

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra analytické chemie



**Analýza mikroplastů ve vzorcích životního prostředí
a potravin metodami vibrační spektrometrie**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Autor:

Bc. Lenka Minaříková

Studijní obor:

Analytická chemie

Vedoucí práce:

doc. Ing. David Milde, Ph.D.

Olomouc 2022

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Souhlasím s tím, aby má práce byla zpřístupněna v knihovně Katedry analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci a v informačním systému Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci dne

.....

Podpis

Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení autora: Bc. Lenka Minaříková

Název práce: Analýza mikroplastů ve vzorcích životního prostředí a potravin metodami vibrační spektrometrie

Typ práce: Diplomová práce

Pracoviště: Katedra analytické chemie

Vedoucí práce: doc. Ing. David Milde, Ph.D.

Rok odevzdání práce: 2022

Anotace:

Mikroplasty jsou nejčastěji definovány jako plastové částice s velikostí v rozmezí 1 μm – 5 mm a jsou hojně rozšířeny napříč životním prostředím. Hlavní část této diplomové práce je zaměřena na analýzu mikroplastů ve vzorcích kalů z čistírny odpadních vod Olomouc – Nové Sady. Dále byly mikroplasty zkoumány ve vzorcích balených nápojů a kohoutkové vodě. K identifikaci mikroplastů byla zvolena metoda infračervené spektrometrie s Fourierovou transformací, konkrétně technika zeslabené totální reflexe. Pomocí optického mikroskopu byla provedena charakterizace mikroplastů a jejich rozdělení podle tvaru a barvy. Při úpravě vzorků kalů byly porovnávány různé metody rozkladu organického materiálu, a to prostřednictvím H_2O_2 za zvýšené teploty, H_2O_2 s přídavkem Fentonova činidla a NaOH za zvýšené teploty. Jako optimální se jevila metoda s použitím Fentonova činidla. Průměrné koncentrace mikroplastů ve vzorcích upravených touto metodou byly 1542 a 14 583 mikroplastů na kilogram vysušeného kalu. Separace mikroplastů byla provedena hustotní flotací, přičemž byla porovnávána účinnost solí NaCl a ZnCl_2 na extrakci mikroplastů. Při analýze balených nápojů byl zkoumán vliv venkovních podmínek (sluneční záření, teplo) a mrazu na uvolňování mikroplastů z obalů. Z celkem 38 vzorků balených nápojů byly mikroplasty objeveny u 10 z nich.

Klíčová slova: Mikroplasty, odpadní kaly, infračervená spektrometrie, ATR, balené nápoje

Počet stran: 71

Počet příloh: 0

Jazyk: Čeština

Bibliographical identification

Author's first name and surname: Bc. Lenka Minaříková

Title: Analysis of microplastics in environmental and food samples by vibrational spectrometry methods

Type of thesis: Master's

Department: Department of Analytical Chemistry

Supervisor: doc. Ing. David Milde, Ph.D.

The year of submission: 2022

Annotation:

Microplastics are mostly defined as plastic particles within sizes of 1 μm – 5 mm and their occurrence is spread across the environment. The main part of this master's thesis is focused on research of microplastics in samples of sewage sludge from wastewater treatment plant Olomouc – Nové Sady. Moreover, microplastics were analysed in samples of bottled beverages and tap water. Method of Fourier-transform infrared spectrometry, specifically attenuated total reflectance was chosen for identification of microplastics. The characterization and color and shape distribution of microplastics was performed using optical microscope. Three different procedures of organic matter removal for sewage sludge samples were investigated, including H_2O_2 at elevated temperature, H_2O_2 with Fenton's reagent addition and NaOH at elevated temperature. Procedure using Fenton's reagent seemed to be optimal for this application. The average concentrations of microplastics in samples treated with this method were 1542 and 14 583 microplastics per kilogram of dried sludge. Microplastics were separated using flotation and extraction efficiencies of NaCl and ZnCl_2 salts were compared. In bottled beverages analysis, the influence of external conditions (sunlight, heat) and freeze was examined.

Keywords: Microplastics, sewage sludge, infrared spectrometry, ATR, bottled beverages

Number of pages: 71

Number of appendices: 0

Language: Czech

Poděkování

Ráda bych tímto poděkovala svému vedoucímu diplomové práce doc. Ing. Davidu Mildemu, Ph.D. za jeho odborné vedení, cenné rady, ochotu a trpělivost při zpracovávání této diplomové práce. Poděkování také patří mé rodině a blízkým za jejich podporu po celou dobu mého studia.

Obsah

1. Úvod	1
2. Teoretická část	3
2.1. Plasty.....	3
2.1.1. Osud vyprodukovaných plastů	4
2.1.2. Aditiva přidávána do plastů.....	5
2.1.3. Plastové znečištění a jeho dopad na životní prostředí	6
2.1.4. Plastový odpad v oceánech	6
2.1.5. Degradace plastů	7
2.2. Mikroplasty	10
2.2.1. Zdroj a dělení mikroplastů.....	11
2.2.2. Osud mikroplastů.....	12
2.3. Výskyt mikroplastů.....	13
2.3.1. Mikroplasty v mořích a oceánech.....	13
2.3.2. Mikroplasty v půdě a kalech.....	15
2.3.3. Mikroplasty v jídle	16
2.4. Odběr a úprava vzorků	18
2.4.1. Vzorkování vod.....	18
2.4.2. Vzorky potravin.....	19
2.4.3. Vzorky půd a kalů	19
2.5. Separace mikroplastů	20
2.6. Identifikace a kvantifikace mikroplastů	22
2.6.1. Infračervená spektrometrie	22
2.6.2. Ramanova spektrometrie.....	27
2.6.3. Pyrolytická plynová chromatografie s hmotnostní detekcí	29
2.6.4. Elektronová mikroskopie.....	30
3. Experimentální část	32
3.1. Chemikálie.....	32
3.2. Přístrojové vybavení	32
3.3. Pracovní postup.....	33
3.3.1. Odběr a úprava vzorků kalů.....	33
3.3.2. Separace mikroplastů ze vzorků kalů	33
3.3.3. Vzorky nápojů a vod	34
3.3.4. Identifikace mikroplastů	35
4. Výsledky a diskuse	36

4.1.	Vzorky kalů	36
4.1.1.	Porovnání způsobů rozkladu	36
4.1.2.	Identifikace a charakterizace mikroplastů	37
4.2.	Vzorky nápojů a vod	61
4.2.1.	Vliv venkovních podmínek na uvolňování mikroplastů z obalů	61
4.2.2.	Vliv mrazu na uvolňování mikroplastů z obalů	62
4.2.3.	Vzorky vod.....	63
5.	Závěr	64
6.	Seznam použité literatury	66

Seznam použitých zkratek

ABS	akrylonitrilbutadienstyren
AES	Augerova elektronová spektrometrie
ATR	zeslabená totální reflexe
BPA	bisfenol A
CARS	koherentní anti-Stokesův Ramanův rozptyl
ČOV	čistírna odpadních vod
DDT	dichlordifenyltrichlorethan
DNA	deoxyribonukleová kyselina
DRIFTS	difuzně-reflexní infračervená spektrometrie s Fourierovou transformací
EDS	energiově disperzní spektrometrie
EM	elektronová mikroskopie
EU	Evropská unie
FIR	infračervená spektrometrie ve vzdálené infračervené oblasti
FTIR	infračervená spektrometrie s Fourierovou transformací
GPGP	Velká tichomořská odpadková skvrna
IČ	infračervená
IR	infračervená spektrometrie
MIR	infračervená spektrometrie ve střední infračervené oblasti
NIR	infračervená spektrometrie v blízké infračervené oblasti
NP	nonylfenol
OM	optická mikroskopie
PA	polyamid
PAH	polycyklické aromatické uhlovodíky
PAN	polyakrylonitril
PBDE	polybromované difenylethery

PBD	polybutadien
PBT	polybutylentereftalát
PC	polykarbonát
PCB	polychlorované bifenyly
PCL	polykaprolakton
PDMS	polydimethylsiloxan
PE	polyethylen
PEO	polyethylenoxid
PES	polyester
PET	polyethylentereftalát
PLA	polymléčná kyselina
PMMA	polymethylmethakrylát
POPs	perzistentní organické látky
PP	polypropylen
PS	polystyren
PTFE	polytetrafluoroethylen
PUR	polyuretan
PVAc	polyvinylacetát
PVC	polyvinylchlorid
Pyr-GC-MS	pyrolytická plynová chromatografie s hmotnostní detekcí
SEM	skenovací elektronová mikroskopie
TEM	transmisní elektronová mikroskopie
USA	Spojené státy americké
UV	ultrafialové

1. Úvod

Plasty neboli syntetické polymery se díky své všestrannosti a odolnosti staly nedílnou součástí lidských životů. Jsou hojně využívány naskrz odvětvími a těžko si lze bez nich dnešní svět představit. Jejich odolnost vůči degradaci, díky které byly kdysi opěvovány, má však za následek novodobou ekologickou katastrofu. Nejznámějším příkladem může být Velká pacifická odpadková skvrna, vzniklá transportem plastového odpadu v mořích a oceánech pomocí mořských proudů a jeho hromaděním na jednom místě. [1] Plastový odpad v životním prostředí má negativní účinky na zdraví přítomné fauny i flóry. V případě živočichů může způsobovat jejich zachycení, dušení, hladovění a zdravotní potíže spojené s uvolňováním toxických organických látek, jako jsou například polychlorované bifenoly. [2] Z plastů mohou působením slunečního záření a mechanických sil vznikat mikroplasty. Za mikroplasty jsou považovány plasty v rozmezí 1 μm – 5 mm. Podle původu jsou mikroplasty rozděleny na primární a sekundární. Sekundární mikroplasty vznikají fragmentací větších objektů, zatímco primární byly v dané velikosti záměrně vyrobeny. [3]

Rozšíření mikroplastů je celosvětové a lze je najít i na zcela nečekaných místech. Známým příkladem výskytu jsou vodní toky, moře a oceány, kde mohou být pozřeny vodními organismy a potravním řetězcem putovat až k člověku. [4] Z moří se do lidské stravy dostávají také v podobě mořské soli. [5] Dále byly mikroplasty objeveny také v pitné vodě [6] a balených nápojích. [7] Kromě konzumace se mohou mikroplasty do těla dostávat inhalací, odhaduje se, že člověk ročně přijme v průměru 74 000 až 121 000 mikroplastů. [8] Z mikroplastů se mohou do těla uvolňovat toxické látky, které jsou spojovány s poruchami růstu, rakovinou nebo endokrinní disrupcí. [2] Vzhledem k přítomnosti mikroplastů v potravinách byl jejich nález v lidské trávicí soustavě očekáván, šokujícím však byl jejich objev v lidské placentě [9] a krvi. [10] Dalším příkladem výskytu mikroplastů jsou půdy a kaly z čistíren odpadních vod. Hlavními zdroji mikroplastů v odpadních vodách jsou mycí a kosmetické přípravky a uvolňování syntetických vláken při praní. Jejich obsah v kalech závisí na účinnosti čistíren, ale je předpokládáno, že v kalech zůstává více než 90 % mikroplastů. Odpadní vody a kaly jsou používány při zavlažování a hnojení, čímž se mikroplasty dostávají do půd, kde dochází k jejich akumulaci. [11] Dále se mikroplasty do půdy dostávají například skrze mulčovací fólie a jiné materiály používané při pěstování plodin, únikem ze skládek nebo také otěrem pneumatik. [12]

Tato diplomová práce je zaměřena na analýzu mikroplastů ve vzorcích kalů z čistírny odpadních vod a v balených nápojích. Cílem byla identifikace, kvantifikace a charakterizace nalezených mikroplastů. Pro identifikaci byla zvolena metoda infračervené spektrometrie, která je pro tyto účely nejčastěji používanou metodou. Konkrétně byla použita technika

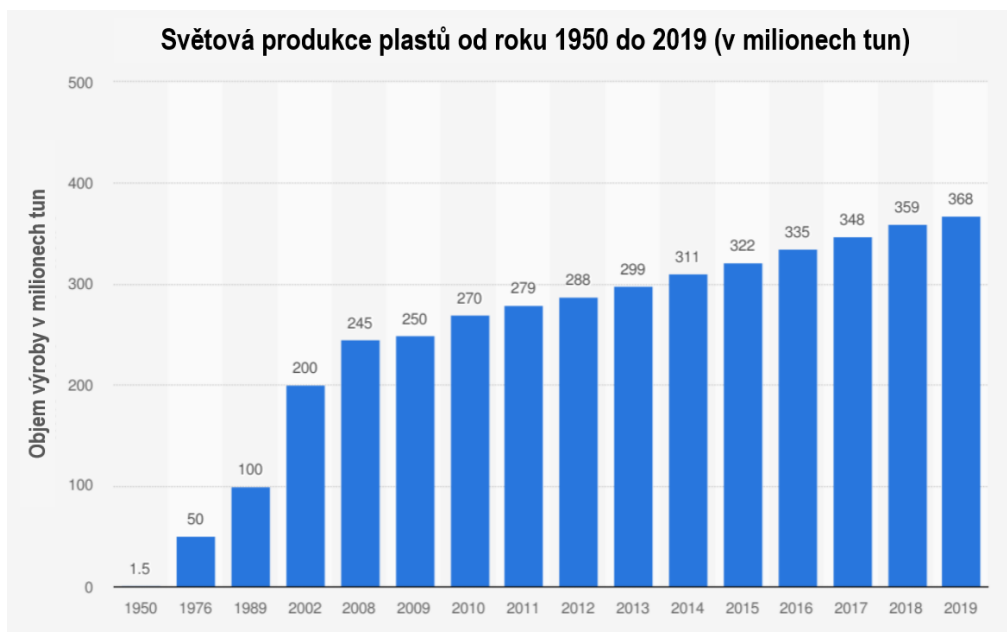
zeslabené totální reflexe (ATR), která umožňuje analýzu takto malých částic. Při úpravě vzorků kalů byly porovnávány různé způsoby rozkladu organického materiálu, a to pomocí H_2O_2 za zvýšené teploty, H_2O_2 s přídavkem Fentonova činidla a NaOH za zvýšené teploty. Separace mikroplastů byla provedena hustotní flotací s následnou filtrací supernatantu. Na účinnost separace byl zkoumán vliv druhu použité soli a filtru. Analýza balených nápojů byla zaměřena na prozkoumání vlivu tepla, slunečního záření a mrazu na uvolňování mikroplastů z obalů.

2. Teoretická část

2.1. Plasty

Za otce plastů je považován vynálezce Alexander Parkes, který roku 1862 z nitrátu celulózy a kafru vytvořil nový materiál, který nazval parkesin. Jeho snahy poté zdokonalil Američan John Wesley Hyatt, který vynalezl dnes známý celulooid. [13] Významnému rozšíření plastů napomohl roku 1907 belgicko-americký chemik Leo Hendrick Baekeland, který vynalezl první zcela syntetický polymer a pojmenoval jej bakelit. Během 2. světové války vzrostla potřeba nahrazovat přírodní materiály levnějšími a dostupnějšími, což vedlo i k nárůstu produkce plastů. Po skončení války obliba plastů díky jejich všestrannosti a nízké ceně stále rostla, někdy až do utopických měřítek. První negativní pohledy na plasty se objevily v 60. letech 20. století, kdy se začaly projevovat problémy s rozložitelností plastů a jejich hromaděním v životním prostředí. Došlo i k prvním velkým ropným tragédiím, které nenávratně ovlivnily ekosystém. [14]

Dnes se pod označením plasty rozumí syntetické polymerní materiály. Svě jméno získaly podle plastických vlastností, které umožňují jejich snadné tvarování a tím způsobily jejich rychlé rozšíření. Produkce plastů stále stoupá, čímž vzrůstá i množství plastového odpadu. V roce 2019 bylo vyrobeno 368 milionů tun plastů, z nichž 51 % bylo vyprodukováno v Asii, z toho konkrétně 31 % v Číně. [15] Oproti roku 2002 je tato hodnota téměř dvojnásobná. Přehled produkce plastů od roku 1950 do roku 2019 je uveden na obr.1.



Obrázek 1: Celosvětová produkce plastů od roku 1950 do 2019 (v milionech tun) [16]

V Evropě je nejvíce plastických hmot (39,6 %) použito na výrobu obalového materiálu, dále 20,4 % je využito ve stavebnictví a 9,6 % v automobilovém průmyslu. S ohledem na jednotlivé polymery je největší poptávka po polyethylen (PE, 30 %) a polypropylen (PP, 19 %). Kromě zmíněných jsou dále nejvíce rozšířeny polyvinylchlorid (PVC, 10 %), polyuretan (PUR, 8 %) a polyethyltereftalát (PET, 8 %). [15]

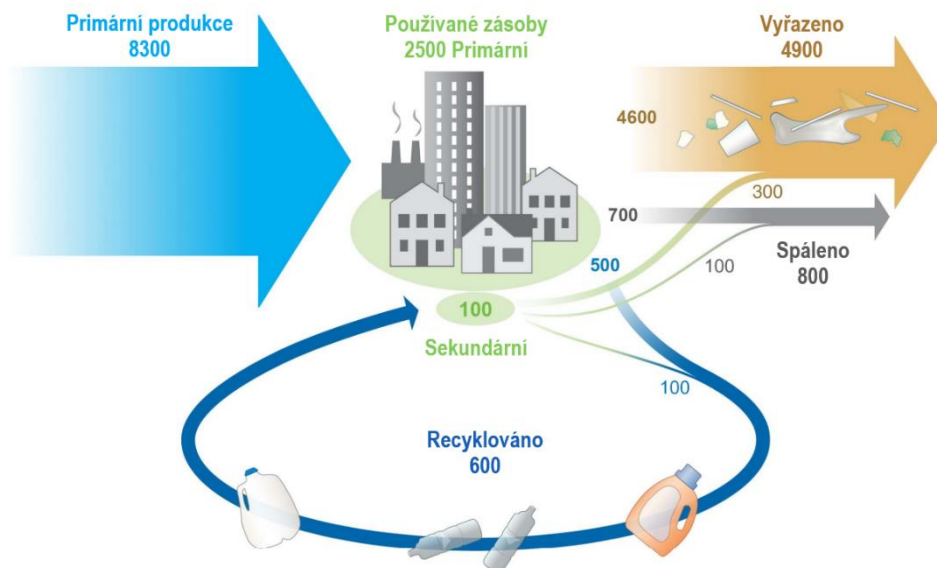
2.1.1. Osud vyprodukovaných plastů

Většina běžně používaných plastů není schopna biodegradace, což má za následek jejich hromadění na skládkách a v životním prostředí. Bylo odhadnuto, že do roku 2015 bylo vytvořeno okolo 5800 milionů tun primárního plastového odpadu (ne určeného k recyklaci) z celkových 8300 milionů tun vyprodukovaného plastu. Osud vzniklého odpadu má tři nejčastější scénáře. Prvním z nich je recyklace nebo přeměnění na sekundární materiál. Avšak většinu plastů nelze recyklovat opakovaně, tudíž se konečná likvidace pouze oddálí, ale neeliminuje. Sekundární materiály jsou většinou tvořeny směsí polymerů a obsahují i řadu kontaminantů. To má za následek jejich nižší ekonomickou hodnotu a horší technické vlastnosti. Druhou možností je termická likvidace. Nejčastěji se jedná o spalování s možností přeměny tepla na využitelnou energii. [17] Avšak při tomto způsobu likvidace se do ovzduší uvolňuje velké množství toxických látek, jako jsou například furany a dioxany, proto je s ohledem na zdraví fauny i flory nutná pečlivá kontrola emisí ve spalovnách. Poslední možností je hromadění plastů na skládkách, nebo volně v životním prostředí, kde může trvat až stovky let, než se zcela rozloží. Vzhledem k nižší ceně dává většina méně rozvinutých zemí přednost otevřeným skládkám, odkud mohou plasty snadno uniknout do životního prostředí. [17, 18]

Na obr. 2 je ukázán předpokládaný osud všech plastů vyprodukovaných od roku 1950 do roku 2015. Z celkového množství primárního i sekundárního odpadu bylo zhruba 600 milionů tun recyklováno, to odpovídá 9 %. Dále 12 % odpadu bylo spáleno a 77 % skončilo na skládkách a volně v přírodě. [17]

Jednou z pravděpodobných příčin špatného zacházení s odpadem a jeho uvolňování do životního prostředí je nedostatek informovanosti lidí o negativních následcích plastového odpadu na ekosystém. Tudíž by zvýšení povědomí o tomto problému mohlo způsobit pozitivní změny v lidském chování vůči plastovému odpadu. Situaci by mohla zlepšit i státem daná pravidla pro manipulaci s odpadem, kontrola jejich dodržování místními úřady a následné sankce při jejich překročení. Avšak tato kontrola je často obtížně proveditelná a sankce příliš nízké. Další příčinou kontaminace životního prostředí je nedostatek financí pro správnou likvidaci odpadu, nebo neochota peníze pro tyto účely poskytnout. Pro zabránění uvolňování

plastového odpadu do životního prostředí je důležitá redukce jeho vzniku. Toho lze například docílit oddálením okamžiku, kdy je plastový produkt již považován za neúčinný. Na to je potřeba brát ohled už při návrhu produktu. Další možností je zakázání jednorázových předmětů, jako jsou plastové přístroje a igelitové tašky. Dále je potřeba navýšit hodnotu plastů, například zdaněním výrobků, které nejvíce zatěžují prostředí. [19]



Obrázek 2: Světová produkce a osud plastů (v milionech tun) [17]

2.1.2. Aditiva přidávána do plastů

Pro zajištění požadovaných vlastností a zvýšení životnosti plastů jsou při jejich výrobě přidávána různá aditiva. Tyto látky vyvolávají ekologické znepokojení, protože prodlužují degradaci plastů a mohou být uvolňovány do prostředí. Mezi tyto látky patří zpomalovače hoření, což jsou nejčastěji chlorované a bromované látky, například polybromované difenylethery (PBDE) nebo kyselina boritá. Další skupinou jsou změkčovadla, používaná pro zvýšení ohebnosti a odolnosti plastů. Tyto látky jsou do plastů přidávány v největším množství a mohou tvořit až 80 % hmotnosti. Patří mezi ně ftaláty, fosfáty nebo některé estery. Pro odolnost vůči teplu, oxidaci a UV záření jsou přidávány stabilizátory, což mohou být kovové prášky, benzofuran, benzofenon nebo nejznámější z nich bisfenol A (BPA). Při výrobě jsou využívány i různé katalyzátory, např. formaldehyd nebo diaminodifenylmethan. Přidávání barviv do plastů je také velmi běžné, nejčastěji se jedná o anorganické pigmenty, jako jsou oxid titaničitý nebo sloučeniny kadmia, chromu a olova. Další kategorií jsou antistatika, kam patří aminy, kvartérní amoniové soli, organické fosfáty a ethoxylované estery. Dále na ochranu proti mikroorganismům a houbám mohou být přidávány stříbrné ionty. [18, 3]

Většina těchto látek jsou lipofilní povahy, což jim umožňuje migraci skrze buněčné membrány, kde se mohou účastnit biochemických reakcí a mít negativní vliv na zdraví

a reprodukci organismu. Kromě aditiv se z plastů mohou uvolňovat nezreagované monomery, které jsou často toxické. [3]

2.1.3. Plastové znečištění a jeho dopad na životní prostředí

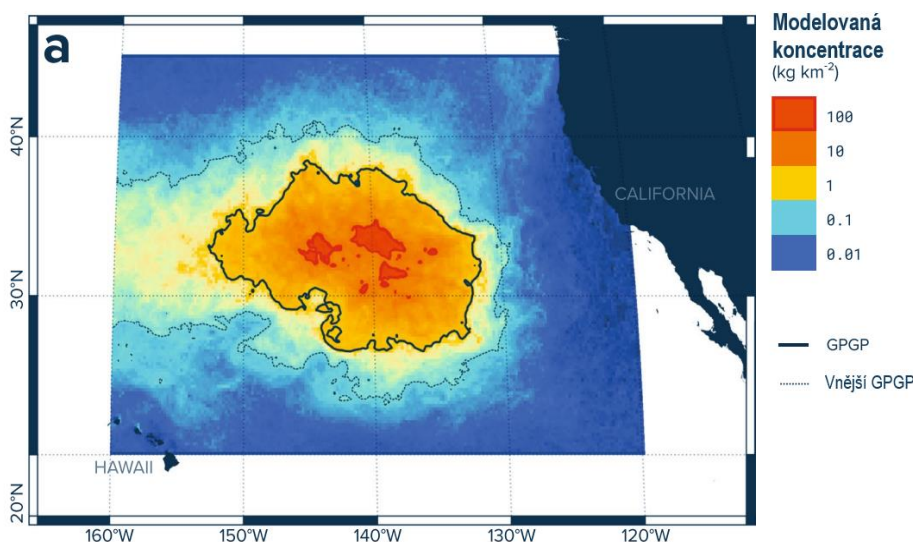
Plastová igelitka vlající ve větru nebo plastové obaly od potravin plovoucí v moři jsou nyní již zcela běžné úkazy. Na životní prostředí a živočichy v něm žijící mohou však mít řadu negativních vlivů, které jsou někdy až život ohrožující. Největší nebezpečí pro živočichy hrozí při pozření plastů nebo jejich zapletení do plastových objektů. Mezi často ohrožené živočichy patří mořské ptactvo, mořské želvy, kytovci, tuleni nebo i žraloci. Požitím plastů získávají falešný pocit nasycení, ale tělo nezískává žádné živiny, což může vést až k vyhladovění organismu. Z plastů se navíc mohou uvolňovat toxické organické látky, jako jsou polychlorované bifenylly (PCB), nonylfenol (NP), dichlordifenyiltrichlorethan (DDT), polycyklické aromatické uhlovodíky (PAH), PBDE a BPA. [2] Tyto látky vzbuzují obavy, kvůli jejich vysoké odolnosti vůči degradaci, a tak zůstávají beze změny v životním prostředí a hromadí se. Dále jsou spojovány s mnoha zdravotními problémy, především s poruchami růstu, rakovinou, endokrinní disrupcí, neurobehaviorálními změnami, artritidou, cukrovkou nebo hypometylací DNA. Pro příklad může být uvedeno uvolňování BPA do půdy na skládkách. BPA působí jako endokrinní disruptor a u sulfitredukujících bakterií způsobuje zvýšenou produkci sulfanu, který ve vyšších koncentracích může být pro některé organismy smrtelný. [2, 20]

