV značné množství barvy odstranily, ale drobné odlesky růžové barvy se tam i po vyčištění stále vyskytovaly.



Obrázek 17- Vzorky odpaní vody

2.3 Filtrace

Mikroplasty byly separovány metodou vakuové filtrace, která se provádí za sníženého tlaku a je tvořena speciální aparaturou. Konkrétně se jednalo o filtrační aparaturu Duran, 2000 ml/500 ml s vakuovým tlakovým čerpadlem Millipore.

2.3.1 Průběh filtrace

Filtrační aparatura je složena z nálevky o objemu 500 ml, skleněného filtračního kotouče, teflonového držáku s vhodným filtrem, filtračního nástavce, filtrační nálevky o objemu 2000 ml a hliníkové svorky. K vytvoření vakua se využívají vývěvy.

Filtrace se provádí tak, že je do nálevky vložen vhodný materiál, který je filtrován přes skleněný filtrační kotouč o průměru 50 mm uložený v teflonovém držáku, na který je položen filtr s různou velikostí pórů a maximální velikostí 50 mm v průměru. Tyto části jsou položeny na filtračním nástavci, který je spojen s filtrační baňkou o objemu 2000 ml a uchycen pomocí hliníkové svorky. Nástavec obsahuje také vývod pro hadicové připojení vývěvy, která zabezpečuje odsávání vzduchu, tvorbu částečného vakua a urychluje filtraci.



Obrázek 18- Vakuová filtrační aparatura

2.3.2 Zkouška filtrů

K filtraci bylo použito celkem osm odlišných filtrů s různou pórovitostí. Každý filtr se vyznačuje jinými vlastnostmi, proto filtrace probíhaly rozdílně. Nejprve byla filtrace provedena se všemi dostupnými filtry a s kohoutkovou vodou, z nichž byly následně vybrány dva vhodné filtry s různými póry k filtrování odebraných vzorků odpadní vody.

Tabulka 1- Srovnání jednotlivých filtrů při vakuové filtraci

Složení filtru	Velikost filtru	Velikost pórů	Množství filtrované látky	Tlak	Čas filtrace
Nitrát celulózy	50 mm	0,45 μm	400 ml H ₂ O	300 mbar	8:39
Nylon	47 mm	0,45 μm	400 ml H ₂ O	300 mbar	5:43
Polytetrafluoretylen	47 mm	0,45 μm	400 ml H ₂ O	300 mbar	-----
Skleněná vlákna	45 mm	0,40 μm	400 ml H ₂ O	300 mbar	2:10
Polyethylen	47 mm	0,40 μm	400 ml H ₂ O	300 mbar	1:45
Polyethylen	47 mm	0,20 μm	400 ml H ₂ O	300 mbar	6:30
Teflon	47 mm	0,45 μm	400 ml H ₂ O	300 mbar	-----
Teflon	47 mm	0,25 μm	400 ml H ₂ O	300 mbar	-----

Každý filtr byl upevněn na skleněný filtrační kotouč a uložen do teflonového držáku. Nálevka byla naplněna 400 ml kohoutkové vody a na vývěvě byl udržován stále stejný tlak 300 mbar. U každého vzorku probíhala filtrace různý čas (viz tabulka 1). Filtrace polytetrafluoretylenového a obou teflonových filtrů probíhala ve srovnání s ostatními filtry velmi pomalu. K filtrování vzorků odpadní vody byly z časových důvodů a vlastností složení vybrány skleněný filtr s póry 0,40 μm a polyethylenový filtr s póry 0,20 μm .



Obrázek 19- Skleněné a polyethylenové filtry

2.3.3 Filtrace odpadní vody

Odpadní voda byla filtrována ve dvou krocích. Vzhledem k tomu, že nevyčištěné odpadní vody obsahovaly velké množství sedimentujících látek, bylo u dvanácti lahví z různých procesů čištění filtrováno pouze 400 ml svrchní vrstvy. Následně byla vyzkoušena filtrace 12 litrů odpadní vody výhradně z koncového úseku čištění. Voda obsahovala drobné sedimentující nečistoty a z tohoto důvodu byla filtrace rozdělena na tři fáze s tím, že fáze dna nebyla dále využita.

2.3.3.1 Filtrace svrchní vrstvy z pěti vybraných procesů čištění odpadních vod

V nevyčištěných odpadních vodách se vyskytuje velké množství nečistot, které by mohly během filtrace ucpat filtr a zamezit tak přefiltrování kapaliny, nebo by na filtru vytvořily silnou vrstvu, která by nebyla pozorovatelná ve skenovacím elektronovém mikroskopu. Z těchto důvodů byla odpadní voda z láhví filtrována ve vrstvách. Láhve s odpadní vodou byly po celou dobu práce uloženy v lednici při teplotě 4 °C.

Aby bylo dosaženo filtrování pouze svrchní vrstvy bez usazeného kalu, pracovalo se s plastovou pipetou a s pipetovacím nástavcem. Jako první byl filtrován vzorek 400 ml kohoutkové vody přes skleněný filtr nabíraný plastovou pipetou kvůli zjištění nechtěné kontaminace mikroplasty. Po každé filtraci byla filtrační aparatura zcela rozebrána a umyta deionizovanou vodou, aby se zabránilo kontaminaci nového filtru předešlým vzorkem.

Pipetou bylo odebráno 400 ml odpadní vody z přítoku a filtrováno přes skleněný filtr při tlaku 300 mbar, filtr byl po ukončení uložen do Petriho misky a aparatura dekontaminována. Přefiltrovaná odpadní voda byla znovu filtrována tentokrát přes polyethylenový filtr, který byl také uložen do nové Petriho misky. Úplně stejný postup byl proveden i u odpadní vody protékající za hrubými česlemi, z nátoky na aktivaci, z nátoky do dosazovacích nádrží a také z koncového rozdělovače, kterým odtéká vyčištěná voda do recipientu.

Každá filtrace probíhala rozdílnou dobu z důvodu výskytu nechtěných organických kontaminantů. Pro zajímavost je zde uvedena tabulka 2, ve které jsou zaznamenány časy jednotlivých filtrací s využitím různých filtrů. Každý vzorek byl filtrován o objemu 400 ml a tlaku 300 mbar.

Tabulka 2- Časové rozdíly filtrací

Druh vzorku	Druh filtru	Čas filtrace
Kohoutková voda	skleněný	3 minuty
Odpadní voda z nátoku na ČOV	skleněný	188:58 minut
Odpadní voda z nátoku na ČOV	polyethylenový	300:15 minut
Odpadní voda za česlemi	skleněný	176:43 minut
Odpadní voda za česlemi	polyethylenový	289:01 minut
Odpadní voda z nátoku na aktivaci	skleněný	70:13 minut
Odpadní voda z nátoku na aktivaci	polyethylenový	93: 22 minut
Odpadní voda z dosazovacích nádrží	skleněný	17:30 minut
Odpadní voda z dosazovacích nádrží	polyethylenový	17:50 minut
Odpadní voda z odtoku	skleněný	12:36 minut
Odpadní voda z odtoku	polyethylenový	17:52 minut
Slévaný z odtoku	skleněný	6:27 minut
Slévaný z odtoku	polyethylenový	21 minut

2.3.3.2 Filtrace vyčištěné odpadní vody z odtoku na ČOV

Pro zjištění množství mikroplastů, které zůstávají ve vyčištěných odpadních vodách po průchodu ČOV, bylo také odebráno 12 l vyčištěné odpadní vody z koncové části. Vyčištěná odpadní voda byla filtrována přes polyethylenový filtr po částech tak, že nejprve bylo skleněnou pipetou odebráno svrchních 500 ml vyčištěné odpadní vody z každé láhve a přepipetováno do nových vyčištěných lahví. Poté bylo stejným způsobem odebráno 400 ml prostřední části a odpipetováno do nových lahví a zbylých 100 ml bylo přelito do 2 čistých lahví. Svrchních 6 l vyčištěné odpadní vody bylo rozděleno na dva díly a každý byl filtrován přes nový polyethylenový filtr. V případě střední části bylo pokračováno stejným způsobem, objem byl rozdělen na polovinu a každá část filtrována přes nový filtr. Dnová část nebyla k výzkumu dále použita. Skleněné filtry nebyly u této filtrace použity z několika důvodů (viz diskuze) i přesto, že byly vybrány ve zkoušce filtrů (viz 2.3.2.).

Voda byla odebrána pipetou, protože na dně láhve se nacházely drobné usazené nečistoty, které by mohly filtr zanešt. Filtrovalo se pouze přes PE filtr s póry 0,4 μm a nebyla využita opakovaná filtrace přes filtr s menšími póry. Vzhledem k tomu, že MP jsou částice o velikosti 5 mm-100 nm, tak nemá význam filtrovat vodu přes PE filtr 0,4 μm a následně přes 0,2 μm , protože MP částice nemají šanci projít. Všech 12 litrů nebylo možné přefiltrovat přes jeden filtr, protože se i ve vyčištěné odpadní vodě bez vrstvy kalu nachází drobné nečistoty, které by filtr zanesly, a voda by nemohla protékat.

Tabulka 3 zaznamenává čas filtrace jednotlivých vrstev odpadní vody.

Tabulka 3- Časový rozdíl filtrací

Druh vzorku	Druh filtru	Čas filtrace
Svrchní část – první 3 l	PE 0,4 μm	333:25 minut
Svrchní část – druhé 3 l	PE 0,4 μm	340:14 minut
Prostřední část – prvních 2,5 l	PE 0,4 μm	537:32 minut
Prostřední část – druhých 2,5 l	PE 0,4 μm	664:47 minut

2.4 Příprava vzorků

Důkladnou vakuovou filtrací se měly potenciální mikroplastové částice zachytit na vybraném filtru. Filtr byl pomocí pinzety ihned po ukončení procesu s maximální opatrností vložen do Petriho misky označené odpovídajícím štítkem. Ten obsahoval datum, druh filtru, velikost pórů na filtru a fázi procesu čištění, při které byl vzorek odebrán.



Obrázek 20- Připravené vzorky z dosazovacích nádrží a odtoku

2.4.1 Omezení kontaminace

Se vzorky bylo od odběru a po celou dobu výzkumu zacházeno velmi opatrně. Vzorky byly odebírány v zimním období, aby nedošlo k nechtěné kontaminaci biologickým materiálem (měl by vliv na průběh filtrace). Filtrace a všechna další manipulace se vzorky byla prováděna v laboratoři s filtrací vzduchu, aby nedošlo k znečištění případnými částicemi vzduchu. V případě jakéhokoli kontaktu se vzorky bylo nošeno pouze bavlněné oblečení z důvodu zanesení syntetickými vlákny. Místo plastových Petriho misek se využívaly skleněné a všechny skleněný materiál byl před použitím dekontaminován deionizovanou vodou. Z důvodu velkého objemu odpadní vody a absence pipety na větší objem ve skleněném provedení, byla k filtraci vrstev odpadní vody (viz 2.3.3.1.) použita plastová pipeta. Aby bylo zjištěno, zda nejsou vzorky kontaminovány právě pomocí plastové pipety, tak byl zcela stejně připraven kontrolní vzorek skleněného filtru a kohoutkové vody. Vyčištěná odpadní voda z odtoku (viz 2.3.3.2.) byla transportována skleněnou pipetou.

2.5 Uchování vzorků

Všechny vytvořené vzorky byly v Petriho miskách uloženy ve velkém exsikátoru, který zajistil vysušení a umožnil tak pozorování v elektronovém mikroskopu. Vysušení trvá cca 6 dní, popřípadě je potřeba vzorek dosušit na topení, nebo jiným způsobem. Pokud by byl vzorek mokrý nebo vlhký, nebylo by možné ho v SEM pozorovat, protože vypařující se voda by filtr poničila.



Obrázek 21- Exsikátor a skladované vzorky

2.6 Naprášení vzorků

K naprašování byl použit přístroj Leica EM ACE 200, který funguje za jemného vakua a to zajistí odlupování malých shluků kovu, které dopadají na povrch vzorku. Umožňuje nanesení dvou vrstev kovu bez přerušování vakua, které je během naprašování přítomno v naprašovací komoře.

Petriho miska se vzorkem byla vyndána z exsikátoru a filtrační papír byl pomocí pinzety velmi opatrně vložen na stolek naprašovací komory. Nastavilo se naprašování platinou nebo zlatem ve vrstvě 9 nm, které trvalo 6 minut. Po ukončení byl vzorek připraven k pozorování v SEM.

