



TECHNICKÁ UNIVERZITA V LIBERCI
Fakulta mechatroniky, informatiky
a mezioborových studií ■

Maximální recyklace retentátu vod obsahující mikroplasty s následnou biodegradací použitého dead-end filtru

Diplomová práce

Studijní program: N3942 – Nanotechnologie
Studijní obor: 394TR002 – Nanomateriály
Autor práce: **Jakub Kosina**
Vedoucí práce: Ing. Jaromír Marek, Ph.D.





TECHNICKÁ UNIVERZITA V LIBERCI
Fakulta mechatroniky, informatiky
a mezioborových studií ■

Maximal recycling of retentate from water containing microplastics with further biodegradation of utilized dead-end filter

Diploma thesis

Study programme: N3942 – Nanotechnology
Study branch: 3942T002 – Nanomaterials
Author: **Jakub Kosina**
Supervisor: Ing. Jaromír Marek, Ph.D.



Zde bude zadání

Prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci jsem vypracoval samostatně jako původní dílo s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím mé diplomové práce.

Jsem si vědom toho, že na mou diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, zejména § 60 – školní dílo.

Beru na vědomí, že Technická univerzita v Liberci nezasahuje do mých autorských práv užitím mé diplomové práce pro vnitřní potřebu Technické univerzity v Liberci.

Užiji-li diplomovou práci nebo poskytnu-li licenci k jejímu využití, jsem si vědom povinnosti informovat o této skutečnosti Technickou univerzitu v Liberci; v tomto případě má Technická univerzita v Liberci právo ode mne požadovat úhradu nákladů, které vynaložila na vytvoření díla, až do jejich skutečné výše.

Současně čestně prohlašuji, že text elektronické podoby práce vložený do IS/STAG se shoduje s textem tištěné podoby práce.

Beru na vědomí, že má diplomová práce bude zveřejněna Technickou univerzitou v Liberci v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů.

Jsem si vědom následků, které podle zákona o vysokých školách mohou vyplývat z porušení tohoto prohlášení.

Datum:

Podpis:

Poděkování

Děkuji svému vedoucímu, Ing. Jaromíru Markovi, Ph.D. za praktické rady a konzultace. Děkuji RNDr. Aleně Ševců, Ph.D. za poskytnutí pracoviště v mikrobiologické laboratoři na oddělení Aplikované biologie CXI a konzultace v oblasti biologie. Děkuji Mgr. Nhung Anh Huynh Nguyen, Ph.D. a Ing. Karlu Havlíčkovi za asistenci při biodegradačních experimentech. V neposlední řadě děkuji také své rodině za podporu v průběhu celého studia.

Maximální recyklace retentátu vod obsahující mikroplasty s následnou biodegradací použitého dead-end filtru

Abstrakt

Výskyt primárních a sekundárních mikroplastů z životním prostředím se neustále zvyšuje. Tento globální problém potřebuje pro své řešení propojení mnoha oborů a přístupů. Diplomová práce se zabývá dvěma částmi tohoto řešení – filtrací a biodegradací mikroplastů.

Teoretická část je věnována popisu mikroplastů, membránových separačních technologiím a biodegradaci mikroplastů. Experimentální část je poté rozdělena do dvou témat. Prvním tématem je filtrace mikroplastů pomocí polysterenové nanovlákné membrány. Jsou porovnány čtyři typy mikroplastů – směs mikrovláken z odpadní vody automatické pračky, LDPE mikrokuličky namleté mikročástice HDPE z granulátu a namleté mikročástice HDPE z komerční jogurtové lahve. Druhým tématem experimentální části je biodegradace mikroplastů. Zde byly porovnány tři různá biodegradační prostředí a tři druhy PE mikročástic – LDPE mikrokuličky, namleté mikročástice HDPE z granulátu a namleté mikročástice HDPE z komerční jogurtové lahve.

Cílem této práce je shromáždit informace o mikroplastech, o filtračních technologiích pro separaci mikroplastů z vody, o využití mikroorganismů pro biodegradaci mikroplastů a v neposlední radě posílit vědomí o mikroplastech ve společnosti.

Klíčová slova

Mikroplasty, filtrace, nanovlákná, biodegradace

Maximal recycling of retentate from water containing microplastics with further biodegradation of utilized dead-end filter

Abstract

The occurrence of primary and secondary microplastics from the environment is increasing constantly. To solve this global problem, many disciplines and approaches need to be used. The thesis deals with two parts of this solution - filtration and biodegradation of microplastics.

The theoretical part is devoted to the description of microplastics, membrane separation technologies and biodegradation of microplastics. The experimental part is then divided into two topics. The first topic is the filtration of microplastics using a polystyrene nanofiber membrane. Four types of microplastics are compared - a mixture of microfibers from washing machine wastewater, LDPE microspheres, milled HDPE microparticles from granulate and milled HDPE microparticles from a commercial yoghurt bottle. The second topic of the experimental part is the biodegradation of microplastics. Here, three different biodegradation media and three types of PE microparticles were compared - LDPE microspheres, milled HDPE microparticles from granulate and milled HDPE microparticles from a commercial yoghurt bottle.

This thesis aims to gather information about microplastics, membrane technologies for the separation of microplastics from water, the use of microorganisms for biodegradation of microplastics and, last but not least, to strengthen the awareness of microplastics in society.

Keywords

Microplastics, filtration, nanofibers, biodegradation

Obsah

Úvod.....	11
Teoretická část.....	12
1 Definice mikroplastů.....	12
2 Výskyt mikroplastů.....	13
2.1 Sladkovodní systémy.....	13
2.1.1 Pitná voda.....	14
3 Zdroje mikroplastů.....	16
4 Detekce mikroplastů a nanoplastů.....	17
5 Rizika mikroplastů.....	18
5.1 Rizika pro lidské zdraví.....	18
5.2 Ekotoxicita.....	20
6 Řešení problému znečištění plasty a mikroplasty.....	21
7 Degradace mikroplastů.....	22
7.1 Biodegradace mikroplastů.....	23
7.1.1 Mikroorganismy.....	24
7.1.2 Metabolismus mikroplastů a nanoplastů.....	25
8 Membránové separační procesy pro úpravu vody.....	27
8.1 Membrány.....	28
8.2 Tlakové membránové procesy.....	28
8.3 Elektromembránové separační procesy.....	30
8.4 Kombinované procesy.....	30
Experimentální část.....	31
9 Úvod.....	31
10 Materiál a metody.....	32
10.1 Filtrace mikroplastů.....	32
10.1.1 Filtrační soustava.....	32

10.1.2	Analýza vzorků	33
10.1.3	Mikroplasty	33
10.2	Biodegradační experimenty	36
10.2.1	Analýza mikrobiálního osídlení biodegradačních vzorků	37
10.2.2	Mikroskopie	37
10.2.3	qPCR	37
10.2.4	Biodegradační prostředí	38
10.2.5	Mikroplasty	39
10.2.6	Respirometrie	40
	Výsledky a diskuze	42
11	Filtrace mikroplastů	42
11.1	Směs syntetických a přírodních vláken	42
11.2	Mikročástice PE	43
12	Biodegradace	47
12.1	Experimenty v lahvích	47
12.1.1	Závěry z epifluorescenční mikroskopie	48
12.1.2	Závěry z SEM analýzy	52
12.1.3	Závěry z respirometrie	57
12.2	Závěry z qPCR	61
	Závěr	62
	Seznam obrázků	64
	Seznam zkratk	67
	Použitá literatura	68

Úvod

Globální produkce plastů roste vysokým tempem a v roce 2018 dosáhla 359 milionů tun (PlasticsEurope 2019). Společně s rostoucí produkcí plastů roste také významnost problému, který představuje plastový odpad. Podle Světového fondu na ochranu přírody (WWF) skončí až 75 % vyprodukovaného plastu jako odpad. Až 87 % nezpracovaného odpadu unikne do životního prostředí (WWF 2019). Podle odhadů plave na hladině oceánů více než 5 bilionů ($5 \cdot 10^{12}$) plastových částic a jen v roce 2010 se do oceánů dostalo 4,8–12,7 milionů tun plastového odpadu (Kooi et al. 2018). V roce 2025 bude v oceánech na každé 3 tuny ryb připadat 1 tuna plastového odpadu (WWF 2019).

Malé plastové částice zvané mikroplasty získávají během posledních let rostoucí pozornost jak ve vědecké literatuře, tak v médiích. Mikroplasty představují přes 90 % z celkového množství plastového odpadu v oceánech (Shabbir et al. 2020). Jejich výskyt je potvrzen ve všech oceánech a celosvětově ve sladkovodních systémech, v půdě i ve vzduchu. Přítomnost mikroplastů na Mt. Everestu (Napper et al. 2020), v Mariánském příkopu (Jamieson et al. 2019) a v ledu v Arktickém moři (Peeken et al. 2018) dokazuje, že jsou znečištěním mikroplasty postižené nejen městské, ale také odlehlé oblasti. Mikroplasty se vyskytují také v pitné kohoutkové i balené vodě a v jídle. Podle WWF (2019) zkonzumuje průměrný člověk denně cca 5 g plastů, tedy množství, ze kterého je vyrobena běžná platební karta. Dopad na životní prostředí a zdraví člověka a dalších živých organismů je dosud nejasný a potřeba výzkumu v této oblasti je tedy vysoká (World Health Organization 2019). Vzhledem ke způsobu vzniku mikroplastů nelze očekávat, že by jejich únik do životního prostředí a vodních systémů někdy skončil. Nutnost výzkumu technologií pro odstranění mikroplastů z vody je tedy zřejmá. Membránové technologie nabízejí slibnou metodu zachytu mikroplastů. Reverzní osmóza a ultrafiltrace umožňují zachytit i částice s rozměry v jednotkách nanometrů.

Následkem obrovské rozmanitosti ve velikosti, původu a fyzikálních a chemických vlastnostech mikroplastů a nanoplasty je potřeba vědeckého výzkumu této oblasti enormní. Biodegradace pomocí hub, bakterií a řas se v posledních letech ukazuje jako slibný kandidát pro boj s plastovým znečištěním.

Teoretická část

1 Definice mikroplastů

Výskyt malých plastových fragmentů, dnes nazývaných mikroplasty, byl reportován již ve studiích ze 70. let minulého století. Pojem mikroplasty se ve vědecké literatuře poprvé objevil v roce 2004 (Thompson 2004). Studie se zabývala akumulací mikroskopických částic plastů v mořských sedimentech a evropských sladkých vodách. V roce 2011 byl navržen horní limit velikosti mikroplastů, které byly definovány jako plastové částice menší než 5 mm (Arthur a Baker 2011). Tato definice byla dále upřesněna rozdělením na primární a sekundární mikroplasty (Cole et al. 2011).

Primární mikroplasty jsou plastové částice, které jsou přímo produkovány ve velikosti do 5 mm a jsou takto využívány například v kosmetice, barvách, a dalších produktech denní potřeby. Sekundární mikroplasty vznikají degradací a fragmentací makroplastů působením vnějších vlivů prostředí (broušení, omílání, chemický rozklad). Společná skupina expertů pro vědecké aspekty znečišťování moří (GESAMP 2015; 2016) definovala mikroplasty jako částice s průměrem menším než 5 mm. Vzhledem k chybějící spodní hranici, zahrnuje tato definice i částice s rozměry v řádu nanometrů.

Přes všechny tyto pokusy o přesnou definici, konsenzus spodního a horního limitu rozměru mikroplastů zatím nenastal. Nejpoužívanější definicí je stále ta obecná z roku 2011 (Arthur a Baker 2011). Autoři se ale neshodují na spodním limitu, který se v publikacích liší od 1 do 20 μm . Ani horní limit není v literatuře jednoznačný, pohybuje se mezi 500 μm a 5 mm (Frias a Nash 2019). Přesnou definici spodního a horního limitu velikosti mikroplastů navrhuje Gigault et al. (2018). Zavádí pojem nanoplasty, které definuje jako částice o velikosti 1 nm až 1 μm vznikající degradací plastových předmětů a vykazující koloidní vlastnosti. Tím tedy definuje spodní hranici pojmu "mikroplasty" na 1 μm .

2 Výskyt mikroplastů

Výskyt mikroplastů je potvrzen celosvětově v oceánech, mořích, sladkovodních systémech, v sedimentech, půdě, v jídle a pitné vodě i v orgánech vodních živočichů. Mikroplasty byly nejprve studovány jako částice znečišťující oceány a moře (Thompson 2004). První studie o mikroplastech ve sladkovodních systémech byly publikovány v roce 2011 a zaměřují se především na výskyt mikroplastů v Huronském jezeru (Zbyszewski a Corcoran 2011) a řekách v Los Angeles v USA (Moore et al. 2011). Od té doby vyšla řada studií pokrývajících všechny kontinenty s výjimkou Antarktidy. Studie vnitrozemských sladkých vod v Asii a Africe reportují srovnatelnou nebo vyšší koncentraci mikroplastů v porovnání s moři a oceány. Přítomnost mikroplastů byla také potvrzena v německé řece Rýn (Mani et al. 2016) a v čínské přehradě Tři soutěsky (Zhang et al. 2015). Mikroplasty byly dále nalezeny v odlehlých arktických oblastech (Lusher et al. 2015), na oceánském dně (Van Cauwenberghe et al. 2013), nejhlubším místě oceánu – Mariánském příkopu (Jamieson et al. 2019) a nedávno také na nejvyšší hoře světa Mt. Everestu (Napper et al. 2020). Přítomnost mikroplastů je potvrzena také v jídle a balené i kohoutkové pitné vodě (World Health Organization 2019).

2.1 Sladkovodní systémy

Řeky jsou považovány za hlavní cestu, jakou se dostává odpad do oceánů. Přesto získalo znečištění sladkovodních systému plastovým odpadem pozornost až přibližně o deset let později, v roce 2014, než znečištění oceánů (Kooi et al. 2018). Zdroj a transport mikroplastů ve sladkovodních systémech je velmi komplexní problém. Mikroplasty totiž zahrnují velkou skupinu částic lišící se především velikostí, tvarem a hustotou. Hustota běžných spotřebních plastů se pohybuje mezi 0,85 a 1,41 g.cm⁻³. Tento rozsah překračuje hodnotu hustoty sladké vody (1 g.cm⁻³), takže některé mikroplasty budou klesat ke dnu a jiné budou ve vodě plavat. Hustota částice mikroplastu a její pozice ve vodním sloupci může být také ovlivněna tvorbou biofilmu.

Omezené informace založené na modelování a nedostatečné metody pro sledování transportu mikroplastů neumožňují přesně určit a kvantifikovat zdroje úniku mikroplastů do životního prostředí. Avšak existuje všeobecná tendence pozorovat vyšší koncentrace mikroplastů v blízkosti hustě osídlených oblastí. Mezi zdroje

TEORETICKÁ ČÁST

úniku mikroplastů do sladkovodních systémů patří srážkové vody, odpadní vody a nesprávně zpracovaný plastový odpad. Srážkové vody například splachují nečistoty ze silnic, kde se nacházejí částice vzniklé rozpadem značících barev a opotřebením pneumatik a brzd. Odpadní vody obsahují především syntetická textilní vlákna, která se uvolní při praní, mikrokuličky používané v kosmetice a rozpadlé části větších spotřebních výrobků, které jsou spláchnuty do dřezu či toalety. Čističky odpadních vod sice mohou být velmi efektivní při odstranění mikroplastů, ale odpadní voda, která z čističky odchází může být dále zdrojem mikroplastů pro transport zpět do životního prostředí. Dalšími zdroji mikroplastů jsou prachové částice z atmosféry, odpadní voda z průmyslové výroby, fragmentace a degradace makroplastů a produkce a distribuce pitné vody (World Health Organization 2019).

2.1.1 Pitná voda

V České republice vzrostl zájem o mikroplasty na základě studie, která zkoumala výskyt mikroplastů ve sladké vodě před úpravou v čističce a v pitné vodě po úpravě (Pivokonsky et al. 2018). Byly zkoumány plastové částice ve velikosti

1–10 μm . Výskyt těchto částic se pohyboval mezi 1473 ± 34 a 3605 ± 497 částicemi na litr v neupravené vodě a 338 ± 76 a 628 ± 28 částicemi na litr v upravené vodě. Mikroplasty byly v této studii rozděleny do tří kategorií – fragmenty, vlákna a kuličky. Fragmenty převažovaly ve vzorcích ze dvou čističek a vlákna ve vzorcích z té třetí. Bylo identifikováno 12 různých materiálů tvořících mikroplasty, ale více než 70 % procent částic tvořily PET, PP a PE (Pivokonsky et al. 2018).

Studie z Německa (Oßmann et al. 2018) se zabývala kontaminací balené vody mikroplasty. Dřívější studie analyzovaly pouze částice o velikosti $\geq 5 \mu\text{m}$. Vzhledem k tomu, že toxikologické studie upozorňují především na potenciální nebezpečí mikročástic s rozměry menšími než $1,5 \mu\text{m}$, zaměřuje se tato studie na tyto částice mikroplastů. Díky použití polykarbonátových membránových filtrů s hliníkovou povrchovou úpravou a micro-Ramanovy spektroskopie, bylo možné analyzovat částice o velikosti pouze $1 \mu\text{m}$. Ve studii je zkoumáno 32 vzorků balené minerální vody.

Přítomnost mikroplastů byla potvrzena ve všech vzorcích minerální vody z různých typů lahví výrobců různých značek. Mezi vzorky byly zastoupeny jak lahve na jedno použití, tak skleněné i PET lahve, které se opakovaně vrací do oběhu. Obsah

TEORETICKÁ ČÁST

mikroplastů se pohyboval od 2649 ± 2857 částic na litr v PET lahvích na jedno použití až po 6292 ± 10521 částic na litr ve skleněných lahvích. Vyšší kontaminaci u skleněných lahví považují za překvapivý výsledek. V PET lahvích byl nejčastějším detekovaným polymerem ve formě mikroplastů právě PET, což naznačuje, že tyto částice vznikají při rozpadu samotného obalu. Tento předpoklad podporuje porovnání znovu využitelných lahví různého stáří. Kontaminace mikroplasty byla vyšší u starších lahví, což je pravděpodobně způsobeno stárnutím materiálu obalu, který se snadněji rozpadá a kontaminuje svůj obsah. U skleněných lahví byly detekovány různé typy polymerů jako PE, PP nebo kopolymer styren-butandien. Zdrojem kontaminace lahví, které se vrací do oběhu mohou být víčka a proces omývání a plnění.

Kromě samotných polymerů byla detekována také kontaminace pigmenty a dalšími aditivy. Barva pigmentových částic detekovaných ve vodě byl shodná s barvou, která byla použita pro tisk štítku. Ke kontaminaci pigmenty dochází pravděpodobně při vymývání lahví, kdy se čistící roztok dostane do kontaktu jak se štítkem, tak s vnitřkem lahve. Analyzovanými vzorky byly malé výřezy filtru, na kterém byly částice zachyceny a počet zachycených částic na tomto výřezu byl poté extrapolován na celou plochu filtru. Vysoká odchylka u jednotlivých výsledků je způsobena použitou extrapolační metodou kvantifikace částic. Závěrem studie je, že přes 90 % detekovaných mikroplastů a aditiv byly částice menší než $5 \mu\text{m}$, které v předchozích studiích s vyšším detekčním limitem nebyly zahrnuty (Oßmann et al. 2018).

3 Zdroje mikroplastů

Města jsou považována za jeden z hlavních zdrojů mikroplastů kvůli vysoké koncentraci aktivit, které plasty využívají – textil, obaly, doprava, elektronika, budovy a stavby. Zdroje a osud mikroplastů ve sladké vodě byly analyzovány v systematické studii, která shrnuje data z tříletého výzkumu v aglomeraci Paříž (Dris et al. 2018). Ta patří mezi 40 největších měst na světě s populací přes 10 milionů obyvatel. Paříží protéká řeka Seina s povodím o rozloze 32 000 km². Vzhledem k nízkému průměrnému průtoku Seiny (350 m³.s⁻¹ v Paříži) dochází k nízkému ředění znečišťujících látek v řece a jedná se tak o dobrou případovou studii.

Vlákna představují speciální případ mikroplastů vzhledem k jejich zařazení mezi primární nebo sekundární mikroplasty. Mohou být považovány za sekundární, protože vznikají rozpadem většího objektu (oblečení). Tento rozpad se ale primárně odehrává již v pračce při praní prádla. Dostanou se tak do odpadní vody a vstupují do životního prostředí v mikroskopických rozměrech stejně jako primární mikroplasty. Vlákna jsou ve velkém množství přítomná také v odpadních vodách ČOV. Z těchto faktů lze učinit závěr, že vlákna představují velký příspěvek ke znečištění mikroplasty, alespoň v městských oblastech. Vlákna jsou vědeckou komunitou často přehlížena kvůli tomu, že je složité s nimi pracovat. Tato studie z Paříže ukazuje, že by se výzkum mikroplastů v městských oblastech měl zaměřit právě na vlákna, jejichž koncentrace byla ve všech analyzovaných vzorcích o několik řádů vyšší než koncentrace fragmentů.

4 Detekce mikroplastů a nanoplastů

Detekce mikroplastů, a především nanoplastů v životním prostředí je velmi náročný úkol. Analytické nástroje jsou omezeny a ovlivněny tím, že mikroplasty a nanoplasty jsou organické částice vyskytující se v organickém prostředí (voda, půda). Obtížnost izolace částic ze vzorku se zvyšuje s klesající velikostí částice. Sekundární částice mikroplastů a nanoplastů mají navíc nepravidelný tvar důsledkem jejich vzniku fragmentací. Jsou také často transparentní, semitransparentní nebo mají neutrální barvu.

Vývoj metod pro detekci a charakterizaci nanoplastů a mikroplastů ve vzorcích ze životního prostředí s vyšším rozlišením a menší časovou náročností nadále pokračuje. Požadavky těchto metod jsou podobné jako pro metody analytické metody nanomateriálů. V průběhu přípravy vzorku by nemělo dojít ke změnám fyzikálních ani chemických vlastností částic, měli bychom získat informaci o chemickém složení, velikosti a tvaru a metoda by měla být schopná analyzovat komplexní heterogenní vzorky. Pro detekci mikroplastů je nejčastěji používaná Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací v kombinaci s mikrospektroskopií (micro-FT-IR) a Ramanova spektroskopie v kombinaci s mikroskopií (micro-Raman). Detekce nanoplastů je ještě obtížnější. Kvůli tomu nebyla doposud jejich přítomnost v životním prostředí potvrzena. Žádná ověřená analytická metoda pro detekci nanoplastů ve vodním prostředí dosud neexistuje. Existují ale studie, které laboratorně dokazují vznik nanoplastů až do rozměrů 30 nm vzniklé rozpadem mikroplastů a detekované použitím metody Analýza trajektorie nanočástic (Nanoparticle Tracking Analysis – NTA) (Rist a Hartmann 2018) (Havlíčková 2018).

5 Rizika mikroplastů

5.1 Rizika pro lidské zdraví

Světová zdravotnická organizace (WHO) vydala v roce 2019 vyjádření k výskytu mikroplastů v pitné vodě (World Health Organization 2019). V následující části shrnuji jejich závěry.

Potenciální riziko mikroplastů pro lidské zdraví má tři formy: toxicita částice, toxicita chemikálií a tvorba biofilmu. Toxicita částice závisí na řadě fyzikálních vlastností zahrnujících velikost, specifická plocha povrchu, tvar a charakteristiku povrchu a chemické složení částice mikroplastu. Osud částic mikroplastů v lidském těle a dopad na zdraví člověka není podle WHO dosud dobře prostudován, nejsou dostupné žádné epidemiologické studie požití částic mikroplastů. Částice větší než 150 μm pravděpodobně nebudou v lidském těle absorbovány a dá se očekávat, že absorpce menších částic bude limitována. Absorpce a distribuce velmi malých mikroplastových částic včetně nanoplastů může být vyšší, data jsou ovšem extrémně omezené. Studie na zvířatech jsou prováděné s extrémně vysokými dávkami expozice, které by se v pitné vodě nemohly vyskytnout. Studie na myších a krysách mají zpochybnitelnou spolehlivost a relevanci. Jejich závěry ukazují, že reálný negativní účinek mají pouze velmi velké koncentrace, které způsobí přetížení biologických systémů. Tyto studie tedy nerepresentují potenciální toxicitu, která by se mohla projevit při nižších hodnotách expozice. Na základě těchto nedostatečných důkazů nelze dojít k jednoznačnému závěru o riziku požití částic mikroplastů z pitné vody. V tuto chvíli ale žádná data nenaznačují zjevná zdravotní rizika spojená s expozicí mikroplastům z pitné vody.

Riziko v podobě chemikálií pochází buď ze zbytkových monomerů nebo z aditiv. Zbytkové monomery mají původ buď přímo z nedokonalého procesu polymerizace nebo jsou produktem degradace a zvětrávání plastů. Rozsah těchto jevů je nejistý, ale je pravděpodobné, že se zbytkové monomery dostanou do životního prostředí a následně ve velmi nízkých koncentracích do zdrojů pitné vody. Aditiva plastů, jako jsou ftalátová změkčovadla a polybromované difenyletherové zpomalovače hoření většinou nejsou kovalentně vázány na polymer a mohou tedy snadno uniknout do životního prostředí. Únik může být dále ovlivněn molekulární hmotností aditiv, kdy s klesající molekulární hmotností roste rychlost úniku. I zde může hrát roli stárnutí, degradace a zvětrávání plastů. V porovnání s jinými

TEORETICKÁ ČÁST

možnostmi úniku těchto látek do životního prostředí lze ale předpokládat, že příspěvek z mikroplastů bude relativně malý. Osud těchto aditiv v lidském těle, v případě, že se dostanou do gastrointestinálního traktu po požití vody obsahující mikroplasty, není studiem dostatečně prozkoumán. Vzhledem ke vzrůstajícímu počtu regulací použití mnoha potenciálně rizikových aditiv lze předpokládat, že expozice bude postupně klesat. Tyto látky ale mohou být stále přítomné ve starších plastech, které mohou degradovat a být tedy zdrojem pro únik do životního prostředí.