2.1.4. Plastový odpad v oceánech

Kumulující se plastový odpad v oceánech je v posledním desetiletí často diskutované téma. Předpokládá se, že v oceánech skončilo až 10 % všech doposud vyprodukovaných plastů s každoročním přírůstkem průměrně 8 milionů tun, který však stále stoupá. Zdroje plastů v oceánech jsou různé. Mohou mít původ v pevninském odpadu na skládkách, odkud jsou větrem a vodními toky transportovány do moře. Může se jednat i o záměrné vypouštění odpadu do moře. Bylo odhadnuto, že z pevniny pochází okolo 80 % celkového plastového odpadu v oceánech a zbylých 20 % má původ z aktivit přímo na moři. Mezi tyto aktivity patří rybaření a lodní přeprava. Plastovými odpady z těchto zdrojů jsou například přepravní kontejnery, lodní náčiní ztracené při bouři, nebo utržené rybářské sítě. Známý případ se stal roku 1992, kdy bylo do moře omylem vypuštěno 29 000 plastových hraček, které byly i po dvaceti letech nacházeny různě po světě někdy až 27 000 km daleko od místa vypuštění. Díky této nehodě byl lépe objasněn pohyb plastového odpadu pomocí mořských proudů. [18]

Důsledkem mořských proudů jsou plasty přesouvány a akumulovány na určitých místech, čímž vznikají takzvané „odpadkové skvrny“. Největší a nejznámější z nich je Velká tichomořská odpadková skvrna (obr. 3), která se nachází mezi Havají a Kalifornií a je velikostí

srovnatelná s trojnásobkem rozlohy Francie. [1] Plastový odpad v mořích a na pobřeží má negativní vliv jednak na ekonomiku související s turismem, ale hlavně na tamější živočichy, kteří se do něj mohou zaplést nebo ho pozřít, což může mít za následek omezení pohybu, špatný růst, dušení a hladovění. Například průhledné plastové sáčky mohou být pozřeny mořskými želvami v domněnku, že se jedná o medúzu. Častější hrozbu konzumace představují mikroplasty, o kterých bude pojednááno v pozdějších kapitolách. [3] V moři mohou být přítomny perzistentní organické látky (POPs), které jsou postupně absorbovány a zakoncentrovávány v plastech a po konzumaci se mohou zpětně uvolňovat do organismu. Kromě POPs se mohou na plast adsorbovat i těžké kovy. Naproti tomu z plastů se mohou do moře uvolňovat jiné potenciálně nebezpečné látky, například nezreagované monomery nebo různá aditiva. I když se nedá přesně určit množství uvolňovaných látek z plastů, předpokládá se, že je o několik řádů menší než množství látek přiváděných do oceánu přímo prostřednictvím vzduchu a odpadních vod. [21] Ekosystém, tvořený plasty plovoucími v moři a organismy trvale zde žijícími, byl nazván plastisféra. Bylo zjištěno, že organismy žijící v plastisféře, se často liší od organismů běžně se vyskytujících volně v oceánu. [3]



Obrázek 3: Velká tichomořská odpadková skvrna (GPGP) s vyznačením modelové koncentrace plastového odpadu v $\text{kg} \cdot \text{km}^{-2}$ [1]

2.1.5. Degradace plastů

Důležitými vlastnostmi plastů, které zapříčinily jejich popularitu a celosvětové rozšíření, jsou chemická stabilita a odolnost. Nicméně tyto jinak pozitivně vnímané vlastnosti způsobují špatné odbourávání plastů a jejich následné hromadění v životním prostředí. [22] K degradaci plastů volně v přírodě může docházet čtyřmi základními mechanismy: fotodegradace, termooxidativní degradace, hydrolýza a biodegradace. Sluneční paprsky, především UV-B záření, iniciují prvotní fotodegradaci následovanou termooxidativní degradací, což způsobí

zkřehnutí plastů a jejich fragmentaci na menší části. Tento proces je efektivní především u plastů, které jsou vystaveny slunci a vzduchu, například volně ležící na pláži. Jelikož se jedná o oxidativní děj, dochází kromě snížení molekulové hmotnosti k vytvoření kyslíkatých funkčních skupin. [21] Při dostatku kyslíku se tento proces opakuje až do zmenšení plastů na molekulární úroveň. V této fázi jsou mikroorganismy schopny metabolizovat obsažený uhlík v polymerech na biomolekuly nebo jej oxidovat na CO_2 . Takto popsaná biodegradace zní velmi jednoduše, ve skutečnosti je však velmi obtížná a dochází k ní pouze zřídka. Jedním z důvodů je nedostatečné snížení molární hmotnosti, která pro umožnění biodegradability musí mít hodnotu okolo $500 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$. Dalším důvodem je vzácný výskyt mikrobů schopných metabolizovat syntetické polymery. Mezi syntetické polymery schopné biodegradace patří například alifatické polyestery, polyethery a polyvinylalkohol. [21, 23]

V porovnání se světelně indukovanou oxidací jsou ostatní typy degradace řádově pomalejší. Celkově je degradace plastů velmi pomalá a nedostačující pro jejich účinnou eliminaci. V oceánech je degradace plastů navíc zpomalována nedostatkem kyslíku a nízkou teplotou. Na skládkách je situace obdobná, ve spodních vrstvách převažuje anaerobní prostředí s nedostatkem kyslíku pro termooxidativní degradaci. [21, 23] Při takových anaerobních podmínkách lze očekávat i jiné produkty degradace, například methan namísto CO_2 . [24] K dalšímu zpomalení degradace plastů ve vodním prostředí oproti plastům volně na vzduchu přispívá pokrytí povrchu plastu biofilmem, řasou, nebo i kolonií bezobratlých živočichů. Následkem tohoto procesu je zvýšení hustoty plastu a jeho potopení pod hladinu nebo dokonce až na dno moře, kde bude k degradaci docházet ještě obtížněji, kvůli nedostatku nejen kyslíku, ale i UV záření. [21, 23]

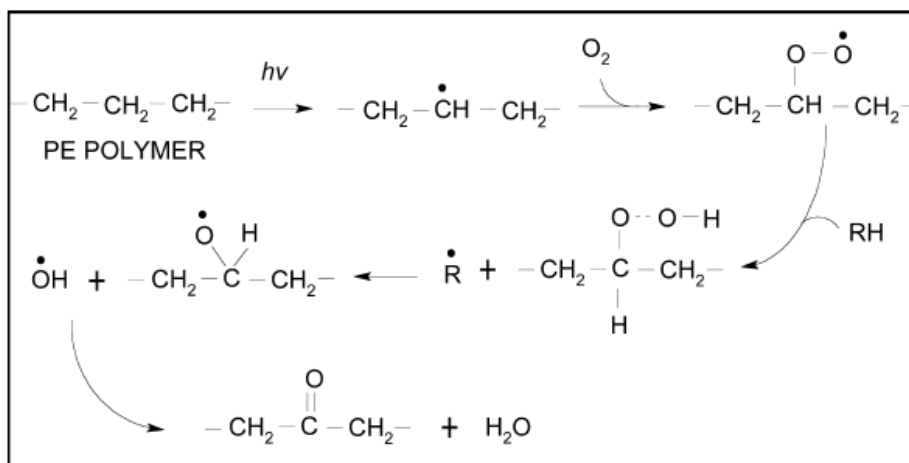
Existují pokusy o vytvoření biodegradabilních plastů tvorbou směsí s přírodními a rozložitelnými polymery. Někdy bývají za biodegradabilní chybně označovány polyolefiny se zabudovaným škrobem, avšak k degradaci dochází pouze u škrobové části a syntetické polymery jsou pouze štěpeny na menší části. [21, 25] Jiným příkladem může být směs polyethylenu a polyethylen oxidu (PEO). Aby byla taková směs v mořském prostředí rozložitelná v rozmezí 6–9 měsíců, musí být v polymeru přítomen kovový katalyzátor (např. Co), autooxidant (např. mastná kyselina) anebo změkčovadlo obsahující kov (např. stearan hlinitý). PEO je ve vodě zcela rozpustný, tím dochází k vytvoření mechanicky labilní PE struktury se značným množstvím pórů. Zároveň dochází ke zvětšení povrchu, čímž se urychlí chemická degradace PE. [26]

Nerozpustnost polymerů ve vodě je dalším důvodem jejich odolnosti. Biodegradace probíhá převážně uvnitř buňky, kde jsou přítomny potřebné enzymy. Kvůli nerozpustnosti nemohou polymery projít přes buněčnou membránu a degradace bude zpomalována nebo

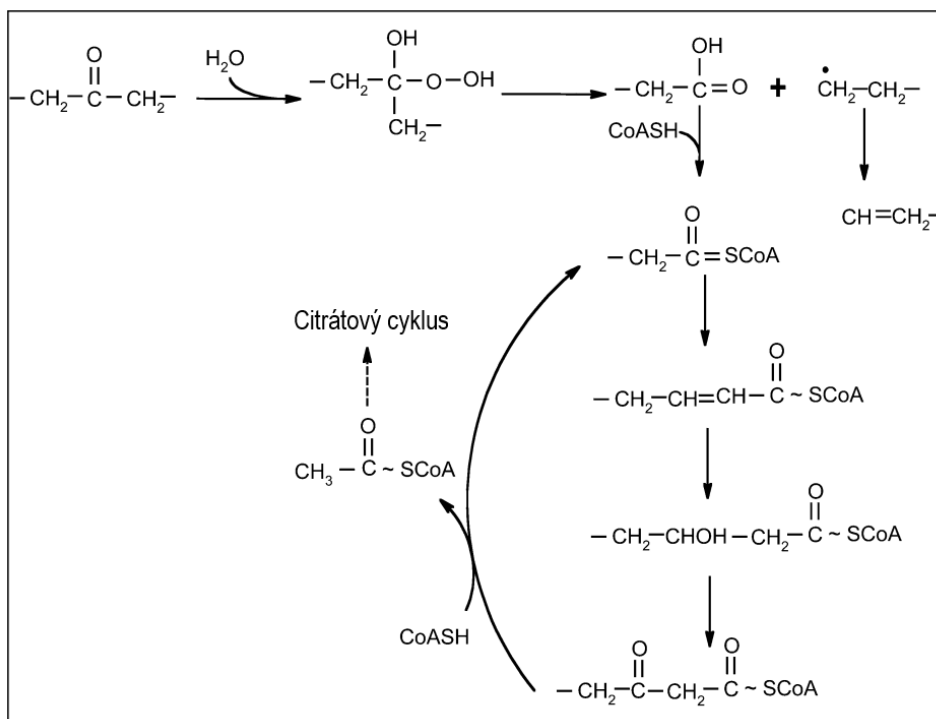
k ní nebude docházet vůbec. U nerozpustných polymerů bude k degradaci docházet pouze na povrchu, proto lze předpokládat, že rychlost degradace bude závislá na ploše povrchu. [23] Polymery mají složité objemné molekuly s početným množstvím různých vazeb, na jejichž rozštěpení je třeba bohatá skupina enzymů, které často mikroorganismy postrádají. Obdobným příkladem vyskytujícím se v přírodě mohou být huminové látky, které potřebují velké množství enzymů a jsou dále špatně rozložitelné. [24]

Je nutno uvést, že všechny organické látky se nakonec rozloží na jednoduché molekuly, u syntetických polymerů je však tento proces extrémně pomalý. Například u polyethylenu je na CO₂ ročně přeměněno pouze 0,1 % obsaženého uhlíku i za nevhodnějších laboratorních podmínek. Oproti tomu u celulózy je za obdobných podmínek mineralizováno 10 % uhlíku za týden. Výše již byly zmíněny výjimky snadno rozložitelných syntetických polymerů, jako jsou některé polyethery, polyvinylalkohol a některé alifatické polyestery například polykaprolakton (PCL) nebo polymléčná kyselina (PLA). [24] Z toho vyplývá, že snadněji budou degradaci podléhat polymery s heteroatomem, to však neplatí pro aromatické polymery. Příkladem takového polymeru je PET, přítomná esterová vazba je běžně snadno rozštěpitelná, nicméně kvůli aromatickým skupinám je rozklad polymeru za běžných podmínek velmi obtížný. [2]

I když není PE řazen mezi biodegradabilní polymery, byly navrženy jeho možné mechanismy degradace. V prvním kroku probíhá fotooxidace pomocí ultrafialového záření, což způsobí vznik radikálu polymeru, který na sebe naváže kyslík z okolí. Jako konečný produkt vzniká na řetězci karboxylová skupina, jak je ukázáno na obr. 4. Taková molekula dále působením enzymů podléhá oxidaci podle mechanismu uvedeného na obr. 5. Karboxylová skupina je převedena přes alkohol a aldehyd až na karboxylovou skupinu. Vzniklá molekula je dále podrobena β-oxidaci, při které vzniká acetylkoenzym A, který pokračuje do citrátového cyklu. [27]



Obrázek 4: Fotooxidace PE pomocí UV záření za vzniku karboxylové skupiny [27]



Obrázek 5: Možný mechanismus biodegradace zoxidovaného PE [27]

2.2. Mikroplasty

Jak bylo zmíněno výše, většina syntetických polymerů není schopna v životním prostředí podléhat degradaci a dochází pouze ke zmenšování plastů na menší fragmenty. Při dosažení určité velikosti jsou tyto fragmenty označovány jako mikroplasty nebo až nanoplasty. Mikroplasty jsou definovány jako plasty s velikostí v rozmezí 1 μm – 5 mm. Částice menší než 1 μm jsou označovány nanoplasty. Kompletní rozdělení plastů podle velikosti je uvedeno v tab. 1. Rozdělení není doposud oficiálně zcela přesně definováno, proto se v některé literatuře mohou údaje mírně lišit. Mikroplasty mohou zaujímat různých tvarů, patří mezi ně např. kuličky, vlákna, vločky, válcovité tvary nebo fragmenty složitějších struktur. Platí, že tvar mikroplastu závisí silně na jeho původu. [18, 3]

Tabulka 1: Rozdělení plastů podle velikosti

Označení		Velikost
Makroplasty		≥ 25 mm
Mesoplasty		5 mm – 25 mm
Mikroplasty	Velké mikroplasty	1 mm – 5 mm
	Malé mikroplasty	1 μm – 1 mm
Nanoplasty		< 1 μm

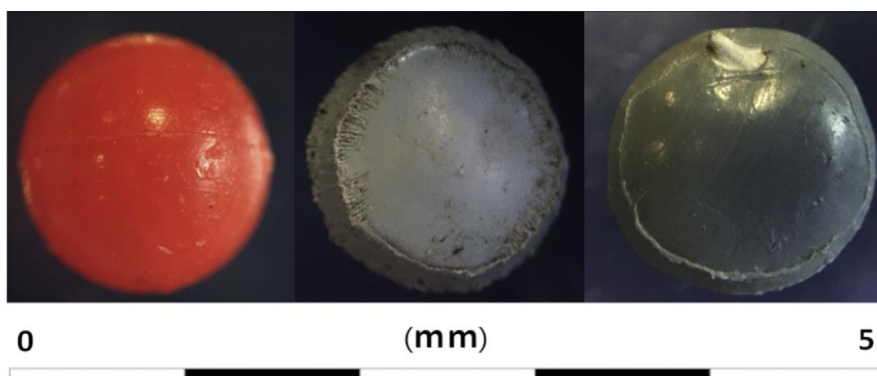
2.2.1. Zdroj a dělení mikroplastů

Největší množství mikroplastů vzniká fragmentací z makro/mesoplastů při jejich degradaci nebo mechanickém opotřebování. Druhou možností vzniku mikroplastů je jejich záměrná výroba již v odpovídajících velikostech. Podle původu dochází k základnímu rozdělení mikroplastů na primární a sekundární. [3]

2.2.1.1. Primární mikroplasty

Typickým příkladem běžně používaných primárních mikroplastů, jejichž přítomnost si řada uživatelé ani neuvědomuje, jsou sférické mikrokuličky nejčastěji používané v kosmetice, mycích prostředcích, peelinzích, zubních pastách, abrazivech, barvách a hnojivech. Jedná se tedy o plasty, které byly záměrně vyrobeny v rozměrech odpovídajících mikroplastům. Zhruba v 93 % jsou vyrobeny z PE. Při použití jsou snadno uvolňovány do životního prostředí a dále přemísťovány pomocí větru do okolí nebo prostřednictvím odpadních vod do řek, popřípadě až do moří a oceánu. [18, 3] Se vzrůstajícím negativním ohlasem na mikroplasty v posledních letech začínají společnosti upouštět od jejich používání a mají snahu je nahrazovat vhodnějšími alternativami. Nizozemsko byla první země, která roku 2014 zakázala přidávání mikroplastů do určitých druhů kosmetiky. Další země, které se připojily k zákazu, byly např. USA, Kanada, Austrálie, Británie, Irsko, Itálie a Nový Zéland. Obdobný zákon na redukci mikroplastů je nyní projednáván Evropskou unií (EU). [28]

Dalším příkladem primárních mikroplastů jsou plastové pelety, granule nebo perličky používané v průmyslu jako surový materiál pro výrobu plastových produktů. Průmysl je dalším významným zdrojem mikroplastů v životním prostředí. Může docházet k neúmyslným únikům při jejich manipulaci a převážení nebo se pomocí průmyslových odpadních vod mohou dostávat do vodních toků. Filtry v čistírnách odpadních vod často nejsou schopné zachytit mikroplasty a ty jsou pak vypouštěny do řek. [18] Na obr. 6 jsou ukázány příklady primárních mikroplastů nalezených v moři.



Obrázek 6: Primární mikroplasty nalezené v moři [18]

2.2.1.2. Sekundární mikroplasty

Sekundární mikroplasty vznikají fragmentací makro a mesoplastů. Štěpení na menší částice může být způsobeno mechanickým, chemickým, fyzikálním nebo biologickým působením. Dříve již zmíněná degradace (kapitola 2.1.4.) vede ke vzniku sekundárních mikroplastů přímo v životním prostředí. K fragmentaci nemusí docházet jen v životním prostředí, ale mikroplasty mohou vznikat ještě před jejich uvolněním do prostředí (např. při praní). Právě uvolňování vláken z oblečení při praní je značným zdrojem sekundárních mikroplastů ve vodních tocích, a to platí jak v průmyslovém měřítku, tak i v domácích podmínkách. Bylo odhadnuto, že odpadní vody obsahují až 100 vláken na litr vody. [18, 3]

2.2.2. Osud mikroplastů

Vzhledem k malým velikostem se osud mikroplastů velmi obtížně určuje. Situaci dále komplikuje nedostatek standardizovaných metod pro vzorkování, kvantifikaci a identifikaci mikroplastů. Prvním možným scénářem je transport větrem nebo odpadními vodami do moří a oceánů. Mořskými proudy mohou dále cestovat přes oceány až do vzdálených oblastí, včetně Severního a Jižního pólu, vzdálených ostrovů a hlubokých oceánů. Nejčastěji jsou mikroplasty tvořeny syntetickými polymery s hustotou nižší, než má voda, to způsobuje, že budou plout na hladině. Jejich hustota se však může měnit, kvůli heteroagregaci nebo pokrytím biofilmem, díky čemuž je možné mikroplasty nalézt v celém vodním sloupci. [3]

Při vhodných podmínkách mohou mikroplasty podlehnout degradaci, při které se mohou zcela nebo částečně rozložit. U toho se mohou rozpadnout na menší části nebo až na nanoplasty. Průběh závisí nejen na okolních podmínkách, ale i na chemických a fyzikálních vlastnostech polymeru. Degradace může probíhat bioticky i abioticky, záleží na přítomných mikroorganismech. Nejefektivnějším způsobem abiotické degradace v přírodě je působení UV-Vis záření. Plasty při fotodegradaci záření absorbují, tím se zvýší reaktivita elektronů v polymeru, což může vést až k oxidaci a štěpení řetězce. Termální degradace je velmi účinná na štěpení řetězce a snižování molekulové hmotnosti, avšak je při ní potřeba vysokých teplot, kterých není možno přirozeně v životním prostředí dosáhnout. Dalším způsobem abiotické degradace je hydrolýza, ta je však podmíněná přítomností snadno hydrolyzovatelných vazeb, jaké jsou v esterech a etherech. Zmenšení plastů a zkrácení polymerního řetězce napomáhá biologické degradaci. Kvůli nerozpustnosti plastů probíhá degradace z vnější strany buňky, kdy vyloučené enzymy hydrolyticky štěpí polymerní řetězec. Produkty těchto všech procesů jsou vodou rozpustné oligomery a monomery, které jsou schopny proniknout přes vnější membránu mikroorganismu, podlehnout mineralizaci a posloužit jako zdroj uhlíku, případně i dusíku. [3, 29]

Kromě degradace můžou být morfologické změny mikroplastů vyvolané i povětrnostními vlivy, které způsobují mechanický rozpad. Patří mezi ně opakované zmrazování, změny tlaku, vodní proudění a poškození způsobené zvěří. Tímto způsobem mohou například vznikat mikroplasty na skládkách, odkud mohou unikat do půdy. Dalším příkladem zdroje mikroplastů v půdě je zavlažování polí s použitím vody z čistíren odpadních vod (ČOV). Kromě odpadních vod byly mikroplasty nalezeny i v kalech, které jsou používány na hnojení polí, čímž jsou do půdy uvolněny další mikroplasty. Se stále rostoucí produkcí plastů lze očekávat i zvyšující se výskyt mikroplastů v životním prostředí. [3]

2.3. Výskyt mikroplastů

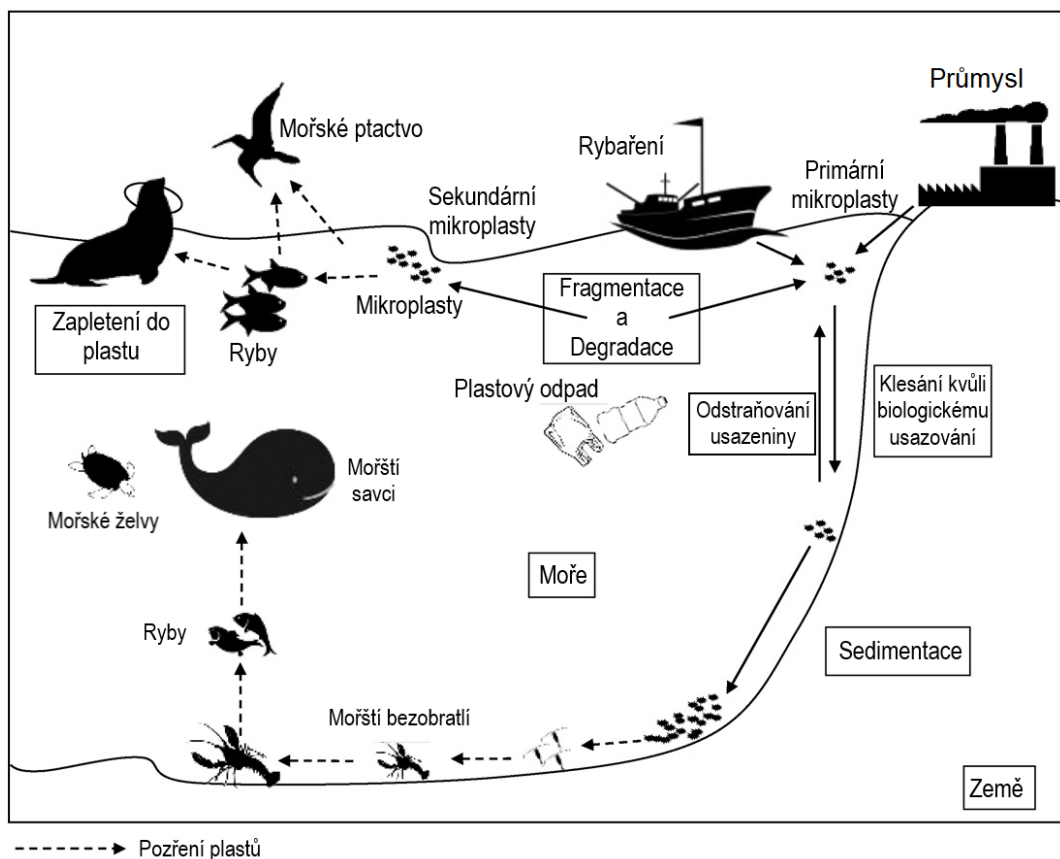
Kvůli značné oblibě plastů a často lehkovážnému zacházení s odpady je v dnešní době možné nalézt mikroplasty na nejrůznějších místech v životním prostředí, ale například i v pitné vodě a potravinách. Nejznámější a nejvíc diskutovaný je výskyt mikroplastů ve vodních tocích a oceánech. Dále se nachází na pobřežích, v půdách a kalech.