2.7 Pozorování vzorků skenovacím elektronovým mikroskopem

Vzorky byly pozorovány skenovacím elektronovým mikroskopem HITACHI FlexSEM 1000. SEM je velmi citlivý na otřesy (které se tvoří chůzí, nebo zavíráním a otvíráním dveří) a na prach, proto je potřeba v laboratoři dodržovat přísná hygienická opatření a při jakékoli manipulaci se součástkami do SEM je nutné pracovat v rukavicích. Na vzorek se nesmí sahat rukama, přenáší se pomocí pinzety a upevňuje se pomocí oboustranné uhlíkové pásky na držák vzorku, který se umísťuje na speciální stolek uvnitř komory SEM. Výsledný obraz je zobrazován na monitoru v příslušném programu. Mikroskop je ovládán pomocí speciálního mechanického ovládacího panelu, kterým se upravuje kontrast, jas, ostrost i vzdálenost pozorovaného objektu.

Z uzavíratelné krabičky byl nejdříve vyndán držák vzorku, na který se připravily 3 malé kousky uhlíkové lepicí pásky. Poté mohl být z Petriho misky vyndán filtrační papír a upevněn na držák. Byly vyzkoušeny dva způsoby umístování filtračního papíru. Jednou z variant bylo rozstříhání filtračního papíru na 3 útvary, které se přilepily na držák vzorku, a druhou možností bylo přilepení celého filtračního papíru na držák. V případě, že byl vzorek uchycen správně, byl vložen do SEM a podroben pozorování.



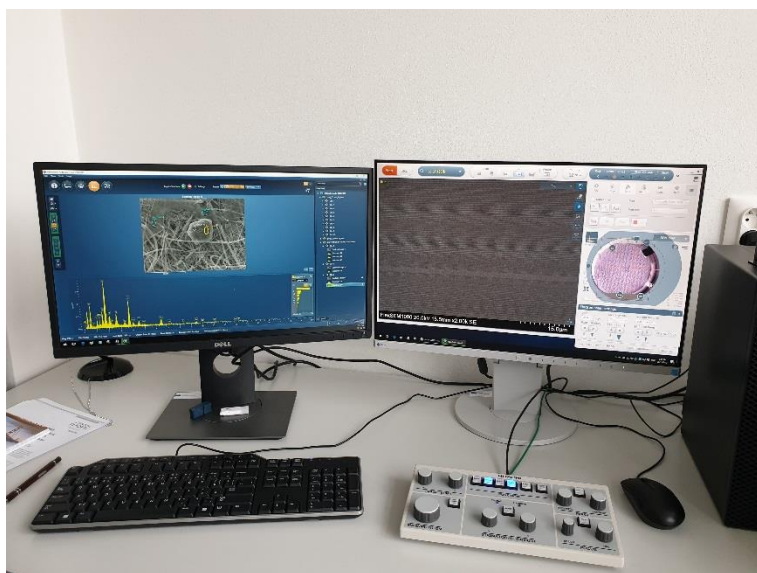
Obrázek 22- Skenovací elektronový mikroskop



Obrázek 23- Komponenty na přípravu vzorků

2.8 Elektronově disperzní spektrometrická analýza

Nalezené částice byly podrobněji zkoumány pomocí EDS detektoru (viz 1.4.2.4). Obraz ze SEM byl přenesen do EDS softwarové platformy AZtecOne, ve kterém se na částici, (kterou chceme blíže prozkoumat), označilo několik bodů v závislosti na velikosti a tvaru a následně bylo spuštěno vyhodnocení prvkového složení. Podle výsledného složení prvků, které daný objekt obsahoval a podle vizuálního ohodnocení a případného porovnání s jinými zdroji bylo vyhodnoceno, zda se o mikroplast jedná, nebo ne.



Obrázek 24- EDS analýza vzorku

3 Výsledky

Kapitola výsledky se zabývá nalezeným materiálem během celého výzkumu-především z vakuové filtrace odpadní vody z různých procesů čištění, nebo z vakuové filtrace odpadní vody z odtokové oblasti.

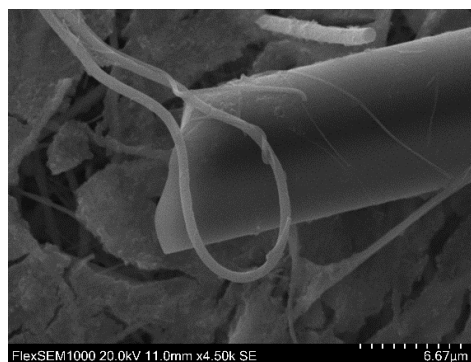
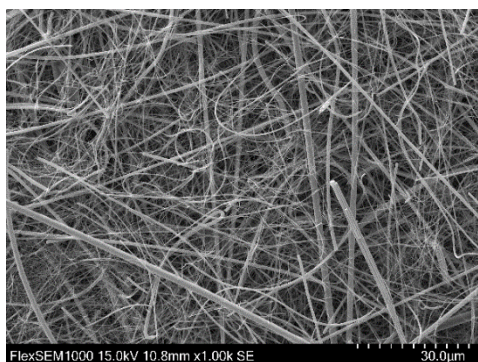
Ve všech vzorcích odebrané odpadní vody byly nalezeny mikroplastové částice, které tvořily především vlákna. Každá zaznamenaná partikule byla podrobena EDS analýze, aby mohla být potvrzena stoprocentně. Pozorováno bylo také mnoho preparátů, které obsahovaly částice velmi podobné plastovým, ale pomocí EDS analýzy nebyly potvrzeny. Vždy obsahovaly další prvky, které MP netvoří. Některé MP nebylo možné nalézt z důvodu vrstvy kalu, který vzorek pokryl. Bylo vytvořeno také několik kontrolních snímků prázdných filtrů.

Ke každé zpracované části jsou připojené fotografie ze skenovacího elektronového mikroskopu poukazující na popisovanou problematiku a obsahující potřebný komentář.

3.1 Prázdné vzorky

Pod pojmem prázdné vzorky se rozumí čisté filtry, které byly pozorovány v SEM za účelem vizuálního zjištění tvaru, velikosti pórů a vzhledu daného filtru. Jejich použití bylo důležité především z důvodu odstranění možné záměny částí filtru s materiálem nacházejícím se v odpadních vodách.

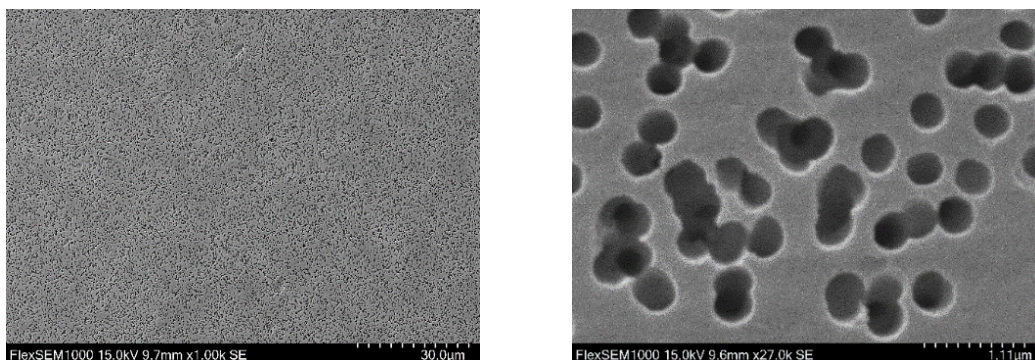
Z tohoto hlediska byl nevíce problematický **skleněný filtr**, který je složen z ostrých vláken připomínající MP (viz obrázek 25), skutečné mikroplasty se v nich pak špatně hledají. Některé částice byly hodně skryté uvnitř spleti vláken a nebyly viditelné. Vlákná filtru byla podle EDS analýzy složena z křemíku a kyslíku.



Obrázek 25- Prázdný vzorek skleněného filtru

Polyethylenový filtr byl jednotný, zcela hladký, neobsahoval vlákna ani další struktury, které by byly vizuálně podobné mikroplastům. Jedná se pouze o rovnou vrstvu materiálu, do kterého jsou vytvořené díry. Pro vyhledávání částic MP je velmi vhodný, protože se od nich odlišuje (viz obrázek 26).

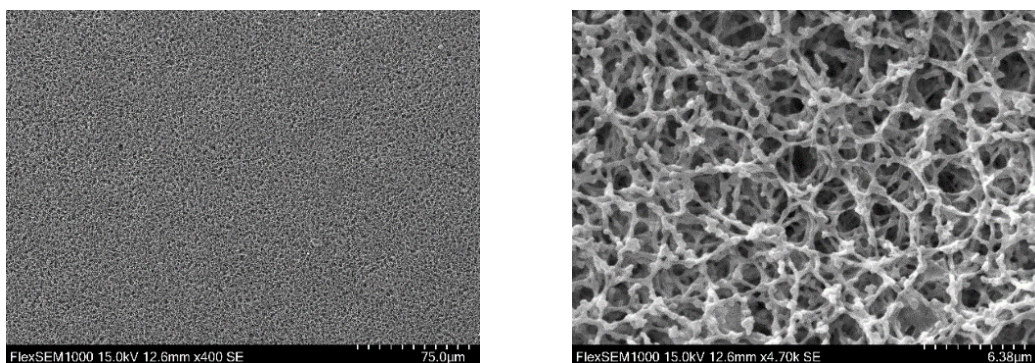
Polyethylenové filtry se na pohled zdají homogenní, ale odpadní voda přes ně protékala různě dlouho, u některých filtrů netekla vůbec a filtr se musel často měnit za nový.



Obrázek 26- Prázdný polyethylenový filtr

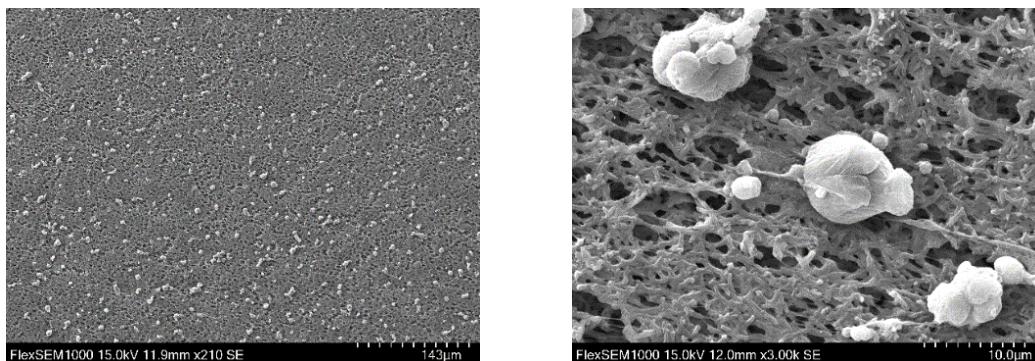
Druhý nejlépe odlišitelný filtr od vláken i ostatních tvarů MP a dalšího rušivého materiálu byl filtr složený z **nitrátu celulózy**. Jeho struktura je houbovitého tvaru, velmi hustá a propletená síť. Velké částice na něm byly také docela dobře odlišitelné (viz obrázek 27).

Čas filtrace při použití filtru z nitrátu celulózy byl o něco delší než v případě polyethylenového filtru.



Obrázek 27- Prázdný vzorek nitro-celulosového filtru

Na pozorování odpadních vod s velkým množstvím organického materiálu a kalu, který je často shlukovitý, není vhodné používat **filtr nylonový**. Ten obsahoval spoustu malých kulovitých útvarů, které by mohly působit problémy při identifikaci, nebo by zbytečně rušily pozorování a odváděly by pozornost (viz obrázek 28).



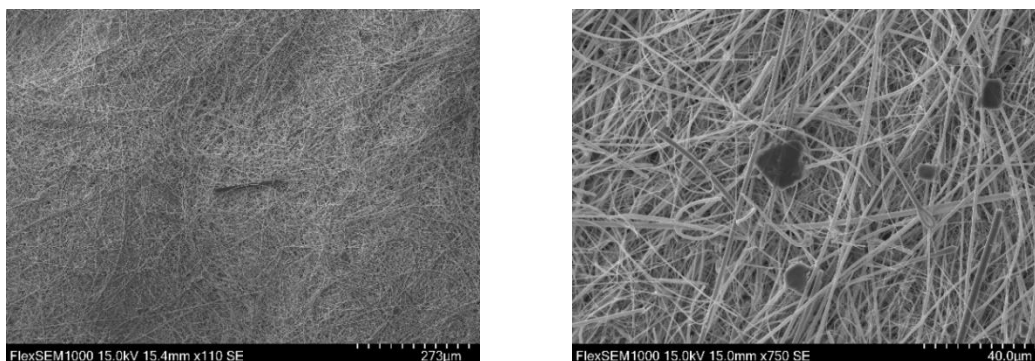
Obrázek 28- Prázdný vzorek nylonového filtru

3.2 Kontrolní vzorky

K odběru 400 ml vzorku z různých procesů čištění byla použita jednorázová plastová pipeta značky Eppendorf. S pipetou bylo potřebné udělat kontrolní vzorek pro zjištění, zda se z ní neuvolňují plastové částice a tím nedochází ke kontaminaci vzorků.