Díky hydrofobnímu charakteru mikroplastů se na ně mohou vázat hydrofobní perzistentní organické znečišťující látky (tzv. POPs). Mezi ně patří například polychlorované bifenoly, polycyklické aromatické uhlovodíky a organochlorové pesticidy. Tyto látky se vážou neselektivně na organický uhlík v životním prostředí (sediment, řasy a lipidová frakce vodních organismů) a podíl vázaných POPs na mikroplasty tedy bude zřejmě zanedbatelný.

Podle WHO (World Health Organization 2019) je zdravotní riziko při požití pitné vody velmi nízké i v případě velmi konzervativního scénáře, kdy uvažujeme vysoké hodnoty expozice mikroplastům i chemikáliím.

Vznik bakteriálních biofilmů v pitné vodě je způsoben růstem mikroorganismů v rozvodech vody a na ostatních površích. Většina mikroorganismů v biofilmech je považována za nepatogenní, ale některé biofilmy mohou zahrnovat volně žijící mikroorganismy a patogeny jako *Pseudomonas aeruginosa*, *Legionella spp.*, a *Naegleria fowleri*. Mikroorganismy tvořící biofilmy rostou rychleji na hydrofobních nepolárních površích, jako jsou plasty, a tedy i mikroplastové částice. Existuje omezené množství studií, které popisují možnost transportu patogenů na dlouhé vzdálenosti. Neexistuje zatím žádný důkaz o dopadu biofilmů vytvořených mikroplasty na zdraví člověka. Podle WHO je předpokládané zdravotní riziko malé vzhledem k tomu, že koncentrace mikroplastů ve sladkých vodách je mnohem nižší oproti koncentraci jiných částic, na které mohou patogeny adherovat.

Report WHO (World Health Organization 2019) ukazuje, že současné studie neposkytují důkaz o přímém dopadu mikroplastů na lidské zdraví. Zároveň ale vyzdvihují důležitost výzkumu této oblasti vzhledem ke stále se zvětšující celosvětové produkci plastů.

TEORETICKÁ ČÁST

K výskytu mikroplastů v pitné vodě se vyjádřil také Státní zdravotnický ústav: „Riziko plastových vláken z pitné vody je podle našeho názoru tak zanedbatelné, že nemá smysl se jím speciálně zabývat. Stačí využívat stávající mechanismy kontroly výroby pitné vody na přítomnost částic (ukazatele zákal a abioseston) a činit běžná opatření při jejich zvýšených hodnotách.“ (Kožíšek 2017)

5.2 Ekotoxicita

Plastový odpad se v životním prostředí vyskytuje ve velkém rozmezí velikostí. Fyzická interakce mezi mikroplasty/nanoplasty a živými organismy mohou způsobovat zánět nebo narušení energetické bilance z důvodu požití, falešnému pocitu sytosti a omezení absorpce potravy. Mikroplasty a nanoplasty se často stávají potravou pro suchozemské i vodní organismy. Požití mikroplastů a nanoplastů může negativně ovlivnit líhnutí, rychlost růstu, příjem potravy, produkci steroidních hormonů a reprodukci. Nanoplasty mohou ulpívat na povrchu mikrořas a způsobovat stínovací efekt na buněčné úrovni, znemožňující fotosyntézu. Mikroplasty a nanoplasty mohou dále působit jako nosiče organických znečišťujících látek nebo nebezpečných organismů. Schopnost a podoba fyzické interakce malých plastových částic s organismy závisí na mnoha faktorech. Předpokládá se, že částice s vysokou akumulací schopností v tkáních mají nejsilnější dopad. To úzce souvisí s jejich velikostí, ale také s tvarem. S klesající velikostí částic často roste jejich toxicita. Tvar hraje také důležitou roli, protože nepravidelné, ostré fragmenty pravděpodobně způsobí větší poškození než kulaté částice s hladkým povrchem. (Rist a Hartmann 2018)

6 Řešení problému znečištění plasty a mikroplasty

Problém znečištění životního prostředí plasty a mikroplasty nabyl enormního rozsahu a rozmanitosti. Proto je potřeba nacházet a zkoumat různá řešení tohoto problému. Prvním krokem je popis samotného problému a zkoumání jeho rozsahu, tomu se věnuji v úvodu a prvních pěti kapitolách. Definice, výskyt, zdroje, detekce a rizika mikroplastů jsou velmi důležitým předmětem výzkumu, který je potřeba rozvíjet a zdokonalovat.

Dalším krokem je snížení, či zastavení růstu problému, kterým je stále se zvyšující produkce jednorázových plastových obalů a špatné zpracování plastového odpadu. Mezi preventivní opatření, která by k tomu mohla přispět, patří zdokonalení recyklačních systémů, snížení množství odpadu, podpora cirkulární ekonomiky a obecně omezení používání plastů kde je to možné. Při implementaci takových řešení je ale nutné dbát na to, aby nedocházelo k vytváření nových problémů. Je vždy důležité zvážit nenahraditelný pozitivní přínos některých jednorázových plastových výrobků jako jsou například injekční stříkačky, které hrají důležitou roli v prevenci infekce nebo roušky, respirátory a ochranné obleky, které chrání lékařský personál nejen při boji proti koronaviru.

Nezbytnou součástí řešení problému znečištění plasty a mikroplasty tedy musí být vývoj technologií, které umožní mikroplasty z životního prostředí odstranit a nadále zpracovat. Součástí řešení by mohla být biodegradace, které se věnuji v následující, sedmé kapitole. Pokud si představíme komplexní řešení jako řetěz, biodegradace by mohla být jedním z důležitých článků tohoto řetězu. Dalším článkem by mohly být membránové separační procesy, které umožňují z vody separovat i částice v rozměrech nanometrů a věnuji se jim v osmé kapitole.

7 Degradace mikroplastů

V posledních letech je ve vědecké literatuře věnována stále větší pozornost nejen výskytu, původu a detekci mikroplastů, ale také jejich osudu v životním prostředí. Existuje malé množství studií, které se zabývají zkoumáním rozkladu mikroplastů a různým způsobům řešení problému znečištění.

Velkou výhodou syntetických polymerů (plastů) je jejich vysoká odolnost vůči působení okolního prostředí. To ale vede k extrémně nízké degradaci těchto materiálů, a tedy dlouhému pobytu v životním prostředí. Degradaci můžeme rozdělit na biotickou a abiotickou. Jedná se o dva různé mechanismy lišící se ve fyzikálních, chemických a biologických faktorech. Dále dělíme degradaci na fyzikální, chemickou, fotodegradaci a biodegradaci.

Degradace představuje v případě syntetických polymerů z molekulárního pohledu rozklad na menší stavební jednotky – oligomery a monomery. Fyzikální degradace je způsobena abrazivními (mechanickými) silami, zahříváním nebo chlazením, mrznutím a rozmrzáním a namáčením a sušením. Fotodegradace je způsobena především UV zářením. Chemická degradace je způsobena oxidací a hydrolýzou. Biodegradace je způsobena bakteriemi, houbami a řasami.

Ve vodním prostředí hraje důležitou roli mechanická degradace. Ve většině případů dochází ke křehnutí polymeru působením prostředí (fotodegradace nebo chemická degradace aditiv). Tento křehký materiál je pak rozdrčen na menší a menší částice působením třecích sil, které se objevují během pohybu vodním prostředím. Tento proces vede ke vzniku malých plastových částic s rozměrem 1–5000 μm , které nazýváme mikroplasty. Proces degradace ale nekončí vznikem mikroplastů a vznikají tak pravděpodobně ještě menší částice, takzvané nanoplasty. Vznik plastových částic rozměrem menším než 1 μm degradací byl doposud potvrzen pouze v laboratoři, ale pravděpodobnost jejich vzniku v životním prostředí je. Částice s rozměry v řádu nanometrů mohou mít jiné vlastnosti v porovnání s makroplasty a mikroplasty, ze kterých vznikají. Obecně vede mechanická degradace ke snižování velikosti částic a zvětšování specifického povrchu polymerních částic, což může vést k rychlejší degradaci důsledkem vyšší reaktivity (Klein et al. 2018).

TEORETICKÁ ČÁST

7.1 Biodegradace mikroplastů

Biodegradace syntetických polymerů může probíhat ve dvou odlišných prostředích – aerobním a anaerobním. Degradace polymerů na CO_2 , H_2O , N_2 , H_2 , CH_4 , soli, minerály a biomasu může být úplná nebo částečná. Částečná nebo primární degradace polymerních řetězců vede ke vzniku stabilního nebo dočasně stabilního produktu. Biodegradace závisí na třech hlavních kritériích. Prvním kritériem je přítomnost mikroorganismů, které mohou depolymerizovat polymerní látku a mineralizovat vzniklé monomerní produkty pomocí enzymů příslušících vhodné metabolické cestě. Druhým kritériem jsou parametry prostředí – teplota, pH, vlhkost a salinita, které musí poskytnout vhodné podmínky pro biodegradaci. Třetím kritériem je morfologie polymerních částic, která musí umožňovat přilnutí mikroorganismů a tvorbu biofilmu. Struktura polymeru, tedy chemické vazby, stupeň polymerizace, stupeň větvení, hydrofobicita a krystalinita nesmí zabraňovat mikrobiálnímu působení.

Částice mikroplastů jsou obecně příliš velké, aby pronikly do buněčných membrán mikroorganismů. Prvním krokem biodegradace je tedy štěpení postranních řetězců nebo hlavního řetězce polymeru pomocí mimobuněčných enzymů, a tedy vznik menších polymerních jednotek – oligomerů, monomerů. Ve většině případů zahrnuje první krok depolymerizace enzymaticky katalyzovanou hydrolýzu amidových, esterových nebo uretanových vazeb. Tyto menší molekuly mohou být absorbovány mikroorganismy a metabolizovány. Abiotická hydrolýza může také vést ke vzniku meziproductů, které mohou být dále metabolizovány mikroorganismy.

V literatuře je dobře popsána kompletní biodegradace polykaprolaktamu (Nylon 6) a ve vodě rozpustného polyetylglykolu (PEG) (Tokiwa et al. 2009). Experimenty prováděné na TUL, avšak plnou biodegradaci těchto polymerů nepotvrdily, ale výsledky těchto experimentů zatím nebyly publikovány. Většina plastového odpadu vyskytujícího se v životním prostředí je ale tvořena ve vodě nerozpustnými syntetickými polymery jako PE, PP, PS a PET, které samovolně degradují velmi pomalu nebo vůbec. Degradace těchto polymerů je většinou kombinací abiotické a biotické degradace. Polyolefiny jako PE a PP, které zastupují vysoké procento plastového odpadu detekovaného v životním prostředí, se často považují za polymery, které nepodléhají biodegradaci. Hlavní alkylový řetězec polyolefinů je

TEORETICKÁ ČÁST

totiž velmi odolný vůči hydrolyze, avšak podléhá oxidativní degradaci. Proto jsou při výrobě plastů používány aditiva, která oxidativní a fotooxidativní degradaci zpomalují. Avšak pokud dojde k úvodní oxidaci povrchu polyolefinů, dochází k degradaci, která vede ke vzniku částic mikroplastů. Mikroplastové částice, které prošly oxidací, jsou tedy více náchylné biodegradaci (Klein et al. 2018).

7.1.1 Mikroorganismy

Existuje několik studií, které se zabývají interakcí mikroplastů s mikroorganismy jako jsou různé druhy bakterií, hub a biofilmů. Přehledová studie z Šanghajske oceánské univerzity (Yuan et al. 2020) shrnuje přibližně 50 vědeckých článků zabývajících se biodegradací mikroplastů různých typů (PE, PP, PS, atd.) pomocí bakterií, hub a biofilmů. Dále studie popisuje faktory, které biodegradaci ovlivňují. Tyto faktory lze rozdělit na dva hlavní typy. Faktory, které souvisí s růstem mikroorganismů a faktory, které souvisí s charakteristikou mikroplastových částic a externího prostředí. Mezi charakteristiky mikroplastů patří jejich chemické a fyzikální vlastnosti jako hustota, molekulární hmotnost, krystalinita, funkční skupiny a přítomnost substituentů a aditiv. Faktory prostředí zahrnují světlo (UV), teplo, vlhkost a přítomnost chemikálií. Tyto faktory mohou mít dva možné dopady – ovlivňují růst a metabolismus mikroorganismů a zároveň mohou sami způsobit stárnutí a degradaci a působit tak synergicky společně s mikroorganismy.

Jednou z velmi slibných možností boje se znečištěním makro-, mikro- a nanoplasty představují houby, přesněji tedy v širším významu tzv. fungi, kam patří i plísně a kvasinky. Ty jsou přirozenou součástí ekosystémů a pomáhají rozkládat mrtvá těla rostlin a živočichů. Nacházejí se v různých prostředích a některé druhy dokážou přežít extrémní podmínky, a to jak v suchozemském, tak i vodním prostředí. Většina hub je aerobních, ale byly objeveny také anaerobní houby, ve sladkovodních jezerech, na skládkách a v batoru býložravců. Mycelium (podhoubí) má schopnost pronikat různými substráty a získat tak potřebné nutrienty tam, kde jiné mikroorganismy neprosperují.

Vláknité houby (filamentous fungi) jsou v současné době nejvíce prozkoumaným druhem. Tyto organismy si vyvinuly mimořádnou schopnost adaptace na změny prostředí a toleranci vůči mnoha polutantům. Jsou schopny rozkládat a využívat polutanty ke svému vlastnímu růstu, nebo je rozložit tak, že produkty rozkladu mohou dále využít jiné mikroorganismy. Vláknité houby tedy hrají stěžejní roli

TEORETICKÁ ČÁST

v degradaci různých environmentálních polutantů, protože katalyzují důležité chemické reakce.

Houby jsou heterotrofní organismy, které se vyživují absorpcí nutrientů dovnitř svých buněk. Uvolňují trávící enzymy, které štěpí organické molekuly a uvolňují CO₂ a vodu za aerobních podmínek a metan (CH₄) za anaerobních podmínek. Fungi používají různé mechanismy rozkladu a metabolismu komplexních sloučenin, mezi které patří i některé polutanty a toxické látky. Tyto mechanismy jsou zajištěny silným enzymatickým systémem, schopností absorpce a produkcí přírodních biosurfaktantů (hydrofobinů), které jim umožňují využívat polymery (plasty) jako zdroj uhlíku a elektronů, tedy buněčného materiálu a zdroj energie.

Bylo provedeno několik studií, které zkoumaly biodegradaci plastů pomocí hub. Byl potvrzen potenciál rozkladu PP, PVC, PET, polyesterů. Znalost ohledně enzymů, které se na mechanismu rozkladu podílejí, je však prozatím velmi malá. Houby ale mají obrovský potenciál snižovat negativní vlivy plastového znečištění díky jejich mimořádným vlastnostem, mezi které patří jejich silný enzymatický systém s kapacitou pro detoxikaci polutantů, schopnost přežít v extrémních nehostinných podmínkách.

Sánchez (2020) navrhuje, aby se budoucí výzkum zaměřil na výzkum ekosystému, ve kterém by dokázaly houby využít plastového substrátu pro svůj růst. Dále doporučuje zaměřit se na výzkum metod pro charakterizaci hub schopných degradovat plasty a zkoumání a vylepšování enzymatické aktivity. Upozorňuje také na důležitost výzkumu složení plastů, především těch na jedno použití. Navrhuje snížení či odstranění použití biocidů a antioxidačních stabilizátorů, které jsou především u plastů na jedno použití zbytečné, protože zabraňují rozkladu nebo ho zpomalují. Navrhuje naopak využití aditiv, které budou podporovat biologický rozklad, tzv. prooxidanty. Dále zdůrazňuje důležitost interdisciplinárního výzkumu, tedy především výzkum biodegradace, ekologická výroba. Za sebe přidávám i výzkum filtračních a membránových technologií, které jsou také nedílnou součástí boje se znečištěním makro-, mikro- i nanoplasty. (Sánchez 2020)

7.1.2 Metabolismus mikroplastů a nanoplastů

Přesná podoba metabolismu mikroplastů, a především nanoplastů je dosud neznámá. Vzhledem k velké rozmanitosti typu mikroplastů, nanoplastů a mikroorganismů v životním prostředí bude náročným úkolem metabolismus

TEORETICKÁ ČÁST

popsat. Dosud existují pouze studie, které poukazují na změnu metabolismu mikroorganismů za přítomnosti mikroplastů a nanoplastů, především z pohledu ekotoxicity, ale nezabývají se konkrétním mechanismem rozkladu mikroplastů a nanoplastů (Rist a Hartmann 2018).

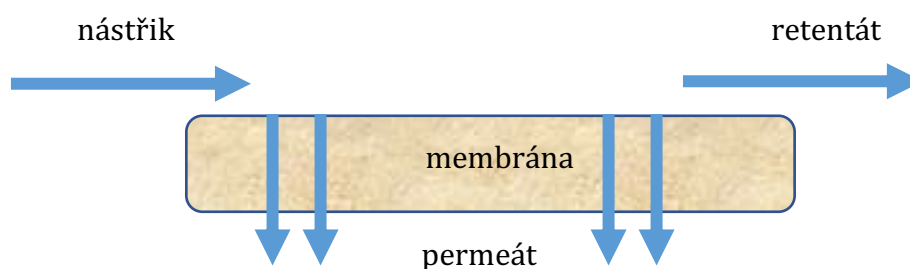
Kromě rozmanitosti chemické struktury mikroplastů a nanoplastů hraje významnou roli v jejich interakci s mikroorganismy a metabolismu také velká rozmanitost jejich rozměrů. Nanoplasty mohou dosáhnout spodní hranice velikosti – desítek až jednotek nanometrů, rozměry mikroplastů se pohybují v jednotkách až stovkách μm . Velikostní rozdíl mezi nejmenšími nanoplasty a bakteriemi, tedy mezi jednotkami nanometrů a jednotkami mikrometrů je ještě větší než mezi výškou člověka (1,5-2 m) a nejvyšší budovou světa (Burj Khalifa 828 m). V případě nanoplastů s rozměry v jednotkách a nízkých desítkách nanometrů navíc dochází k zásadním změnám fyzikálních a chemických vlastností. Důležitý je především velký měrný povrch a povrchový náboj, které způsobují koagulaci (shlukování) částic a umožňují navázat těžké kovy a další polutanty, které mohou ovlivnit průběh metabolismu a biodegradace.

Mikroorganismy, konkrétně bakterie mají rozměry v řádu jednotek mikrometrů (0,5 – 5 μm). Jejich interakce s mikroplasty tedy bude rozdílná než s nanoplasty. V případě mikroplastů mohou bakterie na jejich povrchu vytvořit biofilm a postupně částici rozkládat. Nanoplasty mají tendenci ke koagulaci a díky velkému měrnému povrchu a povrchovému náboji navazují těžké kovy a další polutanty, které mohou být pro bakterie toxické a tvorbu biofilmu znemožnit. Pokud se částice nanoplastů vyskytují samostatně, dovoluje jim jejich velikost pronikat přímo do buněk, prostupovat biomembránami a ovlivňovat metabolismus (Singh et al. 2019).

8 Membránové separační procesy pro úpravu vody

Membránový proces je separační metoda, při které dochází k selektivnímu transportu některé ze vstupních složek přes membránu vlivem rozdílných vlastností jednotlivých složek. Membránové procesy se nejčastěji dělí dle hnací síly, kterou může být rozdíl koncentrací, tlaku a teploty, nebo elektrické pole. Výhodou membránových procesů oproti klasickým separačním metodám (destilace, filtrace a krystalizace) je šetrnost k transportovaným látkám, protože probíhá bez výrazných změn teploty a prostředí, což je při separaci mikroplastů výhodou, protože nedochází k jejich dalšímu rozpadu způsobenému zvýšenou teplotou a případnému uvolňování navázaných těžkých kovů, chemikálií a dalších polutantů. Mezi další výhody patří nízká energetická náročnost a v mnoha případech rychlost a účinnost.

Schéma membránového procesu je zobrazeno na obrázku 1 (Jelínek 2008). Membrána dělí vstupující proud (nástřík) na proud prošlý membránou (permeát) a proud, který membránou neprošel (retentát). Retentát lze dále dělit na ochuzený proud (diluát) a koncentrovaný proud (koncentrát). Produktem membránového procesu může být podle potřeby jak diluát (voda vyčištěná od mikroplastů), tak koncentrát (zakonzentrované mikroplasty, které se mohou dále zpracovat například biodegradací).



Obrázek 1: Schéma membránového procesu, upraveno dle (Jelínek 2008).

Intenzita hnací síly musí překonat součet všech sil, které působí v opačném směru, aby došlo k zahájení separace. Takovou silou působící v opačném směru, může být například zakonzentrování separované látky (obdoba filtračního koláče) na membráně, čímž vzniká koncentrační gradient a osmotický tok proti směru

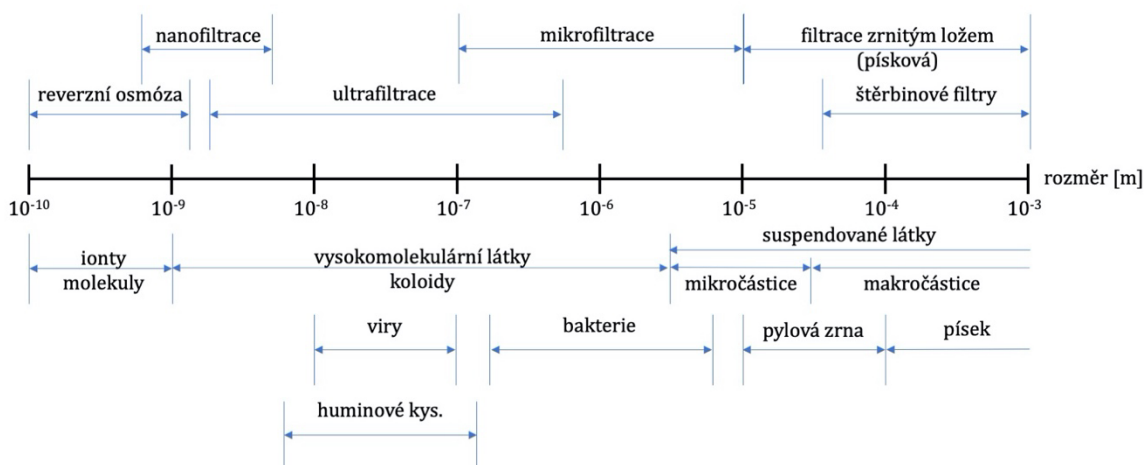
TEORETICKÁ ČÁST

separace. V úpravě vod jsou díky vysoké účinnosti a snadné kontrole nejvíce využívané tlakové a elektromembránové procesy.

8.1 Membrány

Membrána je klíčovým prvkem všech membránových procesů. Je to záměrně nedokonalá bariéra, tenká polopropustná folie, která v ideálním případě selektivně propouští jednu část směsi a druhou nepropouští. Tato selektivní vlastnost se nazývá semipermeabilita. Membrány rozdělujeme na homogenní (jednotné chemické složení, nejčastěji polymer) a heterogenní (více složek, často pevný porézní nosič s tenkou separační vrstvou) podle jejich chemického složení. Velikost pórů hraje zásadní roli ve velikosti zadržovaných částic. Pro záchyt mikroplastů by měly póry mít průměr maximálně 1 μm . Důležitou vlastností membrány je také její iontová aktivita, tedy zda nese kladný nebo záporný náboj nebo je neutrální. V případě, že nese membrána kladný nebo záporný náboj, může docházet k přitahování nebo odpuzování různých látek. V případě mikroplastů by se tato vlastnost teoreticky dala využít k selektivní separaci různých druhů mikroplastů (Jelínek 2008).

8.2 Tlakové membránové procesy



Obrázek 2: Přehled tlakových membránových procesů, upraveno dle (Jelínek 2008)

Na obrázku 3 je uvedeno rozdělení tlakových procesů podle velikosti pórů membrány a odpovídajícím rozměrům zadržovaných částic. V praxi se používají čtyři separační techniky – mikrofiltrace, ultrafiltrace, nanofiltrace a reverzní osmóza. Hnací silou tlakových membránových procesů je gradient tlaku. Velikost

TEORETICKÁ ČÁST

potřebného tlaku roste s klesající velikostí pórů a rozměrem zadržovaných částic. Velikost pórů membrány určuje maximální velikost částic, které mohou membránou projít. Nástřík je přiváděn na membránu pod tlakem, část prochází membránou (permeát) a část membránou neprochází a je z modulu odváděna (retentát). S výjimkou reverzní osmózy využívají membránové procesy tzv. síťového mechanismu, tedy separace látek na základě jejich velikosti. Pro mikroplasty je dostatečné použít mikrofiltraci, v případě nanoplastů je potřeba použít ultrafiltraci nebo nanofiltraci.

Pro odstranění nejmenších frakcí nanoplastů je vhodná reverzní osmóza, která využívá neporézní membránu. Osmotický tok přirozeně probíhá ve směru do koncentrovanějšího roztoku, aby se koncentrace roztoků oddělených membránou vyrovnala. Při reverzní osmóze aplikujeme tlak ze strany koncentrovanějšího roztoku, který musí být větší než osmotický tlak, aby došlo k obrácení směru toku. Díky tomu dochází naopak k zakoncentrování na jedné straně membrány a k ochuzení roztoku na straně druhé.