2.3.1. Mikroplasty v mořích a oceánech

Kvůli rozsáhlému transportu napříč oceány pomocí mořských proudů a větru, se mikroplasty staly celosvětovým problémem. Lze je nalézt na pobřeží, na dně moře, plovoucí na hladině nebo v různé hloubce, ale i zamrzlé v ledu. [30] Mikroplasty mohou být do moří uvolňovány v primární formě nebo fragmentací vznikají sekundární. Příkladem primárních mikroplastů jsou plastové mikrokuličky obsažené v mycích prostředcích, zubních pastách a peelinzích, které se do moře dostávají přímo prostřednictvím domácích i průmyslových kanalizací nebo pomocí vod z ČOV, kde nebyly zachyceny. Primární mikroplasty jsou dále jako abrazivum používány na odstranění rzi a barev z trupu lodí. Při tom může docházet k jejich kontaminaci těžkými kovy, jako jsou kadmium, chrom nebo olovo. Vznik sekundárních mikroplastů fragmentací je nejefektivnější na plážích, vzhledem k dostačujícímu množství UV záření a kyslíku a fyzikálnímu působení vln. Jakmile se částice dostanou hlouběji do moře, je jejich fragmentace zpomalena. Dalším zdrojem sekundárních mikroplastů mohou být odpadní vody, které obsahují velké množství vláken uvolněných při praní. [30, 31] Zvýšený obsah mikroplastů na pobřeží může zásadně ovlivnit vlastnosti plážového sedimentu. Jednak dochází ke zvýšení propustnosti sedimentu, jednak se snižuje jeho schopnost absorpce tepla, takže jeho teplota bude nižší než teplota sedimentu bez znečištění mikroplasty. Tyto změny mohou mít dopad na přítomné živočichy. Nižší teplota například může ovlivnit vývoj pohlaví želvích vajíček a vyšší propustnost může mít za následek vysychání organismů žijících v sedimentu. [31]

Vzhledem k malé velikosti mikroplastů si je s potravou mohou splést i drobní živočichové, kteří by plasty běžných velikostí nebyli schopni pozřít. Dá se říct, že se snižující se velikostí plastů se zvyšuje rozmanitost organismů, které je mohou přijmout v potravě. To značně zvyšuje jejich nebezpečí pro ekosystém. Mezi zmíněné živočichy patří nejčastěji mlži, zooplankton, mušle, ryby, krevety, ústřice a mořští červi. Tyto organismy mohou dále sloužit jako potrava pro jiné živočichy. Stejně jako makroplasty u větších živočichů, mohou mikroplasty způsobit ucpání trávicího traktu menších organismů a vytvořit falešný pocit nasycení. Dále je kvůli jejich velikosti prakticky nemožné je z prostředí efektivně odstranit. [30] Zda k pozření dojde, závisí na vlastnostech mikroplastů, zejména na tvaru, velikosti, hustotě a v menší míře i na barvě. Například bylo zjištěno, že mořské organismy dávají přednost bílým, žlutým až snědým částicím, které připomínají kořist. [32] Možné osudy mikroplastů jsou stručně shrnuty na obr. 7.

Ve svrchní mikrovrstvě mořské hladiny jsou v relativně velké koncentraci zastoupeny POPs a jiné toxické látky. Ve stejné vrstvě jsou přítomny i mikroplasty s nízkou hustotou, na které se mohou látky chemicky i fyzikálně vázat. Na mikroplasty s vysokou hustotou (např. PVC, polyestery (PES), polyamidy (PA)), které klesly na mořské dno, se na druhou stranu mohou vázat kovy vypuštěné do moře. Hlavními zdroji kovů v mořském prostředí jsou lodní nátěry, spalování paliva a průmyslový odpad. Při analýze mikroplastů z moře byla prokázána přítomnost například těchto kovů: hliník, měď, stříbro, zinek, olovo, železo a mangan. Při konzumaci může docházet k akumulaci mikroplastů ve tkáních, kde se z nich toxické látky mohou znovu uvolňovat. To může mít za následek řadu zdravotních problémů, jako je rakovina, endokrinní disrupce, vznik zánětů, redukce plodnosti, poruchy růstu nebo narušení imunity. Mikroplasty představují hrozbu nejen při pozření jako potravy, ale mohou do těla vstoupit i prostřednictvím žaber, což může mít za následky zhoršení dýchání organismu. [30] Při testování průniku nanoplastů do organismu bylo na rybě Medace japonské prokázáno, že částice menší než 50 nm byly schopny proniknout do různých tkání. Částice byly nalezeny v játrech, krvi, ve varlatech a více znepokojivě v mozku. To znamená, že částice byly schopné prostoupit přes bariéru mezi mozkem a krví, a tím potenciálně vystavit mozek toxinům. [33]



Obrázek 7: Potenciální osud mikroplastů v mořském prostředí, jejich zdroj a transport v prostoru a potravním řetězci [34]

2.3.2. Mikroplasty v půdě a kalech

Oproti mořskému prostředí je výskyt mikroplastů na pevnině a jejich působení na ekosystém prozkoumáno jen okrajově. Největší koncentrace pozemních mikroplastů je na skládkách, dále v městských lokacích, na plážích a zemědělských půdách. V agroekosystému je přímý zdroj plastového znečištění zprostředkováván mulčovacími fóliemi, materiálem ze skleníků a půdními kondicionéry (např. polyuretanové pěny, polystyrenové vločky). Nepřímým zdrojem je únik ze skládek, nelegální vyhazování odpadu, ořez pneumatik a používání odpadních vod a kalů nebo hnojiv obsahujících mikroplasty. Jak odpadní vody, tak i kaly jsou používány v zemědělství na zavlažování a hnojení, což značně zvyšuje obsah mikroplastů v půdách. Předpokládá se, že ročně je v Evropě pouze pomocí kalů uvolněno 63 000 až 430 000 tun mikroplastů do zemědělské půdy. [12]

Do odpadních vod se mikroplasty dostávají převážně při praní prádla, kdy se z oblečení mechanickým i chemickým působením uvolňují syntetická vlákna. Vzhledem k jejich velikosti projde značná část uvolněných mikrovláken filtry čistírny odpadních vod bez zachycení a jsou vypuštěny do řek a moří. Množství uvolněných vláken při praní závisí jednak na typu látky a jednak na programu praní a použitých prostředcích. Při použití pracího

gelu se počet vláken oproti praní v destilované vodě zněkolikanásobil. Použití pracího prášku způsobilo až trojnásobný nárůst počtu vláken oproti gelu. Naopak přidání změkčovače prádla uvolňování vláken snížilo. Dalším ovlivňujícím parametrem je tvrdost vody. Čím je voda tvrdší, tím se uvolňuje více vláken. [35] Kromě praní se mikroplasty do odpadních vod dostávají z mycích a kosmetických produktů. Obsah mikroplastů v kalech závisí na účinnosti ČOV. Předpokládá se, že v kalech zůstává více než 90 % mikroplastů. To je sice výhodné pro vodní toky, ale problematické pro půdy. Bylo dokázáno, že při opakovaném ošetřování půdy pomocí kalů docházelo k akumulaci mikroplastů, přičemž většina byla tvořena vlákny. [11]

Nejen mořští, ale i pozemští živočichové mohou nevědomě konzumovat mikroplasty, přičemž vlivy na organismus jsou stejné, a sice hladovění, blokáce trávicí soustavy a uvolňování nebezpečných látek do těla. Příkladem konzumentů v půdě jsou žížaly a roztoči, ti mohou posloužit jako potrava pro jiné organismy, a tak mikroplasty postupují dále v potravním řetězci. [3] Absorpce mikroplastů rostlinami není vzhledem k jejich velikosti možná, avšak bylo pozorováno, že některé nanoplasty byly schopné projít do buněk rostlin. V rostlinách se dále mohou ukládat nebezpečné látky uvolněné z plastů. Konzumace takových rostlin může ohrožovat zdraví živočichů, včetně člověka. Přesné působení nanoplastů na rostliny není známo a je potřeba jej více prozkoumat. [12] Bylo dokázáno, že hnojení půdy kaly bohatými na mikroplasty viditelně ovlivnilo růst a plození rajčat. Je nutné však podotknout, že rozdíl mohl být způsoben i jinými faktory. [36]

2.3.3. Mikroplasty v jídle

Vzhledem k rozšířenosti mikroplastů se dá předpokládat jejich přítomnost ve zdrojích lidské potravy, avšak v některých případech je jejich výskyt velmi překvapivý. Zcela očekávané bylo nalezení mikroplastů v mořských plodech. Mikroplasty v rybách jsou v posledních letech horlivě diskutovaným tématem a jejich výskyt je celosvětově zkoumán. Mikroplasty se nejčastěji nacházejí v gastrointestinálním traktu ryb, který není běžně součástí pokrmů. Mikroplasty jsou stále příliš objemné, aby mohly procházet skrze tkáň do svalů. K příjmu mikroplastů může docházet při konzumaci rybí kůže a žaber, na kterých mohou být zadrženy mikroplasty s velikostí kolem 1 μm . Nejvýznamnějším zdrojem mikroplastů z mořské stravy jsou škeble. [4] Mikroplasty z moří jsou zdrojem kontaminace nejen v rybách a měkkýších, ale i v mořské soli. Například ve 21 různých vzorcích komerčně prodávaných solí ve Španělsku bylo nalezeno 50–280 mikroplastů na kilo soli s tím, že mezi jednotlivými vzorky nebyly významné rozdíly. Nejzastoupenějším polymerem byl PET a dále PP a PE. [5] O něco menší množství mikroplastů bylo nalezeno ve vzorcích mořských solí z Indie, kde v osmi různých značkách byly koncentrace v rozsahu od 56 ± 49 do 103 ± 39 mikroplastů na kilogram soli. [37]

Dále byly mikroplasty nalezeny v cukru a medu. Předpokládá se, že do medu byly transportovány vzduchem nebo pomocí včel. Průměrně bylo v kilu medu obsaženo 174 vláken a 8 fragmentů. [4] Kromě jídla mohou být mikroplasty přítomny i v nápojích. Nalezeny byly například v pivu [38], balených vodách [7], kohoutkové vodě [6, 39], ale i v podzemní vodě. [39] Největší množství mikroplastů bylo nalezeno ve vzorcích piva, ve kterých byl v 1 litru rozsah 2–79 vláken, 12–109 fragmentů a 2–66 granulí s tím, že se obsah značně lišil s ohledem na značku a šarži piva. [38] Mason et al. při analýze balených vod zjistili, že z celkových 259 vzorků vod 93 % obsahovalo mikroplasty. Průměrně bylo nalezeno 10,4 mikroplastů větších než 100 μm na litr balené vody, při započtení i menších částic, které nebylo možné potvrdit pomocí FTIR, se koncentrace zvýšila na 325 částic na litr. Více než polovina (54 %) mikroplastů byla tvořena PP. Jeden z testovaných nápojů byl prodáván jak v plastových, tak ve skleněných láhvích, díky čemuž bylo možné provést jejich porovnání. Více mikroplastů bylo nalezeno v šarži s plastovou láhví, což naznačuje, že se mikroplasty mohou uvolňovat přímo z obalů. [7] V Německu bylo porovnáváno množství mikroplastů v jednorázových a ve vratných plastových láhvích. V jednorázových byla průměrná koncentrace 14 ± 14 mikroplastů $\cdot \text{l}^{-1}$, zatímco ve vratných 118 ± 88 mikroplastů $\cdot \text{l}^{-1}$. Až 80 % mikroplastů mělo velikost v rozmezí 5–20 μm a byly tvořeny převážně PET. [40]

Tong et al. zkoumali mikroplasty v kohoutkové vodě z 38 různých míst v Číně. Zjištěná průměrná koncentrace byla 440 ± 275 mikroplastů na litr. Mikroplasty měly nejčastěji tvar fragmentu a byly tvořeny PP a PE. [6] Při analýze přírodních pitných vod z Německa bylo v pěti vzorcích z 24 nalezeno méně než 1 mikroplast na m^3 , další čtyři vzorky obsahovaly 1-3 mikroplasty $\cdot \text{m}^{-3}$ a v jednom bylo 7 mikroplastů $\cdot \text{m}^{-3}$. [39] Dalším ze zdrojů mikroplastů v jídle mohou být nádoby, ve kterých jsou uchovávány. Například z plastových obalů při objednání hotového jídla z restaurací. [41] Dále bylo zjištěno, že k uvolňování mikro a nanoplastů dochází také z plastových čajových sáčků při jejich louhování. [42]

Odhaduje se, že ročně člověk skrze jídlo a pití přijme 39 000 až 52 000 mikroplastů. Množství se liší v závislosti na věku a pohlaví. Kromě konzumace se do těla člověka mohou mikroplasty dostat inhalací při dýchání. S ohledem k tomuto faktu se celkový roční příjem zvýšil na 74 000 až 121 000 mikroplastů. [8] Při vdechnutí nebo pozření mikroplastů a zejména nanoplastů může docházet k jejich proniknutí do tkání a akumulaci. Některé studie naznačují, že mohou být přes buňky přemísťovány do cévní a lymfatické soustavy, potenciálně ukládány v sekundárních orgánech a ovlivňovat zdraví buněk. Mohou způsobovat záněty, mutagenezi, oxidativní stres, apoptózu a nekrózu. [4] Mikro/nanoplasty byly poprvé objeveny i v lidské krvi, čímž bylo potvrzeno jejich vstřebávání do lidského těla. Přítomnost syntetických polymerů v krvi byla prokázána u 17 dárců z 22. Průměrná koncentrace plastových částic činila 1,6 μg na ml krve. Prostřednictvím krve mohou být transportovány do tkání a orgánů. [10] Jako

částečný důkaz může sloužit jejich nálezy v lidské placentě, avšak přesný původ mikroplastů není znám. Ve čtyřech vzorcích placenty bylo nalezeno celkem 12 mikroplastů v rozmezí velikostí 5–10 μm . [9] Transport mikroplastů v těle a míru uvolňování potenciálně nebezpečných látek je stále potřeba detailněji prozkoumat.

2.4. Odběr a úprava vzorků

Vzhledem k tomu, že je problematika mikroplastů poměrně čerstvé téma, jsou nevhodnější metody odběru a úpravy vzorků stále předmětem diskusí. Rozsáhlý výskyt mikroplastů a rozmanitost matric komplikují nalezení univerzálních metod. Způsob vzorkování se liší v závislosti na místě odběru, ale pro všechny platí stejná pravidla pro zabránění kontaminace vzorku, což je často ztěžováno všudypřítomností plastů. Je potřeba co nejvíce redukovat používání plastového vybavení při manipulaci se vzorkem. Dále je vhodné omezit nošení oblečení ze syntetických vláken, jelikož se z něj mohou snadno uvolňovat a přemisťovat se vzduchem. Běžná kontrola kontaminace je prováděna pomocí slepých pokusů. Odběr vzorků často komplikuje široká distribuce mikroplastů v prostoru (např. pole, oceány). Použitá technika bude záviset také na rozsahu cílených velikostí mikroplastů. Po odběru vzorku je potřeba mikroplasty účinně separovat od matrice a popřípadě odstranit usazenou organickou hmotu na mikroplastech. V některých případech může být nutné provést konzervaci vzorku. Toho lze dosáhnout sušením (kaly, sedimenty), chlazením nebo zmražením (vodné a organicky bohaté vzorky) nebo v případě biologických vzorků naložením do formaldehydu nebo alkoholu. Při sušení je potřeba dát pozor, aby teplota nepřesáhla teplotu tání polymeru. [43] V následujících kapitolách jsou popsány postupy při vzorkování a úpravě vzorků s přihlédnutím na jejich výskyt a typ matrice se zaměřením na vzorky kalů.

2.4.1. Vzorkování vod

Mořské vody jsou nejčastějším typem vzorků pro analýzu mikroplastů. Většinou je potřeba výprava na širé moře, což zvyšuje náklady na vzorkování. Vzhledem k hustotě se většina mikroplastů nachází na hladině, ale mohou se vyskytovat v celém vodním sloupci. Tato široká distribuce jak v horizontální, tak ve vertikální rovině působí při odběru vzorku komplikace. Nejpoužívanější metodou vzorkování je zachytávání mikroplastů do vlečných sítí běžně používaných na odběr drobných živočichů. Pro pohyb na hladině mívají konstrukci katamaránu nebo jsou připojeny k bóji. Každé zařízení musí obsahovat průtokoměr, přičemž rychlost sběru bývá v rozmezí 1–5 uzlů. [43] Velikost pórů sítě je od 53 μm do 3 mm. Tato metoda dovoluje snadné vzorkování velkých objemů vzorků. Dalším používaným způsobem je ruční odběr do nádob a následná filtrace na místě. Pro větší objemy je možné použít vodní pumpu. Pro vertikální odběr skrze vodní sloupec je vhodná trubice se stopkou. [18]

2.4.2. Vzorky potravin

Analýza mikroplastů v potravinách je zaměřena především na mořské plody, jelikož pro člověka představují největší riziko. Největší koncentrace mikroplastů se nachází v žaludcích živočichů, proto jsou i nejčastěji zkoumanou částí. Nejjednodušší metodou je vizuální separace, při které se provede pitva a pod mikroskopem jsou ze žaludku a střev ručně vybírány mikroplasty pomocí pinzety. Nevýhodou této metody je sklon k zanedbávání velmi malých částecek, proto je upřednostňován postup, při kterém je napřed biologický materiál rozložen, a plasty jsou ponechány. K rozkladu lze použít kyseliny, zásady nebo i enzymy, je však potřeba kontrolovat, aby nedocházelo k rozkladu mikroplastů. Mezi používaná činidla patří například HNO_3 , HClO_4 , H_2O_2 , NaOH a KOH . Pro snížení rizika disociace mikroplastů je nejvhodnější použít enzymy, jako jsou proteázy, lipázy, celulózy a chitinázy. [18] Při analýze kuchyňských solí jsou nejprve rozpuštěny ve vodě a poté přefiltrovány. V případě, že sůl bude obsahovat nerozpustné anorganické zbytky je vhodné směs před filtrací centrifugovat. [5] Vzorky balených vod, minerálek a piv ve většině případů nevyžadují před separací speciální úpravu a je možno je rovnou filtrovat. [38, 7]

2.4.3. Vzorky půd a kalů

V čistírnách odpadních vod jsou mikroplasty z vod efektivně zachytávány a akumulovány v kalech, ze kterých se při hnojení dostávají do půdy. Vzorky kalů a půd jsou tvořeny komplexní maticí z organických i anorganických látek, které komplikují analýzu mikroplastů. Separace mikroplastů je ve většině případů prováděna na základě rozdílů v hustotě. Půdní organický materiál má průměrně hustotu $1,0\text{--}1,4 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$, což způsobuje jeho extrakci společně s mikroplasty, proto je potřeba ho před separací odstranit. Ještě před tímto krokem je nutné kaly a půdy vysušit, homogenizovat a přesít přes 5 mm nerezové síto. [44, 45] Nejběžnějším způsobem odstranění organického materiálu je působení H_2O_2 , [36] avšak účinnost samotného peroxidu je často zpochybňována tím, že dochází spíše k bělení materiálu než k jeho rozkladu. Tento proces může být časově náročný (až několik dní), ale lze jej urychlit zvýšením teploty. [44, 45]

Jiným příkladem oxidace pomocí H_2O_2 je použití Fentonova činidla. [44, 46, 47] Rozdíl je v přidání Fe^{2+} iontů jako katalyzátoru, který urychluje reakci i při pokojové teplotě. Účinnost odstranění organického materiálu je vyšší než u čistého H_2O_2 a potřebný čas pro rozklad je výrazně snížen z několika dnů na několik hodin. [46] Nejčastěji je jako katalyzátor používán $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, což je levná a snadno dostupná látka. Nevýhodou však je nutnost upravit pH na hodnotu 3–5, při které by mohlo docházet k degradaci některých polymerů. [44, 46] Oxidace pomocí Fentonova činidla je komplexní proces a je závislý na mnoha faktorech, jako je pH,

koncentrace katalyzátoru, koncentrace peroxidu a matrice vzorku. Proto i když je metoda s Fentonovým činidlem obecně účinnější, tak v některých případech bylo odstranění organického materiálu nižší než při použití H_2O_2 za zvýšené teploty. [48]

Další možností odstranění organického materiálu je pomocí kyselin (např. HCl , HNO_3), ale ty mohou také způsobit degradaci polymerů, a proto jsou používány jen výjimečně. Pro extrakci mikroplastů z biologických vzorků se jako optimální ukázalo použití hydroxidů za zvýšené teploty (zejména KOH při $60\text{ }^\circ\text{C}$), protože snadno odbourávají proteiny. V případě kalů a půd je účinnost značně nižší, jelikož hydroxidy nejsou schopné odstranit celulóзовé, chitinové a huminové látky. [44] Například Mintenig et al. použili pro odstranění organického materiálu z kalu $10\text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ NaOH a vzorek 24 h zahřivali při $60\text{ }^\circ\text{C}$. [49] Poslední možný způsob odstranění organického materiálu je použití enzymů. U biologických vzorků se tato metoda ukázala jako účinná, nicméně takto byly upraveny jen malé objemy vzorků. Používané enzymy jsou poměrně drahé a pro úpravu vzorků kalů, kde jsou analyzovány řádově desítky gramů, by byla tato technika ekonomicky nevýhodná. [44] Pomocí enzymů byly například upraveny vzorky odpadních vod, postup byl však komplikovaný a náchylný na ztrátu mikroplastů. [49]

Při porovnání zmíněných metod bylo zjištěno, že některé způsobují degradaci polymerů. Například 30% H_2O_2 při teplotě nad $70\text{ }^\circ\text{C}$ způsobovalo degradaci PA a u PS bylo možné sledovat povrchové změny. Při použití 1M NaOH docházelo k povrchovým změnám u částecek z PET a polykarbonátu (PC). Navýšením koncentrace NaOH na $10\text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ docházelo až ke snižování velikosti a hmotnosti částic. S ohledem na efektivitu odstranění organického materiálu ve vzorcích kalů a půd byly postupy s peroxidem účinnější než roztoky alkalických solí. Fentonovo činidlo dosáhlo srovnatelných výsledků jako čistý peroxid vodíku při $70\text{ }^\circ\text{C}$, avšak bez negativního ovlivnění polymerů. Z výsledků lze vyvodit závěr, že jako optimální způsob úpravy vzorků kalů a půd se jeví Fentonovo činidlo. [44]

2.5. Separace mikroplastů

Po vhodné úpravě vzorků je potřeba mikroplasty separovat od matrice. V případě přírodních a balených vod je možné vzorky rovnou přefiltrovat a zachycené mikroplasty dále analyzovat. To neplatí pro vzorky se složitější matricí, která by byla zadržována na filtrech a rušila by analýzu mikroplastů. Nejčastěji je extrakce mikroplastů prováděna hustotní flotací. Princip této metody je založen na rozdílu hustot polymeru a roztoků solí. Většina používaných syntetických polymerů má hustotu nižší než $1,4\text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ s výjimkou polytetrafluoroethylenu (teflon, PTFE), který má hustotu průměrně $2,2\text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$. Po odstranění organického materiálu se dají mikroplasty od sedimentu oddělit přidáním roztoku soli, tím se zvýší hustota roztoku se

vzorkem a mikroplasty vyplavou na hladinu. Nejčastěji používané jsou nasycené roztoky solí NaCl ($1,2 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$), ZnCl_2 ($1,5 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$) a NaI ($1,8 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$). Vzhledem k hustotě je nejúčinnější extrakce docílena pomocí roztoku NaI, avšak kvůli vysoké ceně je nejčastěji používanou solí NaCl. U vzorků jemných sedimentů může samovolné rozdělení podle hustoty trvat relativně dlouho. Při analýze malých objemů je možné tento proces urychlit centrifugací. [18, 45] Zanedbání vysokohustotních polymerů při použití NaCl je možné kompenzovat přidáním Na_2CO_3 a mírným zahřátím ($45\text{--}50 \text{ }^\circ\text{C}$). Uvolněné CO_2 bublinky podpoří flotaci mikroplastů, které klesly na dno baňky. [36]

Po protřepání a usazení sedimentu je horní supernatant oddělen a vakuově přefiltrován. Při vakuové filtraci jsou používány membránové filtry. Nejčastěji se jedná o filtry skleněné, křemenné, nylonové nebo z PTFE s velikostí pórů jednotky až desítky μm . Většinou je dávana přednost křemenným a skleněným filtrům, protože nejsou z plastového materiálu. Kromě možné kontaminace vzorku je další nevýhodou PTFE filtru hydrofobita povrchu. [45] Společně s mikroplasty může být přefiltrován i nerozložený organický materiál, proto je dále nutné mikroplasty z filtru vizuálně separovat. To může být provedeno pomocí holého oka v případě větších mikroplastů, nebo pomocí mikroskopu pro menší mikroplasty. Vizuální separace je založena na odlišných fyzikálních vlastnostech (tvar, struktura, barva) mikroplastů od matrice. Detekované mikroplasty jsou poté manuálně odděleny a identifikovány pomocí spektrální metody. [18] Další možností je opakovaný rozklad organického materiálu přímo na filtru. K tomu mohou být použita stejná činidla jako u prvotní oxidace. Zkoušeny byly například různé poměry H_2O_2 s H_2SO_4 . Jako optimální byl zvolen poměr 1:1, jelikož při vyšším obsahu H_2SO_4 docházelo k viditelnému rozkladu PET vláken. [36] Li et al. porovnávali při druhotné oxidaci 30% H_2O_2 ; 30% H_2O_2 + H_2SO_4 (3:1, v/v) a 30% H_2O_2 + HNO_3 (3:1, v/v) při $70 \text{ }^\circ\text{C}$. Při použití kyselin bylo pozorováno slabé rozpouštění povrchu PA, avšak samotný peroxid byl nedostačující pro odstranění celulózy a ligninu, a proto bylo jako nejvhodnější činidlo zvoleno H_2O_2 s H_2SO_4 . [45]