Přímo v laboratoři bylo pipetou odebráno 400 ml kohoutkové vody a filtrováno přes skleněný filtr stejně tak jako u všech následujících vzorků odebraných na ČOV v různých procesech čištění (přítok na ČOV, hrubé česle, nátok na aktivaci, nátok do dosazovacích nádrží a odtok z ČOV).

Ve vzorku nebyly nalezeny žádné MP částice, které by mohly vzorek znečistit, z tohoto zjištění lze považovat plastovou pipetu za prostředek nekontaminující preparáty. Ve vzorku bylo nalezeno několik částic železa, které byly následně potvrzeny EDS analýzou.



Obrázek 29- Kontrolní vzorek kohoutkové vody načerpané pipetou

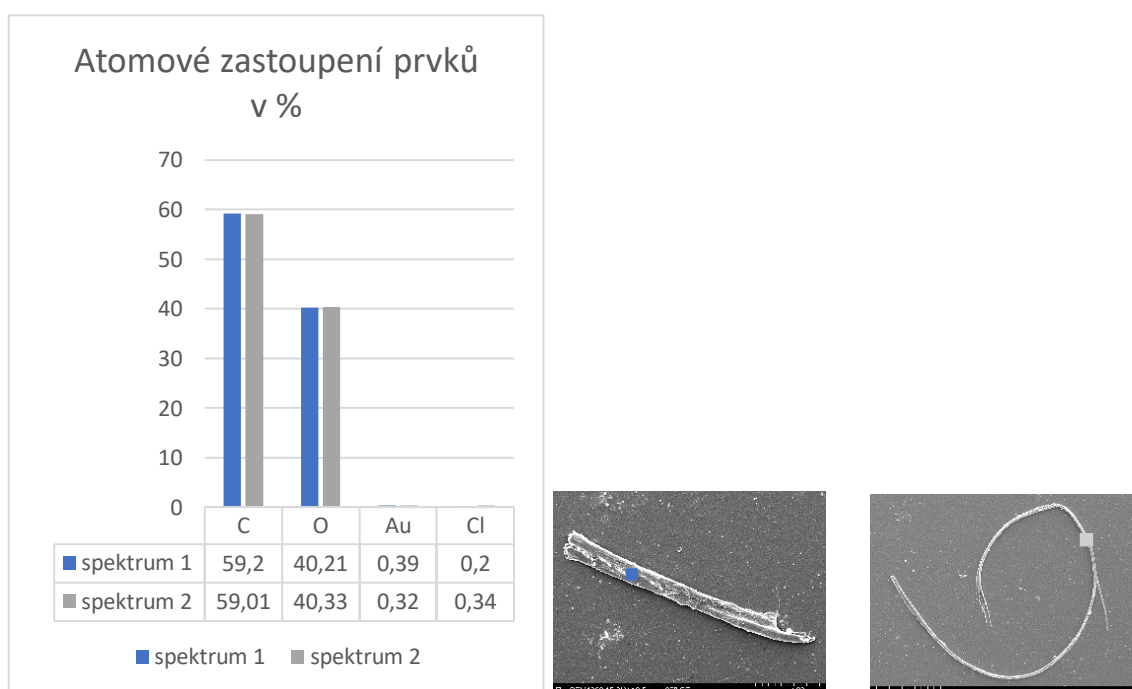
3.3 Plastový materiál

Všechny láhve se vzorky byly nejdříve zkontrolovány vizuálně, zda neobsahují viditelné plastové částice, v žádném z nich se však toto neprokázalo. Mikroplasty nalezené ve skenovacím elektronovém mikroskopu byly určovány podle EDS analýzy, velikosti a tvaru.

Mikroplasty nalezené pouze v jednom experimentálním vzorku, nebo ve slepých kontrolních vzorcích byly z analýz odstraněny a dále se s těmito vzorky nepracovalo, a tudíž nejsou uvedeny ve výsledcích.

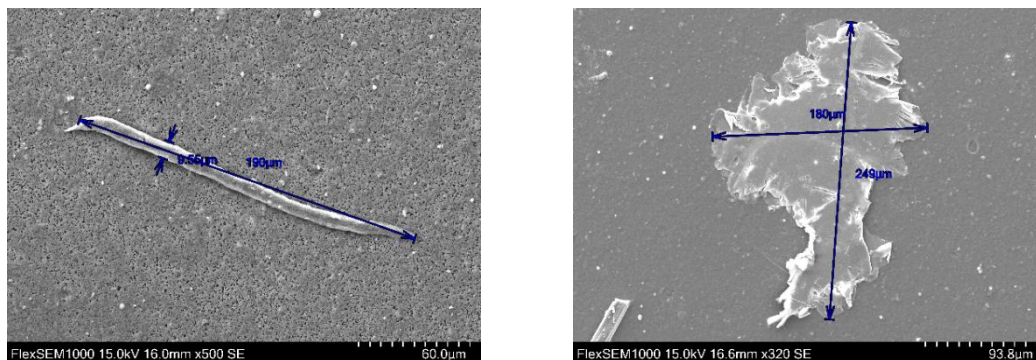
3.3.1 Identifikace mikroplastových částic

EDS prvkové stanovení bylo hlavní analytickou metodou, která měla ideálně ve velkém množství ukázat pouze uhlík (C), kyslík (O) a kov, kterým byl vzorek naprášen (v našem případě se jednalo o platinu (Pt) nebo zlato (Au)). Jediný rozdíl mezi těmito prvky byl pozorován v rychlosti naprašování. Zlato se naprašovalo rychleji, protože je měkčí. V nalezených vzorcích figurovaly v menší míře i jiné prvky, které byly součástí organického materiálu vyskytujícího se v odpadní vodě. Jednalo se často o chlor (Cl), sodík (Na), draslík (K), vápník (Ca) a křemík (Si). Graf 1 znázorňuje prvkové zastoupení ve stanovených oblastech měřených vláknitých mikroplastů.



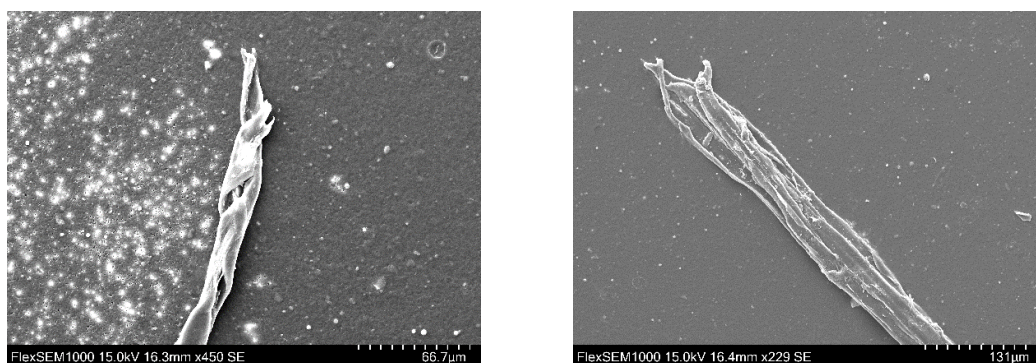
Graf 1- Atomové zastoupení prvků z EDS analýzy

Kontrolována byla také **velikost** mikroplastových částic, která by měla být větší než 5 mm, spodní hranice stanovena definitivně není. Při pozorování nebylo nutné vzorek přibližovat, protože většina nalezených MP byla velkých rozměrů. Některá vlákna byla různě zkroucená, nebo zahnutá a jejich velikost nemohla být adekvátně změřena. Nalezena byla také zmuchlaná a stočená vlákna.



Obrázek 30- Kontrola velikosti mikroplastů

Dále se u nalezeného materiálu hodnotil **tvar**. Za mikroplast byly považovány útvary s charakteristickým vzhledem, který vytvářejí, tzn. fragmenty, filmy, folie, kuličky, vlákna, pěny a pelety. Pokud se jednalo o vlákna, byla roztřepená, nebo nějakým způsobem narušená. A to je důkaz, že se jednalo o sekundární mikroplasty (viz 1.3.1.). Nejčastějším typem MP, který se v odebrané odpadní vodě vyskytoval, bylo vlákno. Nalezeny byly také další typy, mezi které lze zařadit kuličky a fragmenty.



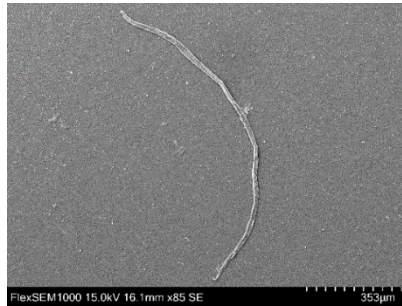
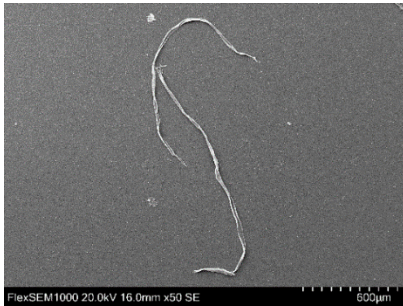
Obrázek 31- Roztřepená mikroplastová vlákna

3.3.2 Typy nalezených mikroplastových částic

Mikroplastové částice se v životním prostředí vyskytují v několika formách. V pozorovaných vzorcích odpadní vody byla nalezena vlákna, fragmenty a kuličky.

Vláknité mikroplasty

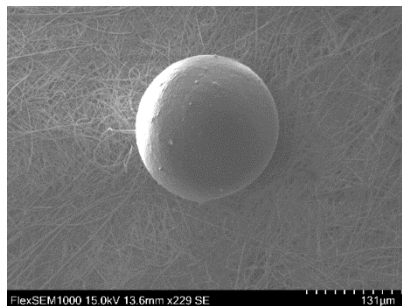
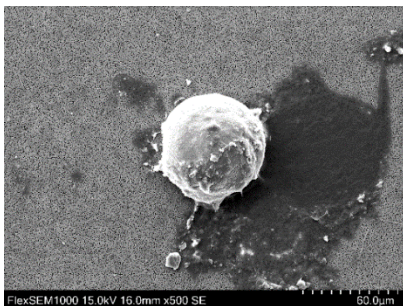
Jedná se o vlákna různých rozměrů a odlišných známek poškození.



Obrázek 32- Vlákna

Kulovité mikroplasty

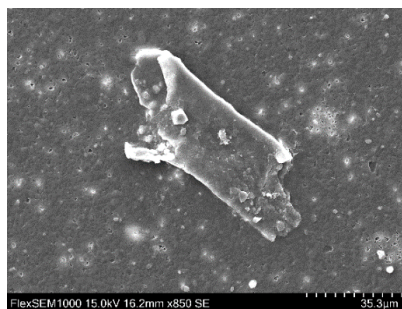
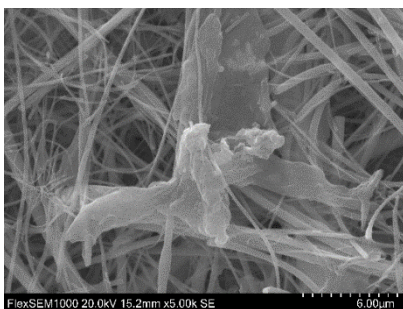
Nalezeno bylo také několik MP ve tvaru koule. Ve vzorcích druhého odběru bylo pozorováno vydatné množství kuliček písku, které byly odlišeny EDS analýzou.



Obrázek 33- Kulový mikroplast

Fragmenty

Fragmenty jsou částice nepravidelných tvarů vznikající odlomením od původního celku.



Obrázek 34- Fragment

3.3.3 Plastové částice v prvním odběru

První odběr byl uskutečněn v pěti částech čistícího procesu na čistírně odpadních vod Havlíčkův Brod. Odpadní voda byla odebrána v 5 místech:

- přítok na ČOV- odpadní voda
- hrubé česle
- nátok na aktivaci
- nátok do dosazovacích nádrží
- odtok z ČOV

K filtraci byly použity skleněné filtry a pro opakovanou filtraci polyethylenové filtry. Odebraná odpadní voda byla v některých částech procesu čištění na ČOV více znečištěna než v jiných částech. Nečistoty pak komplikovaly zpracování i pozorování.

Tabulka 4 vyjadřuje počty a druhy nalezených MP částic v jednotlivých procesech čištění. V každém ze vzorků byly nalezeny mikroplasty, největší množství bylo pozorováno v přítokové a koncové fázi čistícího procesu. Nejméně v oblasti česlí. Nejvíce zastoupen byl vláknitý tvar mikroplastů, který byl doplněn menším množstvím fragmentů, zcela výjimečně byly nalezeny kulovité tvary MP.