Nanofiltrace funguje na podobném principu jako reverzní osmóza, ale využívá porézních membrán s velikostí pórů 1-3 nm. Nanofiltrační membrány také často nesou funkční skupiny se záporným nábojem (např. sulfoskupiny). Nanofiltrační membrány využívají částečně síťového efektu (zadržení částic větších, než je rozměr pórů), částečně efekt rozpuštění, difúze a desorpce na druhé straně membrány a také efekty způsobené častou přítomností elektrického náboje funkčních skupin membrány. Nanofiltrace se používá pro odstraňování patogenních látek, prekurzorů chlorovaných derivátů přítomných organických látek vznikajících při dezinfekci vody a má potenciál pro odstranění té nejmenší skupiny nanoplastů.

Ultrafiltrace využívá membrány s velikostí pórů 3–50 nm. Je to membránový proces, který se používá k čištění nebo zahušťování roztoků vysokomolekulárních látek ve vodě. V rámci filtrace mikroplastů představuje možnost odstranění frakcí o velikosti řádově desítek nanometrů.

Mikrofiltrace se z těchto čtyř procesů nejvíce blíží klasické filtraci. Velikost pórů a zachycených částic se pohybuje mezi 50-1000 nm. Mikrofiltrace se často používá jako předúprava vody pro následné zpracování reverzní osmózou nebo elektrodialýzou. (Jelínek 2009)

8.3 Elektromembránové separační procesy

Elektromembránové separační procesy využívají pohyb částic přes iontově výměnnou nebo bipolární nepolární membránu v elektrickém poli. Hnací silou těchto procesů je gradient elektrického potenciálu. Kladně nabitě částice se pohybují směrem ke katodě (záporně nabitě elektrodě), záporné částice k anodě (kladně nabitě elektrodě). Membrány s funkčními skupinami různé polarity umožňují transport pouze vybraných částic. V případě mikroplastů by bylo možné využít elektromembránových separačních procesů pro selektivní separaci různých druhů mikroplastů podle různých funkčních skupin nebo navázaných polutantů (léčiva, těžké kovy atd.). Elektrodialýza a elektrodeionizace jsou nejdůležitějšími představiteli elektromembránových procesů pro úpravu vody.

8.4 Kombinované procesy

Díky zvyšujícím se nárokům na šetrnost k životnímu prostředí se v průmyslu začaly postupně používat účinnější a efektivnější kombinované separační procesy. Jeden z těchto procesů kombinuje reverzní osmózu s iontově výměnnými technologiemi. Prvním stupněm úpravy je reverzní osmóza, která odstraní 90–99 % rozpuštěných látek. Následuje druhý stupeň – ionexová kolona se směsným ložem (tzv. MIXBED). MIXBED je směsný filtr obsahující silně kyselý katex a silně bazický anex. V druhém stupni dojde k finálnímu dočištění na požadovanou hodnotu. Tento kombinovaný proces sníží množství použitých chemikálií na 1–10 % v porovnání s klasickou demineralizací ionexem.

Dalším kombinovaným procesem je synergie elektrolýzy s ionexovou technologií. Možností kombinace je hned několik. Elektrolýza se skvěle hodí pro zpracování a recyklaci koncentrovaných roztoků zachycených látek, které jsou produktem regenerace nasycených ionexů. Druhou možností použití elektrolýzy je zvýšení účinnosti separace ionexových technologií v případě, že je cílem separovat složky roztoku s podobnými chemickými vlastnostmi. V tomto případě lze pomocí elektrolýzy jednu ze složek selektivně zoxidovat nebo zredukovat, aby se zvýšila nebo snížila její afinita k ionexu. Využití kombinovaných procesů pro separaci mikroplastů by bylo příliš nákladné a časově neefektivní. To by ale nemuselo platit u těch nejmenších frakcí nanoplastů, u kterých dochází ke změnám fyzikálních i chemických vlastností a je velmi obtížné je z vody odstranit klasickými tlakovými separačními procesy.

Experimentální část

9 Úvod

Cílem experimentální části bylo ověřit metodu záchytu mikroplastů pomocí reverzně osmotického nástěnného modulu, zkoncentrování a zpětné získávání minerálů na elektrodialyzní jednotce ED-Z. Další a stěžejní částí byl experimentální výběr vhodné bakteriální kultury pro biodegradaci mikroplastů.

V první části experimentů byl ověřen záchyt mikroplastů na mikrofiltrační mikrovlákně membráně. Vzhledem k velikosti a charakteru použitých mikroplastů byla zvolena právě mikrofiltrace. Dle definice mikroplastů (plastové částice o velikosti 1–1000 μm) je mikrofiltrace dostatečná pro separaci všech mikroplastů. V případě nanoplastů (částice menší než 1 μm) už by bylo použití reverzní osmózy, kterou navrhuje vedoucí v zadání, vhodnější. V případě nanoplastů by také bylo vhodné zvážit použití ultrafiltrace nebo nanofiltrace a porovnat jejich výhody a nevýhody s reverzní osmózou.

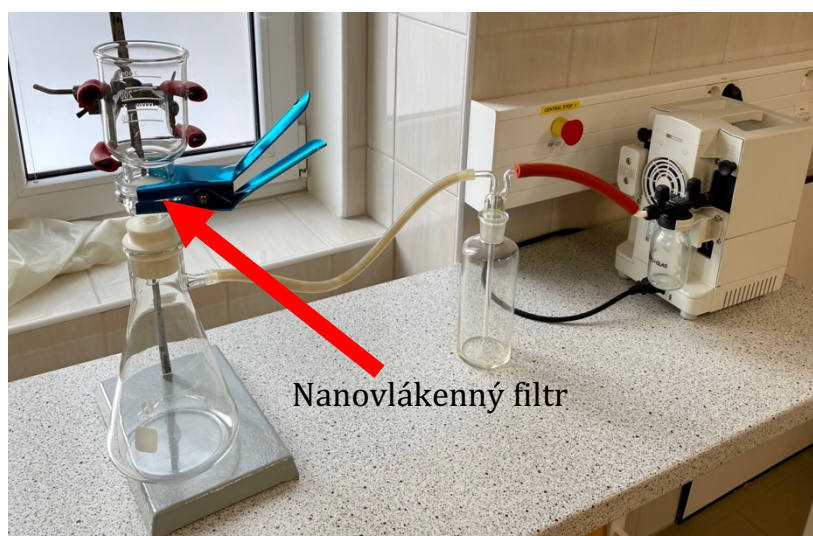
Druhá část experimentů byla věnována biodegradaci mikroplastů, výběru vhodného biodegradačního prostředí a vhodného typu mikroplastů, a to s ohledem na provedenou rešerši a na možnosti laboratoře, ve které experimenty probíhaly.

10 Materiál a metody

10.1 Filtrace mikroplastů

10.1.1 Filtrační soustava

Na záchyt a zakoncentrování mikroplastů byla použita filtrační soustava Fisher napojená na vývěvu. Jednalo se o celoskleněné silnostěnné filtrační zařízení pro membránové filtry průměru 47–50 mm se zábrusovým spojením spodní části nálevky s baňkou na filtrát. Části filtračního zařízení v kontaktu s filtrátem jsou vyrobeny z borosilikátového skla DURAN® a PTFE. Objem nálevky je 250 mL a objem baňky je 1000 mL.



Obrázek 3: Filtrační soustava Fisher

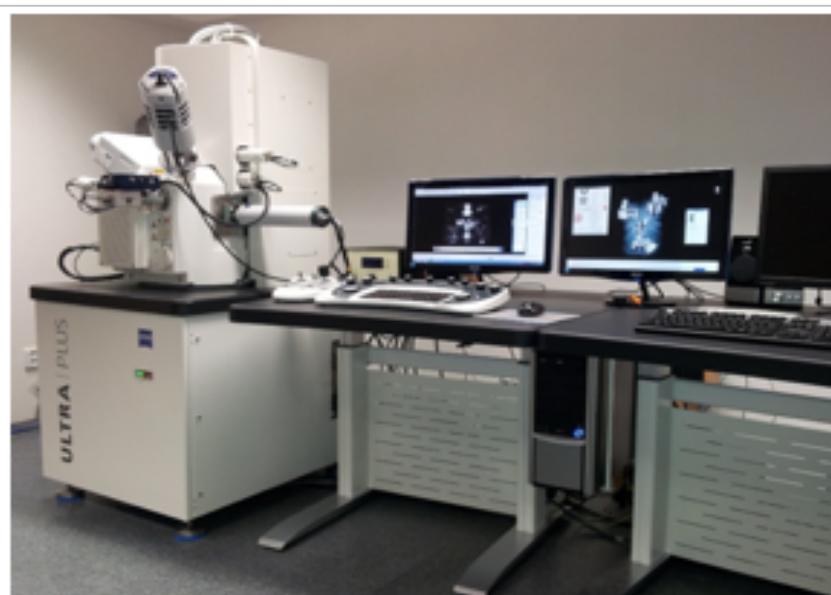
K filtraci byla použita nanovlákněná membrána z polystyrenových nanovláken. Nanovlákněná vrstva byla připravena elektrostatickým zvlákňováním metodou Nanospider z 23% roztoku PS v rozpouštědlech limonen (LIM) a dimethylformamid (DMF) v poměru 2:1. Zvlákňování bylo provedeno na laboratorním zařízení Nanospider™ TZIII. Šířka zvlákňovací elektrody byla 200 mm, vzdálenost mezi zvlákňovací a sběrnou elektrodou se pohybovala od 10 do 30 cm. Byla použita válcová sběrná elektroda a napětí 50–80 kV. Vlhkost ve zvlákňovací komoře byla snižována pod 10 % relativní vlhkosti. Posun podkladové textilie (polypropylenový spunbond od firmy Pegas o plošné hmotnosti 10 g.m⁻² se pohyboval od 4 do 11 cm.min⁻¹. Vlákna připravili paní Fatma Yalcinkaya, Ph.D., M.Sc. a pan Ing. Jaromír Marek, Ph.D.

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

10.1.2 Analýza vzorků

Pro analýzu vzorků byl použit elektronový mikroskop Zeiss ULTRA Plus. Zeiss Ultra, jenž používá Schottkyho autoemisní zdroj, který emituje stabilní, úzký, monochromatický svazek umožňující velké rozlišení a malý šum. Tento typ zdroje vyžaduje velmi vysoké vakuum (10^{-10} mm Hg). Vzorky byly upevněny na hliníkové terče pomocí oboustranné uhlíkové pásky. Vzorky nebylo nutné naprašovat, díky použití relativně nízkého urychlovacího napětí 2 kV. Pro zobrazení byl použit detektor sekundárních elektronů integrovaný do tubusu – InLens, který detekuje elektrony letící zpět ke zdroji a umožňuje studium drobných povrchových detailů při malé pracovní vzdálenosti (2–3,5 mm). Mikroskop je obsluhován softwarem SmartSEM.

10.1.3 Mikroplasty



Obrázek 4: Elektronový mikroskop Zeiss ULTRA Plus

Prvním vzorkem mikroplastů byla směs syntetických a přírodních mikrovláken, která byla obarvená pro snadnou identifikaci v roztoku. Právě vlákna byla ve studii z Paříže označena za největšího přispívatele ke znečištění mikroplasty, a to především v městských oblastech. Cílem experimentu bylo ověření úniku vláken z oblečení během praní, analýza jejich rozměrů a následné ověření schopnosti nanovlákněné vrstvy tato vlákna nachytit. Vlákna použitá v experimentu byla získána z odpadní vody automatické pračky Bosch Clasixx 6. Sběr vláken probíhal po dobu 10 pracích cyklů o délce 90 minut, při teplotě 40 °C a 600 otáčkách

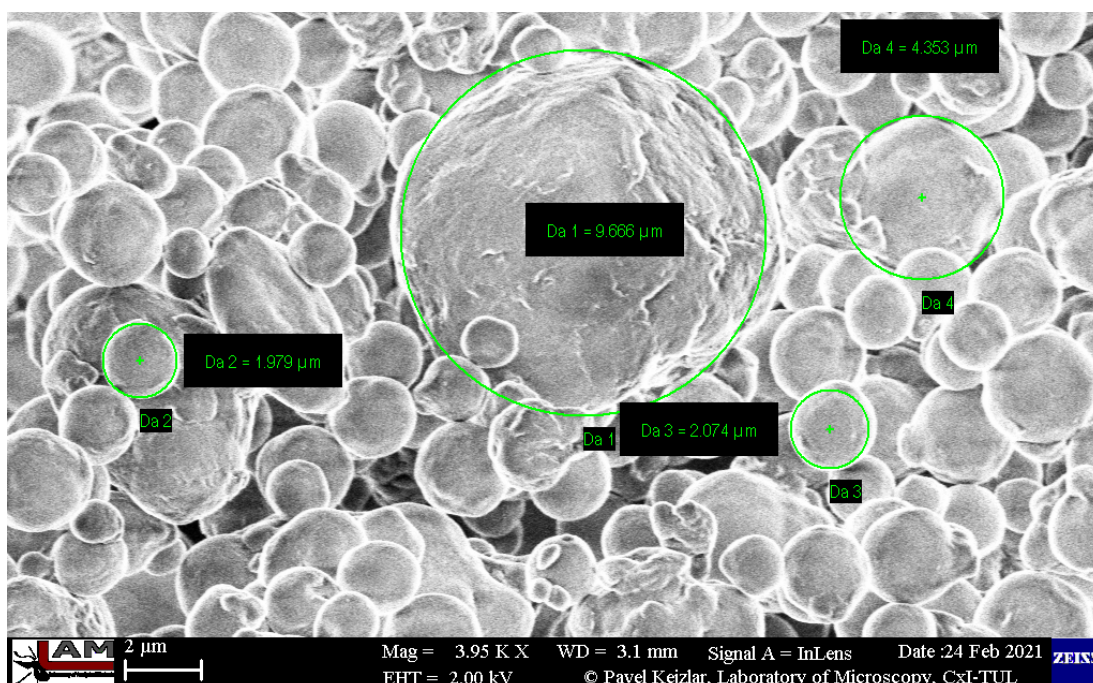
EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

za minutu. V pračce bylo oblečení, ze kterého sesbíraná vlákna pocházejí, vyrobené jak z organických, tak i ze syntetických materiálů.



Obrázek 5: Obarvená směs mikrovláken

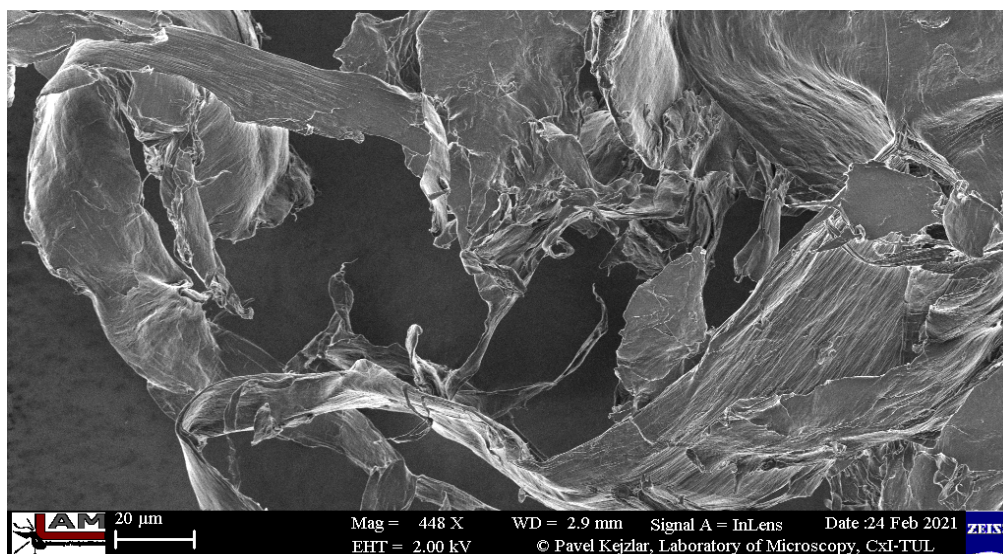
Další vzorky tvořily 3 různé typy mikročástic polyethylenu. Prvním typem byly mikrokuličky z nízkohustotního polyethylenu (LDPE) s průměrem 1–4 μm a hustotou 0,96 $\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ udávanou výrobcem Cospheric. Snímkem z SEM (Obrázek 6) bylo toto rozmezí velikosti potvrzeno, ale bylo nalezeno několik výjimek z tohoto rozsahu – například mikrokulička s průměrem až 10 μm . Tyto částice reprezentují primární mikroplasty.



Obrázek 6: SEM snímek – mikrokuličky LDPE, zvětšení 3 950x

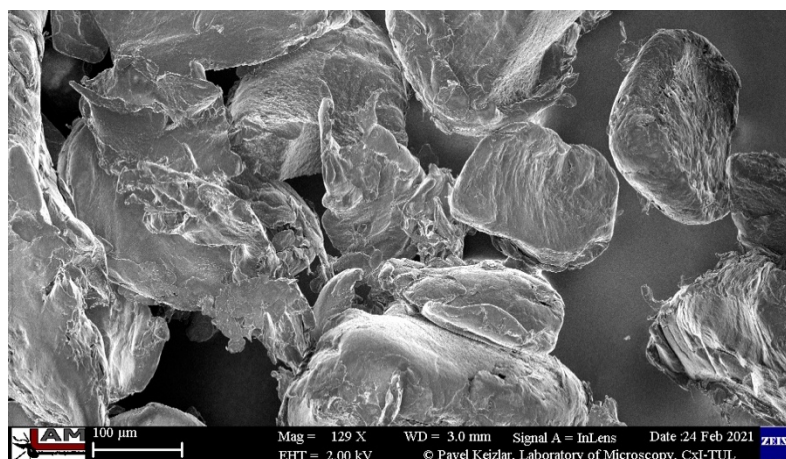
EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Druhým typem byly mikročástice vysokohustotního polyethylenu (HDPE) získané namletím granulátu. Granulát byl na bázi cukrové třtiny I'm Green™ SHA7260, zakoupený od Braskem S.A. (Brazílie) a měl úzkou distribuci molekulové hmotnosti, minimálně 94 % obsahu biologického původu a hustotu $0,96 \text{ g.cm}^{-3}$. Rozměry těchto mikročástic se pohybovaly v řádu desítek až stovek mikrometrů. Částice vypadají potrhané, mají nepravidelný tvar a různou velikost, což odpovídá způsobu jejich vzniku (mletí). Tyto částice reprezentují sekundární mikroplasty. (Obrázek 7)



Obrázek 7: SEM snímek - částice HDPE vzniklé namletím granulátu, zvětšení 448x

Třetím typem byly mikročástice vysokohustotního polyethylenu (HDPE) o hustotě $0,97 \text{ g.cm}^{-3}$, získané namletím lahve jogurtového nápoje od společnosti Danone. Rozměry těchto mikročástic se pohybovaly v řádu desítek až stovek mikrometrů. Nepravidelný tvar s ostrými hranami odpovídal způsobu, jakým částice vznikly. .. Lahev byla nejprve zbavena etikety, nastříhaná na menší kusy, které byly následně namleté na hrubost v řádu desítek až stovek nanometrů. (Obrázek 8).

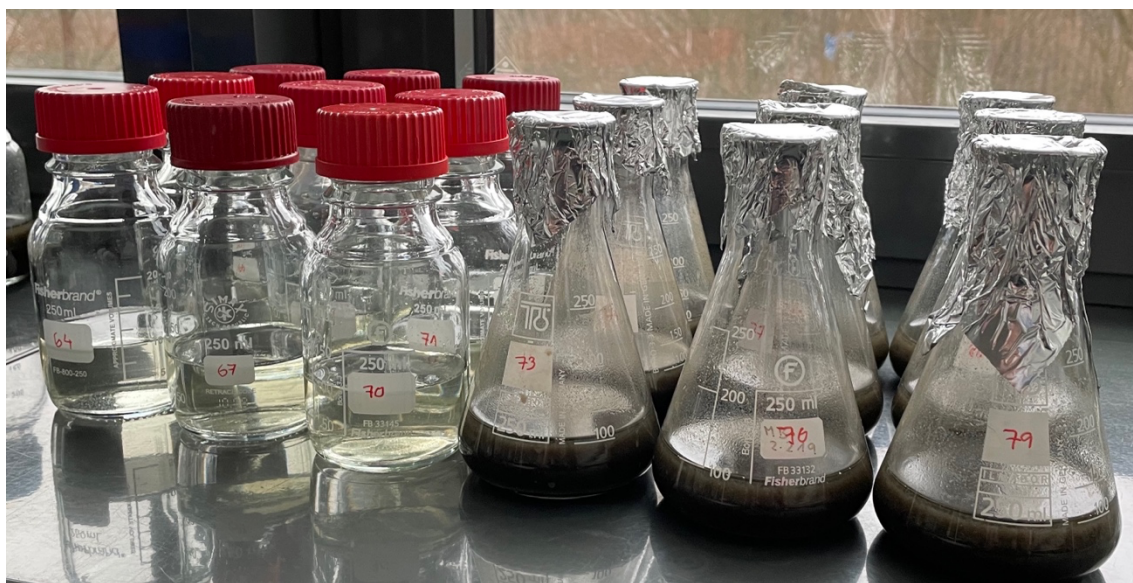


Obrázek 8: vlevo lahev od jogurtového nápoje vyrobená z HDPE; vpravo SEM snímek - částice HDPE vzniklé namletím obalu jogurtové lahve, zvětšení 129x

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

10.2 Biodegradační experimenty

Pro biodegradační experimenty bylo připraveno celkem 72 vzorků. Jednalo se o 24 unikátních vzorků a každý byl tripplikovaný pro co největší přesnost experimentu. Těchto 72 bylo umístěno do 36 uzavíratelných lahví Fischer o objemu 250 mL a do 36 Erlenmeyerových baňek o objemu 250 mL, které byly uzavřeny hliníkovou folií. Použití dvou typů nádob bylo nutné kvůli nedostatečnému počtu nádob stejného typu, ale vzhledem ke shodnému objemu nemohlo dojít k ovlivnění experimentu.



Obrázek 9: Lahve a Erlenmeyerovy baňky o objemu 250 mL

Lahve i Erlenmeyerovy baňky byly před začátkem experimentu sterilizovány v autoklávu MEMMERT UF75 při teplotě 170 °C po dobu 1 h.



Obrázek 10: Autokláv

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

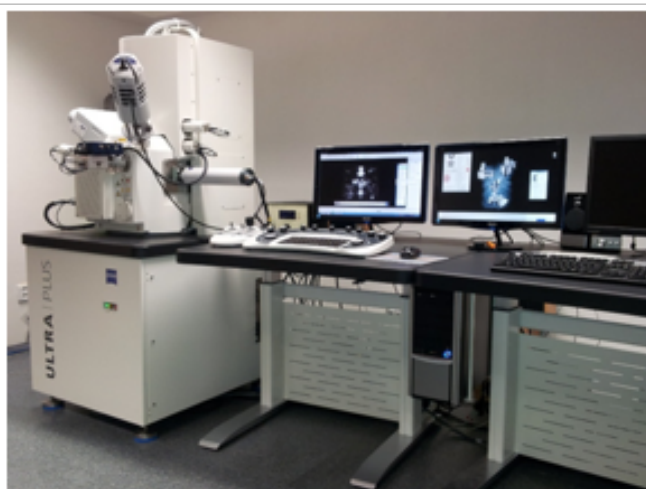
10.2.1 Analýza mikrobiálního osídlení biodegradačních vzorků

Vzorky byly analyzovány nejprve po 30 dnech od začátku experimentu a poté za dalších 30 dní, tedy 60 dní od začátku experimentu. Analyzovány byly vždy všechny triplikáty, aby byly minimalizovány chyby měření.

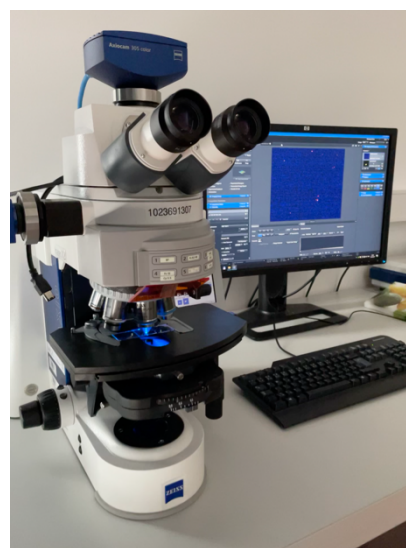
10.2.2 Mikroskopie

Bakterie byly analyzovány pomocí epifluorescenčního mikroskopu Zeiss AxioImager AX10 (Obrázek 12) a v rastrovacím elektronovém mikroskopu Zeiss ULTRA Plus (Obrázek 11). Biodegradační prostředí bylo obarveno ve tmě po dobu 15 minut pomocí soupravy Live/dead™ BacLight™ (LifeTechnologies, USA) a poté pozorováno pomocí epifluorescenčního mikroskopu s excitací nastavenou na 470 nm a emisí na 490–700 nm při zvětšení 63 x.

Dále byl pro analýzu vzorků použit elektronový mikroskop Zeiss ULTRA Plus (Obrázek 11). Vzorky (roztoky biodegradačního prostředí s mikroplasty) byly na oboustrannou lepící pásku umístěnou na hliníkovém terči naneseny pipetou v objemu 5 μ L. Bylo použito urychlovací napětí 2kV a InLens detektor.