Separaci mikroplastů lze provést i pomocí elutriace. Princip je založen na působení proudu plynu nebo kapaliny proti směru sedimentace, tím jsou částice rozděleny na základě tvaru, velikosti a hustoty. Další možnou metodou je pěnová flotace, při které jsou ze sedimentu oddělovány hydrofobní částice, tedy i mikroplasty. Při této metodě jsou do vzorku přiváděny bublinky vzduchu, které se přichytí na hydrofobní částice a společně jsou vyplaveny na povrch, kde tvoří pěnu, která je sbírána. Elutriace i pěnová flotace jsou používány především pro redukci objemu vzorku před separací hustotní flotací. [18] Dále je pro separaci mikroplastů možné využít rozdílu ve vodivosti. Felsing et al. použili elektrostatický oddělovač, který umožňuje roztřídit vodivé materiály od nevodivých. Zcela vysušený a zhomogenizovaný

vzorek je přiváděn po vibrujícím páse na uzemněný rotující kovový válec, kde je působením vysokého napětí elektricky nabit. Po opuštění elektrického pole předávají částice náboj kovovému válci. Vodivý materiál předává náboj rychleji než nevodivý materiál a odpadá z válce dříve, tím jsou částice rozdělovány podle rychlosti vybíjení. Výhodou této metody je vhodnost použití na objemné vzorky, avšak separace je často nedokonalá a sbíraná frakce obsahuje kromě mikroplastů i malé množství nevodivých organických a anorganických látek. [50]

2.6. Identifikace a kvantifikace mikroplastů

Po separaci mikroplastů od matrice je nutné určit druhy polymerů a jejich množství ve vzorku. Velikost mikroplastů značně omezuje možnosti jejich identifikace. Běžný postup identifikace spočívá ve vizuální detekci potenciálního mikroplastu a následném potvrzení chemického složení pomocí instrumentální metody. Mezi používané metody patří infračervená (IČ) a Ramanova spektrometrie, pyrolytická plynová chromatografie s hmotnostní detekcí (Pyr-GC-MS) nebo elektronová mikroskopie. [3]

2.6.1. Infračervená spektrometrie

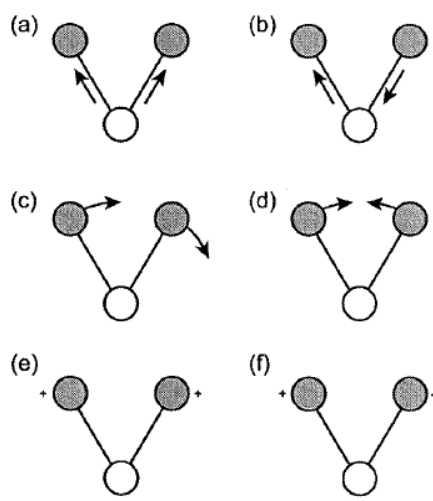
Infračervená spektrometrie s Fourierovou transformací (FTIR) patří mezi běžně používané metody pro identifikaci polymerů. V případě měření mikroplastů jsou nejvhodnějšími technikami zeslabená totální reflexe (ATR) a infračervená mikroskopie. Identifikaci je poté možné provést porovnáním změřeného spektra s knihovnou spekter. [51]

2.6.1.1. *Princip infračervené spektrometrie*

Jak napovídá název, infračervená spektrometrie (IR) je založena na absorpci infračerveného záření molekulou. Míra absorpce nebo častěji transmitance v závislosti na vlnočtu absorbovaného záření je zaznamenávána do infračerveného spektra. Absorbovaná energie (pás ve spektru) v IČ oblasti odpovídá frekvenci vibrace určité části molekuly. Jedná se o pohyby atomů v molekule, při kterých se mění délky vazeb a úhly mezi nimi. Základní typy vibrací jsou ukázány na obr. 8. Podmínkou pro absorpci IČ záření je změna dipólového momentu molekuly, proto FTIR nelze použít pro homonukleární dvouatomové molekuly. Platí, že čím větší je změna dipólu, tím je absorpční pás intenzivnější, tudíž funkční skupiny s velkým rozdílem elektronegativit atomů (např. karbonylová skupina) mají intenzivnější absorpční pásy. Jednotlivé funkční skupiny mají charakteristické frekvence vibrace, které jsou tabelovány a napomáhají k určení skupiny. [52, 53]

Jednou z výhod IR je možnost provádět kvalitativní i kvantitativní analýzu ve všech skupenstvích. Podle rozsahu měřených vlnových délek je infračervená spektrometrie

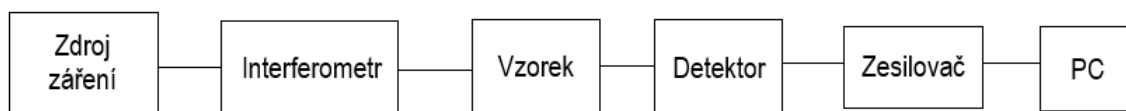
rozdělována na IR v blízké (NIR, 12 500–4000 cm^{-1}), střední (MIR, 4000–400 cm^{-1}) a vzdálené infračervené oblasti (FIR, 400–5 cm^{-1}). Nejčastěji používaná je metoda MIR, jelikož se v této oblasti vyskytují převážně fundamentální přechody a patří do ní i oblast „otisku palce“, která je charakteristická pro každou sloučeninu a slouží k její identifikaci. Díky anharmonicitě vibrací může docházet i ke svrchním, horkým a kombinačním přechodům. Při horkém přechodu se mění vibrační kvantové číslo (ν) z 1 na 2 a u svrchních tónů (overtone) je změna ν větší než 1. V případě kombinačních přechodů dochází v rámci jedné skupiny k více fundamentálním přechodům s různými vlnovými délkami současně a výsledná vlnová délka přechodu je jejich součtem. Tyto přechody mají obvykle nižší intenzitu než fundamentální přechody, ze kterých vycházejí, a vyskytují se převážně v NIR oblasti. Kvůli nižší intenzitě pásů a také díky vyšší citlivosti NIR detektorů, je tato oblast výhodnější pro kvantitativní analýzu než MIR oblast. Z FIR oblasti lze zjistit informace o vibracích slabých vazebných interakcí a těžkých atomů. [52, 53]



Obrázek 8: Základní typy vibrací molekuly: (a) symetrická valenční, (b) antisymetrická valenční, (c) kyvadlová rovinná deformační, (d) nůžková rovinná deformační, (e) vějířová mimorovinná deformační, (f) krouťivá mimorovinná deformační [52]

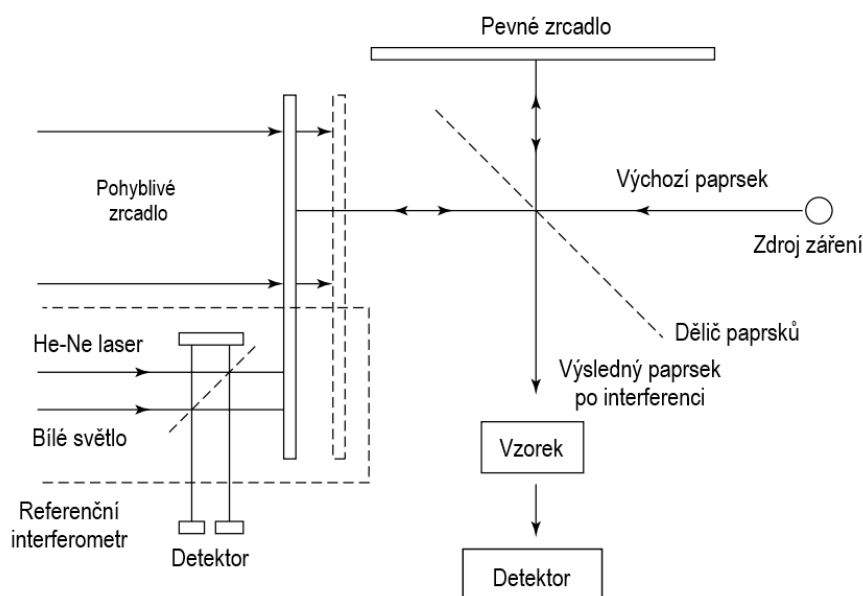
2.6.1.2. Instrumentace

U původních disperzních spektrometrů byl používán k rozkladu IR záření monochromátor s hranolem nebo mřížkou. Tento typ je již zastaralý a v dnešní době se používají převážně FTIR spektrometry s Michelsonovým interferometrem. Základní schéma FTIR spektrometru je ukázáno na obr. 9. Ze zdroje záření vychází polychromatické infračervené záření, které postupuje dále do interferometru. Jako zdroj záření slouží pevné látky zahřívané na vysokou teplotu 1500–2000 °C. Pro MIR oblast jsou používány žhavené tyčinky vyrobené z SiC (Globar) nebo oxidů kovů vzácných zemin (Nernstova tyčinka). Pro FIR oblast je vhodná ruťová oblouková lampa a pro NIR oblast wolframová žárovka. [53]



Obrázek 9: Základní schéma FTIR spektrometru

Záření ze zdroje vstupuje do interferometru, kde je pomocí polopropustného zrcadla (děliče paprsků) děleno na dva paprsky s podobnými intenzitami. Jednoduché schéma Michelsonova interferometru je ukázáno na obr. 10. Po rozdělení putuje jeden paprsek k pohyblivému zrcadlu a druhý směruje k zrcadlu pevnému. Od těchto zrcadel jsou paprsky odraženy a znovu se setkávají na děliči paprsků, kde dochází k jejich interferenci a výsledný paprsek pokračuje přes vzorek k detektoru. Fáze paprsku odraženého od pevného zrcadla zůstává stejná, ale fáze paprsku odraženého od pohyblivého zrcadla se kontinuálně mění podle délky cesty paprsku. Vzájemná poloha pohyblivého a pevného zrcadla určuje, zda dojde ke konstruktivní či destruktivní interferenci. Na interferenci závisí výsledná intenzita záření, která se s pohybem zrcadla mění podle funkce kosinus. Takto jsou na kosinové vlny převedeny všechny frekvence polychromatického záření. Superpozicí těchto vln vzniká interferogram, značící závislost intenzity záření na čase. Fourierovou transformací je časová závislost převedena na závislost intenzity na frekvenci. [54]



Obrázek 10: Zjednodušené schéma Michelsonova interferometru [55]

Záření vycházející z interferometru prochází přes vzorek, kde je částečně absorbováno a poté dopadá na detektor. V MIR oblasti je možné použít termoelektrický detektor, ale nejčastěji využívaným je pyroelektrický detektor z krystalu z deuterovaného triglycinsulfátu (DTGS). Pro vyšší citlivost měření je vhodnější fotovoltaický detektor z teluridu rtuti-kadmia (MCT), jeho nevýhodou však je nutnost chlazení tekutým dusíkem. Pro FIR oblast lze použít

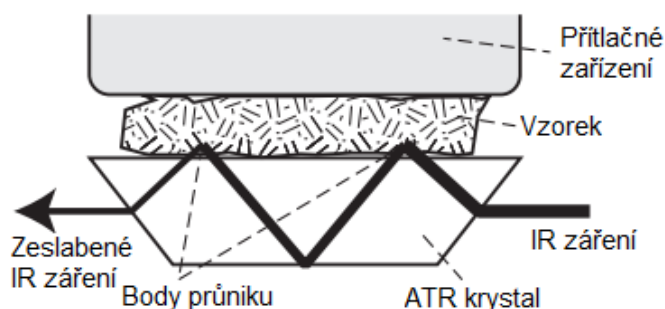
MCT detektor nebo fotovoltaický detektor z germania nebo india-antimonu chlazený tekutým heliem. Pro detekci v NIR oblasti jsou běžné detektory ze sulfidu olovnatého. [52, 53]

2.6.1.3. Transmisní techniky měření mikroplastů

Transmisní mód je ideální pro měření tenkých polymerních filmů, ale nevhodný pro měření mikroplastů, vzhledem k jejich velikosti. Lze jej využít zejména na pořízení referenčních spekter pro porovnání se spektry vzorků a jejich identifikaci. Při transmisním měření prochází infračervený paprsek skrze vzorek, což zvyšuje citlivost a dovoluje sledovat i slabší vibrace. Problematiku měření mikroplastů je možné vyřešit použitím metody lisování KBr tablet, pokud je vzorek tvořen mikroplasty stejného polymeru. V případě různorodých vzorků je interpretace spektra velmi složitá a znemožňuje identifikaci. Před lisováním tablety je doporučeno KBr s mikroplasty homogenizovat kryomletím. Lisování KBr tablet je časově náročné a existují vhodnější metody měření mikroplastů, proto je v praxi využíváno jen výjimečně. [51]

2.6.1.4. Reflexní techniky měření mikroplastů

Metoda zeslabeného úplného odrazu je v současnosti nejpoužívanější metodou identifikace mikroplastů. Oproti KBr technice je rychlejší a nevyžaduje speciální úpravu vzorku. IR paprsek je veden přes ATR krystal, který je v těsném kontaktu s měřeným vzorkem. Na fázovém rozhraní dochází k odrazu paprsku, přičemž část záření pronikne do tenké vrstvy vzorku (okolo 2 μm), kde dochází k absorpci určitých vlnových délek. Odraz paprsku a průnik do vzorku se několikrát opakuje a poté výsledný paprsek opouští krystal a směřuje na detektor (obr. 11). Hloubka průniku závisí na vlnové délce a indexu lomu krystalu a měřené látky. ATR krystaly jsou běžně vyráběny z křemíku, germania, ZnSe nebo diamantu. Materiál je vybírán s ohledem na optické vlastnosti, tvrdost, rozpustnost a odolnost vůči kyselinám a zásadám. Jelikož je hloubka průniku závislá na vlnové délce, relativní intenzita pásů s rostoucím vlnovým číslem klesá, a proto je následně nutné provést matematickou ATR korekci. V porovnání s transmisním měřením jsou u ATR díky kratším délkám průniku nižší hodnoty absorpce a nedochází k přesycení detektoru. To je naopak nevýhodou při povrchovém znečištění vzorku, které



Obrázek 11: Znárodnění principu ATR měření [51]

zásadně ovlivní vzhled spektra. Tento problém lze vyřešit vhodnou předúpravou vzorku. [51, 52]

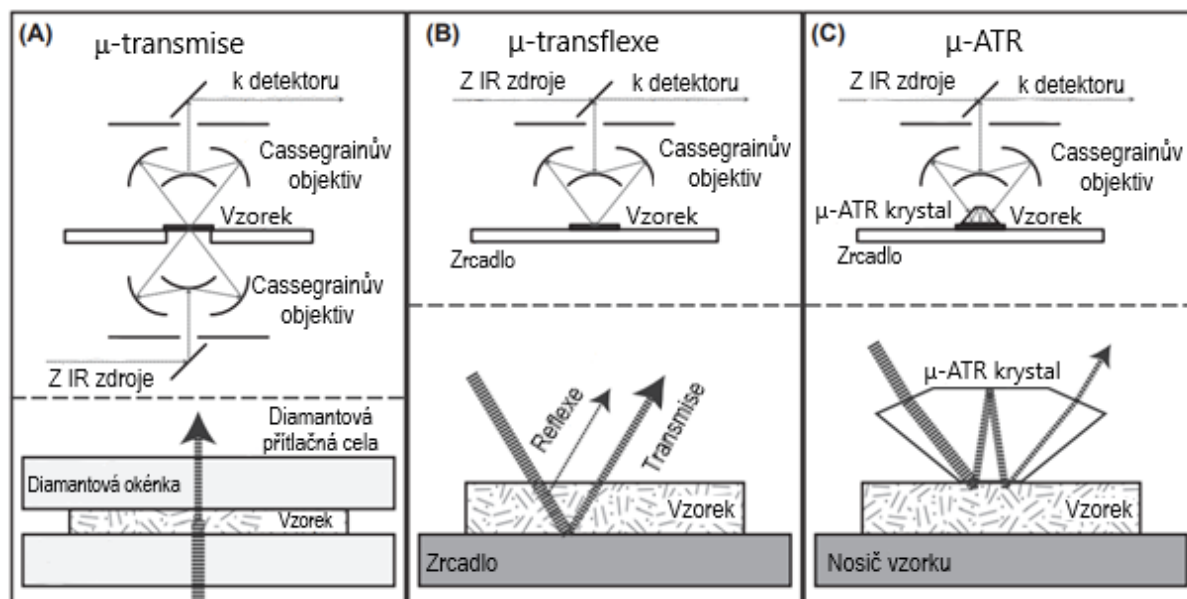
Mezi další reflexní metody patří difúzní odraz (DRIFTS), který je zaměřen zejména na analýzu práškových vzorků. Lze jej využít na měření mikroplastů, které jsou pro ATR příliš malé. Jedná se o analogii k metodě KBr tablet, mikroplasty jsou rozemlety s KBr na prášek, který je vložen do nádoby z reflexního materiálu a následně měřen. Velikost částic by měla být menší než 50 μm . Dopadající záření je od vzorku zrcadlově odraženo nebo rozptýleno, přičemž vstupuje do vzorku a část záření je absorbována. Difúzně rozptýlené záření je poté pomocí čoček vedeno na detektor. V porovnání s KBr tabletami je DRIFTS časově méně náročné, ale zároveň méně citlivé, kvůli menší hloubce penetrace do vzorku. Podobně jako u KBr metody nastává problém při nehomogenitě vzorku, proto není DRIFTS v praxi běžně používáno pro analýzu mikroplastů. [51]

2.6.1.5. *Infračervená mikroskopie mikroplastů*

Ačkoli je ATR nejpopulárnější metodou analýzy mikroplastů, neumožňuje identifikaci částic v řádech jednotek mikrometrů. Pro účely měření jednotlivých drobných mikroplastů je vhodná FTIR mikroskopie. Díky Cassegrainovu zrcadlovému systému je možné fokusovat IR záření do velmi malého bodu, aniž by docházelo ke ztrátě intenzity světla. Narozdíl od běžných optických prvků, paprsek neprochází skrze ně, ale je od nich odražen, což má za následek nižší ztráty intenzity záření. U mikroskopického měření je potřeba používat citlivější detektor, jako je MCT detektor. Vzorek je umístěn na polohovací stolek, pomocí kterého je přesunut pod fokusované záření. Měření je možné provádět třemi základními módy, a to mikro-ATR, mikro-transmisní a mikro-transflexní mód. Provedení jednotlivých módů je ukázáno na obr. 12. Z těchto tří je μ -transflexní technika nejjednodušší a nejpraktičtější. Záření prochází přes vzorek umístěný na zrcadlové destičce, od které je paprsek odražen a dále pomocí optiky sbírán a směřován na detektor (obr. 12(B)). Porézní struktura povrchů vzorků způsobuje rozptyl světla, který nepříznivě ovlivňuje transflexní spektra a má za následek nelineární základní linii a nízký poměr signálu k šumu (S/N). [18, 51]

Při μ -transmisním módu je vzorek umístěn na tenké skličko nebo na destičku s mikrodírkami. Popřípadě může být vložen mezi 2 diamantová okénka, pomocí kterých lze upravovat tloušťku měřené vrstvy (obr. 12(A)). Nevýhodou této metody je průchod záření přes několik fází (vzduch, sklo, vzorek, diamant), při kterém se může část záření odrazit od fázového rozhraní. To způsobí rozdělení záření, jedna část pokračuje dále a druhá odražená část prochází přes fáze se zpožděním. Tento rozdíl délek cest paprsků způsobí interferenci, což bude mít následek na základní linii, která se bude chovat jako kosinusoida. Tohoto jevu

se dá využít u klasického transmisního měření pro určení tloušťky tenkých filmů. Metoda μ -ATR (obr. 12(C)) se od klasického ATR liší velikostí krystalu a styčná plocha se vzorkem je zásadně menší, což omezuje počet odrazů paprsku od vzorku. Mikro-ATR je vhodné pro mikroplasty s nepravidelným tvarem, který komplikuje transflexní měření. Pomocí FT-MIR mikroskopie je možné provádět imaging jednotlivých mikroplastů ve vzorku sedimentu bez potřeby vizuální separace. Toho lze využít při studiu vlivu prostředí na mikroplasty, ale také pro analýzu směsi mikroplastů a kvantifikaci jednotlivých polymerů. [18, 51]



Obrázek 12: Schéma jednotlivých módů infračervené mikroskopie (A) μ -transmise (B) μ -transflexe (C) μ -ATR [51]

2.6.2. Ramanova spektrometrie

Ramanova spektrometrie je další z metod vibrační spektrometrie, pomocí které lze identifikovat mikroplasty. Jedná se o druhou nejčastěji volenou metodu pro identifikaci mikroplastů hned po FTIR. Umožňuje analýzu částic o velikostech už od 1 μm . Princip Ramanovy spektrometrie je založen na neelastickém rozptylu (Ramanův rozptyl), při kterém foton interaguje s molekulou a předá jí část energie, tudíž výsledné záření bude mít delší vlnovou délku – Stokesův posun. Může však nastat i situace, kdy molekula předá vibrační energii fotonu, což způsobí zkrácení vlnové délky – anti-Stokesův posun. Druhým častějším typem rozptylu je Rayleighův elastický rozptyl, při kterém se vlnová délka záření nemění. K Ramanově rozptylu dochází zhruba u 1 fotonu z 30 milionů. Obdobně jako u IR odpovídá předaná energie vibračním přechodům molekuly a získané spektrum obsahuje informace o chemické struktuře a je charakteristické pro každou sloučeninu. Identifikace mikroplastů je poté provedena porovnáním naměřených spekter s referenčními. Ve spojení s mikroskopií lze analyzovat oblasti o průměru 1 μm . Kromě analýzy velmi malých částic, nalézá Ramanova mikroskopie uplatnění při analýze heterogenních směsí mikroplastů nebo při mapování

povrchů vzorků s prostorovým rozlišením až 1 μm . Limitujícím faktorem této metody je dlouhá doba analýzy. [18, 56]

Na rozdíl od IR je používán monochromatický zdroj záření s vlnovou délkou ve viditelné nebo NIR oblasti spektra. Jelikož je Ramanův jev slabý, je potřeba, aby mělo záření ze zdroje dostatečnou intenzitu a bylo koherentní. Tyto podmínky jsou dokonale splněny použitím laseru jako zdroje záření. Mezi nejčastěji používané lasery patří argonový (514 nm), helium-neonový (632 nm), diodový (785 nm) a Nd:YAG (532 nm a 1064 nm). Na vlnové délce laseru je závislá hloubka penetrace záření do vzorku a velikost zkoumané plochy. Ramanovy spektrometry jsou taktéž děleny na disperzní a s Fourierovou transformací. U disperzních spektrometrů jsou používány lasery s vyšší frekvencí a jako detektory fotonásobiče a CCD detektory. FT-spektrometry využívají lasery s nižší frekvencí a polovodičové detektory InGaAs nebo Ge chlazený kapalným dusíkem. Důležitou součástí Raman spektrometrů je notch filtr, který před dopadem na detektor odstraňuje záření z Rayleighova rozptylu, které by svou intenzitou rušilo výsledky. [54, 56]

Jelikož záření interaguje pouze s povrchovou vrstvou vzorku, je potřeba před analýzou z mikroplastů odstranit povrchové znečištění, které by mohlo zkreslovat výsledky. Výhodou Ramanovy spektrometrie oproti IR je zanedbatelný vliv vody na měření spekter a vysoká citlivost na nepolární vazby (C—C, C=C), proto jsou tyto metody považovány za vzájemně komplementární. V FTIR jsou aktivní přechody, u kterých dochází ke změně dipólového momentu, kdežto Ramanův rozptyl závisí na změně polarizovatelnosti molekuly, čímž doplňuje informace získané pomocí FTIR. To znamená, že pásy slabé v IR spektru budou intenzivní v Ramanově spektru a naopak. Citlivost na nepolární vazby činí z Ramanovy spektrometrie ideální techniku pro měření polymerů. Umožňuje získat informace o morfologii polymeru a jeho krystalinitě. Naopak nevýhodou je vyskytující se fluorescence vzorku, překrývající signál z Ramanova rozptylu. Fluorescence je většinou způsobena aditivou a barvivy v plastech. Tento problém se dá vyřešit zvýšením vlnové délky laseru, tím však zároveň dochází ke snížení citlivosti detektoru. Spojením s Fourierovou transformací byla překážka nízké citlivosti detektoru odstraněna. Ramanova spektrometrie patří mezi nedestruktivní metody, někdy však nečistoty ve vzorku mohou způsobovat absorpci záření, a tím generovat teplo, což může vyústit až v termickou degradaci vzorku. [18, 56]

2.6.2.1. *Koherentní anti-Stokesův Ramanův rozptyl (CARS)*

CARS je speciální technika Ramanovy spektrometrie, pomocí které bylo možné lokalizovat a částečně charakterizovat mikroplasty v živých organismech. Pomocí CARS mikroskopie byl například upřesněn průběh akumulace mikroplastů jak uvnitř, tak i zevně těla zooplanktonu. Jedná se tedy o techniku umožňující detekci plastů, které jsou obklopeny biologickým

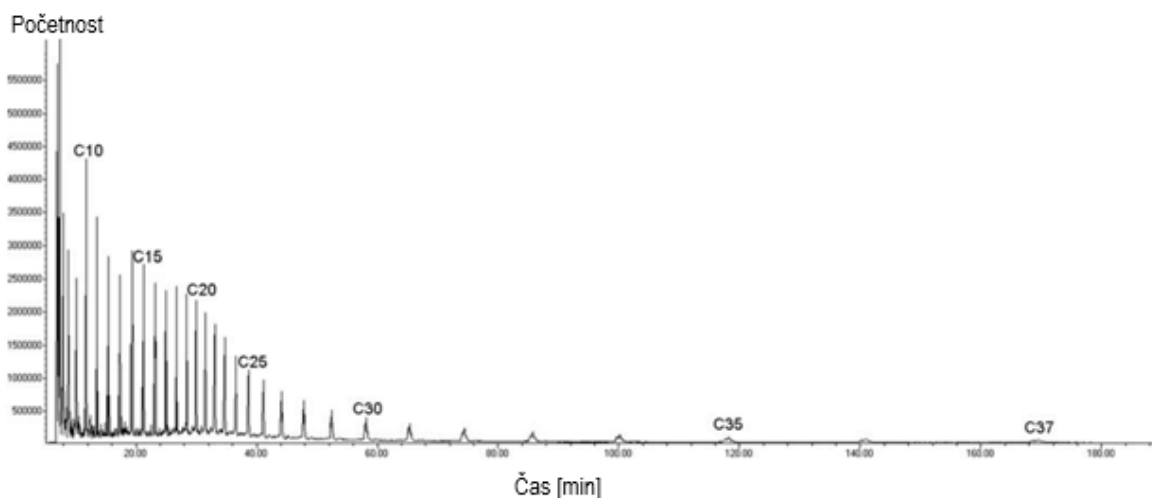
materiálem. [57] Nejedná se však o jednoduchou a běžně dostupnou techniku, což je značnou nevýhodou. Je vyžadováno instrumentálně a finančně náročné vybavení a pro interpretaci složitých výsledků je potřeba speciálně vyškolený personál. [56]