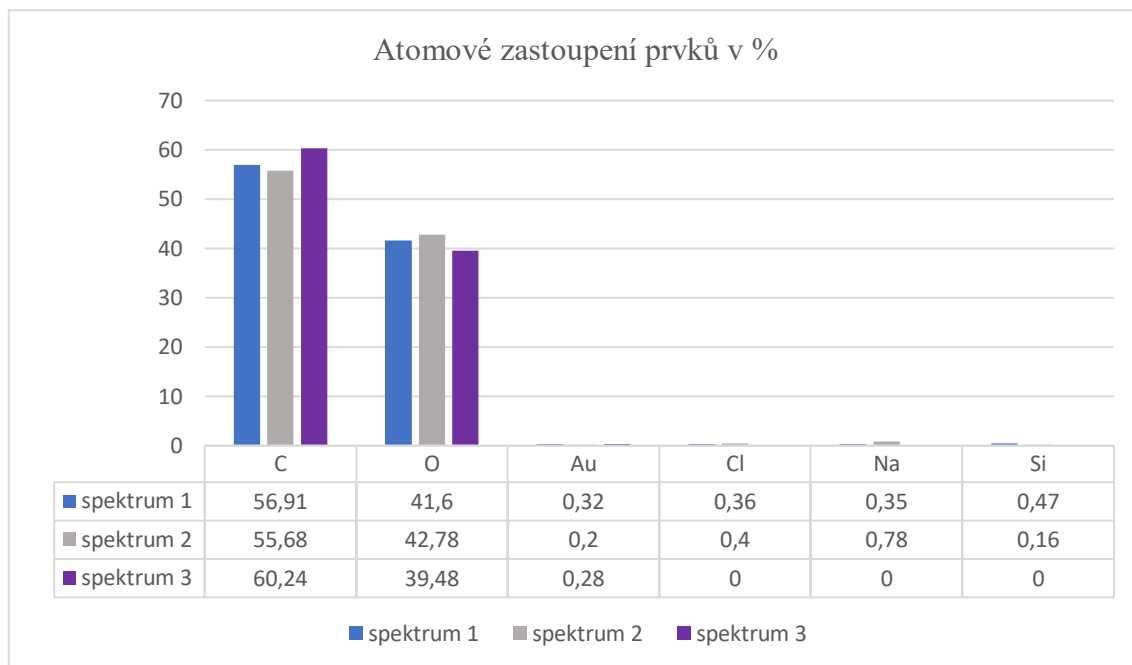
Celkový počet mikroplastů v prvním odběru byl 63 částic ve 2 litech odpadní vody.

Tabulka 4- Počty mikroplastů v jednotlivých částech prvního odběru

Fáze procesu	Počet mikroplastových částic
Přítok na ČOV	17 vláken, 1 kulička, 1 fragment
Hrubé česle	5 vláken
Nátok na aktivaci	9 vláken, 2 fragmenty
Nátok do dosazovací nádrže	13 vláken
Odtok z ČOV	11 vláken, 1 kulička, 3 fragmenty

3.3.3.1 Přítok na ČOV

Přítoková oblast je prostor, kterým se odpadní voda přivádí na čistírnu a je podrobena procesům čištění. Měla by obsahovat nejvíce znečištění a teoreticky také největší množství mikroplastových částic.



Graf 2- Atomové zastoupení prvků ve vláknech mikroplastů



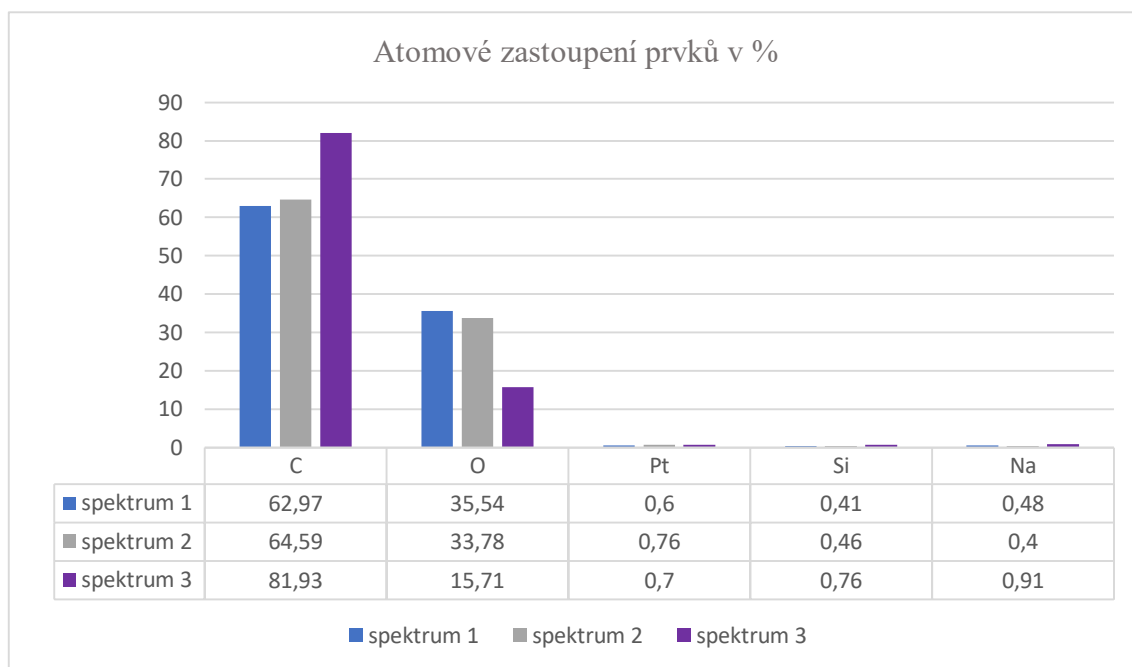
Obrázek 35- Vlákna mikroplastů se spektry

Obrázek 35 prezentuje zástupce mikroplastů nalezených v přitékající odpadní vodě, jednalo se především o vláknité MP. Barevnými čtverci jsou označena místa, ve kterých byla prováděna EDS analýza prvkového složení na povrchu vybraných částic.

Graf 2 zaznamenává prvky, které částice obsahovaly. U všech vybraných zástupců se na povrchu nacházel v největším množství uhlík, který doplnil kyslík a zlato, kterým byl vzorek naprášen. Prvky jako je chlor, vápník a sodík se na povrchu vláken nacházely v malém množství a pocházely z vrstvy kalu, kterého se ve vzorku nacházelo přespříliš.

3.3.3.2 Hrubé česle

Odpadní voda je po průtoku hrubými česlemi zbavena pouze velkých nečistot, jemné česle zachytávají drobnější materiál. Speklativně by jemné česle mohly nějaké množství mikroplastových částic zachytit a odstranit je z vodního prostředí.



Graf 3- Atomové zastoupení prvků ve vláknech mikroplastů



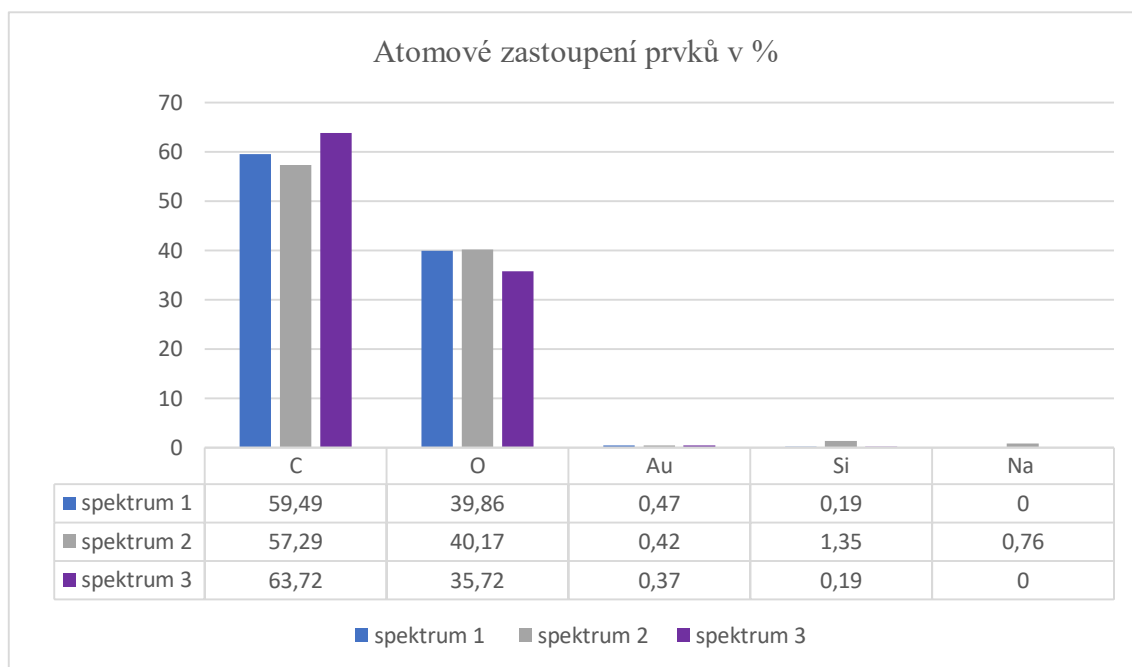
Obrázek 36- Vlákna mikroplastů se spektry

Na obrázku 36 jsou zachycené vláknité mikroplasty objevené ve vzorku odpadní vody, která protekla hrubými i jemnými česlemi. V porovnání s předchozím vzorkem bylo nalezeno o nepatrné množství MP méně a vzhledem k tomuto zjištění by se česle mohly považovat jako možný mechanismus, kterým jsou některé částice zachyceny.

I přes charakteristický vzhled nalezených a vybraných vláken byla provedena EDS analýza (viz graf 3), která potvrdila jejich plastový původ. Největší procentuální zastoupení má uhlík s kyslíkem a platina, kterou byl vzorek naprášen.

3.3.3.3 Nátok na aktivaci

V prostoru aktivační nádrže je odpadní voda obohacena o mikroorganismy, které rozkládají biologicky rozložitelné látky a pomocí vzduchu jsou udržovány ve vznosu. Jedná se o oblast zajišťující biologické čištění.



Graf 4- Atomové zastoupení prvků ve vláknech mikroplastů



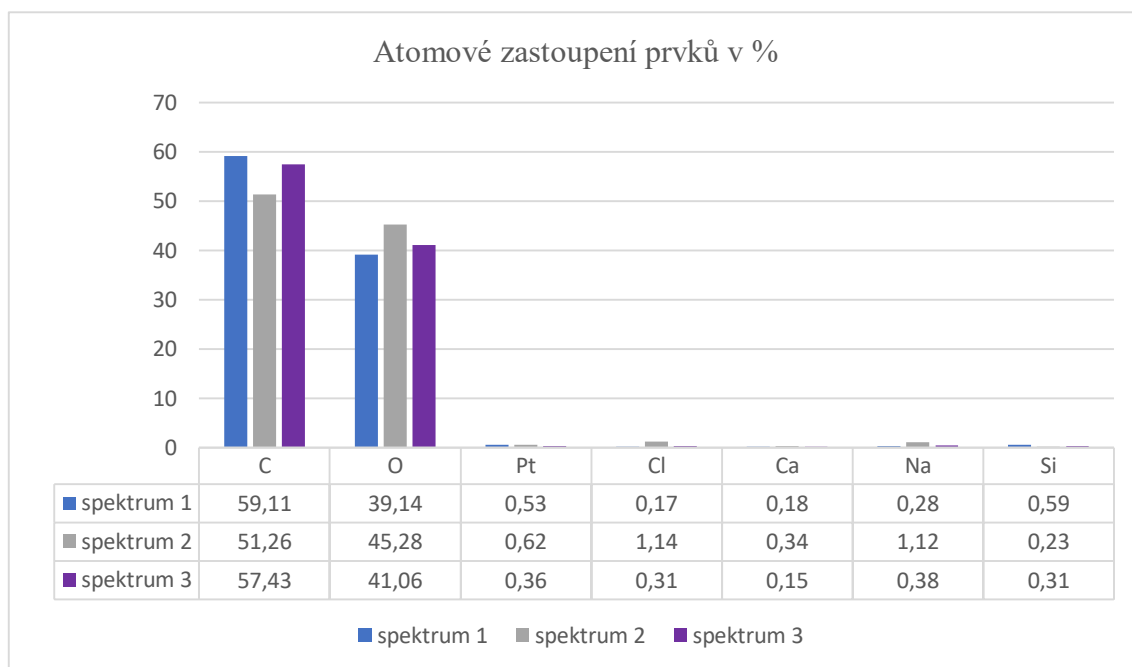
Obrázek 37- Vlákna mikroplastů se spektry

Ve vzorku odpadní vody z aktivační nádrže bylo nalezeno celkem 9 vláknitých mikroplastů a 2 fragmenty. Nalezené částice reprezentují 3 vlákna na obrázku 37. Všechna vykazovala známky rozpadu, byla roztržená a zvlněná. Podkladovým materiálem byla vlákna skleněných filtrů (s majoritním prvkem křemíkem) a povlak kalu.