Obrázek 11: Elektronový mikroskop Zeiss ULTRA Plus



Obrázek 12: Fluorescenční mikroskop Zeiss AX10

10.2.3 qPCR

Na začátku experimentu a po 60 dnech byly vzorky filtrovány přes filtrační papír Durapore PVDF Merck (Millipore, Německo) s póry o velikosti 0,22 μ m. Filtry byly poté skladovány při - 80 °C až do extrakce DNA. DNA byla extrahována z filtrů pomocí FastDNA Spin Kit for Soil (MP Biomedicals, USA), podle protokolu výrobce. Bylo zjištěno relativní množství genu 16S rRNA (F: TCCTACGGGAGGCAGCAGT a

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

R: GGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTT) představující celkovou bakteriální biomasu. Reakce qPCR byly připraveny a provedeny v přístroji LightCycler® 480 (Roche, Švýcarsko). Hodnoty bodů označující cyklus, ve kterém dochází k přechodu do exponenciální fáze amplifikace („Crossing points“ - Cp) byly získány pomocí metody Second Derivative Maximum. Výsledky qPCR byly hodnoceny jako relativní kvantifikace násobné změny mezi dvěma stavy, s genem 16S rRNA v počátečním bodě (den 0) a v konečném bodě (den 60) jako $\Delta Cq = (Cq_{day60} - Cq_{day0})$. Průměrné hodnoty Cp (normalizovány na objem vzorku) 16S rRNA markeru byly vypočteny jako relativní kvantifikace ze vzorce $Cp = 2^{-\Delta Cq}$. (Nguyen et al. 2021)

10.2.4 Biodegradační prostředí

Prvním biodegradačním prostředím byla bakteriální kultura *Rhodococcus rhodochrous* ATCC 29672 v solném roztoku MSM (mineral salt medium). Bakteriální kultura *R. rhodochrous* byla vybrána na základě její schopnosti biodegradovat PE (Bonhomme et al. 2003) a byla získána z České sbírky mikroorganismů Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity v Brně. *R. Rhodochrous* se používá pro inokulaci půdy v zemědělství a zahradnictví a má tvar tyčinek (koků). Vyrábí se průmyslově pro katalýzu přeměny akrylonitrilu na akrylamid. Používá se také v průmyslové výrobě nikotinamidu (niacinamidu), derivátu nebo aktivní formy niacinu, který je součástí komplexu vitamínů B.

Bakterie byly kultivovány 24 hodin v TSB (Tryptic Soy Broth), centrifugovány 5 min na 7000 ot, omyty v NaCl (0,89 % pufru) a znovu centrifugovány 5 min na 7000 ot. Dále bylo připraveno solné medium MSM. Koncentrace solí v roztoku byla 0,5 g.L⁻¹ MgSO₄(7H₂O), 0,5 g.L⁻¹ KH₂PO₄, 2,52 g.L⁻¹ Na₂HPO₄(12H₂O), 1 g.L⁻¹ NH₄Cl, 0.002 g.L⁻¹; CaCl₂, 0.007 g.L⁻¹ MnSO₄(7H₂O), 0.001 g.L⁻¹ FeSO₄(7H₂O) a 0.007g.L⁻¹ ZnSO₄(7H₂O) (Bonhomme et al. 2003). Použité soli byly od výrobce Sigma-Aldrich. Žádná ze solí neobsahuje atom uhlíku, jediným zdrojem uhlíku pro bakterie v průběhu experimentu tedy byly mikroplasty.

Druhým biodegradačním prostředím byl supernatant aktivovaného kalu. Supernatant je vrchní část roztoku, která vznikne po dekantaci odebraného aktivovaného kalu. Supernatant má jen lehce nazelenalou barvu, jinak je čirý.

Třetím biodegradačním prostředím byl sediment aktivovaného kalu. Sediment je spodní část roztoku, která vznikne po dekantaci odebraného aktivovaného kalu. Sediment má hnědozelenou barvu a vysokou hustotu.

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Supernatant a sediment aktivované kalu byly získány jednoduchou sedimentací odpadní vody odebrané z čistírny odpadních vod Dobrovíz (obchodní zóna Amazon). Sedimentace suspendovaného kalu na poloviční objem probíhala 30 minut. Sušina již usazeného kalu byla $7,6 \text{ g.L}^{-1}$ a filtrovaná CHSK_{Cr} supernatantu byla $35,2 \text{ mg.L}^{-1}$.



Obrázek 13: Vlevo lahve se supernatantem, vpravo baňky se sedimentem

10.2.5 Mikroplasty

Pro biodegradční experimenty byly použity tři typy PE mikročástic, shodné s mikroplasty použitými ve filtračních experimentech. Prvním typem byly LDPE mikrokuličky LDPE s průměrem 1-4 μm a hustotou $0,96 \text{ g.cm}^{-3}$ udávanou výrobcem Cospheric. Druhým typem byly mikročástice HDPE o hustotě $0,97 \text{ g.cm}^{-3}$, získané namletím lahve jogurtového nápoje. Rozměry těchto mikročástic se pohybovaly v řádu desítek až stovek mikrometrů a částice měly nepravidelný tvar s ostrými hranami. Třetím typem byly HDPE o hustotě $0,97 \text{ g.cm}^{-3}$, získané namletím granulátu z biologického zdroje. Rozměry těchto mikročástic se pohybovaly v řádu desítek až stovek mikrometrů. Částice vypadají potřhané, mají nepravidelný tvar a různou velikost.

Každý vzorek obsahoval 5 mg mikroplastů ve 100 mL biodegradčního prostředí, to odpovídá koncentraci 50 mg.L^{-1} . Tato nízká koncentrace byla zvolena s ohledem na vysokou cenu, omezené množství LDPE mikrokuliček a vysoký počet vzorků.

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

10.2.6 Respirometrie

Respirometrie je analytická metoda, která umožňuje kontinuální záznam metabolické aktivity mikroorganismů ve vodním a půdním prostředí měřením koncentrace sledovaných plynů. Na základě změn složení plynné fáze (obsah CO_2 , CH_4 a O_2), probíhajících v důsledku mikrobiálních pochodů v uzavřeném testovacím systému, lze sledovat aerobní/anaerobní rozklad organických látek.

Respirometr Micro-Oxymax je uzavřený, plně automatizovaný systém kontinuálního měření koncentrací O_2 , CO_2 a CH_4 v plynné fázi uzavřených testovacích lahvích. Pro sledování biodegradace za aerobních podmínek jsou používány detektory O_2 a CO_2 a za anaerobních podmínek CO_2 a CH_4 .

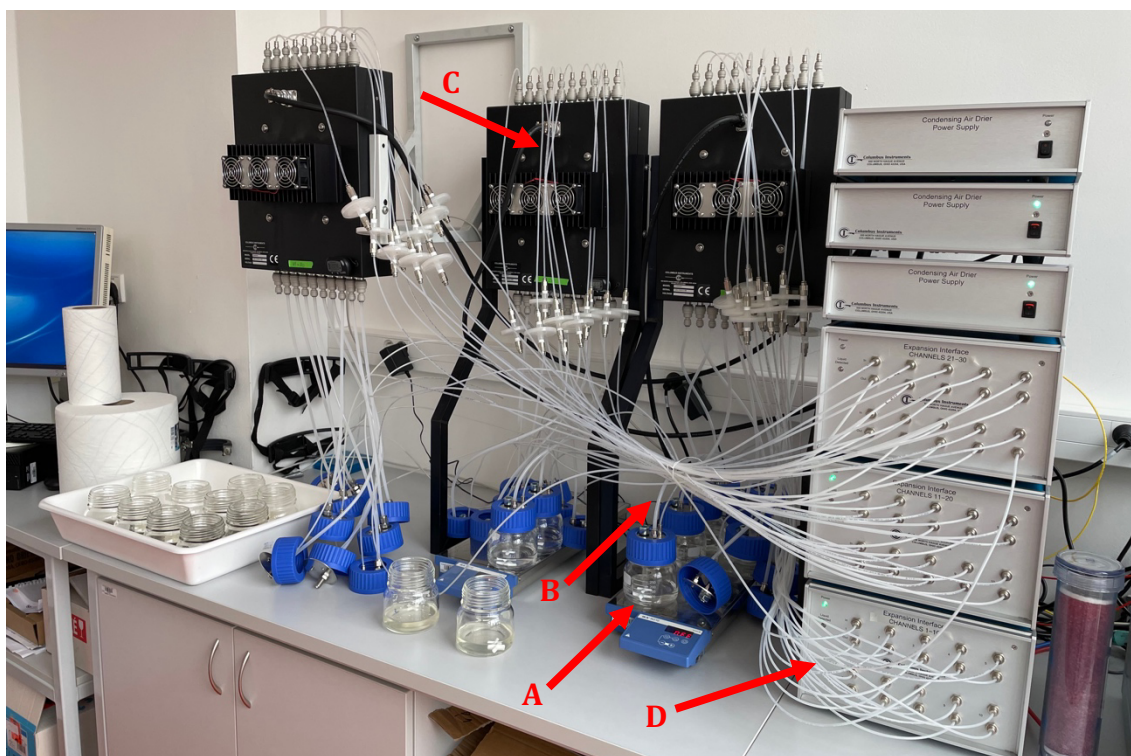
Detektory CH_4 a CO_2 pracují na principu jednopaprskové infračervené spektroskopie a detektor O_2 na principu paramagnetické rezonance. Respirometr pracuje v uzavřené smyčce, tj. vzduch z testovacích lahví je čerpán do detektorů a odtud se vrací zpět. Periodicky probíhá měření přítomných plynů a změny v jejich koncentraci jsou v případě aerobního procesu přepočítávány jako spotřeba O_2 a produkce CO_2 . Nastavení a udržování provozních podmínek je zajištěno externím počítačem. Použitý software Columbus Instruments slouží pro ukládání, zpracování a prezentaci experimentálních dat a umožňuje konfiguraci přístroje, kalibraci detektorů, měření objemů, těsností systému atd.

Před začátkem experimentu je nutné respirometr nastavit a kalibrovat. Nejprve je provedena kalibrace připojených detektorů pomocí přesně definovaných plynů. Následuje diagnostika přístroje, která kontroluje správnou funkci jednotlivých částí respirometru a závěrečným krokem je softwarové nastavení experimentálních podmínek. Naměřená data jsou průběžně odesílána do počítače a jsou vyjádřena jako rychlost produkce/spotřeby sledovaných plynů za danou časovou jednotku. (Dřimal a Hoffmann 2008).

Před spuštěním testu byl nastaven počet aktivních pozic přístroje – 13 (12 vzorků a kontrola s anilinem). Dále byla nastavena frekvence analýzy plynné fáze každého vzorku na 2 h. Vzorky byly umístěny ve speciálních 250 mL testovacích lahvích Fisher, které obsahovaly 100 mL inokulovaného média. Celý obsah lahví byl po celou dobu experimentu míchán magnetickým míchadlem rychlostí 100 ot.min⁻¹. Experimenty probíhaly při laboratorní teplotě. Bylo použito 10 mg vzorku mikroplastů, což je minimální množství, při kterém lze provést respirometrické

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

měření biodegradace. Výsledná koncentrace mikroplastů byla dvojnásobná v porovnání s předchozími experimenty v lahvích, tedy 100 mg.L^{-1} . Vzhledem k tomu, že pro experimenty v lahvích byly použity pouze kvalitativní analytické metody, není rozdíl v koncentracích důležitý. Kvůli omezenému počtu kanálů byly pro respirometrii vybrány pouze vzorky v sedimentu a v supernatantu. Sediment i supernatant byly shodné s těmi, které byly použity pro experimenty v lahvích. Vzorky obou typů HDPE v sedimentu a v supernatantu byly duplikované (celkem 8 vzorků), LDPE mikrokuličky v sedimentu a v supernatantu duplikované nebyly kvůli omezenému dostupnému množství (2 vzorky). Zbylé kanály byly obsazené kontrolním vzorkem sedimentu bez přídavku mikroplastů, kontrolním vzorkem supernatantu bez přídavku mikroplastů a kontrolním vzorkem s plně biodegradabilním anilinem.

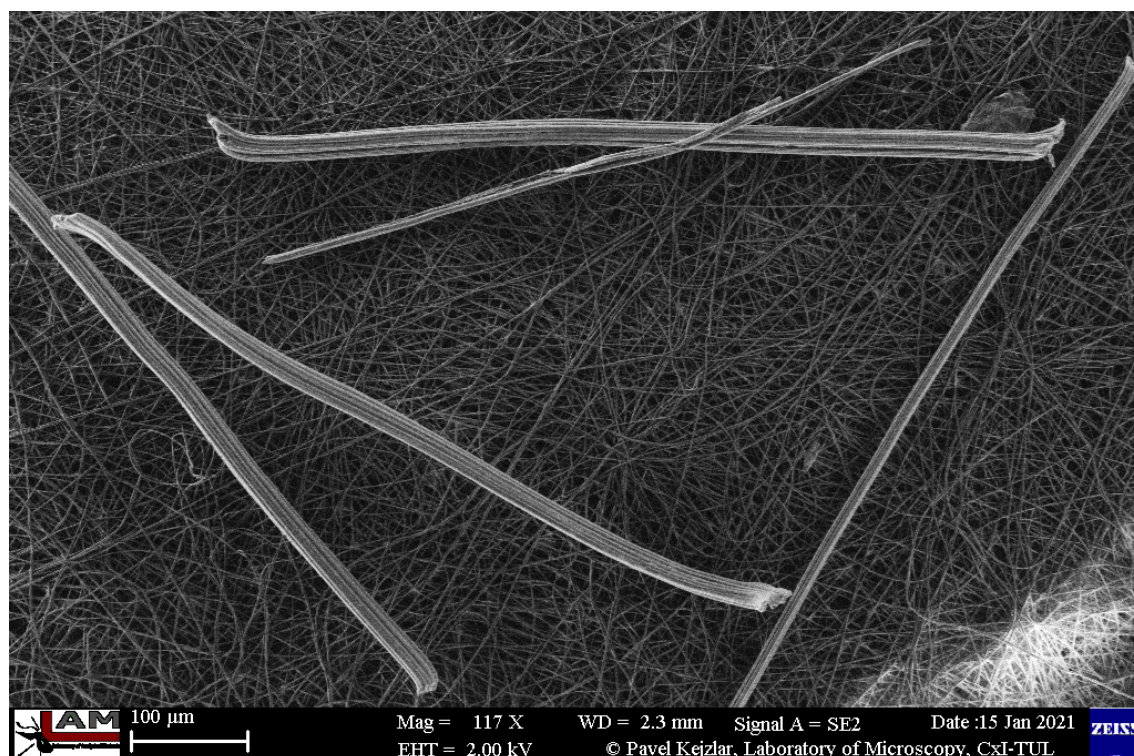


Obrázek 14: Respirometr Micro-Oxymax; speciální 250mL testovací lahve Fisher s magnetickým míchadlem (A) se 100 mL inokulovaného média; kanály (B) vedoucí plyn z lahví, který je dále veden přes chladič (C) do jedné ze tří čerpacích řídicích jednotek (D), které mají dohromady 30 měřících pozic.

Výsledky a diskuze

11 Filtrace mikroplastů

Záchyt mikroplastů byl ověřen na mikrofiltrační PS nanovláknenné vrstvě se středním průměrem vláken 0,503 μm .



Obrázek 15: Syntetická mikrovlákna zachycená na nanovláknenné polystyrenové vrstvě, zvětšení 117x

11.1 Směs syntetických a přírodních vláken

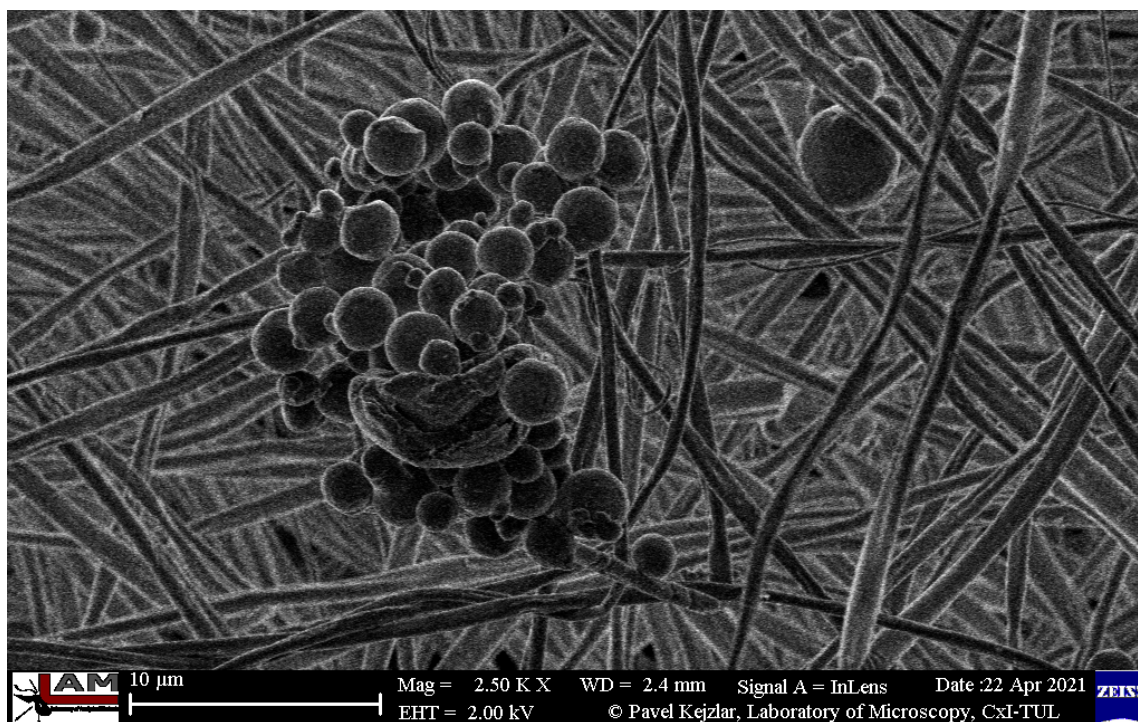
Experimentálně byl ověřen záchyt směsi syntetických a přírodních mikrovláken. Na snímku z elektronového mikroskopu (Obrázek 15) lze pozorovat zachycená syntetická vlákna s průměrem v řádu desítek mikrometrů. Díky tomu, že byla vlákna obarvená červenou barvou bylo možné pouhým pohledem potvrdit jejich 100 % záchyt na mikrofiltrační PS nanovláknenné vrstvě (Obrázek 15).



Obrázek 16: Obarvená směs mikrovláken odebraných z koncového filtru domácí pračky, zachycená na mikrofiltrační PS nanovlákně (viz 10.1.3)

11.2 Mikročástice PE

Dále byl ověřen záchyt třech druhů mikročástic PE. Snímky z elektronového mikroskopu a vážení dokazují 100% záchyt vybraných mikroplastů na zvolené PS nanovlákně.



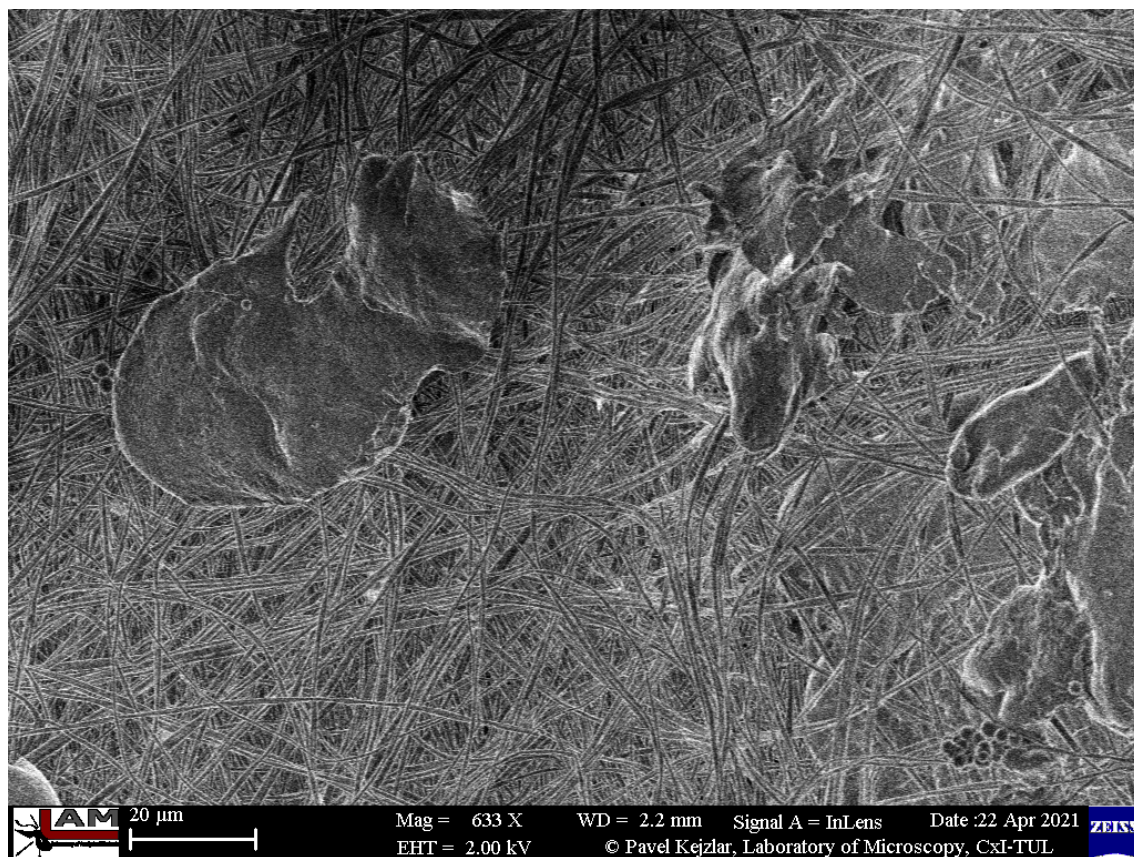
Obrázek 17: LDPE mikrokuličky zachycené na PS nanovlákně

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

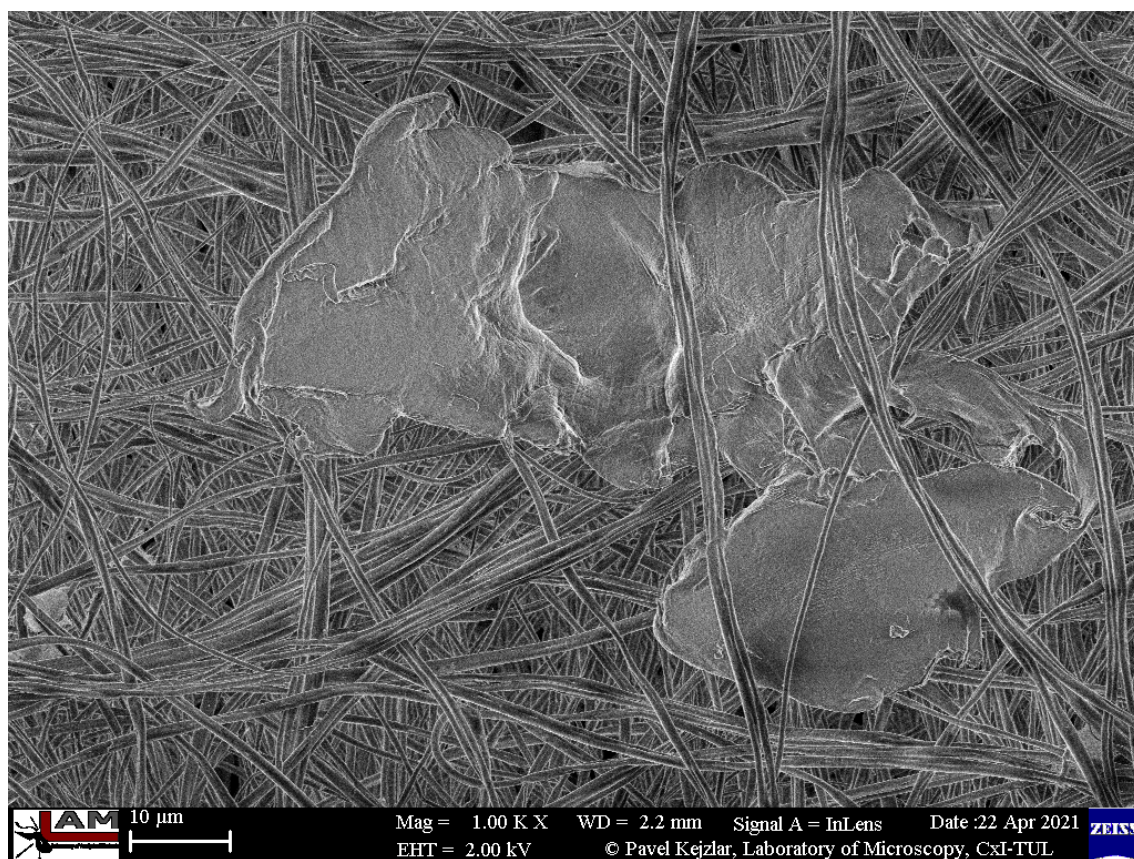
Ze snímku (Obrázek 17) lze usoudit, že výběr nanovlákněné vrstvy byl vhodný pro záchyt LDPE mikrokuliček o rozměru 1–4 μm . K efektivitě záchytu navíc přispívá také shlukování mikrokuliček do větších skupin, což je zřejmě způsobeno jejich povrchovým nábojem. Samotné kuličky, ale také jejich shluky mají navíc díky předpokládanému povrchovému náboji tendenci přiléhat k vláknům.

Dále byl potvrzen záchyt mikročástic HDPE. V prvním případě se jednalo se o částice vzniklé namletím HDPE obalové lahve jogurtového nápoje (Obrázek 18 a Obrázek 19) a v druhém případě namletím bio-HDPE granulátu (Obrázek 20 a Obrázek 21). Ze snímků z elektronového mikroskopu a vážení lze také usoudit, že záchyt těchto částic byl 100 %, což bylo vzhledem k jejich rozměrům předpokladem. Poerio et al. (2019) navrhují zařadit mikrofiltrační membránové technologie do třetího nebo čtvrtého stupně úpravy v ČOV.