Oproti běžné Ramanově spektrometrii jsou při CARS používány 2 lasery pro současnou stimulaci vzorku. Na kvalitu laserů jsou kladeny vysoké nároky, musí být výkonné a alespoň jeden musí být laditelný, to je hlavní důvod ekonomické nákladnosti techniky. Jeden laser produkuje „pump“ paprsek s fixní frekvencí ν_1 , zatímco frekvence druhého laseru ν_2 (Stokesův paprsek) je zvolena tak, aby jejich rozdíl odpovídal vibračnímu přechodu molekuly a zároveň platí, že $\nu_2 < \nu_1$. Při splnění těchto podmínek vzniká interakcí záření se vzorkem intenzivní anti-Stokesův paprsek s frekvencí $\nu_3 = 2\nu_1 - \nu_2$. Vlastnosti vznikajícího záření jsou podobné záření laseru. Výběrová pravidla jsou stejná jako v Ramanově spektrometrii, ale intenzita signálu je značně vyšší, což vede i ke zvýšení selektivity. Největší využití má CARS při tvorbě 2D a 3D snímků pro určení výskytu dané látky ve vzorku. [56]

2.6.3. Pyrolytická plynová chromatografie s hmotnostní detekcí

Syntetické polymery jsou při termické degradaci rozkládány na charakteristické chemické sloučeniny, pomocí kterých je možné určit druh polymeru. Na tomto principu je založena pyrolytická plynová chromatografie s hmotnostní detekcí (Pyr-GC/MS). Rozklad polymerů je prováděn za zvýšené teploty (500–1400 °C) v inertní atmosféře (He). Pyrolytické produkty jsou vedeny přes chromatografickou kolonu, kde dochází k jejich separaci, a dále do hmotnostního spektrometru, který slouží jako detektor. Výsledkem je pyrogram, který obsahuje důležité informace o struktuře molekuly a jeho porovnáním s referenčními pyrogramy je možné identifikovat polymer a obsažená aditiva. Na obr. 13 je ukázán příklad pyrogramu, který byl získán pyrolýzou polyethylenu při 700 °C. Skládá se z řady tripletů odpovídajících alkadienů, alkenů a alkanů s počtem uhlíků C_3 – C_{37} . Jaké produkty budou vznikat a jejich množství závisí částečně na teplotě pyrolyzéro. [58]

Nevýhodou Pyr-GC/MS je, že se jedná o destruktivní metodu, což zabraňuje možnosti dalšího zkoumání vzorku. Naproti tomu výhodou je potřeba minimální předúpravy vzorku. [18] Pomocí Pyr-GC/MS je možné analyzovat mikroplasty v sedimentu přímo bez předchozí úpravy nebo extrakce. Problémem při tomto postupu je nedostačující mez detekce, interference matrice a nehomogenní distribuce mikroplastů ve vzorku. Vliv matrice lze omezit promytím vzorku organickým rozpouštědlem pro odstranění nízkomolekulárních organických nečistot nebo extrakcí mikroplastů za zvýšeného tlaku a teploty. Tato metoda je vhodná ke sledování hmotnostní koncentrace mikroplastů a nelze s ní určit počet, velikost, tvar a jiné vlastnosti mikroplastů. [59]



Obrázek 13: Pyrogram polyethylenu při 700 °C [58]

2.6.4. Elektronová mikroskopie

S ohledem na získávané informace při analýze mikroplastů je optická mikroskopie (OM) opakem již zmíněných metod. Nelze pomocí ní určit druh polymeru ani jeho koncentraci, ale získáváme vizuální informace o mikroplastech (tj. tvar, barva, velikost). Omezení OM nastává při příliš velkém zvětšení, kdy dochází ke zhoršení rozlišení, a proto není vhodná na analýzu velmi malých mikroplastů a nanoplastů. [60] Pro analýzu takto malých částic a detailní povrchovou analýzu je vhodná elektronová mikroskopie (EM). Při EM je vzorek ozařován svazkem elektronů, přičemž může docházet k různým interakcím v závislosti na energii elektronů. Podle typu interakce je EM dělena na transmisní elektronovou mikroskopii (TEM), skenovací elektronovou mikroskopii (SEM) a Augerovu elektronovou spektrometrii (AES). Při TEM jsou používány vysokoenergetické elektrony s energií zhruba 100 keV a dochází převážně k elastickému rozptylu. V případě SEM jsou používány elektrony s energií cca 10 keV a převládají neelastické srážky. Při AES mají elektrony energii okolo 1 keV a dochází k uvolnění Augerových elektronů (u lehčích prvků) nebo k fluorescenci (u těžších prvků). [52]

Pro studium mikroplastů jsou nejvýznamnějšími SEM a energiově disperzní spektrometrie (EDS). Při SEM je vzorek skenován svazkem elektronů, které způsobí vyražení sekundárních elektronů z vnitřní vrstvy elektronového obalu. Poté dojde k přechodu elektronu z vyšší energetické hladiny na volné místo, přičemž se uvolní charakteristické rentgenové záření odpovídající přechodu. V závislosti na detekci sekundárních elektronů, rentgenového záření, nebo odražených primárních elektronů je možné získat 3 různé druhy informací. Detekcí sekundárních elektronů získáváme informace o topografii vzorku se zvětšením až 2 000 000× a rozlišením 0,4 nm. Analýzou emitovaného rentgenového záření se zabývá EDS a umožňuje zjistit kvantitativní distribuci prvků v hloubce několika μm vzorku. Odražené

primární elektrony poskytují méně detailní informace o topografii než SEM a z jejich intenzity je možné získat informace o protonových číslech prvků na povrchu vzorku. [52, 60]

Při měření jsou mikroplasty upevněny na držák vzorku pomocí vodivé oboustranné lepicí pásky (hliníková, uhlíková) pro stabilizaci a zabránění v pohybu. Pro správné měření je potřeba, aby byl vzorek elektricky vodivý a uzemněn, aby odváděl nadbytek elektronů. Syntetické polymery jsou nevodivé látky, a proto je nutné je před analýzou vhodně upravit. To je nejčastěji prováděno pozlacením nebo pokrytím tenkou vrstvou grafitu nebo platiny. Krycí vrstva nesmí být příliš tenká, nebo příliš silná (ideálně okolo 10 nm) a nesmí rušit výsledky. Protože jsou mikroplasty tvořeny převážně prvky s nízkým protonovým číslem, vykazují velmi nízký poměr signálu k šumu. Potřebná velká energie elektronů je komplikací, protože může způsobovat degradaci polymeru a uvolňování těkavých látek. Dalšími nevýhodami jsou nákladnost a práce ve vakuu, které neumožňuje analýzu vodných vzorků a živých organismů, např. biofilmu mikroplastu. Pomocí SEM můžeme získat informace o topografii, morfologii a velikosti mikroplastů. Ve spojení s EDS je možné určit kvantitativní a kvalitativní prvkové složení mikroplastů a obsažených aditiv, které pomáhá identifikovat polymer. [18, 60]

3. Experimentální část

3.1. Chemikálie

Při úpravě vzorků byly použity tyto chemikálie:

- Peroxid vodíku p.a. (H_2O_2) nestabilizovaný, 30% (w/w), Lach-Ner, Neratovice, Česká republika
- Síran železnatý heptahydrát p.a. ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), Lachema, Brno, Česká republika
- Hydroxid sodný pecky p.a. (NaOH), PENTA, Praha, Česká republika
- Chlorid sodný p.a. (NaCl), PENTA, Praha, Česká republika
- Chlorid zinečnatý bezvodý p.a. (ZnCl_2), PENTA, Praha, Česká republika

3.2. Přístrojové vybavení

Pro homogenizaci vzorků kalů byl použit mlýnek PULVERISETTE 23 (FRITSCH, Idar-Oberstein, Německo). K promíchávání vzorku byla využita třepačka Vibramax 100 (Heidolph, Schwabach, Německo). Zahřívání vzorků bylo provedeno pomocí vícemístné vodní lázně Lauda H6V (Lauda, Německo), elektrického jednoploténkového vaříče (ETA, Praha, Česká republika) a pískové lázně SD7 (Harry Gestigkeit GmbH, Düsseldorf, Německo).

Filtrace vzorků byla prováděna přes aparaturu Millipore pro vakuovou filtraci pro membránové filtry s průměrem 47 mm. Dále byly použity membránové filtry Pragopor 4 z nitrátu celulózy (velikost pórů 0,85 μm ; průměr 50 mm; Pragochema, Praha, Česká republika), filtry ze skleněných mikrovláken GF/A (velikost pórů 1,6 μm ; průměr 47 mm; Whatman, Maidstone, Velká Británie) a filtrační papír Filtrak 390 (kruhové výseky, průměr 7 cm).

Charakterizace mikroplastů byla prováděna pomocí průmyslového přímého mikroskopu LPT 3113i-T s nekonečnou optikou (Arsenal, Praha, Česká republika). Pro identifikaci mikroplastů byly použity infračervené spektrometry Nicolet iS50 FT-IR a Nicolet 6700 FT-IR (Thermo Scientific, USA) s mikroskopickým nástavcem SurveyIR s germaniovým ATR krystalem (Czitek, Danbury, USA). K ovládní spektrometrů a interpretaci spekter byl použit program OMNIC (Thermo Scientific, USA).

3.3. Pracovní postup

3.3.1. Odběr a úprava vzorků kalů

Vzorky kalů byly odebírány z ČOV Olomouc – Nové Sady, kterou provozuje MORAVSKÁ VODÁRENSKÁ, a.s., pomocí kovové lžice do 5 litrové skleněné kádinky přikryté hodinovým sklem. Celkem byly odebrány tři vzorky kalů, a to dny 25. 2. 2020 (vzorek 1), 9. 6. 2020 (vzorek 2) a 26. 8. 2020 (vzorek 3).

Kaly byly poté nechány vysušit na hodinových sklech přikryté papírem při pokojové teplotě. Po usušení byly homogenizovány pomocí mlýnku PULVERISETTE 23 a přesety přes nerezové síto s velikostí ok 1 mm. Ze síta byly pomocí pinzety vybrány objekty s podezřením na mikroplasty, které byly dále identifikovány pomocí FTIR. Při další úpravě kalů byly zkoušeny 3 různé postupy odstranění organického materiálu:

- A) Oxidace pomocí H_2O_2 : z přeseťého materiálu bylo do 250 ml Erlenmeyerových baněk naváženo 30 g kalu, ke kterému bylo za současného míchání a chlazení ve vodě pomalu přidáváno 120 ml 30% H_2O_2 po 5 ml přidavcích. Po zklidnění reakce byl vzorek 1 h ohříván ve vodní lázni na 70 °C a poté na elektrickém vařiči při 90 °C, dokud nedošlo k odpaření většiny kapaliny. Tímto způsobem byl upraven vzorek 1.
- B) Oxidace pomocí H_2O_2 s použitím Fentonova činidla: při druhém způsobu oxidace bylo ke 30 g přeseťého kalu v 250 ml Erlenmeyerových baňkách prvně přidáno 60 ml Fentonova činidla (2% roztok FeSO_4 s upraveným pH na hodnotu 3–5) a poté bylo za současného míchání a chlazení v ledové lázni postupně přidáváno 60 ml 30% H_2O_2 (nejprve po 2,5 ml a po zmírnění pění po 5 ml). Takto byly upraveny vzorky 2 a 3.
- C) Rozklad pomocí NaOH: do 500 ml Erlenmeyerovy baňky bylo naváženo 30 g přeseťého kalu a k němu bylo přidáno 250 ml 10% NaOH. Směs byla zahřívána na pískové lázni při 60 °C přibližně 16 h. Tento postup byl vyzkoušen na vzorku 3.

3.3.2. Separace mikroplastů ze vzorků kalů

Separace mikroplastů byla provedena hustotní flotací pomocí nasycených roztoků solí NaCl a ZnCl_2 a následnou filtrací supernatantu za sníženého tlaku. Změřená hustota roztoků solí byla $\rho_{\text{NaCl}} = 1,16 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$, $\rho_{\text{ZnCl}_2} = 1,49 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$. Postup pro jednotlivé vzorky byl následující:

- A) Do jedné baňky bylo přidáno 120 ml roztoku NaCl a do druhé 120 ml roztoku ZnCl_2 . Směsi byly 60 minut míchány na třepačce Vibramax 100 při 300 rpm a poté nechány alespoň 24 h odstát v ledničce. Horní supernatant byl odpipetován a vakuově

přefiltrován přes nitrocelulózový filtr. Do vzorků bylo přidáno dalších 60 ml příslušné soli, načež byly vzorky třepány 30 minut při 300 rpm. Dále byly nechány 24 h odležet a supernatant byl znovu vakuově přefiltrován. Filtry byly vždy promyty destilovanou vodou pro odstranění přebytku soli.

B) Po přidání H_2O_2 byly vzorky nechány odpočívat a další den byly dány na 5 minut do ultrazvukové lázně. Po usazení sedimentu byl supernatant odsán pipetou a přefiltrován buď přes nitrocelulózový nebo skleněný filtr, avšak kvůli malým velikostem pórů docházelo k jejich častému ucpávání, proto byla filtrace prováděna i pomocí Búchnerovy nálevky a filtračního papíru Filtrak 390. Poté bylo do vzorků přidáno 120 ml destilované vody, vzorky byly promíchány, nechány 24 h odležet a přefiltrovány. Dále bylo do vzorků přidáno 120 ml roztoku soli NaCl nebo $ZnCl_2$, vzorky byly 30 min třepány při 300 rpm, 24 h nechány odležet a přefiltrovány. Postup se solí byl opakován ještě jednou s přidavkem 100 ml příslušné soli. Na závěr byly pomocí pinzety sesbírány a přeneseny na filtr mikroplasty, které uvázly na stěně baňky. Filtry byly vždy promyty destilovanou vodou.

C) Směs s NaOH nejevila žádné větší známky degradace a při filtraci docházelo neustále k ucpávání filtrů, proto nebyl tento vzorek dále zkoumán.

Pro zabránění kontaminace vzorků nebyly při manipulaci s nimi používány pomůcky plastového původu, avšak nelze vyloučit kontaminaci mikroplasty prostřednictvím vzduchu z okolního prachu. Slepý pokus byl proveden přefiltrováním 60 ml 30% H_2O_2 , 60 ml Fentonova činidla a 60 ml každého roztoku soli zvlášť. Slepý vzorek s NaCl byl přefiltrován přes nitrocelulózový filtr a vzorek se $ZnCl_2$ přes skleněný filtr.

3.3.3. Vzorky nápojů a vod

Kromě kalů byly analyzovány mikroplasty i v následujících nápojích a vodách:

- Tesco pramenitá voda neperlivá (šarže 11.03.21)
- Tesco pramenitá voda perlivá (šarže 03.06.21)
- Ondrášovka Jemně perlivá s příchutí limeta a citron (šarže 24.12.20)
- Mattoni neperlivá (šarže 04.06.21)
- Magnesia Jemně perlivá (šarže 02.04.21)
- Ondrášovka Jemně perlivá s příchutí lesní plody (šarže 02.12.20)
- Coca-Cola Zero (šarže 21.12.2020)
- Rastinger Classic pivo světlé výčepní (šarže 25.12.2020)
- Kohoutková voda (odebrána 17. 2. 2021)
- Destilovaná voda uchovávaná v PE barelu

Vzorky byly vybírány pro možnost porovnání obsahu mikroplastů s ohledem na barvu obalu, sycení a ochucení nápoje. Objemy vzorků byly 1,5 l, kromě Coca-Coly, která měla 1,75 l. Až na vzorky piva byly z každého baleného nápoje 2 kusy uchovávány ve tmě při pokojové teplotě a 2 kusy byly 2 měsíce (červenec, srpen) vystaveny venkovním podmínkám (balkón směrem na východ). Bez jakékoli úpravy byly nápoje vakuově přefiltrovány pomocí aparatury Millipore přes nitrocelulózový nebo skleněný filtr. Vzorky vod byly filtrovány pouze přes nitrocelulózový filtr.

Dále byl zkoumán vliv mrazu na uvolňování mikroplastů z plastových obalů. K tomu byly použity nápoje:

- Hanácká kyselka K-Jarmark přirozeně sycená (šarže 19.07.21)
- K Classic PRO AQUA Lemon taste sycená (šarže 05.2021)
- BONNY tea zelený citrus (šarže 06.10.2021)
- Pepsi Cola (šarže 06.2021)

Objem všech byl 0,5 l. Z každého nápoje byl jeden kus uchováván v temnu při pokojové teplotě a z druhého byla nejprve ¼ odlita, a pak byl týden nechán v mrazáku při -18 °C. Vzorky byly poté přefiltrovány přes nitrocelulózový filtr.

3.3.4. Identifikace mikroplastů

Filtry byly nechány vysušit a poté z nich byly pod mikroskopem LPT 3113i-T pinzetou vybírány podezřelé částičky, které byly identifikovány pomocí infračervené spektrometrie. Vzorek kalu 1 byl analyzován pomocí spektrometru Nicolet 6700 FT-IR s příslušenstvím Czitek SurveyIR s ATR nástavcem z Ge krystalu. Vzorky nápojů, vod a kalů 2 a 3 byly analyzovány na spektrometru Nicolet iS50 FT-IR prostřednictvím ATR s diamantovým krystalem. Nastavení přístrojů je popsáno v tab. 2. Identifikace mikroplastů byla provedena porovnáním naměřených spekter s knihovnamí spekter polymerů.

Tabulka 2: Parametry IR měření

Spektrometr	Rozlišení	Počet skenů	Rozsah
Nicolet 6700	4 cm ⁻¹	256	4000-800 cm ⁻¹
Nicolet iS50	8 cm ⁻¹	64	4000-400 cm ⁻¹

4. Výsledky a diskuse

4.1. Vzorky kalů

Při analýze kalů byly mikroplasty nalezeny ve všech třech vzorcích. Kromě určení polymeru a charakterizace mikroplastů byly porovnávány různé způsoby rozkladu organického materiálu, vliv druhu soli a filtru na extrakci mikroplastů.

4.1.1. Porovnání způsobů rozkladu

V této práci byly porovnány metody rozkladu organického materiálu pomocí (A) H_2O_2 za zvýšené teploty, (B) H_2O_2 s přidavkem Fentonova činidla a (C) NaOH za zvýšené teploty.

Metodou (A) byly upraveny dva duplikáty vzorku 1 (kal odebraný 25. 2. 2020). Reakce se samotným H_2O_2 byla silně exotermní a docházelo k agresivnímu pění a zahřívání vzorků, při kterém bylo chlazení ve vodě nedostačující. Při ohřívání vzorků na vodní lázni došlo k urychlení reakce a část vzorku vypěníla z baňky. Vzhledem k nízké hustotě mikroplastů se dá předpokládat, že tímto došlo k jejich významným ztrátám. K vypění došlo pravděpodobně kvůli nedostatečnému časovému intervalu mezi přidáním peroxidu a zahříváním, proto byly vzorky dány chladit a v ohřívání bylo pokračováno až po zklidnění reakce. Zahřátí vzorku nad $60\text{ }^\circ\text{C}$ vede k riziku změny tvaru či velikosti mikroplastů. [44]

Při zkoušení způsobu (C) se potvrdilo, že hydroxidy nejsou pro rozklad kalů vhodné (viz kapitola 2.4.3. Vzorky půd a kalů). Organický materiál nejevil zásadní známky rozkladu, vzorek byl příliš hustý, tmavý a nebylo možné v něm mikroplasty pozorovat. Filtrace byla zkoušena přes nitrocelulóзовý, skleněný i papírový filtr, ale u všech docházelo k téměř okamžitému ucpávání, a proto nebyl tento vzorek dále zkoumán.

Ze zkoušených metod byla metoda (B) vyhodnocena jako nejefektivnější. Byly takto upraveny vzorky 2 a 3, v obou případech po čtyřech alikvotních podílech, za účelem porovnání vlivu každé soli na každém filtru. Chlazení v ledové lázni bylo dostačující, díky čemuž nedošlo k vypění vzorku. Organický materiál byl viditelně redukován. Nevýhodou postupu bylo neodstranění zbytku peroxidu, ze kterého se uvolňovaly bublinky a promíchávaly vzorek, což komplikovalo sedimentaci nečistot a filtraci supernatantu.

4.1.2. Identifikace a charakterizace mikroplastů

Pomocí infračerveného spektrometru byla změřena infračervená spektra vzorků a jejich porovnáním s knihovny spekter polymerů byla provedena identifikace látek. Za mikroplasty byly považovány částice, které měly shodu větší než 70 alespoň se třemi spektry z knihovny spekter. Dále byly zaznamenávány částice s podezřením na mikroplasty, které měly shodu větší než 40 alespoň se třemi spektry z knihovny spekter.

V rámci charakterizace mikroplastů byly hlavními sledovanými vlastnostmi velikost, tvar a barva. Tyto informace byly získávány pomocí mikroskopu LPT 3113i-T. Z hlediska tvarů byly mikroplasty rozdělovány na vlákna, fólie, sítky a fragmenty neurčitých tvarů.

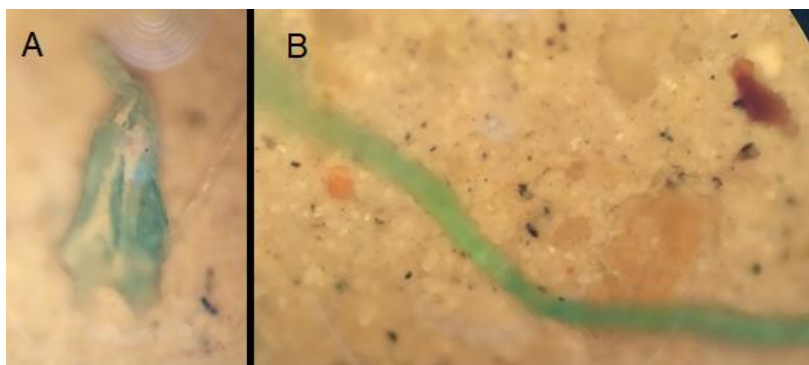
4.1.2.1. Slepý pokus

Slepý pokus s NaCl byl proveden přefiltrováním 60 ml 30% H₂O₂ a 60 ml nasyceného roztoku soli přes nitrocelulózový filtr. Částičky z filtru byly analyzovány pomocí IR spektrometru Nicolet iS50. Celkem byly nalezeny 3 mikroplasty. Jednalo se o 2 PET (1× černé vlákno, 1× bílé vlákno) a 1 PP bílý fragment. Původem mikroplastů mohou být plastové obaly chemikálií, nebo se může jednat o kontaminaci z okolí, ke které mohlo dojít při filtraci nebo manipulaci s filtrem. Přes skleněný filtr byl přefiltrován slepý vzorek z 60 ml 30% H₂O₂ a 60 ml nasyceného roztoku ZnCl₂. Nalezen byl jeden černý fragment s podezřením na PTFE.

4.1.2.2. Vzorek kalu 1

Ze vzorku 1 byly odebrány dva alikvotní podíly, jeden byl extrahován nasyceným roztokem NaCl a druhý nasyceným roztokem ZnCl₂. Vzorky byly filtrovány přes nitrocelulózový filtr. Extrakce solí byla prováděna dvakrát, dohromady tedy byly zkoumány 4 filtry. Vysoká hustota ZnCl₂ je výhodná pro extrakci těžších mikroplastů, avšak na druhou stranu způsobovala horší sedimentaci nečistot, které zpomalovaly filtraci a ucpávaly filtry.

Podezřelé částice z filtru byly analyzovány pomocí spektrometru Nicolet 6700 s mikroskopickým nástavcem Czitek SurveyIR. Z částic ze vzorku s NaCl nebyly porovnáním s knihovny spekter potvrzeny žádné mikroplasty. Ve vzorku se ZnCl₂ byl z první extrakce potvrzen 1 mikroplast (modrý fragment z PE – obr. 14 A). Při druhé extrakce byla nalezena 1 částice s podezřením na mikroplast (zelené vlákno z PE – obr. 14 B). V následujících vzorcích kalů bylo nalezeno značně vyšší množství mikroplastů. Hlavní příčinou nízkého výtěžku mikroplastů bude nevhodný způsob úpravy vzorku, při kterém došlo k vypěnění a ztrátám mikroplastů. Dalším důvodem bude nízká citlivost spektrometru, který nebyl schopen změřit tak malé vzorky.



Obrázek 14: Snímky filtru z extrakce vzorku 1 pomocí $ZnCl_2$
 A) mikroplast PE, B) objekt s podezřením na PE

4.1.2.3. Vzorek kalu 2

Všechny mikroplasty vzorku 2 byly analyzovány na spektrometru Nicolet iS50 FT-IR. Při přesévání rozemletého kalu bylo ze síta vysbíráno celkem 8 podezřelých částic. Z nich bylo u pěti potvrzeno, že se jedná o mikroplasty a u jednoho byla shoda větší než 40. Podrobnější informace o typu polymeru a vzhledu jsou uvedeny v tab. 3.