Graf 4 je kontrolním hlediskem pro určení, zda se o MP jedná, nebo nikoli. Z grafu je patrné, že vybraná vlákna jsou tvořena především kyslíkem a uhlíkem, tudíž lze částice považovat za plastové.

3.3.3.4 Nátok do dosazovacích nádrží

V dosazovacích nádržích dochází k separaci vyčištěné odpadní vody od aktivního kalu, ten je odváděn mamutkovým čerpadlem zpět do aktivační nádrže a oddělená vyčištěná odpadní voda je připravena opustit prostory ČOV.



Graf 5- Atomové zastoupení prvků ve vláknech mikroplastů



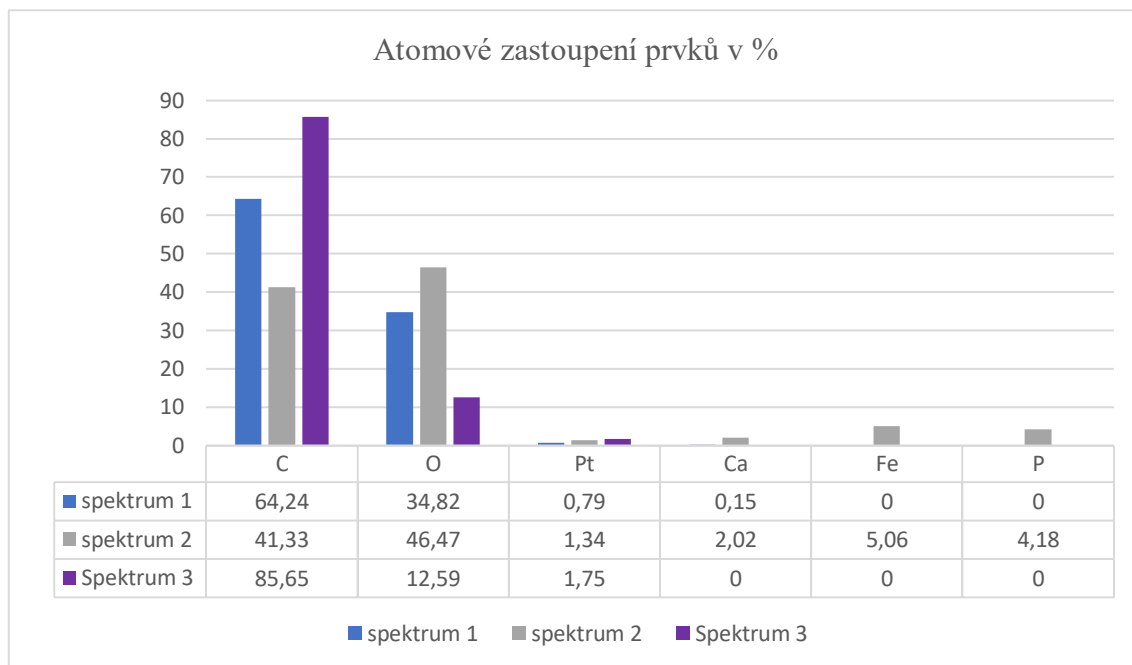
Obrázek 38- Vlákna mikroplastů se spektry

Ve vzorku z dosazovacích nádrží byly nalezeny pouze vláknité mikroplasty (viz obrázek 38). Některá vlákna byla obtížně viditelná pod vrstvou kalu a jiná byla značně rozměrná a roztřepená.

Prvkové složení bylo rozmanitější než u ostatních vzorků, avšak stále převažoval uhlík s kyslíkem, které byly doplněné platinou (viz graf 5). Křemík byl pravděpodobně signálem skleněných filtrů, přes které byla voda filtrována. Chlor, vápník a sodík se v odpadních vodách obvykle vyskytují.

3.3.3.5 Odtok z ČOV

Odtoková oblast je místem, kde odpadní voda, která absolvovala celý proces čištění, opouští prostory ČOV a je směřována do řeky Sázavy. Měla by být čistá, bez nečistot a známek nechtěného zbarvení a znečištění.



Graf 6- Atomové zastoupení prvků v mikroplastech



Obrázek 39- Částice mikroplastů se spektry

Mezi zástupce mikroplastů, nalezených v odtokové části, byly vybrány 3 typy podle tvaru. Jednalo se o vlákno, fragment a kulovitý mikroplast (viz obrázek 39).

Graf 6 doplňuje příznačný vzhled atomovým zastoupením prvků nacházejících se ve vybrané oblasti (označena barevným čtvercem). U všech tří vybraných částic převažoval uhlík s kyslíkem a v malém množství obsahovaly také platinu. Pouze kulovitý mikroplast byl dále doplněn ještě o železo a fosfor.

3.3.4 Plastové částice v druhém odběru

Množství MP částic v druhém odběru bylo pravděpodobně podpořeno vypouštěním odpadní vody z barvicí linky firmy Pleas a.s., která se zaměřuje na výrobu dámského, pánského i dětského prádla. V době odběru na ČOV přitékalo velké množství červené odpadní vody, ve které se pravděpodobně nacházela syntetická vlákna z barveného oblečení.

Využity byly pouze polyethylenové filtry a nebyla aplikována opakovaná filtrace. Částice MP byly velmi dobře viditelné a také identifikovatelné i přes malou vrstvu kalu.

Svrchní část obsahovala 77 vláken a 5 fragmentů. V prostřední části bylo nalezeno 65 vláknitých MP a 3 fragmenty. Více MP bylo nalezeno ve svrchní části, ale rozdíl byl pouhých 12 vláken, tudíž nelze stanovit, že vlákna byla pouze z lehčích materiálů a nacházela se u hladiny. Z celkových 12 litrů odebrané odpadní vody bylo využito pouze 10 litrů a nejvíce znečištěné 2 litry vody ze dna nebyly dále analyzovány. V 10 litrech odpadní vody bylo nalezeno celkem 150 mikroplastových částic, z toho 142 vláken a 8 fragmentů.

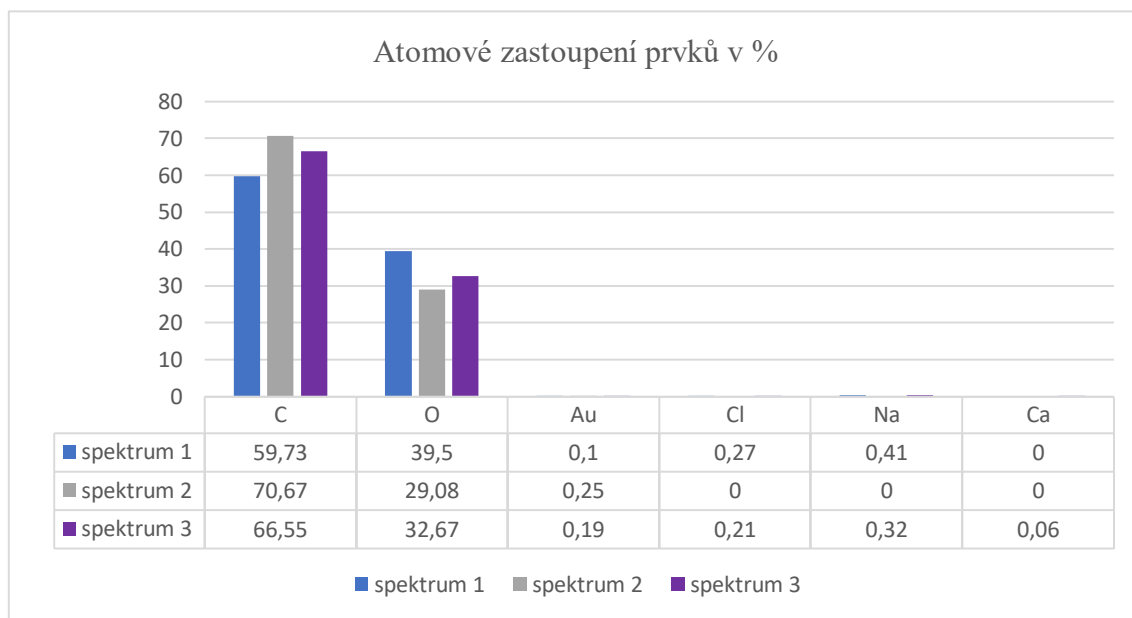
Za jeden den proteče čistírnou odpadních vod 11 500 m³ vody. Po přepočítání nalezených mikroplastů na množství odpadní vody, která proteče ČOV za den, se uvolní do řeky Sázavy 172 500 000 částic mikroplastů. Za rok je to neuvěřitelných 6,3x10¹⁰ částic.

Tabulka 5- Počty mikroplastů v jednotlivých částech druhého odběru

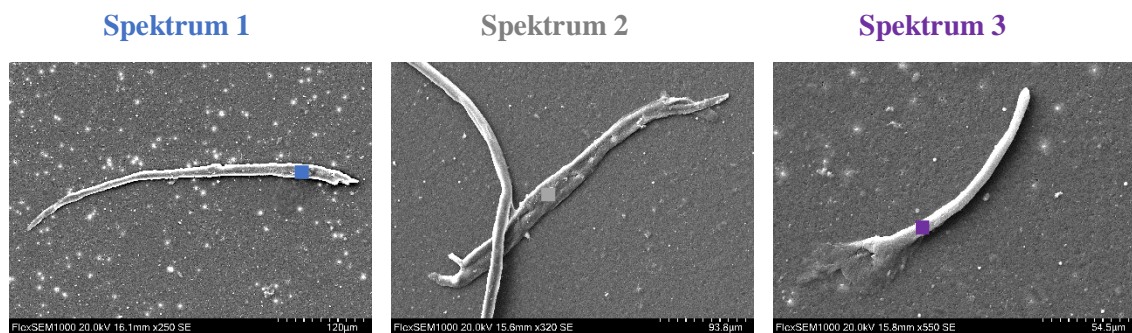
Druh vzorku	Počet a typ mikroplastových částic
Svrchní část – první 3 l	46 vláken, 2 fragmenty
Svrchní část – druhé 3 l	31 vláken, 3 fragmenty
Prostřední část – prvních 2,5 l	31 vláken, 1 fragment
Prostřední část – druhých 2,5 l	34 vláken, 2 fragmenty

3.3.4.1 Svrchní část

Svrchní množství vody (ze vzorků odebraných ve druhém odběru) bylo tvořeno 6 litry vyčištěné odpadní vody. V tomto množství vody bylo nalezeno 77 vláknitých mikroplastů a 5 mikroplastových částic spadajících do kategorie fragmentů. U všech těchto zástupců byla provedena EDS analýza, aby byl plastový původ potvrzen.