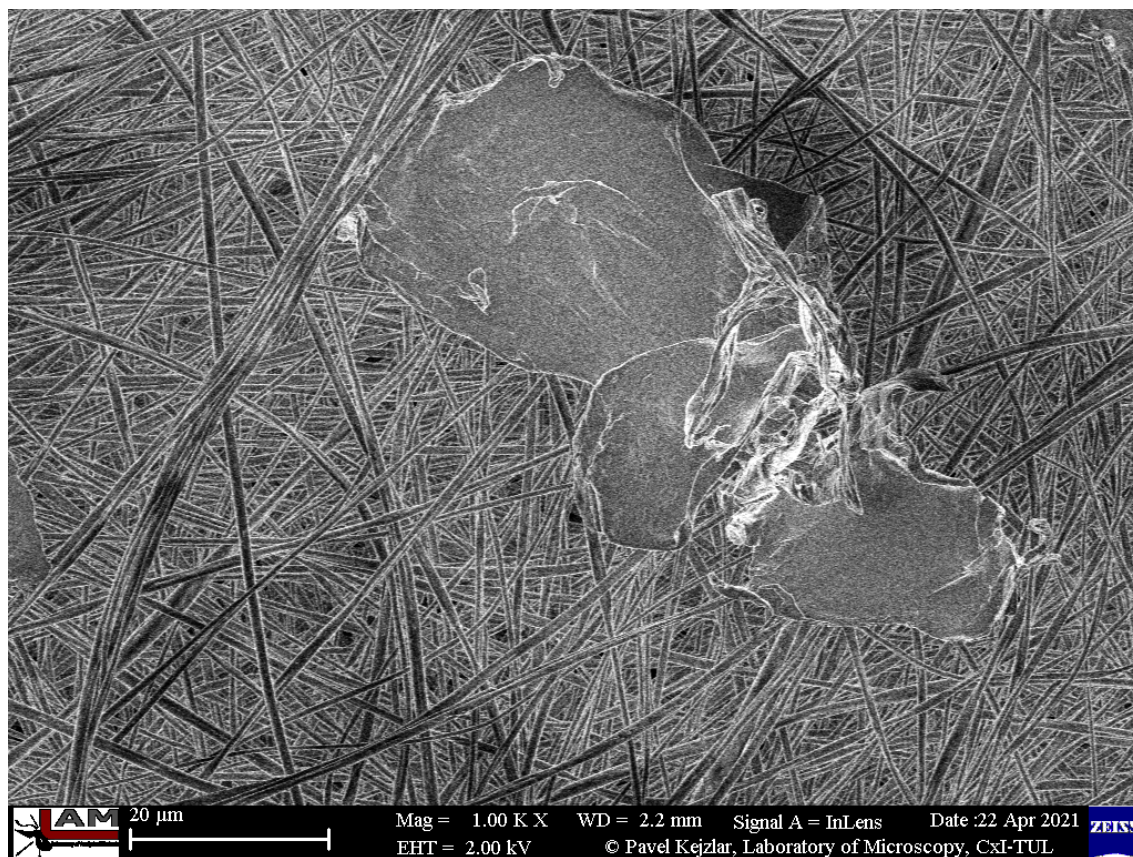
EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST



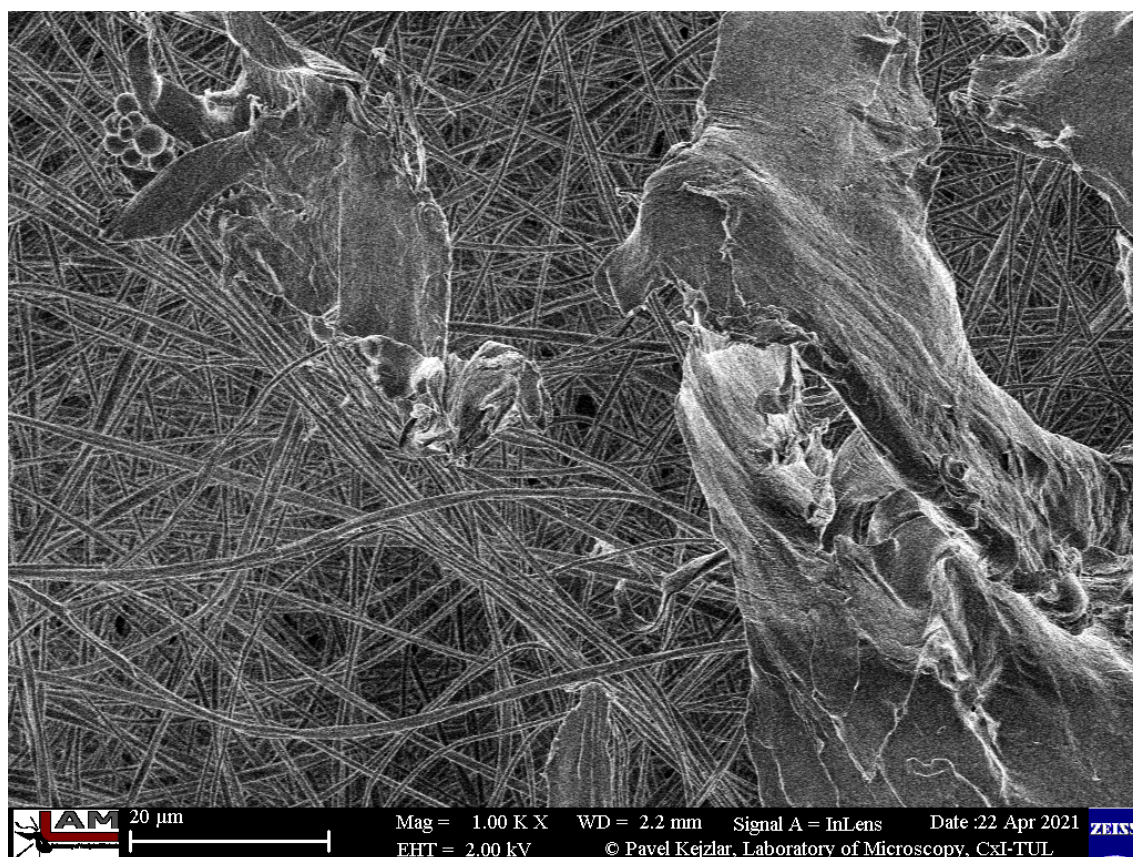
Obrázek 18: Mikročástice HPDE z namleté lahve zachycené na PS nanovláčkách, zvětšení 633x



Obrázek 19: Mikročástice HPDE z namleté lahve zachycené na PS nanovláčkách, zvětšení 1000x



Obrázek 20: Mikročástice HPDE z granulátu zachycené na PS nanovláčkách, zvětšení 1000x



Obrázek 21: Mikročástice HPDE z granulátu zachycené na PS nanovláčkách, zvětšení 1000x

12 Biodegradace

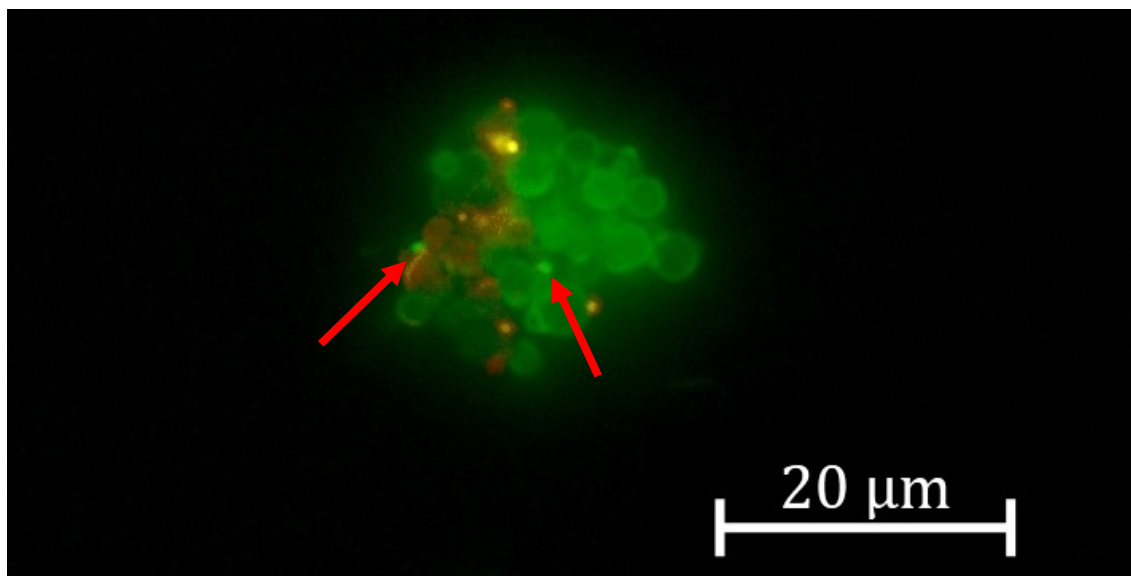
12.1 Experimenty v lahvích

Vzorky s mikroplasty a bakteriemi aktivovaného kalu nebo *R. rhodochrous* byly analyzovány po 30 a 60 dnech od začátku experimentu. Nejprve pomocí epifluorescenčního mikroskopu a poté na rastrovacím elektronovém mikroskopu. Při první analýze po 30 dnech nebyla na snímcích z epifluorescenčního mikroskopu u žádného vzorku potvrzena interakce bakterií s povrchem mikroplastů. Bakterie byly dobře separované a jejich počet a aktivita od začátku experimentu neklesala. Tvorba biofilmu na povrchu plastů trvá nejméně 14 dní (Morohoshi et al. 2018), podobná doba byla reportována také konkrétně pro LDPE a HDPE (Eich et al. 2015; Nguyen et al. 2021). Během druhé analýzy po 60 dnech od počátku experimentu byla pozorována adheze bakterií na mikroplasty. Adheze bakterií na mikroplasty je prvním krokem tvorby biofilmu. Tvorba biofilmu je obecnou vlastností většiny bakterií, protože jsou v tomto uskupení lépe chráněné. Ze samotné tvorby biofilmu na povrchu mikroplastů v supernatantu a sedimentu aktivovaného kalu tedy nelze tedy vyvodit závěr o schopnosti bakterií mikroplasty biodegradovat. Tvorba biofilmu je ale nutnou podmínkou biodegradace. V případě vzorků *R. rhodochrous* v MSM byla adheze bakterií na mikroplasty pozorována nejzřetelněji a mikroplasty byly jediným zdrojem uhlíku v roztoku a v těchto vzorcích. To indikuje, že bakterie v tomto prostředí mohou mikroplasty biodegradovat, protože uhlík ke svému životu potřebují.

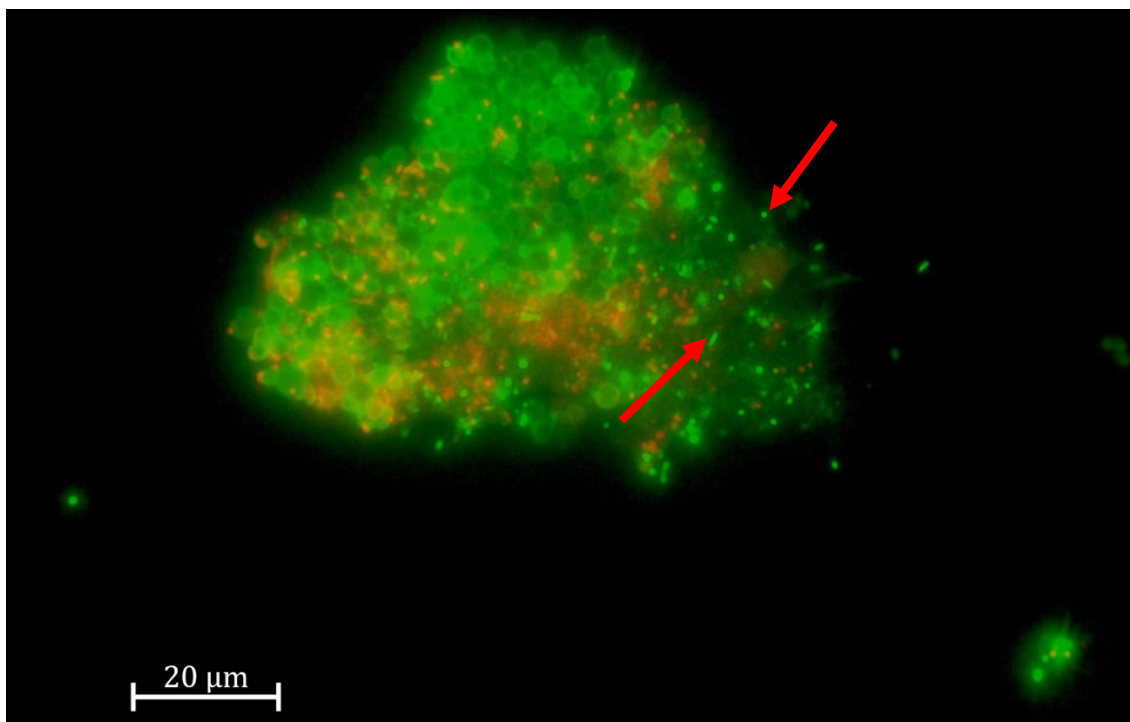
EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

12.1.1 Závěry z epifluorescenční mikroskopie

Na snímcích z epifluorescenčního mikroskopu (Obrázek 22 a 23) vidíme bakterie ze supernatantu (jasně zelená barva) adherované na shluknutých LDPE mikrokuličkách.



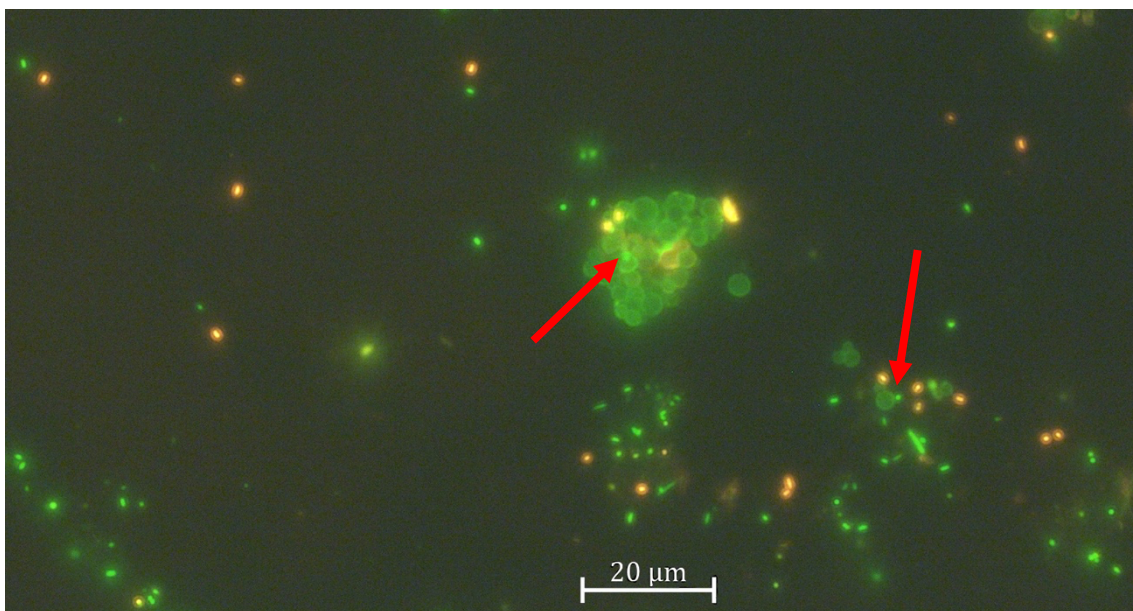
Obrázek 22: Snímek z epifluorescenčního mikroskopu, LDPE mikrokuličky (větší zelené kuličky) v supernatantu s adherovanými bakteriemi (jasně zelená – živé buňky, červená – mrtvé buňky), červené šipky ukazují na živé buňky



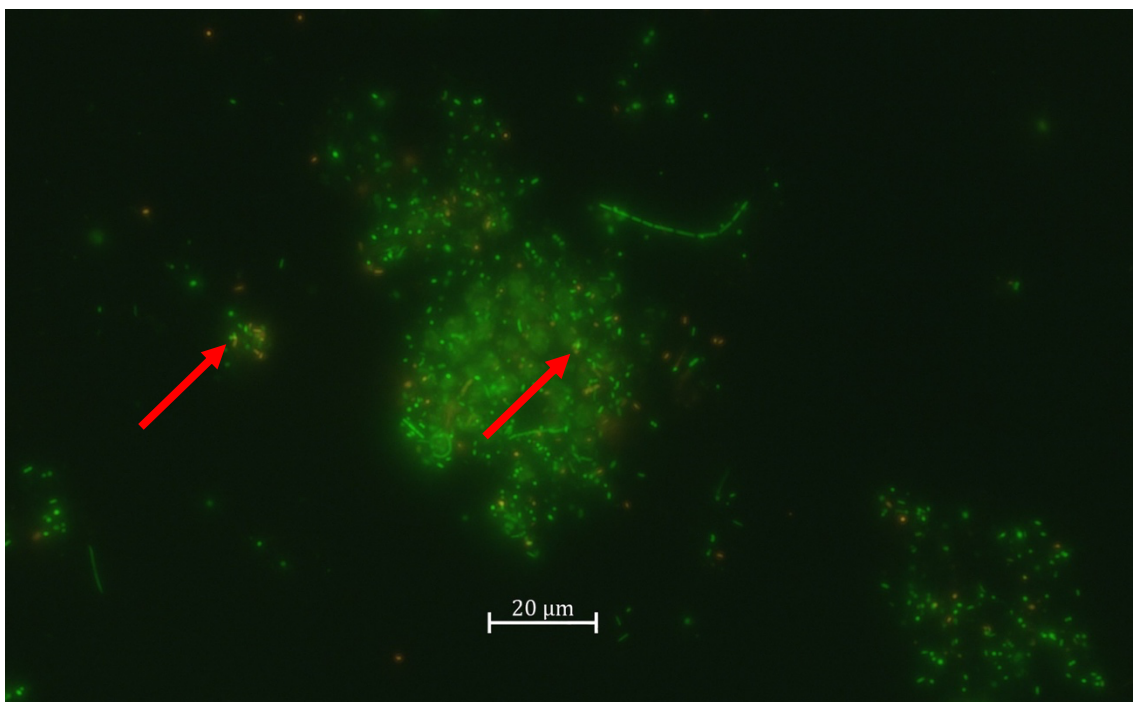
Obrázek 23: Snímek z epifluorescenčního mikroskopu, LDPE mikrokuličky (větší zelené kuličky) v supernatantu s adherovanými bakteriemi (jasně zelená – živé buňky, červená – mrtvé buňky, červené šipky ukazují na živé buňky

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Další snímky ukazují adhezi bakterií ze sedimentu aktivovaného kalu na LDPE mikrokuličkách (Obrázek 24 a 25). V porovnání se vzorkem se supernatantem je zde vidět přítomnosti vyššího počtu bakterií, což odpovídá předpokladu vyšší biodiverzity v sedimentu.



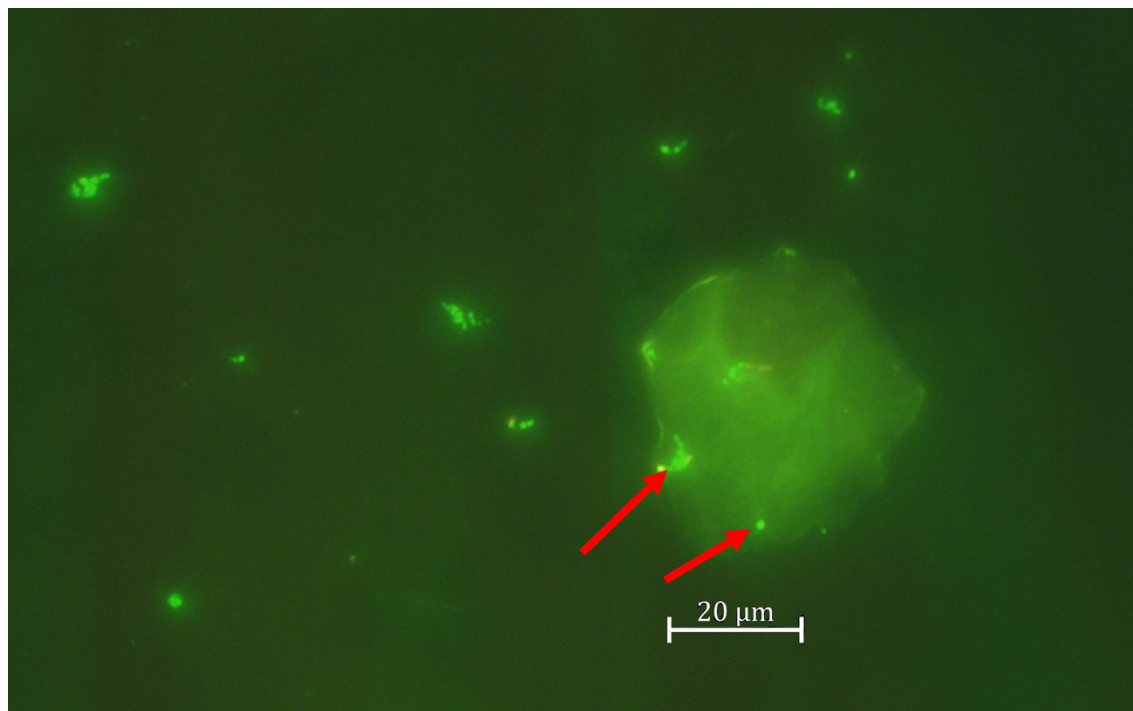
Obrázek 24: Snímek z epifluorescenčního mikroskopu, LDPE mikrokuličky (větší zelené kuličky) v sedimentu s adherovanými bakteriemi (jasně zelená – živé buňky, červená – mrtvé buňky) v sedimentu, zvětšení 63x, červené šipky ukazují na živé buňky



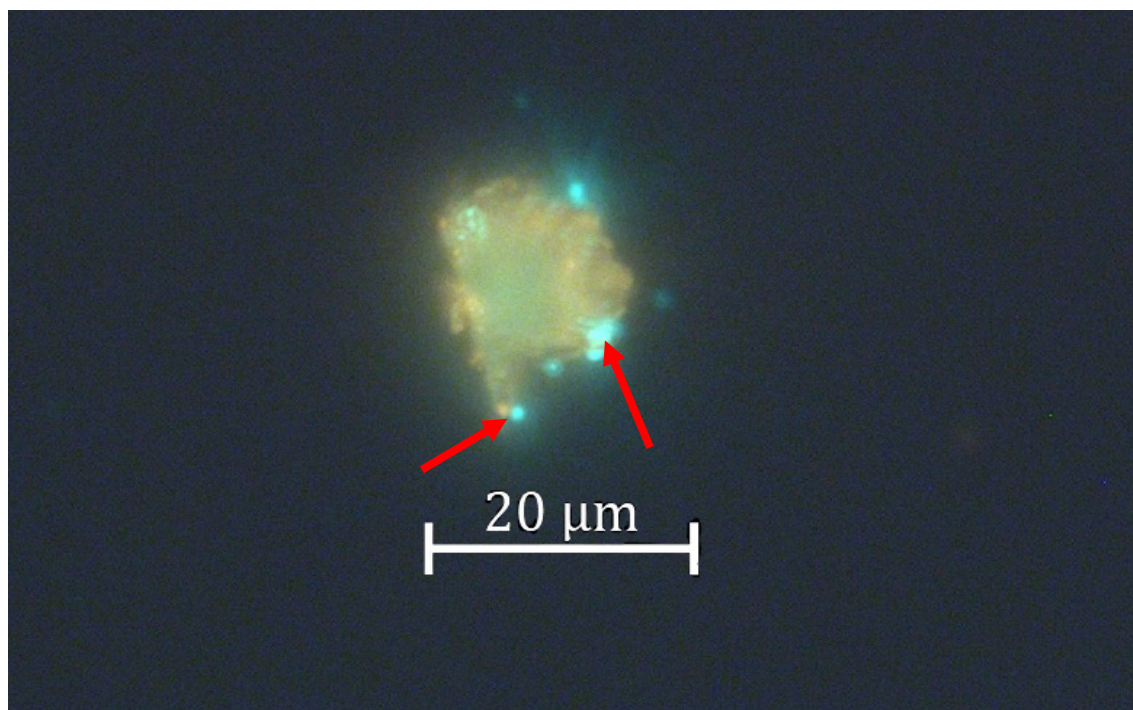
Obrázek 25: Snímek z epifluorescenčního mikroskopu, LDPE mikrokuličky (větší zelené kuličky) v sedimentu s adherovanými bakteriemi (jasně zelená – živé buňky, červená – mrtvé buňky), zvětšení 63x, červené šipky ukazují na živé buňky

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Na následujícím snímku vidíme bakterie *R. rhodochrous* adherované na mikročástici HDPE z granulátu (Obrázek 26).