Tabulka 3: Mikroplasty ze síta vzorku 2

Polymer	Shoda >	Tvar	Barva	Počet
PP	70	Fragment	Modrá	1
PET	70	Vlákno	Červená	2
PBT	70	Vlákno	Bílá	1
PUR	70	Síťka	Zelená	1
	40	Síťka	Zelená	1

Ze vzorku 2 byly odebrány čtyři alikvotní podíly po 30 g. Dva byly použity na extrakci pomocí $NaCl$ a dva pomocí $ZnCl_2$. Z každé soli měl být jeden vzorek filtrován přes nitrocelulózový a druhý vzorek přes skleněný filtr, avšak kvůli ucpávání filtrů musely být vzorky se $ZnCl_2$ přefiltrovány přes filtrační papíry. Jednotlivé vzorky byly pojmenovány: Kal2 Na1, Kal2 Na2, Kal2 Zn1 a Kal2 Zn2. Výsledky z jednotlivých filtrací jsou uvedeny v následujících tabulkách.

Vzorek Kal2 Na1 byl filtrován přes nitrocelulózový filtr a vzorek Kal2 Na2 přes skleněný filtr. Vzorky Kal2 Zn1 a Kal2 Zn2 byly kalné, husté a na filtrech se zachytávaly drobné nečistoty, které komplikovaly sběr mikroplastů a jejich identifikaci. Použitím filtračního papíru s většími póry prošla většina jemných nečistot přes filtr a mikroplasty bylo jednodušší vyhledávat. Tímto mohlo dojít ke ztrátám drobných mikroplastů, avšak takto malé částice by ani nebylo možné používanou metodou identifikovat. Po přidání H_2O_2 byly vzorky Kal2 Na1, Na2 a Zn1 přefiltrovány. V prvních dvou byl v každém nalezen jeden mikroplast. Vzorek Kal2 Zn2 filtrován nebyl a byla do něj rovnou přidána destilovaná voda.

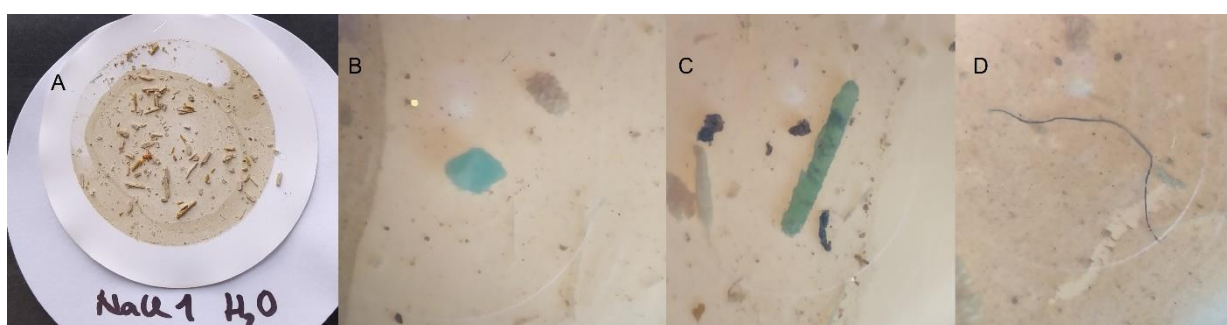
Tabulka 4: Mikroplasty z filtrace vzorku Kal2 Na1 po přidání H₂O₂

Polymer	Shoda >	Tvar	Barva	Počet
PE	70	Fragment	Bílá	1

Tabulka 5: Mikroplasty z filtrace vzorku Kal2 Na2 po přidání H₂O₂

Polymer	Shoda >	Tvar	Barva	Počet
PE	70	Fragment	Bílá	1

Na obr. 15 A je ukázán analyzovaný filtr vzorku Kal2 Na1. Jde vidět, že i přes předchozí oxidaci zůstalo ve vzorku mnoho organického materiálu. Na obr. 15 B, C a D jsou ukázky nalezených mikroplastů.



Obrázek 15: A) Filtr vzorku Kal2 Na1 po extrakci vodou a nalezené mikroplasty: B) PP; C) PE; D) PET

Tabulka 6: Mikroplasty z filtrace vzorku Kal2 Na1 po přidání H₂O

Polymer	Shoda >	Tvar	Barva	Počet	Celkem
PP	70	Fragment	Modrá	6	9
			Zelená	1	
			Černá	1	
	40	Vlákno	Černá	1	10
40	Fragment	Modrá	7		
		Červená	2		
			Černá	1	
PE	70	Fragment	Zelená	1	2
		Vlákno	Zelená	1	
PET	70	Vlákno	Černá	1	1
Polyetheruretan	40	Sítka	Bílá	1	1
co-PP-PE	40	Fragment	Modrá	1	1

Tabulka 7: Mikroplasty z filtrace vzorku Kal2 Na2 po přidání H₂O

Polymer	Shoda >	Tvar	Barva	Počet	Celkem
PP	70	Fragment	Modrá	8	10
			Červená	1	
		Vlákno	Bílá	1	
	40	Fragment	Modrá	9	13
			Bílá	2	
		Vlákno	Červená	2	
PE	70	Fragment	Bílá	6	6
Polyakrylamid	40	Fragment	Bílá	1	1
PVAc	40	Fragment	Bílá	1	1

Tabulka 8: Mikroplasty z filtrace vzorku Kal2 Zn1 po přidání H₂O

Polymer	Shoda >	Tvar	Barva	Počet	Celkem
PP	70	Fragment	Modrá	2	5
			Bílá	1	
			Zelená	2	
	40	Fragment	Modrá	4	8
			Zelená	2	
		Vlákno	Černá	2	
PE	70	Fragment	Bílá	2	3
			Černá	1	
Polyisobuten	40	Vlákno	Černá	1	1

Tabulka 9: Mikroplasty z filtrace vzorku Kal2 Zn2 po přidání H₂O

Polymer	Shoda >	Tvar	Barva	Počet	Celkem
PP	70	Fragment	Modrá	11	20
			Zelená	2	
			Červená	1	
			Černá	2	
			Bílá	1	
		Vlákno	Černá	2	
			Modrá	1	
	40	Fragment	Modrá	5	9
			Modrá	2	
		Vlákno	Černá	1	
Červená			1		
PE	70	Fragment	Bílá	11	14
			Zelená	2	
		Vlákno	Bílá	1	

Tabulky 10, 11, 12 a 13 shrnují výsledky z filtrací po prvním přidavku soli.

Tabulka 10: Mikroplasty z filtrace vzorku Kal2 Na1 po první extrakci soli

Polymer	Shoda >	Tvar	Barva	Počet	Celkem
PP	70	Fragment	Modrá	2	5
			Modrá	2	
	40	Vlákno	Zelená	1	
			Modrá	1	
			Červená	1	
PE	70	Fragment	Bílá	1	3
			Černá	2	
PDMS	70	Fragment	Bílá	1	1
PUR	40	Fragment	Zelená	1	1

Tabulka 11: Mikroplasty z filtrace vzorku Kal2 Na2 po první extrakci soli

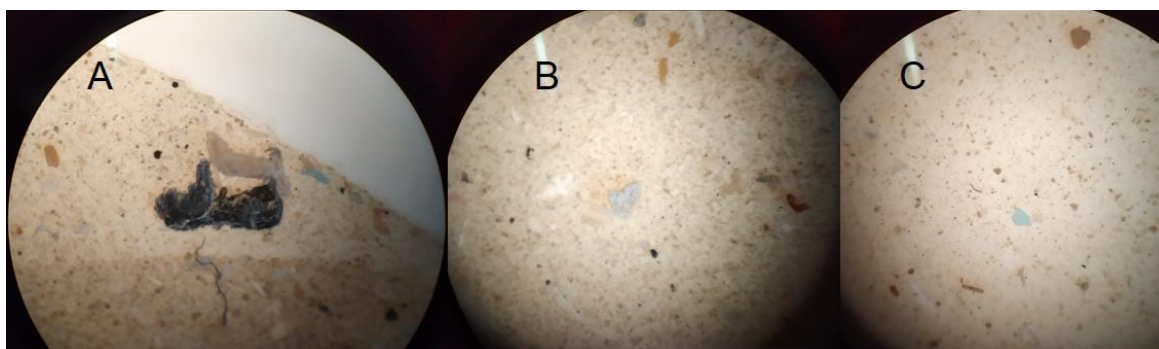
Polymer	Shoda >	Tvar	Barva	Počet	Celkem
PP	70	Fragment	Modrá	1	3
			Černá	1	
		Vlákno	Černá	1	
	40	Fragment	Modrá	3	4
			Černá	1	
PE	70	Fragment	Modrá	1	2
			Bílá	1	
	40	Fragment	Černá	1	1
ABS	40	Fragment	Bílá	1	1

Tabulka 12: Mikroplasty z filtrace vzorku Kal2 Zn1 po první extrakci soli

Polymer	Shoda >	Tvar	Barva	Počet	Celkem
PP	70	Fragment	Modrá	3	11
			Bílá	4	
		Vlákno	Modrá	1	
			Bílá	2	
			Červená	1	
	40	Fragment	Bílá	1	1
PE	70	Fragment	Bílá	4	6
		Vlákno	Bílá	2	
	40	Fragment	Bílá	1	1
PET	70	Fragment	Bílá	2	2
PUR	40	Fragment	Bílá	1	2
			Modrá	1	
co-PS-PMMA-PAN	40	Fragment	Zelená	1	1

Tabulka 13: Mikroplasty z filtrace vzorku Kal2 Zn2 po první extrakci solí

Polymer	Shoda >	Tvar	Barva	Počet	Celkem
PP	70	Fragment	Modrá	5	9
			Bílá	3	
		Vlákno	Červená	1	
	40	Fragment	Modrá	1	1
PE	70	Fragment	Bílá	6	11
			Modrá	3	
		Vlákno	Bílá	2	
PUR	40	Fragment	Zelená	1	1
PA 6	40	Vlákno	Bílá	1	1
PS	70	Fragment	Bílá	1	1
ABS	40	Fragment	Červená	1	1



Obrázek 16: Mikroplasty nalezené ve vzorku Kal2 Na1 po první extrakci solí A) PE; B) PDMS; C) PP

Tabulky 14, 15, 16 a 17 obsahují informace o mikroplastech získaných ze vzorku kalu 2 po druhé extrakci solí.

Tabulka 14: Mikroplasty z filtrace vzorku Kal2 Na1 po druhé extrakci solí

Polymer	Shoda >	Tvar	Barva	Počet	Celkem
PP	70	Fragment	Bílá	2	4
		Vlákno	Bílá	2	
	40	Fragment	Bílá	2	3
			Zelená	1	
PE	70	Fragment	Zelená	4	6
			Bílá	2	
co-PP-PE-diene	70	Fragment	Černá	1	1
co-PE-ethylakrylát	70	Fragment	Bílá	1	1
co-PS-PE-polybutylen	70	Fragment	Bílá	1	1

Tabulka 15: Mikroplasty z filtrace vzorku Kal2 Na2 po druhé extrakci solí

Polymer	Shoda >	Tvar	Barva	Počet	Celkem
PP	70	Fragment	Bílá	1	5
			Zelená	1	
			Modrá	1	
		Vlákno	Zelená	1	
	Černá		1		
40	Fragment	Modrá	2	2	
PE	70	Fragment	Bílá	2	3
		Sítka	Bílá	1	
PS	40	Fragment	Bílá	1	1
co-PE-PP-dien	70	Fragment	Bílá	1	1
co-PAN-PBD-PS	70	Fragment	Bílá	1	1
co-PE-polyakrylát	70	Fragment	Bílá	3	3
Polyetheruretan	40	Fragment	Bílá	1	1

Tabulka 16: Mikroplasty z filtrace vzorku Kal2 Zn1 po druhé extrakci solí

Polymer	Shoda >	Tvar	Barva	Počet	Celkem
PP	70	Vlákno	Černá	1	2
		Sítka	Bílá	1	
	40	Vlákno	Bílá	1	1
PE	70	Fragment	Bílá	6	6
	40	Fragment	Bílá	1	1
PET	70	Fragment	Zelená	1	9
			Bílá	5	
		Vlákno	Modrá	1	
			Černá	2	
PA 66	70	Vlákno	Bílá	1	1
	40	Vlákno	Bílá	1	1
PAN	70	Vlákno	Bílá	2	2
	40	Vlákno	Modrá	1	1
PUR	70	Fragment	Bílá	1	1
		Sítka	Zelená	1	1
PS	70	Fragment	Bílá	1	1

Tabulka 17: Mikroplasty z filtrace vzorku Kal2 Zn2 po druhé extrakci solí

Polymer	Shoda >	Tvar	Barva	Počet	Celkem
PP	70	Fragment	Bílá	1	1
PS	70	Fragment	Bílá	1	1

Tabulka 18: Celkový počet mikroplastů nalezených ve vzorcích z kalu 2

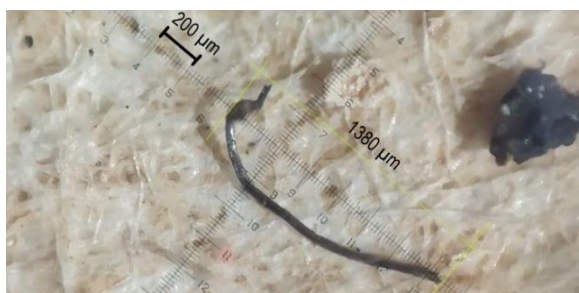
Vzorek	Shoda >	Extrakce				Celkem
		H ₂ O ₂	H ₂ O	Sůl 1	Sůl 2	
Na1	70	1	13	6	13	33
	40	0	12	6	3	21
Na2	70	1	16	5	23	45
	40	0	15	6	4	25
Zn1	70	0	8	19	23	50
	40	0	9	5	4	18
Zn2	70	-	34	21	2	57
	40	-	9	4	0	13

Na vzorcích se sodnou solí byl porovnáván vliv filtru na schopnost zachytávání mikroplastů. Při použití skleněného filtru byl nalezen vyšší počet mikroplastů, avšak rozdíl oproti nitrocelulóзовému filtru nebyl příliš zásadní. Výhodou skleněného filtru byly větší póry, díky kterým se méně ucpával. Naopak nevýhodou byla jeho křehkost a „nadýchanost“, které komplikovaly manipulaci s ním. Výrazné rozdíly v počtu mikroplastů nebyly pozorovány ani při porovnávání použitých solí.

Dohromady bylo ve všech vzorcích nalezeno 185 mikroplastů (se shodou vyšší než 70). Průměrná koncentrace vychází 1542 mikroplastů na kilogram kalu. Nejčastěji vyskytujícím se mikroplastem s celkovým počtem 82 byl PP (to odpovídá 44 % z celkového počtu mikroplastů), následován PE s počtem 64 (34 % z celkového počtu). Jedná se o dva nejvyužívanější plasty, proto byl tento výsledek očekáván. Dalšími opakovaně zastoupenými mikroplasty byly PS, PET a PUR. Celkem bylo nalezeno 199 fragmentů a 52 vláken. Mikroplasty měly nejčastěji bílou nebo modrou barvu.

4.1.2.4. Vzorek kalu 3

Ze vzorku kalu 3 byly také odebrány 4 alikvótní podíly. Postup úpravy byl stejný jako u vzorku 2 s jediným rozdílem, že po přidání H₂O₂ nebyl vzorek filtrován, ale byla do něj rovnou přidána destilovaná voda. Vzorky byly obdobně pojmenovány: Kal3 Na1, Kal3 Na2, Kal3 Zn1 a Kal3 Zn2. Výsledky z jednotlivých filtrací jsou uvedeny v následujících tabulkách. Na obr. 17 je ukázán mikroplast PP nalezený ve vzorku Na2 po druhé extrakci solí a na obr. 18 je jeho změřené spektrum.

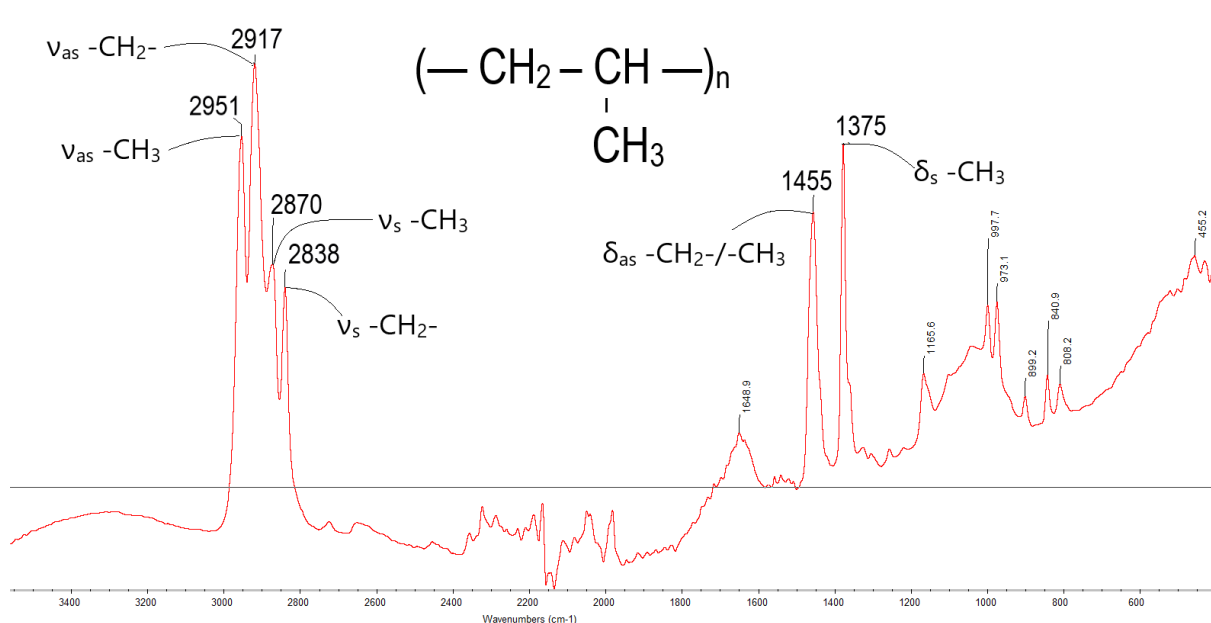


Obrázek 17: Mikroplast PP nalezený ve vzorku Kal3 Na2 při druhé extrakci solí

Tabulky 19, 20, 21 a 22 shrnují nalezené a identifikované mikroplasty po použití vody. Při této extrakci bylo získáno nejméně mikroplastů.

Tabulka 19: Mikroplasty z filtrace vzorku Kal3 Na1 po extrakci vodou

Polymer	Shoda >	Tvar	Barva	Počet	Celkem
PP	70	Fragment	Červená	3	42
			Zelená	4	
			Modrá	14	
			Bílá	10	
			Černá	4	
		Vlákno	Červená	4	
			Černá	2	
	Zelená		1		
	40	Fragment	Modrá	9	26
			Zelená	5	
Bílá			2		
Červená			2		
Vlákno		Černá	2		
		Červená	5		
PE	70	Fragment	Bílá	13	15
			Zelená	1	
			Červená	1	
	40	Fragment	Modrá	1	1
PS	70	Sítka	Bílá	1	1



Obrázek 18: Změřené spektrum mikroplastu z obr. 17 odpovídající PP, ν_{as} – valenční asymetrická vibrace, ν_s – valenční symetrická vibrace, δ_{as} – rovinná deformační asymetrická vibrace, δ_s – rovinná deformační symetrická vibrace

Tabulka 20: Mikroplasty z filtrace vzorku Kal3 Na2 po extrakci vodou

Polymer	Shoda >	Tvar	Barva	Počet	Celkem	
PP	70	Fragment	Modrá	4	20	
			Bílá	7		
			Červená	1		
			Zelená	1		
			Černá	1		
	40	Vlákno	Modrá	1	20	
			Bílá	3		
			Červená	2		
	PE	70	Fragment	Modrá	11	18
				Bílá	2	
Černá				4		
Červená				1		
Vlákno				Černá	1	
				Zelená	1	
PET				70	Vlákno	
	Vlákno	Bílá	1			
		Černá	2			

Tabulka 21: Mikroplasty z filtrace vzorku Kal3 Zn1 po extrakci vodou

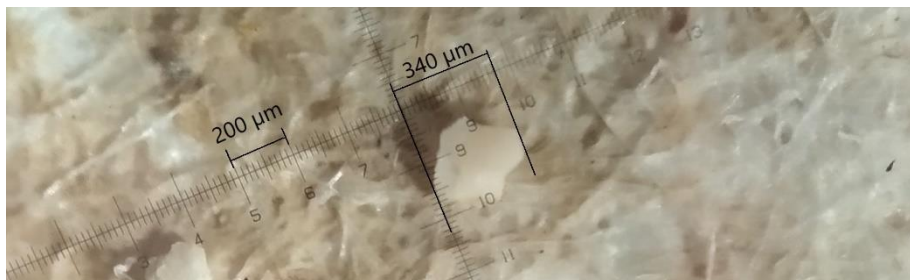
Polymer	Shoda >	Tvar	Barva	Počet	Celkem
PP	70	Fragment	Modrá	10	28
			Červená	3	
			Bílá	10	
			Černá	2	
	Vlákno	Červená	1		
		Bílá	2		
40	Fragment	Modrá	5	5	
PE	70	Fragment	Bílá	19	20
			Černá	1	

Tabulka 22: Mikroplasty z filtrace vzorku Kal3 Zn2 po extrakci vodou

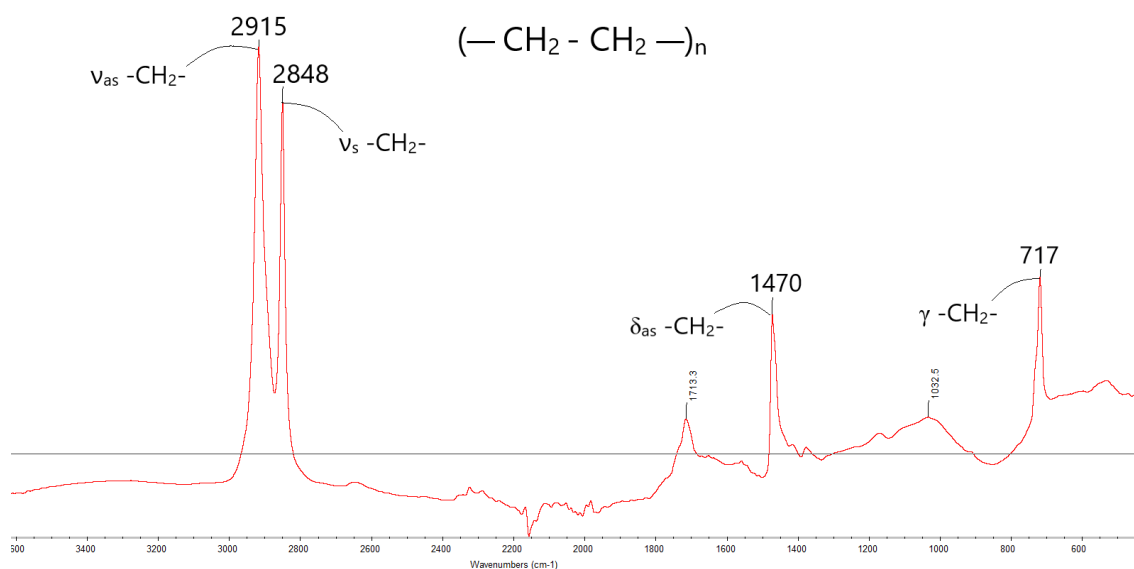
Polymer	Shoda >	Tvar	Barva	Počet	Celkem	
PP	70	Fragment	Modrá	7	29	
			Bílá	8		
			Zelená	1		
			Červená	3		
			Černá	4		
	Vlákno	70	Vlákno	Modrá		2
				Bílá		1
				Červená		2
				Černá		1
	40	Fragment	Fragment	Modrá		7
Bílá				1		
Černá				1		
Červená				2		
Vlákno		Modrá	2			
PE	70	Fragment	Modrá	2	20	
			Bílá	17		
	40	Vlákno	Vlákno	Modrá		1
				Fragment		Modrá
Bílá	1					
co-PE-ethylakrylát	70	Fragment	Bílá	1	1	
co-PE-PVAc	40	Fragment	Bílá	1	1	
PET	70	Vlákno	Černá	1	1	

Na obr. 19 je ukázán typický příklad mikroplastu z PE, který byl nalezen ve vzorku Na2 po druhé extrakci solí a na obr. 20 je jeho změřené spektrum. U mikroplastů složených z PE byl bílý fragment silně převažujícím typem. Z polymerů má polyethylen nejjednodušší chemickou strukturu. Podle míry rozvětvení řetězce se dělí na vysokohustotní (HDPE)

a nízkohustotní (LDPE). [18] I když v této práci nebyly rozdělčovány, tak převážná většina PE mikroplastů byla identifikována jako nízkohustotní. Původ drobných fragmentů a kuliček z PE je pravděpodobně z kosmetických a čistících přípravků, kde bývá používán jako abrazivum. [18]



Obrázek 19: Mikroplast PE nalezený ve vzorku Kal3 Na2 při druhé extrakci solí



Obrázek 20: Změřené spektrum mikroplastu z obr. 19 odpovídající PE, ν_{as} – valenční asymetrická vibrace, ν_s – valenční symetrická vibrace, δ_{as} – rovinná deformační asymetrická vibrace, γ – mimorovinná deformační vibrace

V tabulkách 23 a 24 jsou shrnuty mikroplasty nalezené ve vzorcích Na1 a Na2 po prvním přidavku soli NaCl. Při první extrakci solí bylo získáno největší množství mikroplastů jak ve vzorcích s NaCl, tak i ve vzorcích se ZnCl₂.