Graf 7- Atomové zastoupení prvků ve vláknech mikroplastů

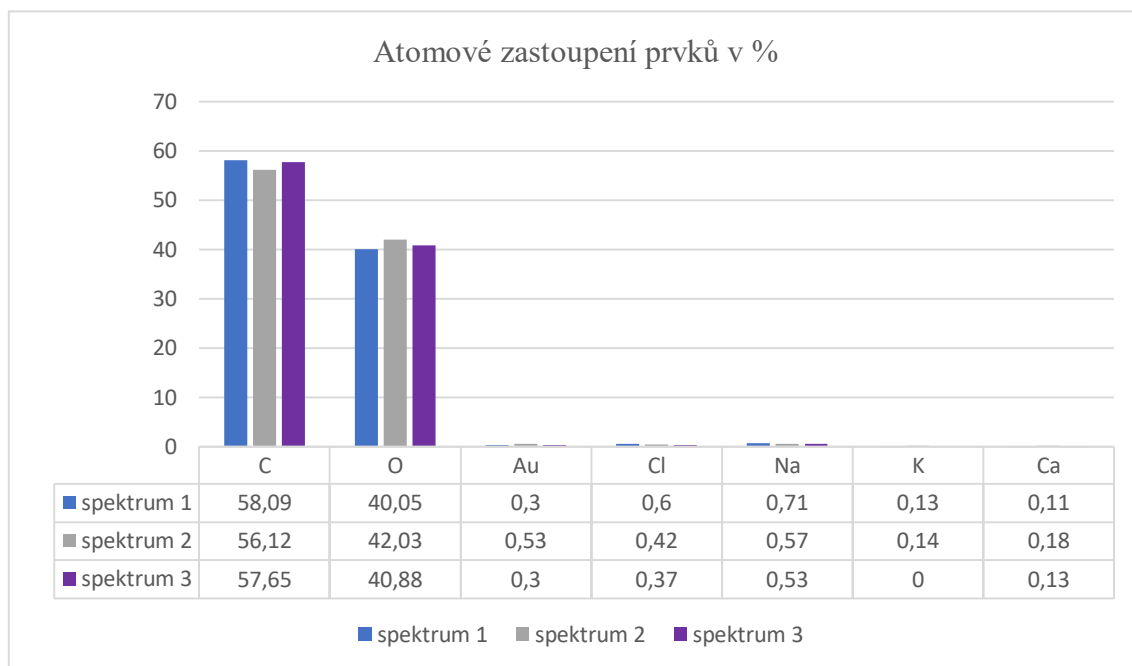


Obrázek 40- Vlákna mikroplastů se spektry

Obrázek 40 prezentuje zástupce vláknitých MP, které byly nalezeny ve svrchní vrstvě odebrané vody. Jejich EDS analýzu zobrazuje graf 7. Zastoupení jednotlivých prvků je shodné s nalezeným materiálem z prvního odběru, kde zřetelně převažuje uhlík s kyslíkem a nízké hodnoty zastupuje zlato, chlor, sodík a vápník. Vodivost vzorku byla zajištěna naprášením zlatem. Vzorek označený spektrum 2 jako jediný ze zástupců obsahoval pouze uhlík, kyslík a zlato.

3.3.4.2 Prostřední vrstva vody v odebraných vzorcích

Střední vrstvu tvořilo 5 l vyčištěné odpadní vody. V tomto množství vody se vyskytovalo celkem 68 mikroplastů, z toho 65 vláken a 3 fragmenty. Každá částice byla analyzována a výsledky doplněny vizuální kontrolou stavu vláken a fragmentů, aby u nich mohl být plastový původ potvrzen.



Graf 8- Atomové zastoupení prvků ve vláknech mikroplastů



Obrázek 41- Vlákna mikroplastů se spektry

Graf 8 poukazuje na prvkové zastoupení vybraných mikroplastů. Z grafu je vidět zřetelně patrný rozdíl mezi hlavními a minoritními prvky, které tvoří zvolenou částici. Většinový podíl měl uhlík s kyslíkem a v menším množství se objevoval chlor, sodík, draslík a vápník. Vzorek byl uveden k vodivosti zlatem.

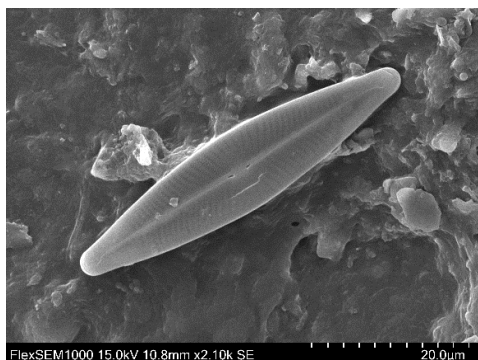
Na obrázku 41 jsou zobrazena mikroplastová vlákna s vyznačenou oblastí, kde byla stanovena EDS analýza

3.4 Neplastový materiál

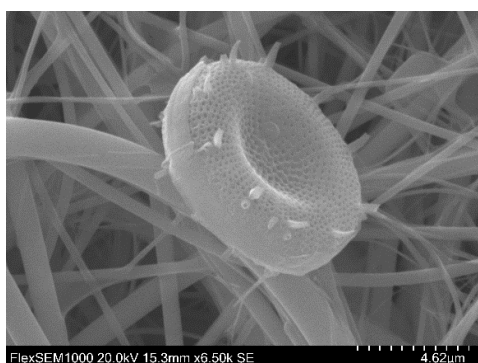
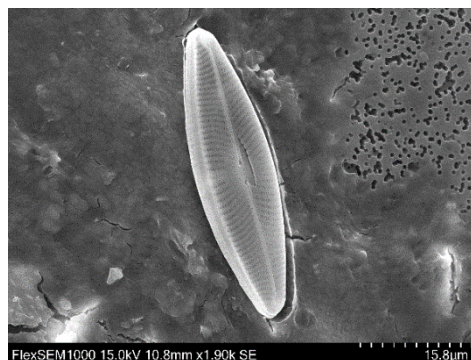
V odpadních vodách byla nalezena spousta dalších zajímavých útvarů neplastového charakteru, lze mezi ně zařadit rozsivky, vápenaté krystaly a zrnka písku.

Rosivky

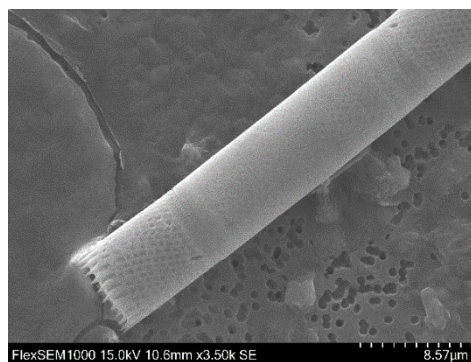
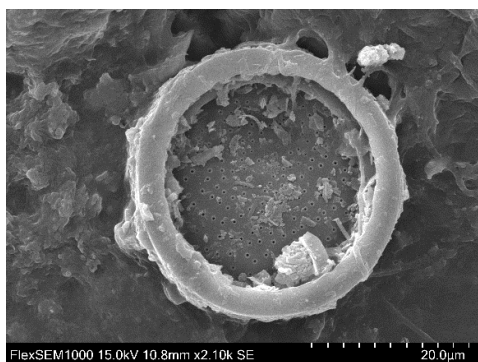
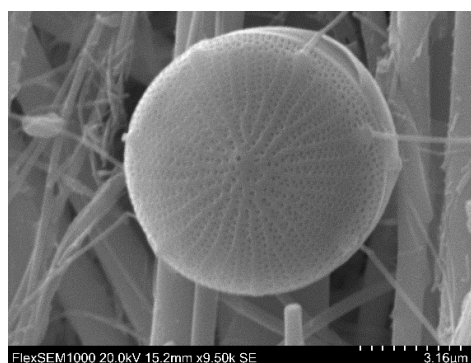
Rosivky jsou velmi běžnými nálezy ve fyto-bentosu eutrofních i mesotrofních odpadních vod, nejčastěji je možné pozorovat rody *Navicula*, *Synedra*, *Nitzschia* a *Cyclotella* (Váňa, Mlejnská & Havel, 2013).



Obrázek 42- *Navicula* cf. *lanceolata*



Obrázek 43- *Stephanodiscus* cf. *hantzschii*



Obrázek 44- *Actinocyclus* cf. *normanii* a *Aulacoseira* *ambigua*

Neurčeno

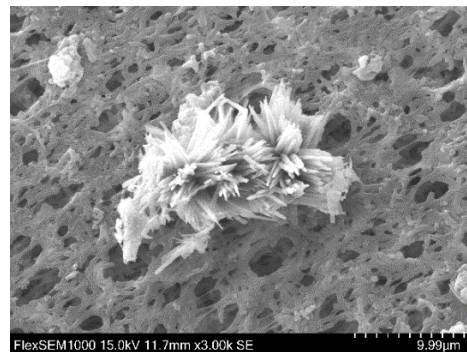
Tato struktura byla v odpadních vodách nacházena velmi často a pravděpodobně by se mohlo jednat o vajíčko vodního hmyzu, nebo krytenku rodu *Nebella*.



Obrázek 45- Neurčeno

Krystaly

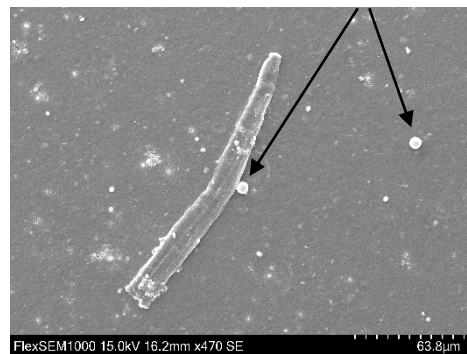
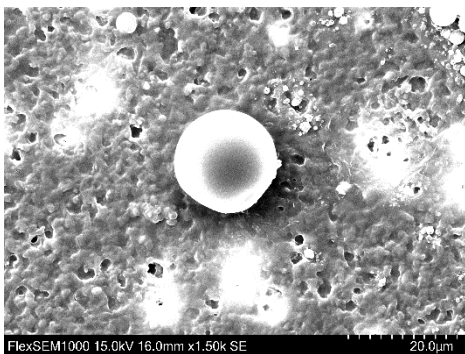
V kontrolních vzorcích vody odebrané na univerzitě byly nalezeny krystalky vápníku. Jedná se o prvek, který je přirozeně součástí všech druhů vod a určuje její tvrdost.



Obrázek 46- Krystaly vápníku

Zrnka písku

Ve vzorkách vody z druhého odběru byl objeven nespočet malých kulovitých útvarů, u kterých EDS analýza stanovila majoritní množství křemíku a kyslíku.



Obrázek 47- Zrna písku

4 Diskuze

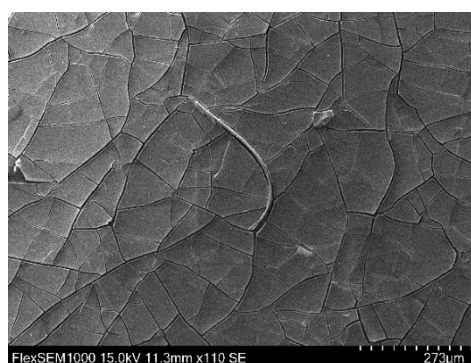
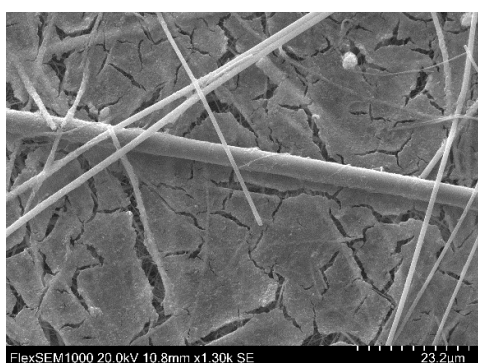
V průběhu praktické části bylo zaznamenáno několik nedostatků a komplikací, kterým by bylo vhodné se v příštích výzkumech zaměřených na filtraci odpadní vody s možností nálezu mikroplastových částic vyhnout. Překážky se objevily především při zpracování prvního odběru odpadní vody a to ve formě špatně vybraných filtrů. Dalším problémem byl výskyt kalu, který nebyl žádným způsobem z vody odstraněn, a tak komplikoval vyhledávání a následnou identifikaci nalezených částic.

První odběr

V nočních hodinách před prvním odběrem došlo k silným přivalovým srážkám a čistírnou proteklo velké množství srážkové vody spolu s odpadní vodou k vyčištění. Mikroplastové částice byly tím pádem ve velkém objemu zředěné a bylo by potřeba většího množství vody, aby byly nalezeny ve větším počtu.

Odpadní voda odebraná v prvním odběru byla také filtrována přes skleněné filtry, které nejsou vhodné pro opakovanou filtraci (viz filtry).

Svrchních 400 ml odpadní vody z přítoku, oblasti za česlemi, nátoky na aktivaci a také z dosazovacích nádrží obsahovalo větší množství kalu. Ten pokryl celou plochu filtru a vlivem vysušení popraskal. Některé částice se zachytily na jeho povrchu, jiné se ukryly pod vrstvou kalu. Z tohoto důvodu nemohly být mikroplasty nalezeny pozorováním v SEM ani EDS analýzou.



Obrázek 48- Vrstva kalu na filtru

Na obrázku číslo 48 vlevo je použit skleněný filtr a vlákna vyčnívající z vrstvy kalu jsou skleněného původu. Pravá část obrázku 48 prezentuje vrstvu kalu na polyethylenovém filtru se skleněným vláknem.

Druhý odběr

Prvním odběrem a jeho zpracováním byl celý proces vyzkoušen a objevené nedostatky se spoustou negativních okolností byly u druhého odběru eliminovány. K filtraci byly mimo jiné použity polyethylenové filtry a bez opakované filtrace.

Vyšší počty mikroplastů ve druhém odběru byly pravděpodobně objeveny z několika důvodů. Odebrala se pouze vyčištěná odpadní voda, která byla dále rozdělena na 3 vrstvy z hlediska znečištění. Spodní část s drobnými nečistotami nebyla dále využita, protože by pokryla filtr kalem, ve kterém by MP nebyly viditelné. V době odběru přitékalo na ČOV značné množství průmyslové odpadní vody z firmy Pleas a.s. a voda byla obohacena o syntetická vlákna, kterých bylo pomocí SEM a EDS analýzy potvrzeno o mnoho více než v prvním odběru.