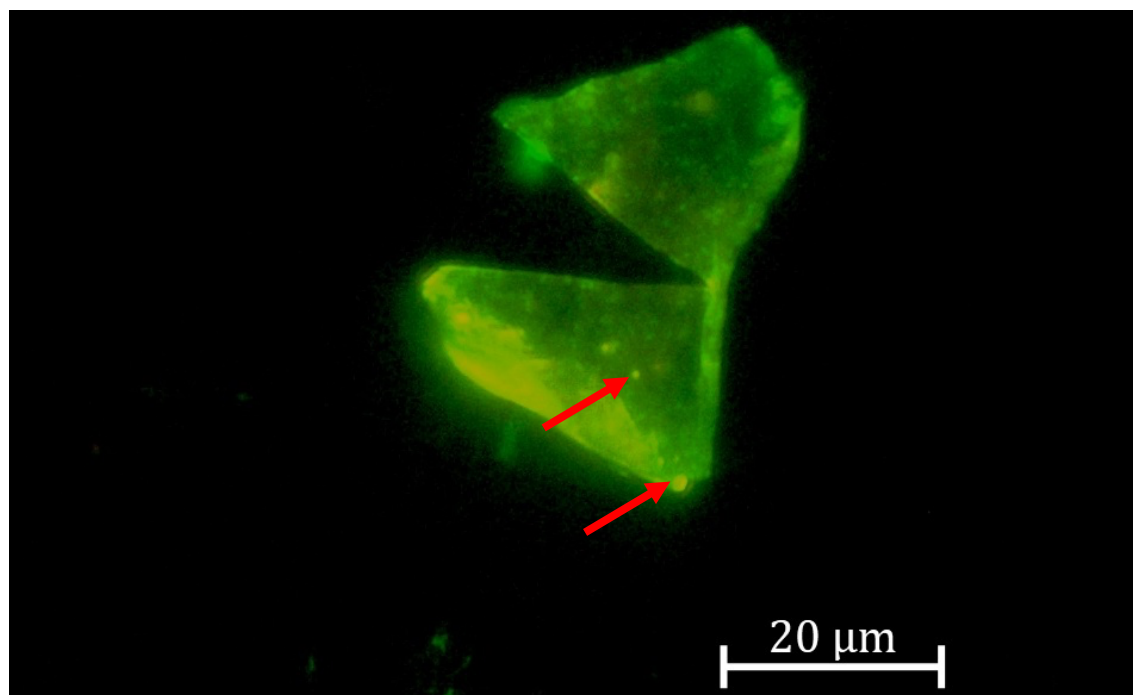
Obrázek 26: Snímek z epifluorescenčního mikroskopu, mikročástice HDPE z granulátu (velký zelený útvar), s adherovanými bakteriemi *R. rhodochrous* (jasně zelená – živé buňky) v MSM, zvětšení 63x



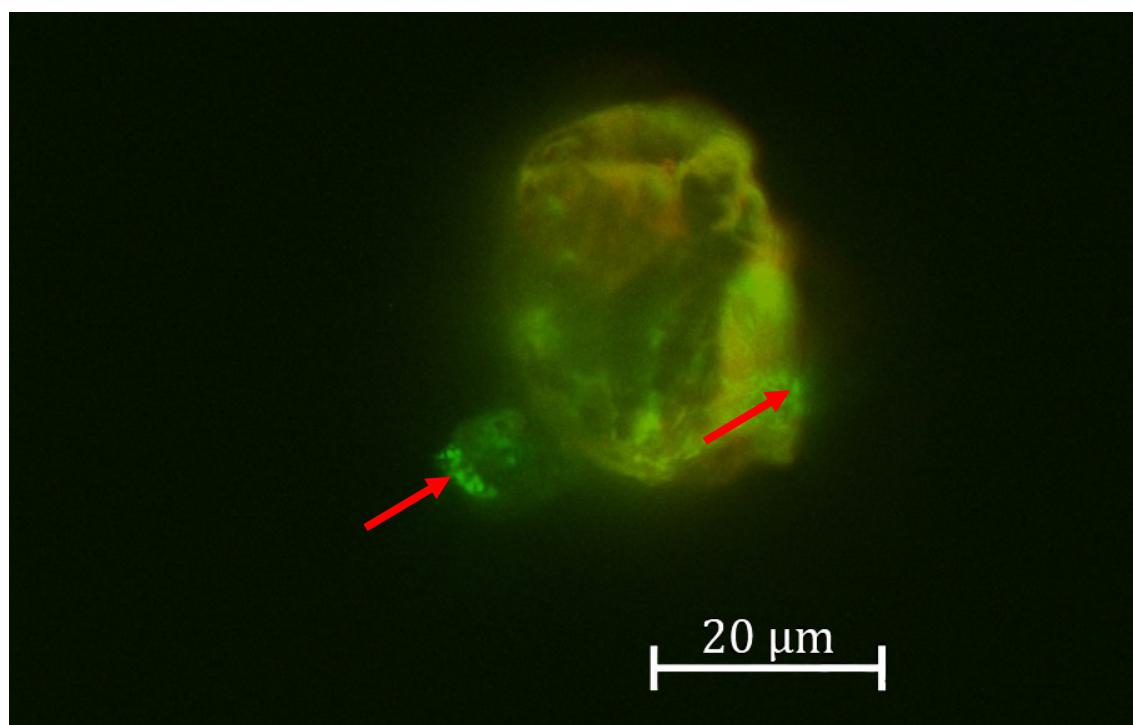
Obrázek 27: Snímek z epifluorescenčního mikroskopu, mikročástice HDPE z granulátu (oranžový útvar) s adherovanými bakteriemi ze supernatantu (jasně modrá – živé buňky), zvětšení 63x, červené šipky ukazují na živé buňky

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Dalším vzorkem byly mikročástice HDPE z granulátu v sedimentu aktivovaného kalu. Na snímcích (Obrázek 28 a 29) vidíme bakterie adherované na částici mikroplastu.



Obrázek 29: Snímek z fluorescenčního mikroskopu, mikročástice HDPE z granulátu) s adherovanými bakteriemi ze sedimentu (jasně zelená – živé buňky), zvětšení 63x, červené šipky ukazují na živé buňky



Obrázek 28: Snímek z epifluorescenčního mikroskopu, mikročástice HDPE z granulátu (větší oranžovo-zelený útvar) s adherovanými bakteriemi ze sedimentu (jasně zelená – živé buňky), zvětšení 63x, červené šipky ukazují na živé buňky

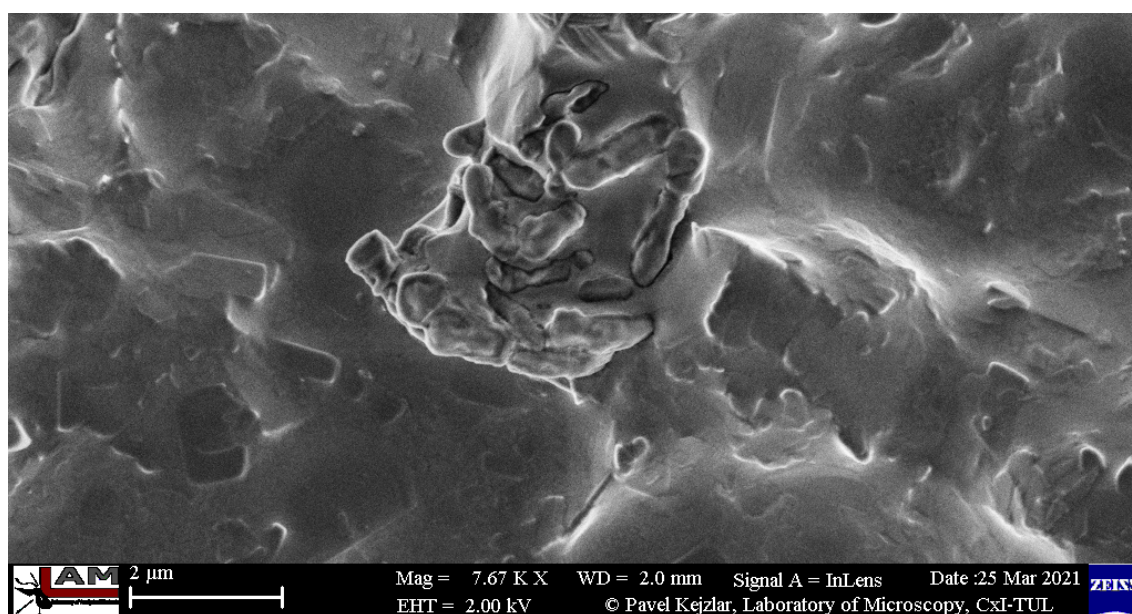
EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Snímky z epifluorescenčního mikroskopu potvrdily adhezi bakterií a počátek tvorby biofilmu na mikroplastech ve všech vzorcích po 60 dnech. V literatuře byla reportována tvorba biofilmu v mořské vodě již po 14 dnech na dvou komerčních igelitových sáčcích vyrobených ze dvou typů PE. První typ byl konvenční PE a druhý byl biodegradabilní plast (směs biopolymeru PE na bázi škrobu a PET). Delší doba tvorby biofilmu v našem případě může být způsobena malou koncentrací mikroplastů (pouze 5 mg v každém vzorku) a odlišným biodegradacním prostředím. Tvorba biofilmu a jeho struktura může ovlivnit osud mikroplastů ve vodním sloupci, včetně potenciální biodegradace (Rogers et al. 2020), avšak (Oberbeckmann et al. 2018) je skeptický ohledně schopnosti mikroorganismů rozložit plasty v přiměřeném časovém úseku.

U vzorků s *R. rhodochrous* jsou přítomné mikroplasty jediným zdrojem uhlíku v roztoku a bakterie *R. rhodochrous* je podle literatury schopná biodegradace PE (Bonhomme et al. 2003). Adheze bakterií a počátek tvorby biofilmu na povrchu mikroplastů byly potvrzeny také ve vzorcích supernatantu a sedimentu. V tomto případě nelze tvrdit, že bakterie využívají mikroplasty jako zdroj uhlíku, protože nejsou jeho jediným zdrojem v roztoku. Tvorba biofilmu ve všech vzorcích je pozitivním závěrem pro další výzkum. Biodegradace nebyla vzhledem k časově omezenému experimentu prokázána, pouze adheze buněk bakterií.

12.1.2 Závěry z SEM analýzy

Snímky z elektronového mikroskopu potvrdily přítomnost bakterií ve všech vzorcích. Bylo možné nalézt bakterie i částice mikroplastů. Nebylo však možné potvrdit adhezi

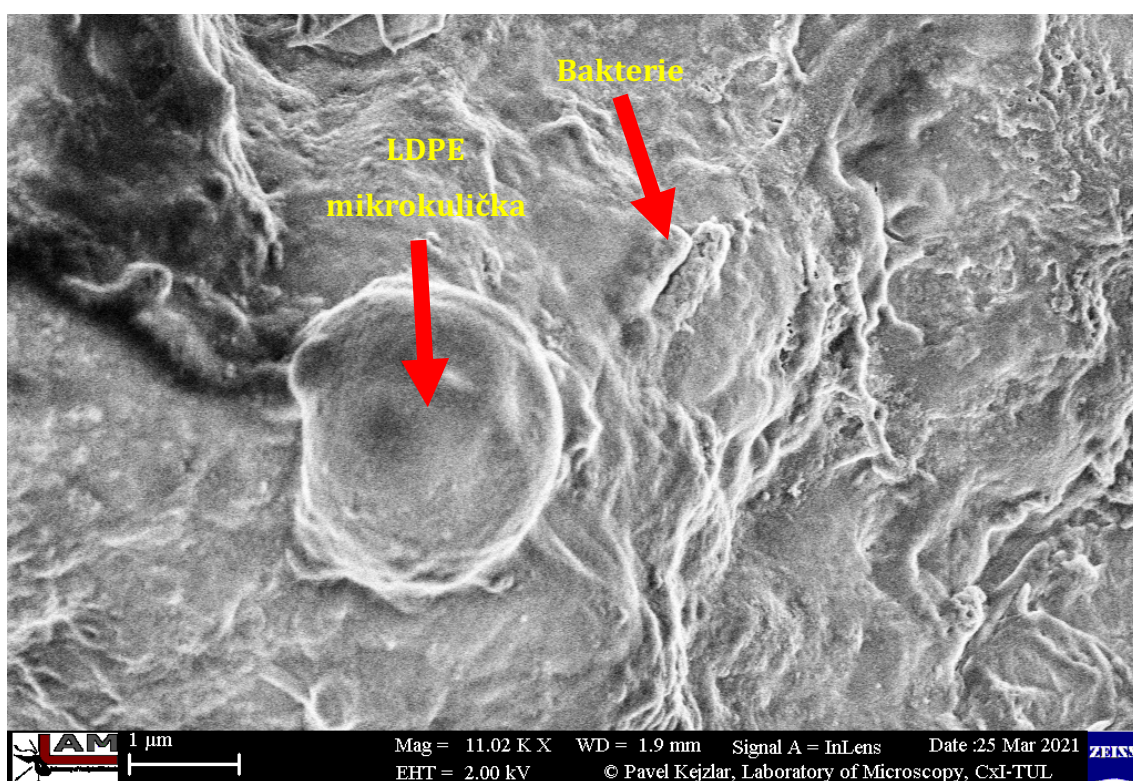


Obrázek 30: SEM snímek, *R. rhodochrous*, vzorek s LDPE mikrokuličkami, zvětšení 7670x

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

bakterií na částice mikroplastů tak jako na snímcích z fluorescenčního mikroskopu, protože ze snímků není vždy zřetelné, o jaký materiál se jedná. První analýza vzorků probíhala po 30 dnech od začátku experimentu. LDPE mikrokuličky v MSM roztoku nebylo možné jasně spárovat s bakterií *R. rhodochrous*. Na snímku (Obrázek 30) vidíme tyto bakterie s jejich typickým tyčinkovitým tvarem, shluknuté a adherované na části materiálu, o kterém nelze s jistotou tvrdit, zda se jedná o mikrokuličku, nebo krystal nerozpuštěné soli z MSM.

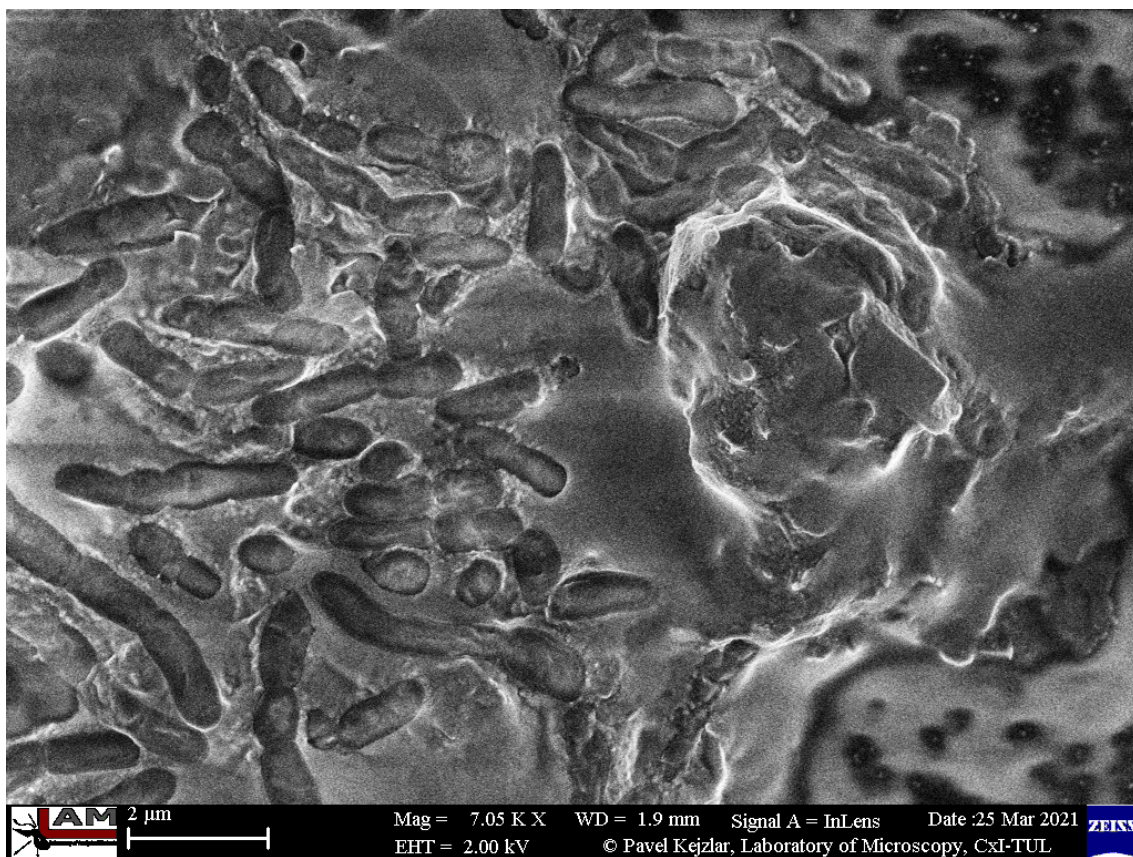
Na následujícím snímku vidíme LDPE mikrokuličku o průměru cca 2 μm v sedimentu (Obrázek 31). V blízkosti mikrokuličky se nachází dvě tyčinkovité bakterie.



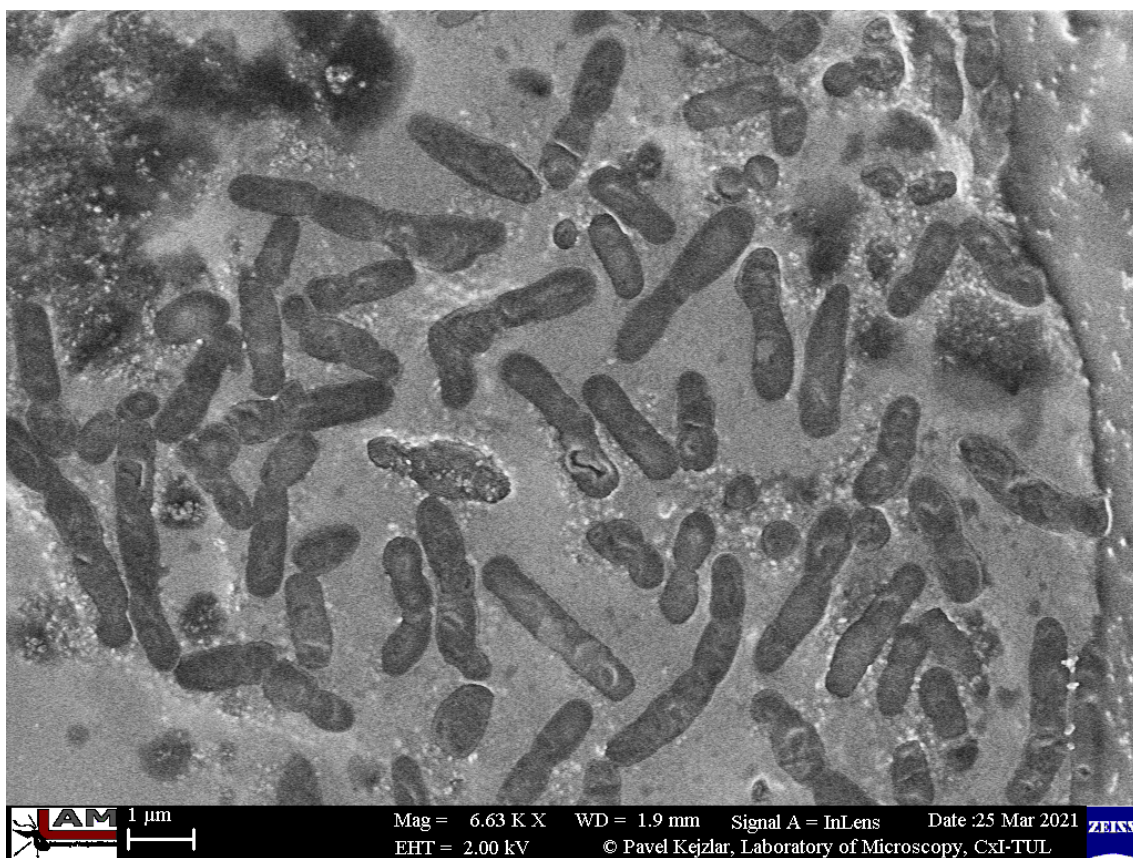
Obrázek 31: SEM snímek, bakterie ze sedimentu v blízkosti LDPE mikrokuličky, zvětšení 11020x

Na dalším snímku (Obrázek 32) vidíme velké množství bakterií *R. rhodochrous* v blízkosti mikročástice HDPE z granulátu o průměru cca 2 μm . Je možné, že jsou bakterie adherované na větší části mikroplastu, který je na snímku bakteriemi zastíněn, protože použité mikročástice mají velký rozptyl velikostí a jejich rozměry mohou být až ve stovkách μm .

Obrázek 33 ukazuje velké množství bakterií *R. rhodochrous*. Vzorek by měl obsahovat mikročástice HDPE z jogurtové lahve, ale žádné částice se ve vzorku nepodařilo identifikovat.



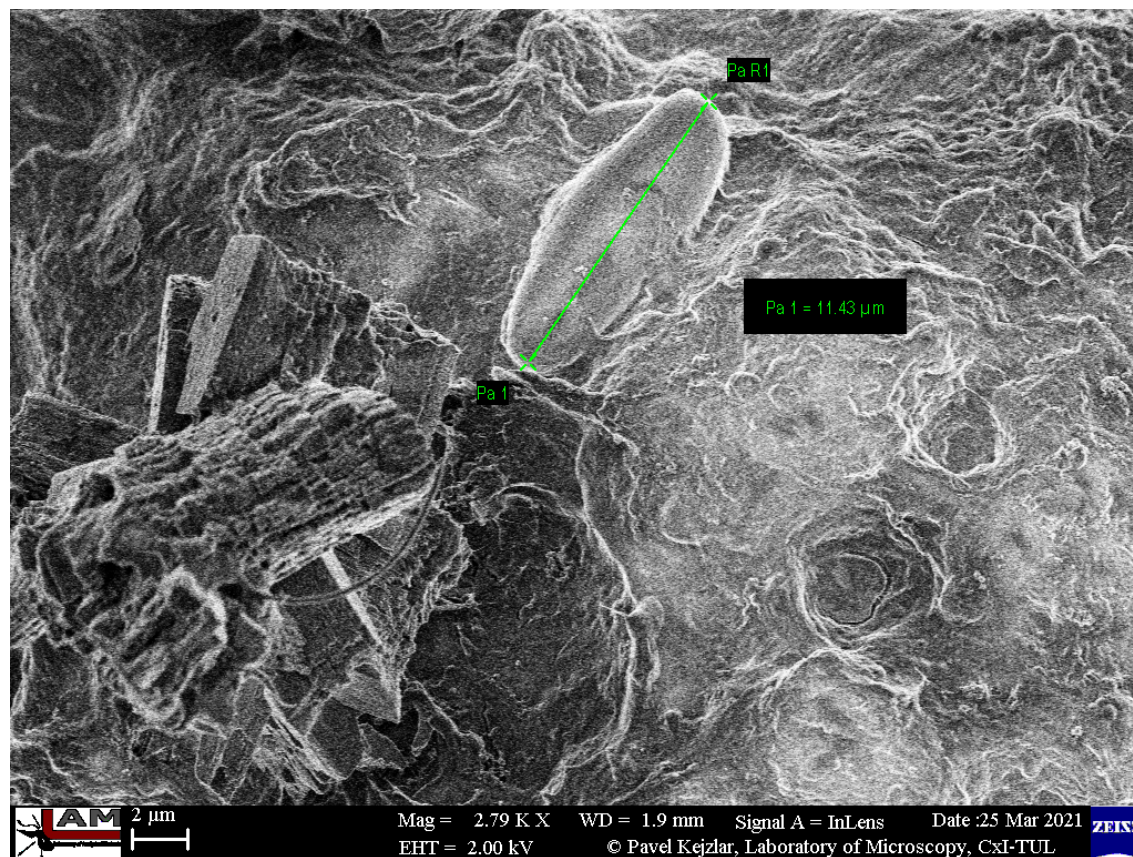
Obrázek 32: SEM snímek – *R. rhodochrous* v MSM v blízkosti mikročástice z HDPE granulátu, zvětšení 7050x



Obrázek 33: SEM snímek - *R. rhodochrous* ve vzorku s HDPE z jogurtové lahve, zvětšení 6630x

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

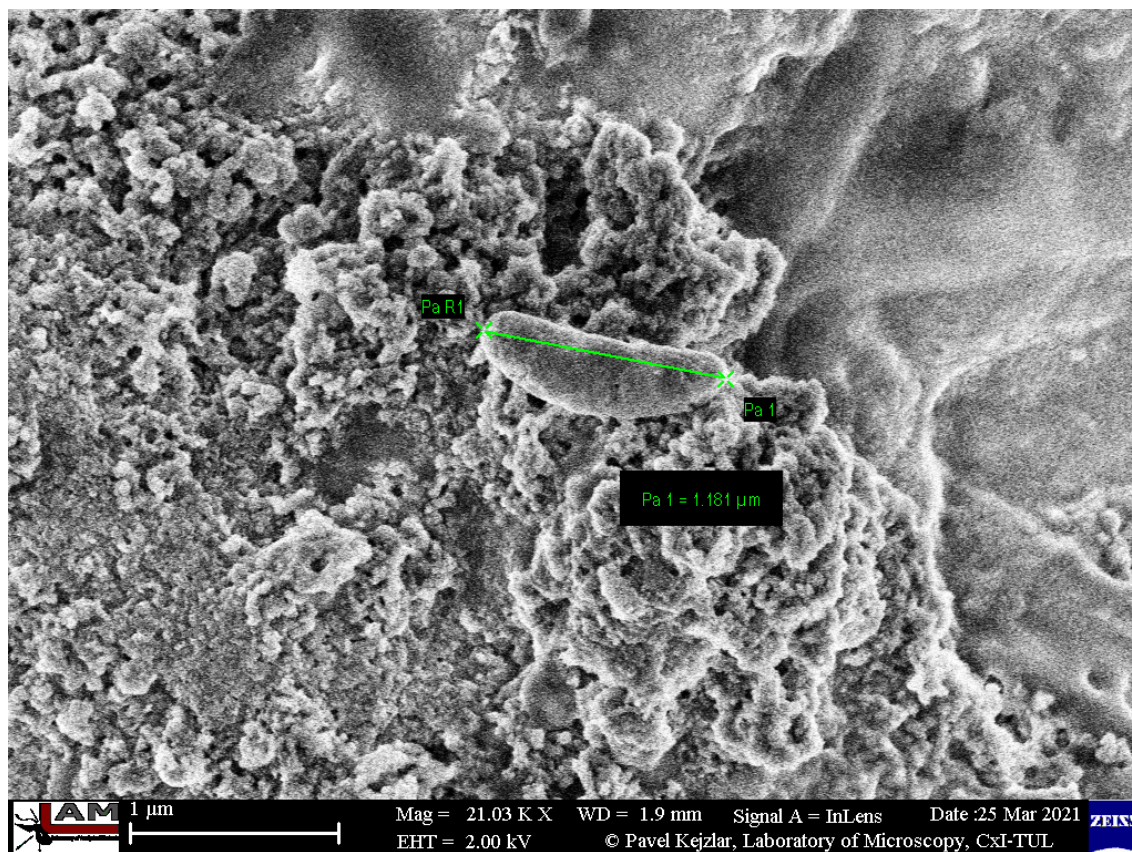
Na následujícím snímku (Obrázek 34) vidíme řasu neurčitého typu v sedimentu. Fakt, že se jedná o řasu lze s jistotou tvrdit vzhledem k její velikosti přes 10 μm . V levém dolním rohu snímku vidíme organický materiál sedimentu, kvůli kterému je obtížné ve vzorku identifikovat mikroplasty. V tomto vzorku by se měly nacházet HDPE mikročástice z granulátu.