Tabulka 23: Mikroplasty z filtrace vzorku Kal3 Na1 po první extrakci soli

Polymer	Shoda >	Tvar	Barva	Počet	Celkem
PP	70	Fragment	Modrá	15	120
			Žlutá	1	
			Černá	15	
			Červená	5	
			Bílá	39	
		Zelená	5		
		Vlákno	Modrá	9	
			Černá	6	
			Červená	10	
			Bílá	14	
	Žlutá		1		
	40	Fragment	Modrá	13	56
			Červená	10	
			Černá	5	
Bílá			17		
Zelená		2			
Vlákno		Červená	3		
		Modrá	1		
	Bílá	5			
PE	70	Fragment	Bílá	83	118
			Zelená	7	
			Šedá	6	
			Oranžová	5	
			Červená	1	
			Modrá	3	
			Žlutá	2	
			Černá	6	
	40	Fragment	Bílá	1	4
			Černá	1	
		Vlákno	Bílá	2	
PS	70	Fragment	Bílá	4	4
co-PS-PAN	70	Fragment	Bílá	1	1
co-PE-PP	70	Fragment	Černá	1	3
			Zelená	1	
			Bílá	1	
co-PE-PVAc	70	Fragment	Bílá	3	3
co-PE-PP-nekonjugovaný dien	70	Fragment	Černá	1	1

Tabulka 24: Mikroplasty z filtrace vzorku Kal3 Na2 po první extrakci soli

Polymer	Shoda >	Tvar	Barva	Počet	Celkem
PP	70	Fragment	Zelená	5	91
			Modrá	12	
			Červená	4	
			Černá	11	
			Bílá	30	
		Vlákno	Bílá	14	
			Zelená	1	
			Modrá	3	
			Červená	4	
			Černá	6	
	40	Fragment	Modrá	14	45
			Červená	8	
			Bílá	13	
		Vlákno	Černá	3	
Červená			1		
Černá			3		
PE	70	Fragment	Bílá	58	77
			Zelená	7	
			Černá	5	
			Modrá	1	
			Oranžová	2	
	40	Fragment	Šedá	4	12
			Bílá	8	
			Černá	2	
			Zelená	1	
			Modrá	1	
PS	70	Fragment	Bílá	5	5
co-PP-PE	70	Fragment	Černá	3	5
			Modrá	1	
			Bílá	1	
PET	40	Fragment	Černá	2	2
		Vlákno	Bílá	1	
co-PE-PP-nekonjugovaný dien	70	Fragment	Bílá	2	2

V tabulkách 25 a 26 jsou popsány identifikované mikroplasty ze vzorků Zn1 a Zn2 po prvním přidavku soli ZnCl₂.

Tabulka 25: Mikroplasty z filtrace vzorku Kal3 Zn1 po první extrakci soli

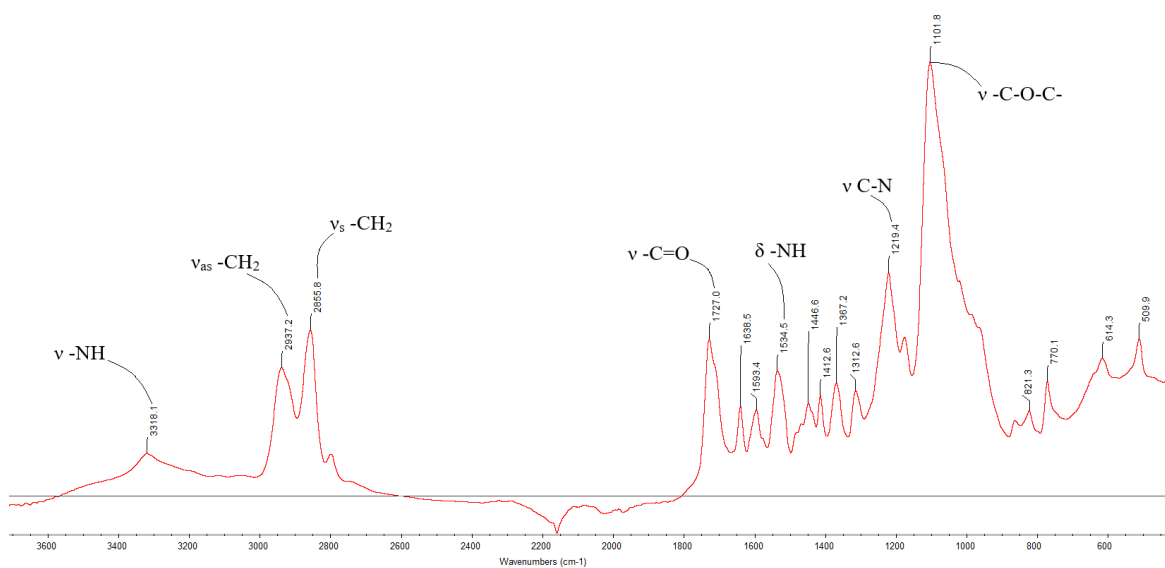
Polymer	Shoda >	Tvar	Barva	Počet	Celkem
PP	70	Fragment	Bílá	54	138
			Zelená	5	
			Modrá	10	
			Červená	3	
			Černá	12	
			Oranžová	4	
			Šedá	4	
	Vlákno	Bílá	23		
		Zelená	1		
		Modrá	7		
		Červená	6		
		Černá	8		
	Sítka	Bílá	1		
	40	Fragment	Bílá	46	
			Červená	8	
			Modrá	19	
			Černá	7	
Vlákno		Bílá	11		
		Červená	5		
		Modrá	10		
Zelená	3				
Černá	2				
PE	70	Fragment	Bílá	96	128
			Růžová	4	
			Zelená	5	
			Červená	2	
			Oranžová	2	
			Černá	4	
			Modrá	4	
	Šedá	3			
	Vlákno	Bílá	4		
	Fólie	Bílá	4		
	40	Fragment	Bílá	10	18
			Zelená	6	
			Černá	1	
Červená			1		
Polyetheruretan	70	Vlákno	Bílá	7	8
		Fragment	Hnědá	1	
	40	Fragment	Hnědá	1	1
PS	70	Fragment	Bílá	14	16

PS			Zelená	2	
	40	Fragment	Černá	1	1
co-PP-PE	40	Fragment	Černá	1	1
Polybutadien	40	Fragment	Bílá	1	1
PDMS	70	Fragment	Bílá	1	1
PTFE	40	Fragment	Černá	1	1
co-PS-PP	70	Fragment	Bílá	1	1
co-PP-PE-nekonjugovaný dien	70	Fragment	Bílá	1	3
			Černá	1	
	40	Fragment	Bílá	1	3
			Černá	3	
co-PE-PVAc	70	Fragment	Bílá	2	2
co-PAN-polybutadien-PS	70	Fragment	Bílá	2	3
			Černá	1	
PMMA	70	Fragment	Bílá	1	1

Na obr. 21 je zaznamenáno bílé elastické vlákno nalezené ve vzorku kalu 3 Zn2 při druhé extrakci solí, které bylo identifikováno jako polyetheruretan složený z butylenoxidu a methyl-bis(fenyloksyanátu). Na obr. 22 je jeho změřené spektrum.



Obrázek 21: Mikroplast polyetheruretan nalezený ve vzorku kalu 3 Zn2 při druhé extrakci solí



Obrázek 22: Změřené spektrum mikroplastu z obr. 21 odpovídající polyetheruretanu, v_{as} – valenční asymetrická vibrace, v_s – valenční symetrická vibrace, δ – rovinná deformační vibrace

Tabulka 26: Mikroplasty z filtrace vzorku Kal3 Zn2 po první extrakci soli

Polymer	Shoda >	Tvar	Barva	Počet	Celkem	
PP	70	Fragment	Bílá	41	117	
			Modrá	18		
			Zelená	2		
			Černá	8		
			Oranžová	3		
			Červená	2		
			Růžová	4		
	Vlákno	Bílá	20			
		Modrá	9			
		Zelená	2			
		Černá	6			
		Červená	2			
	40	Fragment	Bílá	38		82
			Modrá	18		
Zelená			3			
Červená			4			
Vlákno		Černá	2			
		Bílá	9			
		Modrá	2			
		Červená	3			
PE	70	Fragment	Bílá	110	163	
			Zelená	16		
			Černá	3		
			Oranžová	2		
			Růžová	8		
			Šedá	5		
			Modrá	2		
		Vlákno	Bílá	5		
			Černá	3		
			Modrá	1		
	Fólie	Bílá	8			
	40	Fragment	Bílá	12		16
			Zelená	1		
			Červená	1		
Černá			1			
Vlákno		Bílá	1			
PS	70	Fragment	Bílá	8	10	
			Zelená	1		
			Černá	1		
Polyetheruretan	70	Vlákno	Bílá	4	5	

			Žlutá	1	
co-PS-PE-polybutylen	70	Fragment	Bílá	1	1
PA 66	70	Fragment	Bílá	1	1
Epoxidová pryskyřice	70	Fragment	Bílá	1	1
co-PE-PVAc	70	Fragment	Bílá	4	4
co-PE-polyethylakrylát	70	Fragment	Bílá	3	3
PET	70	Vlákno	Černá	1	1
co-PE-PP	70	Fragment	Bílá	1	1
co-PE-PP-nekonjugovaný dien	70	Fragment	Černá	1	1

V tabulkách 27 a 28 jsou uvedeny výsledky z filtrace vzorků Na1 a Na2 po druhém přídavku soli NaCl.

Tabulka 27: Mikroplasty z filtrace vzorku Kal3 Na1 po druhé extrakci solí

Polymer	Shoda >	Tvar	Barva	Počet	Celkem
PP	70	Fragment	Bílá	24	69
			Modrá	9	
			Zelená	3	
			Červená	2	
			Černá	4	
			Šedá	1	
		Vlákno	Bílá	17	
			Modrá	4	
			Červená	3	
			Černá	2	
	40	Fragment	Bílá	22	64
			Modrá	18	
			Zelená	1	
			Červená	7	
Černá			4		
Vlákno		Bílá	5		
		Modrá	3		
		Zelená	1		
PE	70	Fragment	Bílá	40	64
			Modrá	3	
			Zelená	6	
			Růžová	1	
			Černá	5	
			Šedá	3	
			Žlutá	1	
		Vlákno	Bílá	3	

		Fólie	Bílá	2	
	40	Fragment	Bílá	6	8
			Černá	2	
PS	70	Fragment	Bílá	9	12
			Růžová	2	
			Černá	1	
	40	Fragment	Bílá	2	2
co-PAN-PS	70	Fragment	Bílá	1	2
			Červená	1	
co-PAN-PE-PP-PS	70	Fragment	Bílá	5	5
PMMA	70	Fragment	Bílá	2	2
co-PE-ethylakrylát	70	Fragment	Bílá	1	1
co-PE-PVAc	70	Fragment	Bílá	4	4
	40	Fragment	Bílá	1	1
co-PE-PP-nekonjugovaný dien	70	Fragment	Bílá	1	1
co-PP-PE	70	Fragment	Bílá	1	1
PDMS	70	Fragment	Bílá	1	1
PA 6	70	Vlákno	Černá	1	1
Polyetheruretan	70	Vlákno	Bílá	1	1
Epoxidová pryskyřice	70	Fragment	Bílá	1	1
co-PS-butylmethakrylát	70	Fragment	Bílá	1	1

Tabulka 28: Mikroplasty z filtrace vzorku Kal3 Na2 po druhé extrakci solí

Polymer	Shoda >	Tvar	Barva	Počet	Celkem
PP	70	Fragment	Bílá	19	59
			Červená	5	
			Zelená	5	
			Modrá	4	
			Oranžová	2	
			Šedá	1	
		Vlákno	Bílá	12	
			Červená	5	
			Modrá	1	
			Černá	3	
	Šedá		2		
	40	Fragment	Bílá	22	43
			Modrá	6	
			Zelená	3	
			Černá	3	
Šedá			1		
Červená		1			
Vlákno	Bílá	3			

			Červená	2	
			Modrá	2	
PE	70	Fragment	Bílá	40	63
			Zelená	9	
			Červená	1	
			Růžová	2	
			Černá	4	
			Modrá	2	
			Šedá	3	
			Vlákno	Bílá	
	Černá	1			
	40	Fragment	Bílá	5	5
PS	70	Fragment	Bílá	9	13
			Zelená	1	
			Červená	2	
			Černá	1	
	40	Fragment	Červená	1	1
co-PAN-PS	70	Fragment	Bílá	1	1
co-PAN-PBD	40	Fragment	Černá	1	1
co-PAN-PBD-PS	40	Fragment	Zelená	1	1
Polyetheruretan	70	Vlákno	Bílá	2	2
PDMS	70	Fragment	Bílá	2	2
co-PE-PVAc	70	Fragment	Bílá	1	1
co-PP-PE-nekonjugovaný dien	70	Fragment	Černá	1	2
			Bílá	1	
	40	Fragment	Černá	1	1
Poly(bisfenol A-co-epichlorhydrin)	70	Fragment	Bílá	1	1
PES	70	Vlákno	Černá	1	1
co-PE-ethylakrylát	70	Fragment	Bílá	3	3

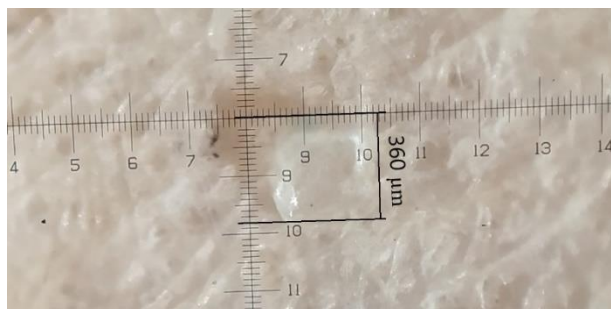
V tabulkách 29 a 30 jsou popsány nalezené mikroplasty ze vzorků Zn1 a Zn2 po druhém přidavku soli ZnCl₂.

Tabulka 29: Mikroplasty z filtrace vzorku Kal3 Zn1 po druhé extrakci solí

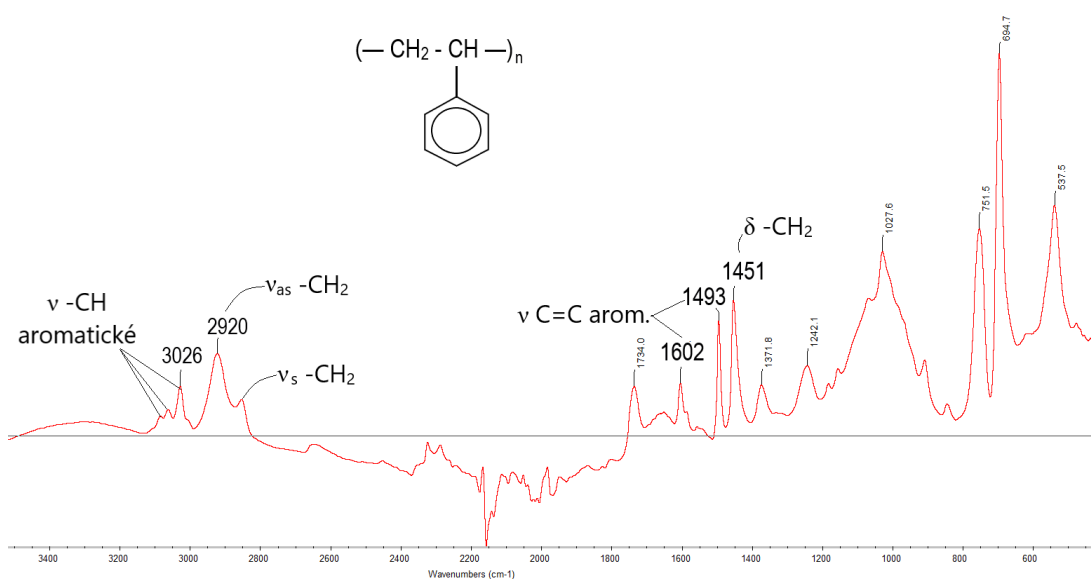
Polymer	Shoda >	Tvar	Barva	Počet	Celkem
PP	70	Fragment	Bílá	12	35
			Modrá	4	
			Černá	2	
			Červená	3	
		Vlákno	Bílá	4	
			Modrá	6	
			Černá	1	

	40	Fragment	Červená	2	46
			Zelená	1	
			Bílá	23	
			Modrá	7	
			Červená	4	
		Vlákno	Černá	5	
			Černá	2	
			Bílá	2	
			Modrá	1	
			Červená	2	
PE	70	Fragment	Bílá	34	42
			Zelená	4	
			Oranžová	1	
			Šedá	2	
		Vlákno	Bílá	1	
	40	Fragment	Zelená	1	6
			Bílá	3	
			Žlutá	1	
			Černá	1	
	PS	70	Fragment	Bílá	3
Zelená				1	
40		Fragment	Bílá	1	2
			Zelená	1	
co-PS-PE-PBD	70	Fragment	Bílá	1	1
PMMA	70	Fragment	Bílá	1	1
Polyetheruretan	70	Fragment	Bílá	2	4
		Vlákno	Bílá	2	
	40	Fragment	Bílá	1	1
co-PAN-PE-PP-PS	70	Fragment	Bílá	1	1
co-PAN-PS	70	Fragment	Bílá	2	2
co-PE-PP-nekonjugovaný dien	70	Fragment	Bílá	1	2
			Černá	1	
	40	Fragment	Bílá	1	1
co-PE-PVAc	70	Fragment	Bílá	2	3
			Černá	1	
co-PE-PP	40	Fragment	Černá	1	1
co-PS-polyakrylát	40	Fragment	Bílá	1	1
Nylon 11	70	Fragment	Bílá	1	1

Na obr. 23 je ukázán příklad mikroplastu z PS, který byl nalezen ve vzorku kalu 3 Na2 po druhé extrakci solí a na obr. 24 je jeho změřené spektrum.



Obrázek 23: Mikroplast PS nalezený ve vzorku kal3 Na2 po druhé extrakci solí



Obrázek 24: Změřené spektrum mikroplastu z obr. 21 odpovídající PS, ν_{as} – valenční asymetrická vibrace, ν_s – valenční symetrická vibrace, δ – rovinná deformační vibrace

Tabulka 30: Mikroplasty z filtrace vzorku Kal3 Zn2 po druhé extrakci solí

Polymer	Shoda >	Tvar	Barva	Počet	Celkem
PP	70	Fragment	Bílá	13	33
			Modrá	6	
			Černá	1	
			Červená	1	
		Vlákno	Bílá	5	
			Modrá	2	
			Černá	3	
			Červená	2	
	40	Fragment	Bílá	17	43
			Modrá	9	
			Červená	7	
			Černá	5	

		Vlákno	Bílá	5	
PE	70	Fragment	Bílá	32	48
			Modrá	2	
			Oranžová	1	
			Černá	4	
			Růžová	1	
			Šedá	2	
			Červená	2	
			Zelená	3	
		Fólie	Bílá	1	
	40	Fragment	Bílá	9	10
		Černá	1		
PS	70	Fragment	Bílá	7	8
				Oranžová	
	40	Fragment	Bílá	1	1
co-PS-PAN	70	Fragment	Bílá	1	1
PET	70	Vlákno	Bílá	1	1
PMMA	70	Fragment	Bílá	4	4
Polyetheruretan	40	Vlákno	Bílá	2	2
PDMS	70	Fragment	Černá	1	1
co-PS-PAN-PMMA	70	Fragment	Bílá	2	2
co-PE-PVAc	70	Fragment	Bílá	2	2
Polyamidová pryskyřice	70	Fragment	Bílá	1	1
co-PE-ethylakrylát	40	Fragment	Bílá	1	1
co-PS-PE-PBD	40	Fragment	Bílá	1	1
co-PE-PP	70	Fragment	Černá	1	1
	40	Fragment	Bílá	1	1

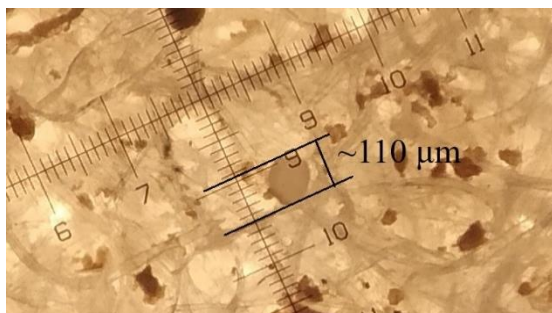
Tabulka 31: Celkový počet mikroplastů nalezených ve vzorcích z kalu 3

Vzorek	Shoda >	Extrakce			Celkem
		H2O	Sůl 1	Sůl 2	
Na1	70	58	250	166	474
	40	27	60	75	162
Na2	70	42	180	148	370
	40	20	61	52	133
Zn1	70	48	301	96	445
	40	5	137	58	200
Zn2	70	51	308	102	461
	40	16	98	59	173

Až na vzorek Na2, kde byl počet nalezených mikroplastů mírně nižší, nejsou mezi jednotlivými vzorky zásadní rozdíly, jak v počtu mikroplastů, tak ani v typu polymeru. Tvzení, že je $ZnCl_2$ pro extrakci mikroplastů vhodnější [45], z výsledků nelze potvrdit. Pro jasný závěr by bylo potřeba provést více opakování experimentu.

Oproti vzorku kalu 2 byl celkový počet mikroplastů vyšší, a to 1750. Z toho vyplývá průměrná koncentrace 14 583 mikroplastů na kilogram kalu. Nejrozšířenějšími polymery byly opět PP (781 částic ~ 45 %) a PE (776 částic ~ 44 %) a nejčastějším útvarem bílý fragment.

Nejmenší částice, které bylo možné danou metodou identifikovat, měly velikost okolo 100 μm . Na obr. 23 je ukázán jeden z nejmenších mikroplastů, jehož spektrum mělo shodu s knihovnami větší než 70. Mikroplasty z první extrakce solí vzorku Na1 byly vybrány pro výpočet průměrné velikosti mikroplastů. Za velikost mikroplastu byl považován jeho nejdelší průřez. Odečet velikosti byl prováděn vedením kolmic z os soustavy souřadnic, kde při daném zvětšení 1 úsek odpovídal 200 μm . Velikost byla zaokrouhlována na 20 μm a nebyla měřena u nerovných vláken. Průměrná velikost spočítána z celkem 299 mikroplastů (se shodou 70 i 40) vychází na 373 μm . Největší změřená hodnota byla 2560 μm a nejmenší 100 μm .

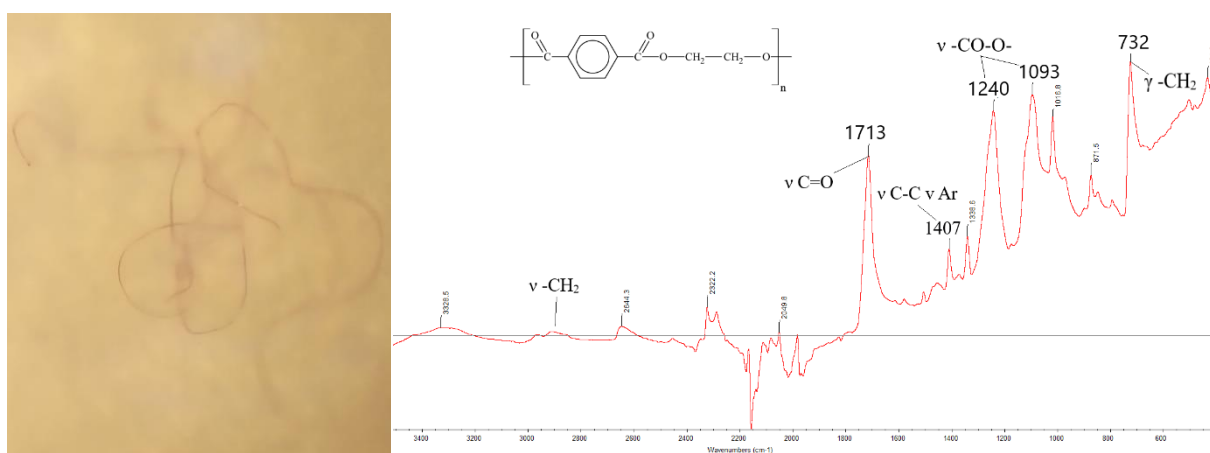


Obrázek 23: Příklad nejmenšího identifikovatelného mikroplastu (PE)

4.2. Vzorčky nápojů a vod

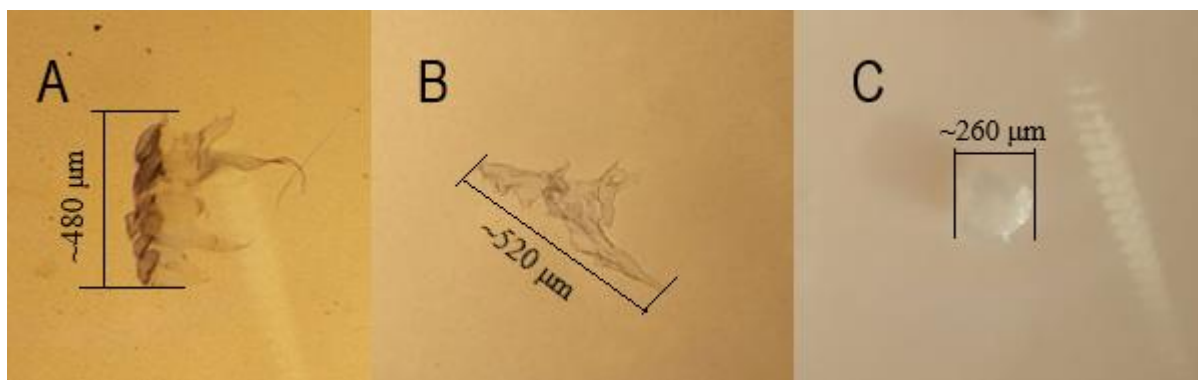
4.2.1. Vliv venkovních podmínek na uvolňování mikroplastů z obalů

Na obalech nápojů, které byly vystaveny venkovním podmínkám bylo možné pozorovat jasné změny, například vyblednutí, zežloutnutí, nafouknutí a zkřehnutí. U jedné láhve Coca-Coly došlo dokonce až k prasknutí a vylití obsahu. Při filtraci přes skleněný filtr byla u všech vzorků nalezena různě barevná vlákna, avšak většinou se jednalo o bavlnu a mikroplast byl potvrzen pouze v jednom případě, a to u vzorku Magnesie, která byla skladována v temnu při pokojové teplotě. Jednalo se o polyesterové červené vlákno (obr. 24), konkrétně o PET.