Filtry

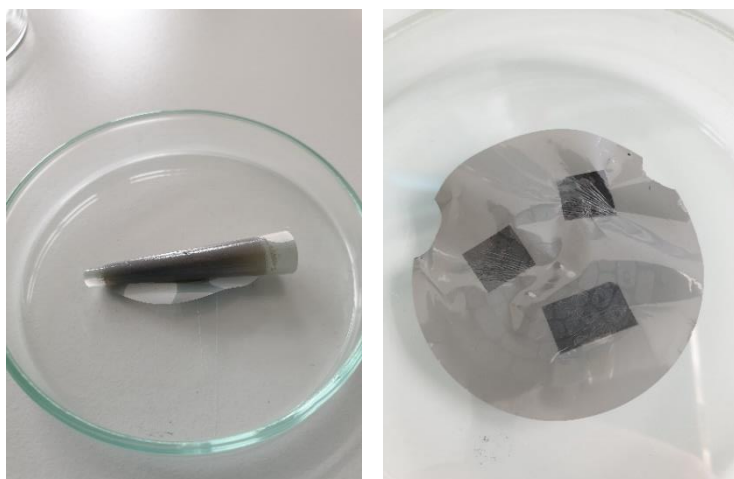
Na vakuovou filtraci jsou potřeba membránové filtry, které zachytí mimo jiné i mikroplastové částice a podle definice MP musí mít velikost pórů menší než 5 mm. K dispozici jsme měli několik druhů filtrů. Ve zkoušce byly vybrány dva druhy filtrů z důvodu dobré propustnosti znečištěné vody a vhodné velikosti pórů. Jednalo se o filtr ze skleněných vláken a polyethylenový filtr.

Skleněné filtry jsou tvořeny vlákny připomínající vlákna plastová, a tudíž se od nich v elektronovém mikroskopu špatně rozeznávají. Další negativní vlastností je jejich uvolňování do přefiltrovaného materiálu. Odpadní voda byla nejdříve filtrována přes skleněný filtr a poté přes polyethylenový filtr, na kterém bylo ve všech takto provedených vzorcích zachyceno velké množství vláken. Ta byla pak chybně identifikována a považována za vlákna plastová. Skleněný filtr tak způsobil falešný pozitivní nález.



Obrázek 49- Skleněná vlákna a polyethylenovém filtru

Další variantou byly filtry **polyethylenové**, které se využívají spíše k filtraci prachových částic a aerosolů. Nevhodné jsou z důvodu špatné manipulace. Při vysoušení v Petriho misce se filtr krabal a roloval (viz obrázek 50), následná manipulace s ním byla velmi obtížná, nedal se narovnat a musel se přidržovat pomocí malých magnetů. Při vkládání do elektronového mikroskopu se s filtry pracuje pomocí pinzety, na kterou se tento filtr „lepil“ a nebylo možné ho položit na stolek v naprašovací komoře. Stejně problémy působil při vyndávání z naprašovací komory a umístování na stolek do SEM. Další překážkou bylo přidržení PE filtru pomocí uhlíkové pásky, kterou se vzorek umísťuje na stolek SEM (páska také zajišťuje vodivé spojení). Pásku nebylo možné po pozorování z filtru odstranit, při všech pokusech se kousek filtru odtrhl a byl tak poškozen (viz obrázek 50). Značné komplikace způsoboval také přímo při pozorování v SEM, kdy bylo nutné sledovat velikost zvětšení a intenzitu elektronů, které na vzorek dopadají, protože mohou preparát ničit a propalovat. Tato komplikace nastala během pozorování několikrát.



Obrázek 50- Zkrabacený a utržený PE filtr

I přes všechny výše popsané nedostatky byly nakonec ze všech vyzkoušených filtrů polyethylenové filtry zhodnoceny jako nejvhodnější, protože na nich byl hledaný materiál při pozorování v SEM velmi dobře rozlišitelný.

Pro první pokus vakuové filtrace byly použity filtry **teflonové**, u kterých filtrace probíhala velmi pomalu až skoro vůbec. Vyzkoušeny byly dva druhy filtrů lišící se póry, jeden měl hodnotu 0,45 μm a druhý 0,20 μm . Jako první byl použit filtr s menší velikostí pórů, do nálevky o objemu 500 ml bylo dodáno 200 ml vycištěné odpadní vody k přefiltrování. Tlak vývěvy byl po celou dobu 300 mbar a za 90 minut filtrace bylo přefiltrováno pouze

10 ml. Z časového hlediska byl vyzkoušen filtr s větší velikostí pórů, nálevka obsahovala také 200 ml vyčištěné odpadní vody a po 90 minutách při tlaku 300 mbar bylo přefiltrováno 40 ml vody. I tato varianta byla z časového důvodu ukončena, použité filtry byly vysušeny v exsikátoru a podrobeny metodě SEM. Žádné MP nalezeny nebyly.

Porovnání s jinými dostupnými výsledky

V současnosti existuje stále málo studií, které by se zabývaly mikroplastovými částicemi v odpadních vodách nebo těch, které by se věnovaly účinnosti čistíren na odstranění těchto částic.

Browne & al., (2011) uskutečnili výzkumy ve dvou australských čistírnách odpadních vod, které využívají terciální čištění. Ve vzorcích jednoho litru odpadní vody byla v průměru nalezena 1 MP částice. V Holandsku (Leslie, van Velzen & Vethaak, 2013) realizovali studie odpadní vody s mikroplasty ve třech ČOV a našli 55 mikroplastů na 1 litr odpadní vody. Největší množství částic mikroplastového původu bylo nalezeno v německé městské čistírně. Jednalo se o 81 různých druhů MP částic na litr vody. Nejvíce zastoupeny byly granule, vlákna a fragmenty (Dubaiš & Liebezeit, 2013). Leslie & al., (2012) zkoumali v Nizozemsku účinnost čistících procesů na ČOV, a tak odebrali odpadní vodu na přítoku i odtoku. V odebrané odpadní vodě bylo pozorováno 200 mikroplastových částic na litr vody na přítoku a 20 MP částic na litr vody z odtoku. Účinnost ČOV byla stanovena na 90 %. Mintenig & al. (2014) provedli komplexnější studii pro 12 německých ČOV a zjistil 0,08-8,9 MP na litr odpadní vody z odtoku.

Závěr

Výzkumy o existenci mikroplastových částic jsou realizovány až v posledních několika letech a dosud není k dispozici dostatek informací, ze kterých by bylo možné stanovit důsledky jejich vlivu na životní prostředí a zdraví žijících organismů. Mikroplastová kontaminace je globální záležitostí a je způsobena nadměrnou produkcí plastových materiálů, které lidé využívají každý den. Náklady na jejich odstraňování ze životního prostředí by byly neúnosné. Je nutné specializovat se spíše na prevenci předcházení vzniku plastového odpadu, správnou likvidaci a omezené využívání plastových i mikroplastových částic.

Teoretická část práce byla zaměřena na literární rešerši problematiky čištění odpadních vod a popisu jednotlivých částí čistírny odpadních vod. Důležitou kapitolou jsou mikroplasty, jejich popis, způsoby vzniku a jejich vlivy na ekosystémy. Jsou zde uvedeny také analytické metody, které se využívají k hodnocení původu zkoumaných částic.

V metodické části je charakterizována Čistírna odpadních vod Havlíčkův Brod a detailněji popsány dva odběry odpadní vody, ze které byly metodou vakuové filtrace získávány mikroplasty. První odběr byl uskutečněn v pěti čistících procesech, druhý v místě odtoku vyčištěné odpadní vody do recipientu. Nalezené mikroplastové částice byly podrobněji zkoumány skenovacím elektronovým mikroskopem a plastový původ byl potvrzen elektronově disperzní spektrometrií.

Cílem práce bylo zpracovat přehled o problematice, která byla během výzkumu využívána. Seznámit se s laboratorními technikami potřebnými k vakuové filtraci a práci v laboratoři, osvojit si manipulaci s elektronovým mikroskopem a naučit se ovládat používání EDS analýzy. Hlavním cílem práce bylo nalézt mikroplastové částice v odpadních vodách, které protékají Čistírnou odpadních vod Havlíčkův Brod. Ve všech vytvořených vzorcích jak z jednotlivých fází čistícího procesu, tak i z odtokové části, byly mikroplastové částice nalezeny. V 10 litrech odebrané odpadní vody z odtokové oblasti bylo nalezeno 150 mikroplastových částic. Za jeden den proteče čistírnou 11 500 m³ vody a do řeky Sázavy se vypustí 172 500 000 mikroplastových částic. Pokud by byla udržována tato koncentrace mikroplastových částic celý rok, do recipientu se uvolní $6,3 \times 10^{10}$ mikroplastových částic.

Vyčištěná odpadní voda byla na vyhodnocování vhodnější, protože neobsahovala kal ani velké množství nečistot, které by bránily pozorování a zakrývaly by mikroplastové částice. Ve vzorcích, které obsahovaly kal, byla vlákna hledána obtížněji a EDS analýzou často nebyl plastový původ potvrzen (z důvodu pokrytí částic sedimentem).

Mikroplastové částice jsou relativně novým podnětem k výzkumům. Vědecká sféra se mikroplastovými částicemi zabývá pouze krátkodobě a dosud nebylo zjištěno dostatek informací, které by zodpověděly předložené otázky. Je nutné se problematikou mikroplastových částice zabývat podrobněji a zkoumat nová a nová rizika pro životní prostředí a vlivy na zdraví organismů. K získání nových údajů by pomohlo více výzkumů, které by mikroplastové částice zkoumaly nejen v oceánech, ale také v pitných i odpadních vodách, půdě i ovzduší.

Je důležité se zamyslet nad odpadní vodou jako potenciálním znečišťovatelem řek a vodních systémů, které jsou transportním prostředím mikroplastů do moří a oceánů. Bylo by vhodné zakomponovat do procesů čištění odpadních vod zařízení, které by mikroplastové částice zachytávalo a voda proudící do recipientu by byla od mikroplastů vyčištěna. Klíčové je také uvědomit si, že dochází k produkci velkého množství jednorázových plastových výrobků a dalších podobných materiálů, které nejsou k životu důležité, a bylo by možné je nahradit alternativou, která nebude tak velkým rizikem pro životní prostředí.

Citovaná literatura

Anderson, J., Park, B. & Palace, V., 2016. Microplastics in aquatic environments: Implications for Canadian ecosystems. *Elsevier*. [Online] 2016. [Citace: 6. února 2021.] <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0269749116305620#!>.

Andrady, A. & Neal, M., 2009. Applications and societal benefits of plastics. *The Royal Society Publishing*. [Online] 2009. [Citace: 31. ledna 2021.] <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rstb.2008.0304>.

Barnes, D. & al., 2009. Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. [Online] 2009. [Citace: 29. ledna 2021.] <https://royalsocietypublishing.org/doi/abs/10.1098/rstb.2008.0205>.

Bindzar, J. & kolektiv., 2009. *Základy úpravy a čištění vod*. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2009. str. 251. ISBN 978-80-7080-729-3.

Browne, M. & al., 2011. Accumulation of Microplastic on Shorelines Worldwide: Sources and Sinks. *ACS Publications*. [Online] 2011. [Citace: 26. listopadu 2020.] <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es201811s>.

Cais, J., 2015. *Elektronová mikroskopie. Metalografie*. Praha: Centrum pro studium vysokého školství, 2015. str. 28. ISBN 978-80-86302-67-6.

Dienstbier, Z., 1982. *Lékařská biofyzika*. Praha: Avicenum, 1982. str. 258.

Dohányos, M., Koller, J. & Strnadová, N., 1998. *Čištění odpadních vod*. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 1998. str. 177. ISBN 80-7080-316-9.

Dubaish, F. & Liebezeit, G., 2013. Suspended Microplastics and Black Carbon Particles in the Jade System, Southern North Sea. *Springer Link*. [Online] 2013. [Citace: 18. dubna 2021.] <https://link.springer.com/article/10.1007/s11270-012-1352-9#citeas>.

Duis, K. & Coors, A., 2016. Microplastic in the aquatic and terrestrial environment: sources (with a specific focus on personal care products), fate and effects. *SpringerOpen*. [Online] 2016. [Citace: 26. listopadu 2020.] <https://doi.org/10.1186/s12302-015-0069-y>.

Gasperi, J. & al., 2018. Microplastics in air: Are we breathing it in? *ScienceDirect*. [Online] 2018. [Citace: 20. dubna 2021.] <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2468584417300119>.