Obrázek 34: SEM snímek – řasa v sedimentu, vzorek s mikročásticemi HDPE z granulátu, zvětšení 2790x

Poslední snímek zobrazuje bakterii ze sedimentu s mikročásticemi HDPE z lahve, která má velmi podobný tvar jako řasa na předchozím snímku, avšak délka bakterie je pouze 1,1 μm , takže se pravděpodobně nejedná o stejný typ mikroorganismu (Obrázek 35). Ve vzorcích se sedimentem byla pozorována vysoká biodiverzita.

Snímky z SEM analýzy doplňují snímky z epifluorescenční mikroskopie a potvrzují přítomnost bakterií a mikroplastů ve všech vzorcích. Díky velkému zvětšení a vysokému rozlišení poskytují kvalitní analýzu tvaru a velikosti bakterií. V případě vzorků se sedimentem aktivovaného kalu byla potvrzena jeho vysoká biodiverzita nalezením blíže nespecifikované řasy.

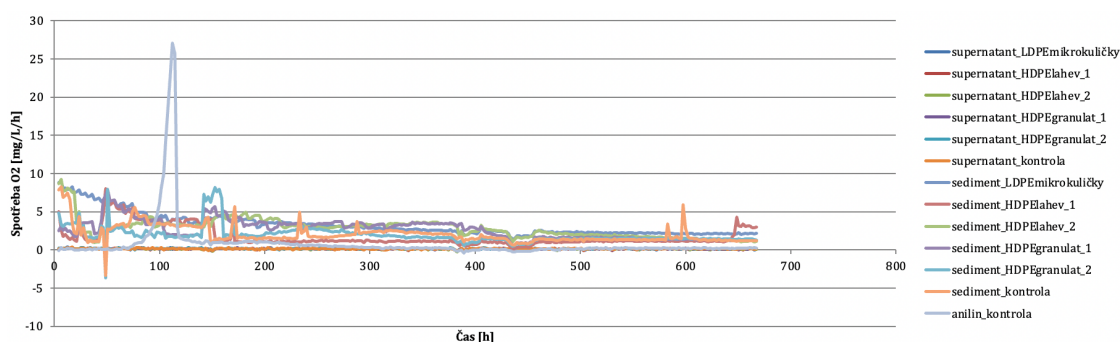


Obrázek 35: SEM snímek – bakterie ze sedimentu ve vzorku s HDPE z jogurtové lahve, zvětšení 21 030x

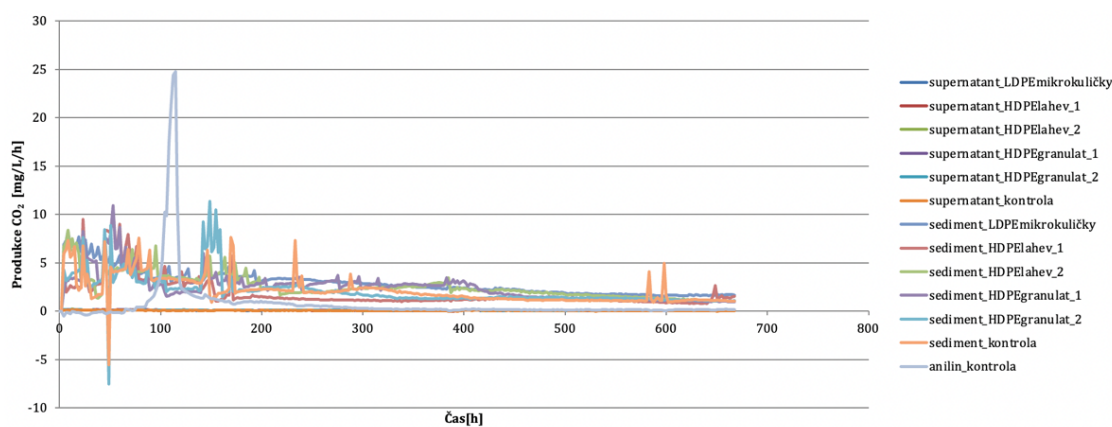
EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

12.1.3 Závěry z respirometrie

Z respirometrie byly získány hodnoty spotřeby kyslíku (O_2) a produkce oxidu uhličitého (CO_2) biologickým systémem s jednotlivými vzorky mikroplastů. Jako kontrola byl použit čistý anilin, který je v námi použitém biologickém prostředí biodegradovatelný ze 100 %. To bylo také potvrzeno na grafech produkce O_2 a spotřeby CO_2 (Obrázek 37 a Obrázek 38). Po 100 h vidíme světle modrý peak, který představuje vysokou aktivitu přítomných bakterií (doba, kdy došlo k adaptaci mikroorganismů na organický substrát) danou právě biodegradací anilinu.



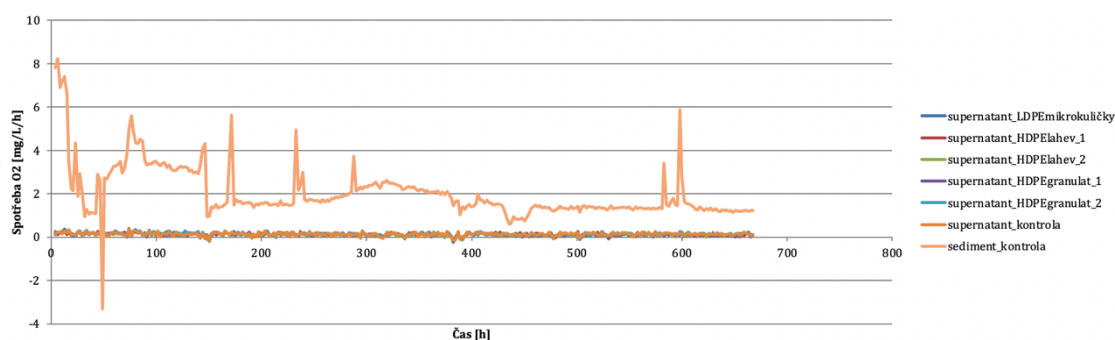
Obrázek 36: Graf rychlosti spotřeby O_2 u všech vzorků v porovnání s anilinem



Obrázek 37: Graf rychlosti produkce CO_2 u všech vzorků v porovnání s anilinem

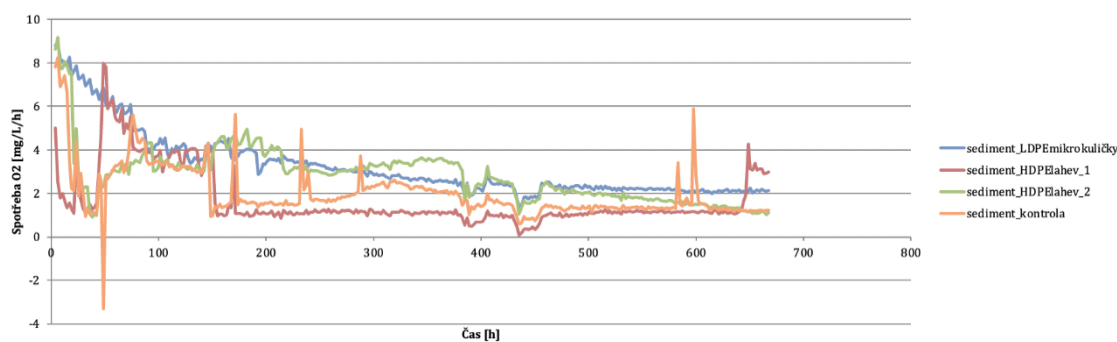
Na dalším grafu (Obrázek 38) vidíme porovnání spotřeby O_2 všech vzorků supernatantu s kontrolním vzorkem sedimentu bez přídavku mikroplastů. Z grafu je jasně vidět, že spotřeba O_2 všech vzorků supernatantu je po celou dobu průběhu experimentu téměř nulová v porovnání s kontrolním vzorkem v sedimentu. Aktivita bakterií tedy byla velmi nízká a nemohlo dojít k žádné biodegradaci. V sedimentu je naopak spotřeba O_2 , a tedy aktivita bakterií značná, což je způsobeno vyšší koncentrací bakterií v sedimentu oproti supernatantu.

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST



Obrázek 38: Graf rychlosti spotřeby O_2 – porovnání vzorků v supernatantu s kontrolním vzorkem sedimentu

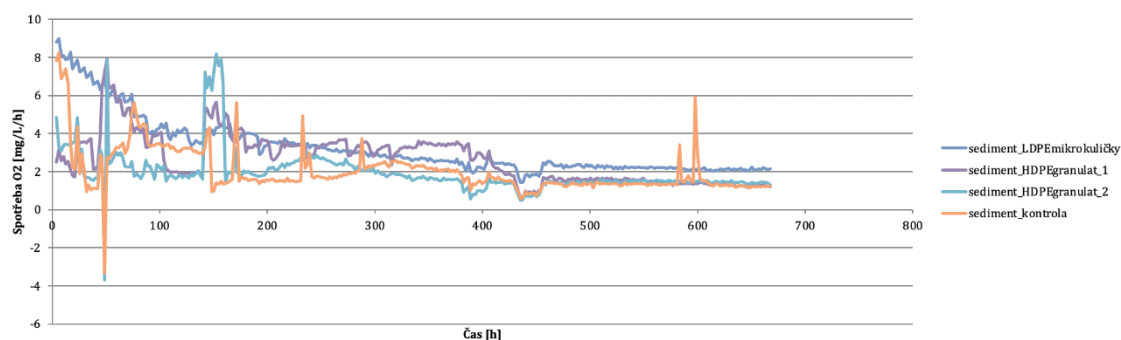
Na grafu vidíme spotřeby kyslíku 3 vzorků. Oranžová křivka přísluší kontrolnímu vzorku sedimentu aktivovaného kalu. Zde vidíme vysokou aktivitu hned od začátku experimentu a dále několik peaků v průběhu 30 dnů, jedná se o typický průběh spotřeby O_2 pro tuto směs bohatou na mikroorganismy Obrázek.



Obrázek 39: Graf rychlosti spotřeby O_2 – porovnání vzorků LDPE mikrokuliček a HDPE z lahve s kontrolním vzorkem sedimentu

Fialová a modrá křivka přísluší vzorkům, kde bylo do sedimentu aktivovaného kalu přidáno 10 mg HDPE granulátu ve formě namletých mikročástic. Vidíme, že aktivita těchto dvou vzorků je zpočátku nižší, ale následně se zvyšuje (především fialová křivka) v porovnání s kontrolou. Tyto dva vzorky byly duplikáty a průběh spotřeby by tedy v ideálním případě měl být shodný. Avšak u sedimentu aktivovaného kalu nemůžeme předpokládat shodu, protože je zde vysoká diverzita mikroorganismů.

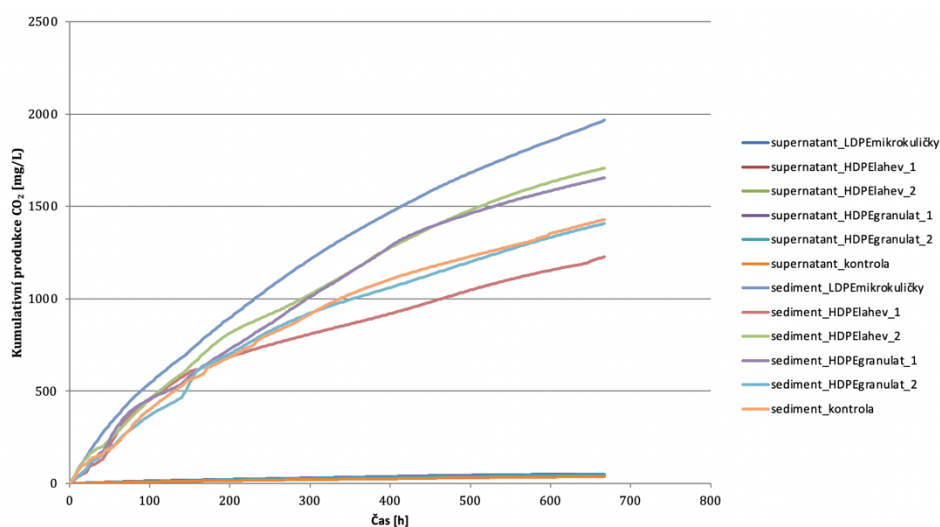
EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST



Obrázek 40: Graf rychlosti spotřeby O_2 – porovnání vzorků HDPE z granulátu s kontrolním vzorkem sedimentu

Vzorky, kde byl biodegradačním prostředím sediment z aktivovaného kalu vykazovaly všechny relativně vysokou spotřebu O_2 .

Dále vidíme graf spotřeby O_2 zbylých vzorků v sedimentu a kontrolní vzorek sedimentu (Obrázek 40). Oranžová křivka opět přísluší kontrolnímu vzorku, modrá křivka přísluší vzorku s 10 mg LDPE mikrokuličkami a vidíme, že spotřeba kyslíku je zde nejvyšší ze všech. Navíc je spotřeba O_2 od začátku velmi vysoká a klesá nejpomaleji a relativně konstantně v průběhu celého experimentu. Tento vzorek bohužel nebylo možné duplikovat, kvůli omezenému počtu kanálů a také omezenému množství mikrokuliček, které jsou velmi drahé. Zelená a červená křivka přísluší vzorkům kde bylo do sedimentu aktivovaného kalu přidáno 10 mg HDPE z jogurtové lahve ve formě namletých mikročástic. Zelená křivka ukazuje vyšší spotřebu než kontrolní vzorek a červená naopak nižší. Tyto dva vzorky byly duplikáty a průběh spotřeby by tedy v ideálním případě měl být shodný. Avšak u sedimentu aktivovaného kalu nemůžeme předpokládat shodu stejně jako v předchozím případě.

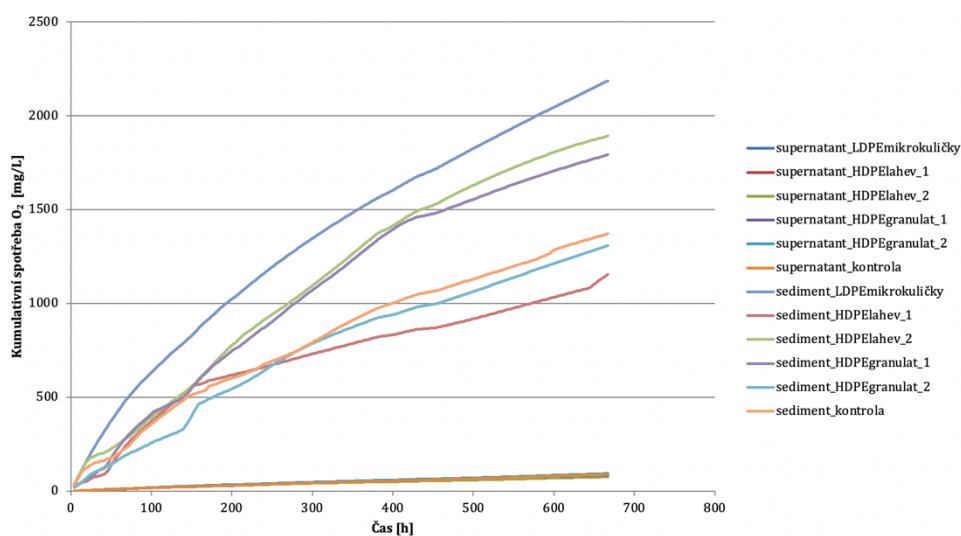


Obrázek 41: Graf celkové produkce CO_2 všech vzorků, vzorky v sedimentu LDPE mikrokuliček (modrá), HDPE z lahve (zelená) a HDPE z granulátu (fialová) mají celkovou vyšší produkci CO_2 než kontrolní vzorek se sedimentem bez přidavku mikroplastů (oranžová)

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Poslední dva grafy ukazují celkové (kumulativní) spotřeby O_2 a produkce CO_2 všech biologických systémů se vzorky mikroplastů (Obrázek 41 a Obrázek 42). Z těchto grafů je zřejmé, že nejvyšší spotřebu O_2 , a tedy nejvyšší aktivitu bakterií vykazoval vzorek s LDPE mikrokuličkami. Další dva vzorky měly také vyšší spotřebu O_2 , tak jak bylo popsáno v předchozích odstavcích. Jednalo se tedy o jeden vzorek s HDPE granulátem a jeden vzorek s HDPE z jogurtové lahve.

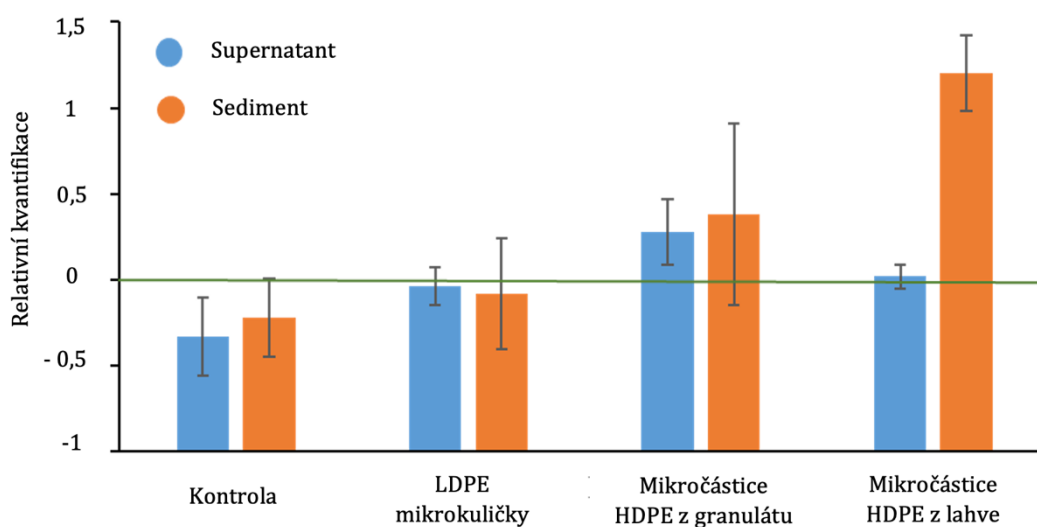
Výsledky z respirometrie dokazují, že sediment aktivovaného kalu má daleko vyšší potenciál na biodegradaci mikroplastů díky velké rozmanitosti a počtu přítomných bakterií a dalších mikroorganismů v porovnání se supernatantem. Nejlépe dostupným z použitých vzorků mikroplastů pro biodegradaci se zdá být LDPE ve formě mikrokuliček. Také vzorky obou typů HDPE mikroplastů ukázaly schopnost zvyšovat aktivitu přítomných bakterií, tedy sloužit jako substrát a biodegradovat. Tyto výsledky ale nebyly potvrzeny duplikáty. Pro potvrzení těchto předpokladů bude nutné experiment zopakovat, porovnat duplikáty nebo triplikáty a provést déle trvající experiment. Další zajímavou vhodnou úpravou experimentu by mohlo být zvýšení teploty, čímž by mělo dojít ke zvýšení aktivity bakterií a rychlejší biodegradaci mikroplastů.



Obrázek 42: Graf celkové spotřeby O_2 všech vzorků, vzorky v sedimentu LDPE mikrokuliček (modrá), HDPE z lahve (zelená) a HDPE z granulátu (fialová) mají celkovou vyšší spotřebu O_2 než kontrolní vzorek se sedimentem bez přísady mikroplastů (oranžová)

12.2 Závěry z qPCR

Na grafu (Obrázek 43) vidíme porovnání množství bakterií v jednotlivých vzorcích se supernatantem a sedimentem aktivovaného kalu na začátku experimentu a na konci experimentu, tedy po 60 dnech. Množství bakterií mírně pokleslo v kontrolních vzorcích sedimentu a supernatantu bez přídavku mikroplastů. Ve vzorcích s LDPE mikrokuličkami zůstalo množství bakterií po 60 dnech experimentu podobné jako na začátku experimentu. V případě vzorku s mikročásticemi HDPE granulátu došlo k mírnému navýšení množství bakterií v sedimentu i supernatantu. Množství bakterií v sedimentu 2x narostlo v přítomnosti mikročástic HDPE z lahve jogurtového nápoje, zatímco v případě supernatantu zůstalo stejné.



Obrázek 43: Množství bakterií ve vzorcích s různými mikroplasty detekované genem 16S rRNA po 60 dnech. Zelená čára představuje množství bakterií v čase 0. U všech vzorků se v porovnání s kontrolou kvantita bakterií zvýšila.

Závěr

Motivace práce spočívala ve využití kombinace filtrace mikroplastů nanovlákným filtrem, který je jednoduchý a levný na výrobu a následné biodegradace bakteriemi, které představují potenciální způsob pro ekologickou likvidaci plastového odpadu.

V první části byl prokázán záchyt mikroplastů při filtraci modelových roztoků čtyř typů mikroplastů (směs mikrovláken z odpadní vody automatické pračky, LDPE mikrokuličky, namleté mikročástice HDPE z granulátu a namleté mikročástice HDPE z jogurtové lahve) v destilované vodě na mikrofiltrační PS nanovláknenné vrstvě. Vzhledem ke 100 % efektivitě záchytu mikroplastů na mikrofiltrační polystyrenové nanovláknenné membrány již nebyly provedeny experimenty s reverzní osmózou. Potenciální využití reverzní osmózy, ultrafiltrace a nanofiltrace je v separaci nanoplastů, které se tato práce experimentálně nevěnovala.

V druhé části byla studována biodegradace mikroplastů, konkrétně třech druhů PE – LDPE mikrokuliček (primární mikroplasty), namletých mikročástic HDPE z granulátu (sekundární mikroplasty) a namletých mikročástic HDPE z jogurtové lahve (sekundární mikroplasty) v supernatantu a sedimentu aktivovaného kalu a v čisté kultuře *R. rhodochrous* v minerálním mediu. Vzorky mikroplastů byly analyzovány několika metodami. Na epifluorescenčním a rastrovacím elektronovém mikroskopu byla po 60 dnech pozorována adheze bakterií na povrchu mikroplastů.

Kvantifikace množství bakterií v jednotlivých vzorcích byla provedena pomocí qPCR. Bylo porovnáno množství bakterií v jednotlivých vzorcích na začátku a na konci experimentu, tedy po 60 dnech. V případě obou typů mikročástic HDPE v sedimentu došlo k mírnému zvýšení množství bakterií, v případě LDPE zůstalo v pozorovaném (krátkém) časovém úseku množství stejné jako na začátku a u kontroly bez přídavku mikroplastů množství kleslo. V případě supernatantu došlo ke zvýšení počtu bakterií pouze u mikročástic HDPE z granulátu. Množství bakterií u LDPE mikrokuliček a mikročástic HDPE z jogurtové lahve zůstalo v monitorované časové periodě stejné a u kontroly bez přídavku mikroplastů množství bakterií kleslo. Doba trvání experimentu byla 60 dní, a během ní ještě nebylo možné potvrdit biodegradaci procesy. Nicméně fakt, že množství bakterií zůstalo v těchto experimentech stejné a nesnížilo se, otevírá perspektivu zvýšení metabolismu mikroplastů bakteriemi v delším časovém úseku.

Dále byla provedena respirometrie se vzorky v supernatantu a v sedimentu, tedy měření spotřeby O₂ a produkce CO₂. Zde byla potvrzena zvýšená aktivita bakterií u třech vzorků

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

mikroplastů v sedimentu oproti kontrole bez přídavku mikroplastů, biodegradační potenciál je zde nejvyšší a bude vhodné to ověřit dlouhodobějšími experimenty. Naopak spotřeba O₂ a produkce CO₂ mikroorganismy v supernatantu byla minimální.

Kvantifikace abundance bakterií v jednotlivých vzorcích byla provedena pomocí DNA extrakce a qPCR. Bylo porovnáno množství bakterií v jednotlivých vzorcích na začátku a na konci experimentu, tedy po 60 dnech. V případě obou typů mikročastic HDPE v sedimentu se zvýšila abundance bakterií, v případě LDPE zůstala abundance stejná jako na začátku a u kontroly bez přídavku mikroplastů abundance klesla. V případě supernatantu došlo ke zvýšení počtu bakterií pouze u mikročastic HDPE z granulátu. Množství bakterií u LDPE mikrokuliček a mikročastic HDPE z jogurtové lahve zůstalo množství bakterií stejné a u kontroly bez přídavku mikroplastů množství bakterií vzrostlo.