Obrázek 24: PET vlákno ze vzorku Magnesie a jeho změřené spektrum ν – valenční vibrace, γ – mimorovinná deformační vibrace

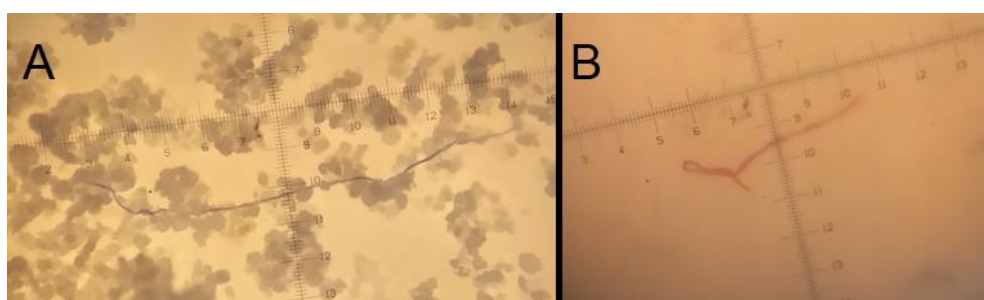
Při filtraci přes nitrocelulókový filtr bylo nalezeno dohromady 7 mikroplastů a jeden bílý fragment s podezřením na PET. V Ondrášovce limeta a citron umístěné venku bylo jedno průhledné vlákno identifikováno jako PET. V Mattoni neperlivé bylo nalezeno jedno bílé PE vlákno v domácím vzorku a jeden bílý PE fragment (obr. 25 C) ve venkovním vzorku. V Magnesii byly ve venkovním vzorku objeveny dva bílé fragmenty, jeden z PP (obr. 25 B) a druhý z PET, který měl shodu větší než 40. V Coca-Cole z domácího prostředí byl přítomen jeden černý PE fragment (obr. 25 A), jehož původ mohl být z víčka láhve. Ve vzorku piva byly nalezeny 2 zelené PET fragmenty, které byly pravděpodobně uvolněny přímo z láhve. Výsledky naznačují, že by působení slunečního záření, tepla a větru mohlo způsobovat zvýšené uvolňování mikroplastů. V případě porovnání perlivých, neperlivých a ochucených nápojů a barvy obalů nebylo pozorováno, že by měly tyto parametry vliv na množství mikroplastů.



Obrázek 25: Mikroplasty nalezené v nápojích A) PE; B) PP; C) PE

4.2.2. Vliv mrazu na uvolňování mikroplastů z obalů

Při analýze vlivu mrazu na počet mikroplastů bylo nalezeno celkem 28 vláken a 5 fragmentů, z nichž u 2 byl potvrzen mikroplast a u 3 byla shoda nad 40. Ve vzorku Hanácké kyselky uchovávané v mrazáku bylo nalezeno modré vlákno z PP (obr. 26 A). V nezmraženém vzorku PRO AQUA byly objeveny 2 mikroplasty se shodou nad 40, jednalo se o bílé polyetheruretanové vlákno a bílý PE fragment. V nezmraženém vzorku BONNY bylo nalezeno červené PET vlákno (obr. 26 B) a v nezmražené Pepsi bylo bílé PET vlákno se shodou nad 40. Z nápojů, které byly skladovány v mrazáku obsahoval mikroplast pouze jeden, zatímco z nápojů v pokojové teplotě měly v sobě mikroplasty tři z nich. Důvodem menšího počtu mikroplastů ve zmražených vzorcích mohlo být odlití části vzorku před vložením do mrazáku, při kterém mohlo dojít ke ztrátám mikroplastů.



Obrázek 26: A) Nalezené PP vlákno ve vzorku Hanácké kyselky; B) Nalezené PET vlákno ve vzorku BONNY tea

Zmražením vzorku Hanácké kyselky došlo k vysrážení bílého prášku (obr. 26 A), jedná se pravděpodobně o sražený CaCO_3 .

4.2.3. Vzorky vod

Kohoutková a destilovaná voda byly filtrovány přes nitrocelulózový filtr a analyzovány pomocí spektrometru Nicolet iS50. Při analýze 1,5 l kohoutkové vody nebyl nalezen žádný mikroplast ani podezřelá částice. Po filtraci 1,5 l destilované vody byly na filtru nalezena 3 vlákna a 1 fragment, u žádné částice však nebyl potvrzen plastový původ.



Obrázek 27: Vlákna nalezená při filtraci destilované vody

5. Závěr

Cílem této práce bylo analyzovat mikroplasty ve vzorcích čistírenských kalů a balených vod pomocí metody FTIR. Při porovnání způsobů rozkladu se metoda s použitím H_2O_2 s přídavkem Fentonova činidla jevila jako nejvhodnější, a naopak metoda s NaOH jako nejméně vhodná. Metoda s Fentonovým činidlem kompenzovala nevýhodu práce za zvýšené teploty při použití samotného H_2O_2 . Kvůli zahřívání vzorku došlo k významným ztrátám mikroplastů a pravděpodobně i k jejich morfologickým změnám, což potvrzuje pouze 1 nalezený mikroplast ve vzorku kalu 1.

Metodou s Fentonovým činidlem byly upraveny vzorky kalu 2 a 3 vždy po čtyřech alikvótních podílech. Ve vzorcích kalu 2 bylo dohromady nalezeno 185 mikroplastů (shoda s knihovnou spekter > 70) a 77 částic s podezřením na mikroplast (shoda > 40). Průměrná koncentrace činí 1542 mikroplastů na kilogram kalu. Z nalezených mikroplastů bylo 44 % tvořeno PP a 34 % PE. Dalšími nalezenými polymery byly například PS, PET, PUR a různé kopolymery. Ve vzorku kalu 3 bylo nalezeno celkem 1750 mikroplastů a 668 částic s podezřením na mikroplast. Průměrná koncentrace vychází 14 583 mikroplastů na kilogram kalu. Z většiny byly mikroplasty opět tvořeny PP (45 %) a PE (44 %). Nejčastěji nalézánými útvary byly bílé a modré fragmenty. Pro srovnání, například ve studii ze Španělska bylo v aktivovaném kalu nalezeno 280 mikroplastů na litr kalu. Zkoumány byly pouze mikroplasty s velikostí nad 150 μm a jejich průměrná velikost byla 570 μm . Hlavními nalezenými polymery byly PE a PP. [48] V jiném příkladu ze Španělska bylo množství ve třech čistírnách $17\,870 \pm 2174$; $27\,821 \pm 1357$ a $47\,130 \pm 3002$ mikroplastů $\cdot \text{kg}^{-1}$ kalu a velikosti mikroplastů byly v rozsahu 310–2110 μm . [36] V Číně bylo ve vzorcích kalů pomocí mikroskopu nalezeno 5 553–13 460 podezřelých částic na kilogram kalu. Nejrozšířenějšími polymery byly PE, PET a PAN s velikostí 20–250 μm . [45] V jiné studii z Číny byl v kalech z 28 čistíren nalezen rozsah $1,6\text{--}56,4 \cdot 10^3$ podezřelých částic na kilogram kalu, s průměrnou hodnotou $22,7 \pm 12,1 \cdot 10^3$ částic na kilogram. [61] V Německu byly v 6 čistírnách zkoumány mikroplasty menší než 500 μm a jejich výsledné množství bylo v rozmezí 1000 až 24 000 mikroplastů $\cdot \text{kg}^{-1}$. Nejvíce byly zastoupeny polymery PE, PP, PA a PS. [49]

Vybranou metodou bylo možné identifikovat mikroplasty s minimální velikostí kolem 100 μm . Průměrná velikost mikroplastů byla spočítána z celkem 299 mikroplastů z jedné extrakce solí a rovnala se 373 μm . Při porovnání vlivu druhu soli a filtru nebyly nalezeny zásadní rozdíly. Až na drobné nuance byly z jednotlivých extrakcí získány podobné počty mikroplastů a typy polymerů. Viditelným rozdílem mezi solemi byla vyšší kalnost a pomalejší

filtrace roztoku se solí $ZnCl_2$. Kvůli ucpávání filtrů nebylo možné porovnat jejich účinnost na extrakci mikroplastů.

Mikroplasty byly přítomny i ve vzorcích balených vod. V tomto případě bylo více mikroplastů nalezeno při filtraci přes nitrocelulózový filtr než přes skleněný. Na skleněném filtru bylo nalezeno pouze jedno PET vlákno ve vzorku Magnesie uchovávané v temnu při pokojové teplotě. Výsledky z filtrací přes nitrocelulózový filtr naznačují, že uskladňování ve venkovních podmínkách přes léto by mohlo vést k vyššímu uvolňování mikroplastů z obalů. Ve venkovních vzorcích byly nalezeny 4 mikroplasty a v domácích pouze 2. Při analýze vlivu mrazu na uvolňování mikroplastů z láhví bylo více mikroplastů nalezeno v nemražených vzorcích, což mohlo být způsobeno odlitím části vzorku před jeho zmražením. Pro jednoznačný závěr na vliv uvolňování mikroplastů z obalů je potřeba provést rozsáhlejší výzkum. Nalezené množství mikroplastů bylo nižší, než jaké bylo nalezeno v jiných pracích. Zhou et al. ve 23 značkách balených vod našli 2–23 mikroplastů na láhev (cca 500 ml) s velikostí převážně v rozmezí 50–300 μm . [62] Dalším příkladem může být studie z Německa, kde v 11 nápojích z jednorázových plastových láhví bylo nalezeno 2–44 mikroplastů na litr. Vyšší množství bylo nalezeno v 15 vratných plastových lahvích, a to 28–241 mikroplastů na litr. Většina mikroplastů měla velikost v rozmezí 5–20 μm . [40] Takto malé částice není možné metodou použitou v této práci identifikovat, což může být důvod, proč bylo množství nalezených mikroplastů tak nízké.

Ve vzorku kohoutkové vody nebyl nalezen žádný mikroplast ani podezřelá částice. Ve studiích zabývajících se mikroplasty v kohoutkových vodách se jejich množství významně lišilo v závislosti na místě odběru. Například v Číně byly mikroplasty nalezeny v 36 z celkem 38 odběrných míst. Množství mikroplastů bylo v rozmezí 0 až 1247 částic na litr kohoutkové vody s průměrnou koncentrací 440 částic na litr a jejich průměrná velikost byla 66 μm . [6] V jiné studii byly zkoumány vzorky kohoutkových vod ze 14 zemí a rozsah nalezených částic byl 0–61 na litr s celkovou průměrnou koncentrací 5,45 částic na litr a průměrná velikost částic byla 960 μm . K identifikaci však byl použit pouze mikroskop, a proto částice nelze s jistotou označit za mikroplasty. [63] Vzhledem k rozšířenosti mikroplastů a jejich potenciální hrozbě pro zdraví člověka je potřeba dále monitorovat jejich obsah ve vzorcích životního prostředí a potravin.

6. Seznam použité literatury

- [1] L. Lebreton, B. Slat, F. Ferrari, B. Sainte-Rose, J. Aitken, R. Marthouse, S. Hajbane, S. Cunsolo, A. Schwarz, A. Levivier, K. Noble, P. Debeljak, H. Maral, R. Brambini, R. Schoeneich-Argent, J. Reisser, Evidence that the Great Pacific Garbage Patch is rapidly accumulating plastic, *Scientific Reports* 8 (2018) 4666.
- [2] H. K. Webb, J. Arnott, R. J. Crawford, E. P. Ivanova, Plastic Degradation and Its Environmental Implications with Special Reference to Poly(ethylene terephthalate), *Polymers* 5 (2013) 1–18.
- [3] J. P. Costa, A. C. Duarte, T. A. P. Rocha-Santos, Microplastics – Occurrence, Fate and Behaviour in the Environment, v knize: T. A. P. Rocha-Santos, A. C. Duarte, *Characterization and Analysis of Microplastics*, Elsevier 75 (2017) 1–24.
- [4] S. L. Wright, F. J. Kelly, Plastic and Human Health: A Micro Issue?, *Environ. Sci. Technol.* 51 (2017) 6634–6647.
- [5] M. E. Iñiguez, J. A. Conesa, A. Fullana, Microplastics in Spanish Table Salt, *Scientific Reports* 7 (2017) 8620.
- [6] H. Tong, Q. Jiang, X. Hu, X. Zhong, Occurrence and identification of microplastics in tap water from China, *Chemosphere* 252 (2020) 126493.
- [7] S. A. Mason, V. G. Welch, J. Neratko, Synthetic Polymer Contamination in Bottled Water, *Frontiers in Chemistry* 6 (2018) 407.
- [8] K. D. Cox, G. A. Covernton, H. L. Davies, J. F. Dower, F. Juanes, S. E. Dudas, Human Consumption of Microplastics, *Environ. Sci. Technol.* 53 (2019) 7068–7074.
- [9] A. Ragusa, A. Svelato, C. Santacroce, P. Catalano, V. Notarstefano, O. Carnevali, F. Papa, M. C. A. Rongioletti, F. Baiocco, S. Draghi, E. D'Amore, D. Rinaldo, M. Matta, E. Giorgini, Plasticenta: First evidence of microplastics in human placenta, *Environment International* 146 (2021) 106274.
- [10] H. A. Leslie, M. J. M. van Velzen, S. H. Brandsma, A. D. Vethaak, J. J. Garcia-Vallejo, M. H. Lamoree, Discovery and quantification of plastic particle pollution in human blood, *Environment International* „v tisku“.

- [11] F. Corradini, P. Meza, R. Eguiluz, F. Casado, E. Huerta-Lwanga, V. Geissen, Evidence of microplastic accumulation in agricultural soils from sewage sludge disposal, *Science of the Total Environment* 671 (2019) 411–420.
- [12] E. L. Ng, E. Huerta Lwanga, S. M. Eldridge, P. Johnston, H. W. Hu, V. Geissen, D. Chen, An overview of microplastic and nanoplastic pollution in agroecosystems, *Science of the Total Environment* 627 (2018) 1377–1388.
- [13] S. C. Rasmussen, From Parkesine to Celluloid: The Birth of Organic Plastics, *Angew. Chem. Int. Ed.* 60 (2021) 2–7.
- [14] J. L. Meikle, *American Plastic: A Cultural History*, Rutgers University Press 1997.
- [15] EPRO, *PlasticsEurope, Plastics – the facts 2020*, PlasticsEurope, Brusel 2020.
- [16] PlasticsEurope (PEMRG), *Production of plastics worldwide from 1950 to 2019 (in million metric tons)**, Statista. <https://www.statista.com/statistics/282732/global-production-of-plastics-since-1950/>, staženo 13. března 2021.
- [17] R. Geyer, J. R. Jambeck, K. L. Law, Production, use, and fate of all plastics ever made, *Sci. Adv.* 3 (2017).
- [18] C. B. Crawford, B. Quinn, *Microplastic Pollutants*, Elsevier 2017.
- [19] M. Kedzierski, D. Frère, G. L. Maguer, S. Bruzaud, Why is there plastic packaging in the natural environment? Understanding the roots of our individual plastic waste management behaviours, *Science of the Total Environment* 740 (2020) 139985.
- [20] A. Svenson, S. Sjöholm, A. S. Allard, L. Jak, Antiestrogenicity and Estrogenicity in Leachates from Solid Waste Deposits, Wiley Periodicals, Inc. *Environ Toxicol* 26 (2011) 233–239.
- [21] A. L. Andrady, Microplastics in marine environment, *Marine Pollution Bulletin* 62 (2011) 1596–1605.
- [22] C. J. Rhodes, Plastic pollution and potential solutions, *Science Progress* 101 (2018) 207–260.
- [23] A. L. Andrady, Assessment of Environmental Biodegradation of Synthetic Polymers, *Journal of Macromolecular Science, Part C: Polymer Reviews* 34:1 (1994) 25–76.
- [24] A. L. Andrady, *Biodegradation of plastics: monitoring what happens*, G. Pritchard (ed.), *Plastics Additives, Polymer Science and Technology Series*, vol 1, Springer, Dordrecht (1998).

- [25] J. M. Raquez, A. Bourgeois, H. Jacobs, P. Degée, M. Alexandre, P. Dubois, Oxidative Degradations of Oxodegradable LDPE Enhanced with Thermoplastic Pea Starch: Thermo-Mechanical Properties, Morphology, and UV-Ageing Studies, Wiley Periodicals, Inc. *J Appl Polym Sci* 122 (2011) 489–496.
- [26] K. E. Gonsalves, S. H. Patel, D. H. Trivedi, Development of Potentially Degradable Materials for Marine Applications. III. Polyethylene-Polyethylene Oxide Blends, *J. Appl. Polym. Sci* 45 (1992) 217–225.
- [27] R. Gautam, A. S. Bassi, E. K. Yanful, A Review of Biodegradation of Synthetic Plastic and Foams, *Applied Biochemistry and Biotechnology* 141 (2007) 85–108.
- [28] E. Watkins, J. P. Schweitzer, E. Leinala, P. Börkey, Policy approaches to Incentivise sustainable plastic design, *Environment working paper N°149* (2019) 8.
- [29] W. Amass, A. Amass, B. Tighe, A Review of Biodegradable Polymers: Uses, Current Develoments in the Synthesis and Characterization of Biodegradable Polyesters, Blends of Biodegradable Polymers and Recent Advances in Biodegradation Studies, *Polym. Int.* 47 (1998) 89–144.
- [30] H. S. Auta, C. U. Emenike, S. H. Fauziah, Distribution and importance of microplastics in the marine environment: A review of the sources, fate, effects, and potencial solutions, *Environment International* 102 (2017) 165–176.
- [31] M. Cole, P. Lindeque, C. Halsband, T. S. Galloway, Microplastics as contaminants in the marine environment: A review, *Marine Pollution Bulletin* 62 (2011) 2588–2597.
- [32] D. G. Shaw, R. H. Day, Colour- and Form-dependent Loss of Plastic Micro-debris from the North Pacific Ocean, *Marine Pollution Bulletin* 28 (1994) 39–43.
- [33] S. Kashiwada, Distribution of Nanoparticles in the See-through Medaka (*Oryzias latipes*), *Environ Health Perspect* 114 (2006) 1697–1702.
- [34] W. C. Li, H. F. Tse, L. Fok, Plastic waste in the marine environment: A review of sources, occurrence and effects, *Science of the Total Environment* 566–567 (2016) 333–349.
- [35] F. De Falco, M. P. Gullo, G. Gentile, E. Di Pace, M. Cocca, L. Gelabert, M. Brouta-Agnésa, A. Rovira, R. Escudero, R. Villalba, R. Mossotti, A. Montarsolo, S. Gavignano, C. Tonin, M. Avella, Evaluation of microplastic release caused by textile washing processes of synthetic fabrics, *Environmental Pollution* 236 (2018) 916–925.

- [36] R. Hernández-Arenas, A. Beltrán-Sanahuja, P. Navarro-Quirant, C. Sanz-Lazaro, The effect of sewage sludge containing microplastics on growth and fruit development of tomato plants, *Environmental Pollution* 268 (2021) 115779.
- [37] Ch. K. Seth, A. Shrivastav, Contamination of Indian sea salts with microplastics and potencial prevention strategy, *Environmental Science and Pollution Research* 25 (2018) 30122–30131.
- [38] G. Liebezeit, E. Liebezeit, Synthetic particles as contaminants in German beers, *Food Additives & Contaminants: Part A* 31 (2014) 1574–1578.
- [39] S. M. Mintenig, M. G. J. Löder, S. Primke, G. Gerdt, Low numbers of microplastics detected in drinking water from ground water sources, *Science of the Total Environment* 648 (2019) 631–635.
- [40] D. Shymanski, C. Goldbeck, H. U. Humpf, P. Fűrst, Analysis of microplastics in water by micro-Raman spectroscopy: Release of plastic particles from different packaging into mineral water, *Water Research* 129 (2018) 154–162.
- [41] F. Du, H. Cai, Q. Zhang, Q. Chen, H. Shi, Microplastics in take-out food containers, *Journal of Hazardous Materials* 399 (2020) 122969.
- [42] L. M. Hernandez, E. G. Xu, H. C. E. Larsson, R. Tahara, V. B. Maisuria, N. Tufenkji, Plastic Teabags Release Billions of Microparticles and Nanoparticles into Tea, *Environ. Sci. Technol.* 53 (2019) 12300–12310.
- [43] M. F. Costa, A. C. Duarte, Microplastics Sampling and Sample Handling, v knize: T. A. P. Rocha-Santos, A. C. Duarte, *Characterization and Analysis of Microplastics*, Elsevier 75 (2017) 25–47.
- [44] R. R. Hurley, A. L. Lusher, M. Olsen, L. Nizzetto, Validation of a Method for Extracting Microplastics from Complex, Organic-Rich, Environmental Matrices, *Environ. Sci. Technol.* 52 (2018) 7409–7417.
- [45] Q. Li, J. Wu, X. Zhao, X. Gu, R. Ji, Separation and identification of microplastics from soil and sewage sludge, *Environmental Pollution* 254 (2019) 113076.
- [46] A. S. Tagg, J. P. Harrison, Y. Ju-Nam, M. Sapp, E. L. Bradley, C. J. Sinclair, J. J. Ojeda, Fenton's reagent for the rapid and efficient isolation of microplastics from wastewater, *Chem. Commun.* 53 (2017) 372–375.

- [47] K. Tadsuwan, S. Babel, Microplastic abundance and removal via an ultrafiltration system coupled to conventional municipal wastewater treatment plant in Thailand, *Journal of Environmental Chemical Engineering* 10 (2022) 107142.
- [48] C. B. Alvim, M. A. Bes-Piá, J. A. Mendoza-Roca, Separation and identification of microplastics from primary and secondary effluents and activated sludge from wastewater treatment plants, *Chemical Engineering Journal* 402 (2020) 126293.
- [49] S. M. Minteng, I. Int-Veen, M. G. J. Löder, S. Primpke, G. Gerdt, Identification of microplastic in effluents of waste water treatment plants using focal plane array-based micro-Fourier-transform infrared imaging, *Water Research* 108 (2017) 365–372.
- [50] S. Felsing, Ch. Kochleus, S. Buchinger, N. Brennholt, F. Stock, G. Reifferscheid, A new approach in separating microplastics from environmental samples based on their electrostatic behavior, *Environmental Pollution* 234 (2018) 20–28.
- [51] G. Renner, T. C. Schmidt, J. Schram, Characterization and Quantification of Microplastics by Infrared Spectroscopy, v knize: T. A. P. Rocha-Santos, A. C. Duarte, *Characterization and Analysis of Microplastics*, Elsevier 75 (2017) 67–118.
- [52] K. Záruba, *Analytická chemie (2. díl)*, Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Praha 2016.
- [53] B. Stuart, *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*, John Wiley & Sons, 2004.
- [54] P. R. Griffiths, J. A. de Haseth, *Fourier Transform Infrared Spectrometry*, Second edition, John Wiley & Sons, 2007.
- [55] B. H. Stuart, B. George, P. McIntyre, *Modern Infrared Spectroscopy*, Second edition, John Wiley & Sons, 1996.
- [56] P. Ribeiro-Claro, M. M. Nolasco, C. Araújo, Characterization of Microplastics by Raman Spectroscopy, v knize: T. A. P. Rocha-Santos, A. C. Duarte, *Characterization and Analysis of Microplastics*, Elsevier 75 (2017) 119–151.
- [57] M. Cole, P. Lindeque, E. Fileman, C. Halsband, R. Goodhead, J. Moger, T. S. Galloway, Microplastic Ingestion by Zooplankton, *Environ. Sci. Technol.* 47 (2013) 6646–6655.
- [58] P. Kusch, Application of Pyrolysis-Gas Chromatography/Mass Spectrometry (Py-GC/MS), v knize: T. A. P. Rocha-Santos, A. C. Duarte, *Characterization and Analysis of Microplastics*, Elsevier 75 (2017) 169–207.

- [59] G. Dierkes, S. Becher, H. Schumacher, C. Földi, T. Lauschke, T. Ternes, J. Riener, Quantification of Microplastics in Environmental Samples Using Pyrolysis and GC/MSD, Agilent Technologies, publication number 5994-2199EN, 2020.
- [60] A. V. Girão, G. Caputo, M. C. Ferro, Application of Scanning Electron Microscopy–Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy (SEM-EDS), v knize: T. A. P. Rocha-Santos, A. C. Duarte, Characterization and Analysis of Microplastics, Elsevier 75 (2017) 153–168.
- [61] X. Li, L. Chen, Q. Mei, B. Dong, X. Dai, G. Ding, E. Y. Zeng, Microplastics in sewage sludge from the wastewater treatment plants in China, Water Research 142 (2018) 75–85.
- [62] X. Zhou, J. Wang, H. Li, H. Zhang, H. Jiang, D. L. Zhang, Microplastic pollution of bottled water in China, Journal of Water Process Engineering 40 (2021) 101884.
- [63] M. Kosuth, S. A. Mason, E. V. Wattenberg, Anthropogenic contamination of tap water, beer, and sea salt, PLoS ONE 13(4) (2018).