Herle, J. & Bareš, P., 1990. *Čištění odpadní vod z malých zdrojů znečištění*. Praha: Nakladatelství technické literatury, 1990. str. 208. ISBN 80-03-00587

Hicks, P. & Wittkamp, B., 2020. Ramanova spektroskopie, Hlubší pochopení chemických reakcí. *Mettler Toledo*. [Online] 2020. [Citace: 2. února 2021.] https://www.mt.com/cz/cs/home/applications/L1_AutoChem_Applications/Raman-Spectroscopy.html.

Hlavínek, P., 1997. Kalové hospodářství čištění odpadních vod. [autor knihy] Jiří Wanner a Petr Hlavínek. *Moderní trendy v čištění odpadních vod*. Brno : Vydavatelství VUT FAST ÚVHO, 1997, stránky 119-130.

Hlavínek, P., Mičín, J. & Prax, P., 2003. *Stokování a čištění odpadních vod*. Brno: Vydavatelství VUT, 2003. str. 283. ISBN 80-214-2535-0.

Hoffman, P. & Novák, V., 1997. *Zpracování exhalací a odpadu*. Praha : Vydavatelství ČVUT, 1997. str. 124. ISBN 80-01-01697-8.

Imhof, H. & al., 2013. Contamination of beach sediments of a subalpine lake with microplastic particles. *Current Biology*. [Online] 2013. [Citace: 26. listopadu 2020.] [https://www.cell.com/current-biology/fulltext/S0960-9822\(13\)01108-1?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0960982213011081%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/current-biology/fulltext/S0960-9822(13)01108-1?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0960982213011081%3Fshowall%3Dtrue).

Jäger, A. & Gärtnerová, V., 2017. Elektronovým mikroskopem do nitra materiálů aneb jak vypadá jejich struktura. *FZU*. [Online] 2017. [Citace: 26. ledna 2021.] <https://www.fzu.cz/aktuality/elektronovym-mikroskopem-do-nitra-materialu-aneb-jak-vypada-jejich-struktura>.

Kočárek, E., Pánek, M. & Novotná, D., 2010. *Klinická cytogenetika I*. Praha: Karolinum, 2010. str. 136. ISBN 80-246-1069-8.

Kropáček, I., 2018. Alenka v říši obalů. [editor] Vít Kouřil. *Sedmá generace - společensko-ekologický časopis*. leden 2018, stránky 6-8.

Leslie, A. & al., 2012. Verkennende studie naar lozing van microplastics door. *Springer Open*. [Online] 2012. [Citace: 18. dubna 2021.] <https://enveurope.springeropen.com/articles/10.1186/s12302-015-0069-y#ref-CR89>.

Leslie, A., van Velzen, M. & Vethaak, D., 2013. Microplastic survey of the Dutch environment. Novel data set of microplastics in North Sea sediments, treated wastewater effluents and marine biota. *Springer Open*. [Online] 2013. [Citace: 18. dubna 2021.] <https://enveurope.springeropen.com/articles/10.1186/s12302-015-0069-y#Sec12>.

Malý, J., 1997. *Kvalita městských odpadních vod, moderní trendy v čištění odpadních vod*. Brno: Ústav vodního hospodářství, 1997.

Mason, S. & al., 2016. Microplastic pollution is widely detected in US municipal wastewater treatment plant effluent. *Elsevier*. [Online] 2016. [Citace: 31. ledna 2021.] https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0269749116309629?casa_token=ThL_HCCJ0RQAAAAA:y3-apbEjSr8IXIZfqy3xgwl-rdl7FRc09k1LUujie15VV-4KGiv-mi8jNYTilONPmCFjespn3yk#bib10.

Mintenig, S. & al., 2014. Mikroplastik in ausgewählten Kläranlagen des Oldenburgisch-Ostfriesischen Wasserverbandes (OOWV) in Niedersachsen. *EPIC. awi.de*. [Online] 2014. [Citace: 18. dubna 2021.] <https://epic.awi.de/id/eprint/40436/>.

Navrátil, L., Rosina, J. & kolektiv., 2005. *Medicínská biofyzika*. Praha : Grada, 2005. str. 524. ISBN 978-80-247-1152-2.

Nebesářová, J., 2001. Elektronová mikroskopie pro biology. [Online] 2001. [Citace: 26. ledna 2021.] <http://triton.paru.cas.cz/old-lem/book/>.

Pivokonsky, M. & al., 2018. Occurrence of microplastics in raw and treated drinking water. *Elsevier*. [Online] 2018. [Citace: 26. listopadu 2020.] <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.102>.

Pošta, J. & kolektiv., 2005. *Čistírny odpadní vod*. Praha: Česká zemědělská univerzita, technická fakulta, 2005. str. 208. ISBN 80-213-1366-8.

Qinglan, L. & al., 2019. Separation and identification of microplastics from soil and sewage. *Elsevier*. [Online] 2019. [Citace: 18. dubna 2021.] <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0269749119318068>.

Renner, G., Schmidt, T. & Schram, J., 2017. Analytical methodologies for monitoring micro(nano)plastics: Which are fit for purpose? *Elsevier*. [Online] 2017. [Citace: 8. února 2021.]

https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2468584417300260?casa_token=ftwHao9IV9YAAAAA:wMZONOrqS8dBYjTI6k_KTL0DQT0jJJWP9z1H15O60oSm2_CexC8SAjMubsLPATZavKw2mVioIIA#!.

Silva, A. & al., 2018. Microplastics in the environment: Challenges in analytical chemistry - A review. *Elsevier*. [Online] 2018. [Citace: 5. února 2021.] https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0003267018302587?casa_token=fSrgvTkrGOkAAAAA:wUPRdpeGIBTZsrluty1qV9AfKRHfMsEI15m5LtHAS6R9MTrOYFXgyy-bK5qqKLIRUuE2vxABdLo.

Sojka, J., 2013. *Čistírny odpadních vod*. Praha: Grada Publishing, a.s, 2013. str. 96. ISBN 978-80-247-4504-6.

Soldatova, A., 2020. Z evropských fondů šlo na snížení znečištění vod 67 miliard. *Odpady*. srpen 2020, stránky 4-5.

Švehla, P., Tlustoš, P. & Balík, J., 2007. *Odpadní vody*. Praha: Česká zemědělská univerzita, 2007. str. 107. ISBN 80- 213-1716-1.

Talvitie, J. & al., 2017. How well is microlitter purified from wastewater? – A detailed study on the stepwise removal of microlitter in a tertiary level wastewater treatment plant. *ScienceDirect*. [Online] 2017. [Citace: 20. dubna 2021.] <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0043135416308971>.

Teuten, E. & al., 2009. Transport and release of chemicals from plastic to the environment and to wildlife. *The royal cosiety publishing*. [Online] 2009. [Citace: 29. ledna 2021.] <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rstb.2008.0284>.

Thomas, D. & al., 2020. Sample Preparation Techniques for the Analysis of Microplastics in Soil—A Review. *MDPI*. [Online] dubna. 2021 2020. <https://www.mdpi.com/2071-1050/12/21/9074>.

Váňa, M., Mlejnská, E. & Havel, L., 2013. Vliv vypuštěných vyčištěných odpadních vod z kořenových čistíren na recipient. *Vodohospodářské technicko-ekonomické informace*. leden 2013, stránky 1-5.

Vojtěchová, S., 2018. Vítejte v plastocénu. [editor] Vít Kouřil. *Sedmá generace*. leden 2018, stránky 9-11.

Wagner, M. & kolektiv., 2014. Microplastic in freshwater ecosystems: what we know and what we need to know. *SpringerOpen*. [Online] 2014. [Citace: 26. listopad 2020.] <https://doi.org/10.1186/s12302-014-0012-7>.

Seznam obrázků

Všechn obrázkový materiál použitý v bakalářské práci je vlastním zdrojem autorky.

Obrázek 1- Hrubé a jemné česle	16
Obrázek 2- Usazovací nádrž	18
Obrázek 3- Aktivační nádrž	21
Obrázek 4- Dosazovací nádrž	22
Obrázek 5- Zahušťovací nádrže	25
Obrázek 6- Plynojem	28
Obrázek 7- Mikroplasty v odpadních vodách	30
Obrázek 8- Vznik sekundárních mikroplastů v půdě	33
Obrázek 9- Skenovací elektronový mikroskop	37
Obrázek 10- Naprašovač kovů a naprašované vzorky	38
Obrázek 11- Ramanův spektroskop	40
Obrázek 12- Schéma ČOV Havlíčkův Brod	43
Obrázek 13- Vzorky odpadní vody	44
Obrázek 14- Vzorky z mechanické fáze čištění	45
Obrázek 15- Vzorky z biologické fáze čištění	46
Obrázek 16- Vzorek průmyslové odpadní vody	46
Obrázek 17- Vzorky odpaní vody	47
Obrázek 18- Vakuová filtrační aparatura	48
Obrázek 19- Skleněné a polyethylenové filtry	49
Obrázek 20- Připravené vzorky z dosazovacích nádrží a odtoku	53
Obrázek 21- Exsikátor a skladované vzorky	54
Obrázek 22- Skenovací elektronový mikroskop	55
Obrázek 23- Komponenty na přípravu vzorků	56
Obrázek 24- EDS analýza vzorku	56
Obrázek 25- Prázdny vzorek skleněného filtru	57
Obrázek 26- Prázdny polyethylenový filtr	58
Obrázek 27- Prázdny vzorek nitro-celulosového filtru	58
Obrázek 28- Prázdny vzorek nylonového filtru	59
Obrázek 29- Kontrolní vzorek kohoutkové vody načerpané pipetou	59
Obrázek 30- Kontrola velikosti mikroplastů	61

Obrázek 31- Roztřepená mikroplastová vlákna	61
Obrázek 32- Vlákna.....	62
Obrázek 33- Kulový mikroplast.....	62
Obrázek 34- Fragment.....	62
Obrázek 35- Vlákna mikroplastů se spektry	64
Obrázek 36- Vlákna mikroplastů se spektry	65
Obrázek 37- Vlákna mikroplastů se spektry	66
Obrázek 38- Vlákna mikroplastů se spektry	67
Obrázek 39- Částice mikroplastů se spektry.....	68
Obrázek 40- Vlákna mikroplastů se spektry.....	70
Obrázek 41- Vlákna mikroplastů se spektry.....	71
Obrázek 42- <i>Navicula cf. lanceolata</i>	72
Obrázek 43- <i>Stephanodiscus cf. hantzschii</i>	72
Obrázek 44- <i>Actinocyclus cf. normanii</i> a <i>Aulacoseira ambigua</i>	72
Obrázek 45- Neurčeno.....	73
Obrázek 46- Krystaly vápníku	73
Obrázek 47- Zrna písku	73
Obrázek 48- Vrstva kalu na filtru.....	74
Obrázek 49- Skleněná vlákna a polyethylenovém filtr	75
Obrázek 50- Zkrabacený a utržený PE filtr	76

Seznam tabulek

Tabulka 1- Srovnání jednotlivých filtrů při vakuové filtraci.....	49
Tabulka 2- Časové rozdíly filtrací.....	51
Tabulka 3- Časový rozdíl filtrací	52
Tabulka 4- Počty mikroplastů v jednotlivých částech prvního odběru	63
Tabulka 5- Počty mikroplastů v jednotlivých částech druhého odběru	69

Seznam grafů

Graf 1- Atomové zastoupení prvků z EDS analýzy	60
Graf 2- Atomové zastoupení prvků ve vláknech mikroplastů	64
Graf 3- Atomové zastoupení prvků ve vláknech mikroplastů	65
Graf 4- Atomové zastoupení prvků ve vláknech mikroplastů	66
Graf 5- Atomové zastoupení prvků ve vláknech mikroplastů	67
Graf 6- Atomové zastoupení prvků v mikroplastech	68
Graf 7- Atomové zastoupení prvků ve vláknech mikroplastů	70
Graf 8- Atomové zastoupení prvků ve vláknech mikroplastů	71

Seznam zkratek

Au	zlato
C	uhlík
Ca	vápník
Cl	chlor
ČOV	čistírna odpadních vod
DDT	dichlordifenyiltrichlorethan
EDS	elektronově disperzní spektrometr
K	draslík
MP	mikroplastová částice
Na	sodík
O	kyslík
PA	polyamid
PBC	polychlorované bifenyly
PE	polyethylen
PES	polyester
PP	polypropylen
PS	polystyren
Pt	platina
PVC	polyvinylchlorid
RTG	rentgenové záření
Si	křemík
SEM	skenovací elektronový mikroskop
TEM	transmisní elektronový mikroskop
VaK HB	vodovody a kanalizace Havlíčkův Brod