Věřím, že tato práce poskytne pevný a reálný základ výzkumu filtračních a biodegradačních technologií pro boj s globálním znečištěním mikroplasty. Budoucí výzkum by měl být zaměřen na optimalizaci podmínek a prostředí pro biodegradaci různých druhů mikroplastů, jejich směsí a reálných vzorků ze životního prostředí. Dále vidím možnost výzkumu filtračních nanovláknenných membrán s různě velkými póry, pro zachyt celého spektra velikostí mikroplastů a nanoplastů. Důležitý bude také výzkum materiálu filtrační membrány, která by měla být plně biodegradabilní, aby při filtraci nevznikal další plastový odpad.

Seznam obrázků

Obrázek 1: Schéma membránového procesu, upraveno dle (Jelínek 2008).....	27
Obrázek 2: Přehled tlakových membránových procesů, upraveno dle (Jelínek 2008)....	28
Obrázek 3: Filtrační soustava Fisher.....	32
Obrázek 4: Elektronový mikroskop Zeiss ULTRA Plus	33
Obrázek 5: Obarvená směs mikrovláken.....	34
Obrázek 6: SEM snímek – mikrokuličky LDPE, zvětšení 3 950x	34
Obrázek 7: SEM snímek - částice HDPE vzniklé namletím granulátu, zvětšení 448x	35
Obrázek 8: vlevo lahev od jogurtového nápoje vyrobená z HDPE; vpravo SEM snímek - částice HDPE vzniklé namletím obalu jogurtové lahve, zvětšení 129x.....	35
Obrázek 9: Lahve a Erlenmeyerovy baňky o objemu 250 mL.....	36
Obrázek 10: Autokláv.....	36
Obrázek 11: Elektronový mikroskop Zeiss ULTRA Plus.....	37
Obrázek 12: Fluorescenční mikroskop Zeiss AX10.....	37
Obrázek 13: Vlevo lahve se supernatantem, vpravo baňky se sedimentem.....	39
Obrázek 14: Respirometr Micro-Oxymax; speciální 250 mL testovací lahve Fisher s magnetickým míchadlem (A) se 100 mL inokulovaného média; bílé trubičky (B) čerpající plyn z lahví, který je dále veden přes rozdělovací box (C) do jedné ze tří čerpacích řídicích jednotek (D), které mají dohromady 60 měřících pozic.....	41
Obrázek 15: Syntetická mikrovlákna zachycená na nanovlákně polystyrenové vrstvě, zvětšení 117x.....	42
Obrázek 16: Obarvená směs mikrovláken odebraných z koncového filtru domácí pračky, zachycená na mikrofiltrační PS nanovlákně (viz 10.1.3)	43
Obrázek 17: LDPE mikrokuličky zachycené na PS nanovlákně.....	43
Obrázek 18: Mikročástice HPDE z namleté lahve zachycené na PS nanovlákněch, zvětšení 633x.....	45
Obrázek 19: Mikročástice HPDE z namleté lahve zachycené na PS nanovlákněch, zvětšení 1000x	45
Obrázek 20: Mikročástice HPDE z granulátu zachycené na PS nanovlákněch, zvětšení 1000x	46
Obrázek 21: Mikročástice HPDE z granulátu zachycené na PS nanovlákněch, zvětšení 1000x	46

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Obrázek 23: Snímek z epifluorescenčního mikroskopu, LDPE mikrokuličky (větší zelené kuličky) v supernatantu s adherovanými bakteriemi (jasně zelená – živé buňky, červená – mrtvé buňky, červené šipky ukazují na živé buňky	48
Obrázek 22: Snímek z epifluorescenčního mikroskopu, LDPE mikrokuličky (větší zelené kuličky) v supernatantu s adherovanými bakteriemi (jasně zelená – živé buňky, červená – mrtvé buňky), červené šipky ukazují na živé buňky.....	48
Obrázek 25: Snímek z epifluorescenčního mikroskopu, LDPE mikrokuličky (větší zelené kuličky) v sedimentu s adherovanými bakteriemi (jasně zelená – živé buňky, červená – mrtvé buňky) v sedimentu, zvětšení 63x, červené šipky ukazují na živé buňky	49
Obrázek 24: Snímek z epifluorescenčního mikroskopu, LDPE mikrokuličky (větší zelené kuličky) v sedimentu s adherovanými bakteriemi (jasně zelená – živé buňky, červená – mrtvé buňky), zvětšení 63x, červené šipky ukazují na živé buňky	49
Obrázek 26: Snímek z epifluorescenčního mikroskopu, mikročástice HDPE z granulátu (velký zelený útvar), s adherovanými bakteriemi <i>R. rhodochrous</i> (jasně zelená – živé buňky) v MSM, zvětšení 63x	50
Obrázek 27: Snímek z epifluorescenčního mikroskopu, mikročástice HDPE z granulátu (oranžový útvar) s adherovanými bakteriemi ze supernatantu (jasně modrá – živé buňky), zvětšení 63x, červené šipky ukazují na živé buňky.....	50
Obrázek 29: Snímek z fluorescenčního mikroskopu, mikročástice HDPE z granulátu) s adherovanými bakteriemi ze sedimentu (jasně zelená – živé buňky), zvětšení 63x, červené šipky ukazují na živé buňky.....	51
Obrázek 28: Snímek z epifluorescenčního mikroskopu, mikročástice HDPE z granulátu (větší oranžovo-zelený útvar) s adherovanými bakteriemi ze sedimentu (jasně zelená – živé buňky), zvětšení 63x, červené šipky ukazují na živé buňky	51
Obrázek 30: SEM snímek, <i>R. rhodochrous</i> , vzorek s LDPE mikrokuličkami, zvětšení 7670x	51
Obrázek 31: SEM snímek, bakterie ze sedimentu v blízkosti LDPE mikrokuličky, zvětšení 11020x.....	53
Obrázek 32: SEM snímek – <i>R. rhodochrous</i> v MSM v blízkosti mikročástice z HDPE granulátu, zvětšení 7050x.....	Error! Bookmark not defined.53
Obrázek 33: SEM snímek - <i>R. rhodochrous</i> ve vzorku s HDPE z jogurtové lahve, zvětšení 6630x	54

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Obrázek 34: SEM snímek – řasa v sedimentu, vzorek s mikročásticemi HDPE z granulátu, zvětšení 2790x	55
Obrázek 35: SEM snímek - bakterie ze sedimentu ve vzorku s HDPE z jogurtové lahve, zvětšení 21 030x	56
Obrázek 36: Graf rychlosti spotřeby O ₂ u všech vzorků v porovnání s anilinem	57
Obrázek 37: Graf rychlosti produkce CO ₂ u všech vzorků v porovnání s anilinem	57
Obrázek 38: Graf rychlosti spotřeby O ₂ – porovnání vzorků v supernatantu s kontrolním vzorkem sedimentu	Error! Bookmark not defined.57
Obrázek 39: Graf rychlosti spotřeby O ₂ – porovnání vzorků LDPE mikrokuliček a HDPE z lahve s kontrolním vzorkem sedimentu	58
Obrázek 40: Graf rychlosti spotřeby O ₂ – porovnání vzorků HDPE z granulátu s kontrolním vzorkem sedimentu.....	59
Obrázek 41: Graf celkové produkce CO ₂ všech vzorků, vzorky v sedimentu LDPE mikrokuliček (modrá), HDPE z lahve (zelená) a HDPE z granulátu (fialová) mají celkovou vyšší produkci CO ₂ než kontrolní vzorek se sedimentem bez přídavku mikroplastů (oranžová)	59
Obrázek 42: Graf celkové spotřeby O ₂ všech vzorků, vzorky v sedimentu LDPE mikrokuliček (modrá), HDPE z lahve (zelená) a HDPE z granulátu (fialová) mají celkovou vyšší spotřebu O ₂ než kontrolní vzorek se sedimentem bez přídavku mikroplastů (oranžová)	60
Obrázek 43: Množství bakterií ve vzorcích s různými mikroplasty detekované genem 16S rRNA po 60 dnech. Zelená čára představuje množství bakterií v čase 0. U všech vzorků se v porovnání s kontrolou kvantita bakterií zvýšila.	61

Seznam zkratk

ČOV	Čistička odpadních vod
CHSK _{Cr}	Chemická spotřeba kyslíku stanovená dichromanem draselným
DMF	Dimethylformamid
FT-IR	Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací
HDPE	Vysokohustotní polyetylen
LDPE	Nízkohustotní polyetylen
LIM	Limonen
MSM	Mineral salt medium (Solné medium)
NTA	Nanoparticle Tracking Analysis (Sledování trajektorie nanočástice)
PE	Polyetylen
PEG	Polyetylglykol
PET	Polyetylen tereftalát
POPs	Perzistentní organické znečišťující látky
PP	Polypropylen
PS	Polystyren
PTFE	Polytetrafluoretylen
PVC	Polyvinylchlorid
SEM	Rastrovací elektronová mikroskopie
TSB	Tryptic Soy Broth
WHO	Světová zdravotnická organizace
WWF	Světový fond na ochranu přírody

Použitá literatura

- ANON., 2018. The future of plastic. *Nature Communications* [online]. **9**(1), 2157, s41467-018-04565-2. ISSN 2041-1723. Dostupné z: doi:[10.1038/s41467-018-04565-2](https://doi.org/10.1038/s41467-018-04565-2)
- ARTHUR, C a J BAKER, 2011. Proceedings of the Second Research Workshop on Microplastic Debris. November 5-6, 2010. NOAA Technical Memorandum NOS-OR&R-39.
- AUTA, H.S., C.U. EMENIKE a S.H. FAUZIAH, 2017. Screening of Bacillus strains isolated from mangrove ecosystems in Peninsular Malaysia for microplastic degradation. *Environmental Pollution* [online]. **231**, 1552–1559. ISSN 02697491. Dostupné z: doi:[10.1016/j.envpol.2017.09.043](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.09.043)
- BONHOMME, S, ET AL., a ET AL., 2003. Environmental biodegradation of polyethylene. *Polymer Degradation and Stability* [online]. **81**, 441–452. Dostupné z: doi:[doi:10.1016/S0141-3910\(03\)00129-0](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(03)00129-0)
- COLE, Matthew, Pennie LINDEQUE, Claudia HALSBAND a Tamara S. GALLOWAY, 2011. Microplastics as contaminants in the marine environment: A review. *Marine Pollution Bulletin* [online]. **62**(12), 2588–2597. ISSN 0025326X. Dostupné z: doi:[10.1016/j.marpolbul.2011.09.025](https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.09.025)
- DRIS, Rachid, Johnny GASPERI a Bruno TASSIN, 2018. Sources and Fate of Microplastics in Urban Areas: A Focus on Paris Megacity. In: Martin WAGNER a Scott LAMBERT, ed. *Freshwater Microplastics* [online]. Cham: Springer International Publishing, The Handbook of Environmental Chemistry, s. 69–83 [vid. 2020-11-30]. ISBN 978-3-319-61614-8. Dostupné z: doi:[10.1007/978-3-319-61615-5_4](https://doi.org/10.1007/978-3-319-61615-5_4)
- DŘÍMAL, Pavel a Jaromír HOFFMANN, 2008. Automatizovaný systém kontinuálního sledování aerobního biologického rozkladu látek ve vodním i půdním prostředí. In: *Chemické listy 102* [online]. s. 139–147. ISBN ISSN 1213-7103. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/common/article-vol_102-issue_2-page_139.html.
- EICH, Andreas, Tobias MILDENBERGER, Christian LAFORSCH a Miriam WEBER, 2015. Biofilm and Diatom Succession on Polyethylene (PE) and Biodegradable Plastic Bags in Two Marine Habitats: Early Signs of Degradation in the Pelagic and Benthic Zone? *PLOS ONE* [online]. **10**(9), e0137201. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:[10.1371/journal.pone.0137201](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0137201)
- FREE, Christopher M., Olaf P. JENSEN, Sherri A. MASON, Marcus ERIKSEN, Nicholas J. WILLIAMSON a Bazartseren BOLDGIV, 2014. High-levels of microplastic pollution in a

large, remote, mountain lake. *Marine Pollution Bulletin* [online]. **85**(1), 156–163. ISSN 0025326X. Dostupné z: doi:[10.1016/j.marpolbul.2014.06.001](https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.06.001)

FRIAS, J.P.G.L. a Roisin NASH, 2019. Microplastics: Finding a consensus on the definition. *Marine Pollution Bulletin* [online]. **138**, 145–147. ISSN 0025326X. Dostupné z: doi:[10.1016/j.marpolbul.2018.11.022](https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.11.022)

GESAMP, 2015. *Sources, fate and effects of microplastics in the marine environment (part 1)* [online]. 2015. Dostupné z: <http://www.gesamp.org/publications/reports-and-studies-no-90>

GESAMP, 2016. *Sources, fate and effects of microplastics in the marine environment (part 2)* [online]. 2016. Dostupné z: <http://www.gesamp.org/publications/microplastics-in-the-marine-environment-part-2>

GESAMP, nedatováno. *PROCEEDINGS OF THE GESAMP INTERNATIONAL WORKSHOP ON ASSESSING THE RISKS ASSOCIATED WITH PLASTICS AND MICROPLASTICS IN THE MARINE ENVIRONMENT*.

GIGAULT, Julien, Alexandra ter HALLE, Magalie BAUDRIMONT, Pierre-Yves PASCAL, Fabienne GAUFFRE, Thuy-Linh PHI, Hind EL HADRI, Bruno GRASSL a Stéphanie REYNAUD, 2018. Current opinion: What is a nanoplastic? *Environmental Pollution* [online]. **235**, 1030–1034. ISSN 02697491. Dostupné z: doi:[10.1016/j.envpol.2018.01.024](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.01.024)

GOUX, Xavier, Magdalena CALUSINSKA, Sébastien LEMAIGRE, Martyna MARYNOWSKA, Michael KLOCKE, Thomas UDELHOVEN, Emile BENIZRI a Philippe DELFOSSE, 2015. Microbial community dynamics in replicate anaerobic digesters exposed sequentially to increasing organic loading rate, acidosis, and process recovery. *Biotechnology for Biofuels* [online]. **8**(1), 122. ISSN 1754-6834. Dostupné z: doi:[10.1186/s13068-015-0309-9](https://doi.org/10.1186/s13068-015-0309-9)

HAVLÍČKOVÁ, Lucie, 2018. *Detekce mikroplastů v životním prostředí*. 2018.

JAMIESON, A. J., L. S. R. BROOKS, W. D. K. REID, S. B. PIERTNEY, B. E. NARAYANASWAMY a T. D. LINLEY, 2019. Microplastics and synthetic particles ingested by deep-sea amphipods in six of the deepest marine ecosystems on Earth. *Royal Society Open Science* [online]. **6**(2), 180667. ISSN 2054-5703, 2054-5703. Dostupné z: doi:[10.1098/rsos.180667](https://doi.org/10.1098/rsos.180667)

JELÍNEK, Luděk, 2009. *Desalinační a separační metody v úpravě vody*. ISBN 978-80-7080-705-7.

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

KLEIN, Sascha, Ian K. DIMZON, Jan EUBELER a Thomas P. KNEPPER, 2018. Analysis, Occurrence, and Degradation of Microplastics in the Aqueous Environment. In: Martin WAGNER a Scott LAMBERT, ed. *Freshwater Microplastics* [online]. Cham: Springer International Publishing, The Handbook of Environmental Chemistry, s. 51–67 [vid. 2020-11-27]. ISBN 978-3-319-61614-8. Dostupné z: doi:[10.1007/978-3-319-61615-5_3](https://doi.org/10.1007/978-3-319-61615-5_3)

KOOI, Merel, Ellen BESSELING, Carolien KROEZE, Annemarie P. VAN WEZEL a Albert A. KOELMANS, 2018. Modeling the Fate and Transport of Plastic Debris in Freshwaters: Review and Guidance. In: Martin WAGNER a Scott LAMBERT, ed. *Freshwater Microplastics* [online]. Cham: Springer International Publishing, The Handbook of Environmental Chemistry, s. E1–E1 [vid. 2020-12-01]. ISBN 978-3-319-61614-8. Dostupné z: doi:[10.1007/978-3-319-61615-5_14](https://doi.org/10.1007/978-3-319-61615-5_14)

KOUTNY, Marek, Martine SANCELME, Catherine DABIN, Nicolas PICHON, Anne-Marie DELORT a Jacques LEMAIRE, 2006. Acquired biodegradability of polyethylenes containing pro-oxidant additives. *Polymer Degradation and Stability* [online]. **91**(7), 1495–1503. ISSN 01413910. Dostupné z: doi:[10.1016/j.polyimdegradstab.2005.10.007](https://doi.org/10.1016/j.polyimdegradstab.2005.10.007)

KOŽÍŠEK, František, 2017. Stanovisko Státního zdravotního ústavu – Národního referenčního centra pro pitnou vodu ke zprávě o výskytu mikroplastů v pitné vodě a jeho zdravotním riziku [online]. Dostupné z: www.pvk.cz/res/archive/1767/206083.pdf?seek=1506340660

LEVIN, Petra Anne a Esther R. ANGERT, 2015. Small but Mighty: Cell Size and Bacteria. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* [online]. **7**(7), a019216. ISSN 1943-0264. Dostupné z: doi:[10.1101/cshperspect.a019216](https://doi.org/10.1101/cshperspect.a019216)

LOPEZ, Séverine, Xavier GOUX, Guillaume ECHEVARRIA, Magdalena CALUSINSKA, Jean Louis MOREL a Emile BENIZRI, 2019. Community diversity and potential functions of rhizosphere-associated bacteria of nickel hyperaccumulators found in Albania. *Science of The Total Environment* [online]. **654**, 237–249. ISSN 00489697. Dostupné z: doi:[10.1016/j.scitotenv.2018.11.056](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.11.056)

LUSHER, Amy L., Valentina TIRELLI, Ian O'CONNOR a Rick OFFICER, 2015. Microplastics in Arctic polar waters: the first reported values of particles in surface and sub-surface samples. *Scientific Reports* [online]. **5**(1), 14947. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:[10.1038/srep14947](https://doi.org/10.1038/srep14947)

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

MANI, Thomas, Armin HAUK, Ulrich WALTER a Patricia BURKHARDT-HOLM, 2016. Microplastics profile along the Rhine River. *Scientific Reports* [online]. **5**(1), 17988. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:[10.1038/srep17988](https://doi.org/10.1038/srep17988)

MOHAN, Arya J., Vini C. SEKHAR, Thallada BHASKAR a K. Madhavan NAMPOOTHIRI, 2016. Microbial assisted High Impact Polystyrene (HIPS) degradation. *Bioresource Technology* [online]. **213**, 204–207. ISSN 09608524. Dostupné z: doi:[10.1016/j.biortech.2016.03.021](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.03.021)

MOORE, C.J., G.L. LATTIN a A.F. ZELLERS, 2011. Quantity and type of plastic debris flowing from two urban rivers to coastal waters and beaches of Southern California. *Revista de Gestão Costeira Integrada* [online]. **11**(1), 65–73. ISSN 16468872. Dostupné z: doi:[10.5894/rgci194](https://doi.org/10.5894/rgci194)

MOROHOSHI, Tomohiro, Taishiro OI, Haruna AISO, Tomohiro SUZUKI, Tetsuo OKURA a Shunsuke SATO, 2018. Biofilm Formation and Degradation of Commercially Available Biodegradable Plastic Films by Bacterial Consortia in Freshwater Environments. *Microbes and Environments* [online]. **33**(3), 332–335. ISSN 1342-6311, 1347-4405. Dostupné z: doi:[10.1264/jsme2.ME18033](https://doi.org/10.1264/jsme2.ME18033)

NAPPER, Imogen E., Bede F.R. DAVIES, Heather CLIFFORD, Sandra ELVIN, Heather J. KOLDEWEY, Paul A. MAYEWSKI, Kimberley R. MINER, Mariusz POTOCKI, Aurora C. ELMORE, Ananta P. GAJUREL a Richard C. THOMPSON, 2020. Reaching New Heights in Plastic Pollution—Preliminary Findings of Microplastics on Mount Everest. *One Earth* [online]. **3**(5), 621–630. ISSN 25903322. Dostupné z: doi:[10.1016/j.oneear.2020.10.020](https://doi.org/10.1016/j.oneear.2020.10.020)

NGUYEN, Nhung H.A., Yehia S. EL-TEMSAH, Sebastien CAMBIER, Magdalena CALUSINSKA, Pavel HRABAK, Miloslav POUZAR, Martin BORUVKA, Pavel KEJZLAR, Totka BAKALOVA, Arno C. GUTLEB a Alena SEVCU, 2021. Attached and planktonic bacterial communities on bio-based plastic granules and micro-debris in seawater and freshwater. *Science of The Total Environment* [online]. 147413. ISSN 00489697. Dostupné z: doi:[10.1016/j.scitotenv.2021.147413](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147413)

OBERBECKMANN, Sonja, Bernd KREIKEMEYER a Matthias LABRENZ, 2018. Environmental Factors Support the Formation of Specific Bacterial Assemblages on Microplastics. *Frontiers in Microbiology* [online]. **8**, 2709. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:[10.3389/fmicb.2017.02709](https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02709)

OSSMANN, Barbara E., George SARAU, Heinrich HOLTMANNSPÖTTER, Monika PISCHETSRIEDER, Silke H. CHRISTIANSEN a Wilhelm DICKE, 2018. Small-sized

microplastics and pigmented particles in bottled mineral water. *Water Research* [online]. **141**, 307–316. ISSN 00431354. Dostupné z: doi:[10.1016/j.watres.2018.05.027](https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.05.027)

PAÇO, Ana, Kátia DUARTE, João P. DA COSTA, Patrícia S.M. SANTOS, R. PEREIRA, M.E. PEREIRA, Ana C. FREITAS, Armando C. DUARTE a Teresa A.P. ROCHA-SANTOS, 2017. Biodegradation of polyethylene microplastics by the marine fungus *Zalerion maritimum*. *Science of The Total Environment* [online]. **586**, 10–15. ISSN 00489697. Dostupné z: doi:[10.1016/j.scitotenv.2017.02.017](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.02.017)

PEEKEN, Ilka, Sebastian PRIMPKE, Birte BEYER, Julia GÜTERMANN, Christian KATLEIN, Thomas KRUMPEN, Melanie BERGMANN, Laura HEHEMANN a Gunnar GERDTS, 2018. Arctic sea ice is an important temporal sink and means of transport for microplastic. *Nature Communications* [online]. **9**(1), 1505. ISSN 2041-1723. Dostupné z: doi:[10.1038/s41467-018-03825-5](https://doi.org/10.1038/s41467-018-03825-5)

PIVOKONSKY, Martin, Lenka CERMAKOVA, Katerina NOVOTNA, Petra PEER, Tomas CAJTHAML a Vaclav JANDA, 2018. Occurrence of microplastics in raw and treated drinking water. *Science of The Total Environment* [online]. **643**, 1644–1651. ISSN 00489697. Dostupné z: doi:[10.1016/j.scitotenv.2018.08.102](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.102)

PLASTICSEUROPE, 2019. *Plastics - the Facts* [online]. 2019. Dostupné z: https://www.plasticseurope.org/application/files/9715/7129/9584/FINAL_web_version_Plastics_the_facts2019_14102019.pdf

POERIO, PIACENTINI, a MAZZEI, 2019. Membrane Processes for Microplastic Removal. *Molecules* [online]. **24**(22), 4148. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:[10.3390/molecules24224148](https://doi.org/10.3390/molecules24224148)

RIST, Sinja a Nanna Bloch HARTMANN, 2018. Aquatic Ecotoxicity of Microplastics and Nanoplastics: Lessons Learned from Engineered Nanomaterials. In: Martin WAGNER a Scott LAMBERT, ed. *Freshwater Microplastics* [online]. Cham: Springer International Publishing, The Handbook of Environmental Chemistry, s. 25–49 [vid. 2020-11-24]. ISBN 978-3-319-61614-8. Dostupné z: doi:[10.1007/978-3-319-61615-5_2](https://doi.org/10.1007/978-3-319-61615-5_2)

ROGERS, Kelsey L., Joan A. CARRERES-CALABUIG, Elena GOROKHOVA a Nicole R. POSTH, 2020. Micro-by-micro interactions: How microorganisms influence the fate of marine microplastics. *Limnology and Oceanography Letters* [online]. **5**(1), 18–36. ISSN 2378-2242, 2378-2242. Dostupné z: doi:[10.1002/lol2.10136](https://doi.org/10.1002/lol2.10136)

R-PROJECT, 2008. *The R Project for Statistical Computing* [online]. Dostupné z: <https://www.r-project.org/>

SÁNCHEZ, Carmen, 2020. Fungal potential for the degradation of petroleum-based polymers: An overview of macro- and microplastics biodegradation. *Biotechnology Advances* [online]. **40**, 107501. ISSN 07349750. Dostupné z: doi:[10.1016/j.biotechadv.2019.107501](https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.107501)

SHABBIR, Sadaf, Muhammad FAHEEM, Naeem ALI, Philip G. KERR, Long-Fei WANG, Sathishkumar KUPPUSAMY a Yi LI, 2020. Periphytic biofilm: An innovative approach for biodegradation of microplastics. *Science of The Total Environment* [online]. **717**, 137064. ISSN 00489697. Dostupné z: doi:[10.1016/j.scitotenv.2020.137064](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137064)

SCHLOSS, Patrick D., Sarah L. WESTCOTT, Thomas RYABIN, Justine R. HALL, Martin HARTMANN, Emily B. HOLLISTER, Ryan A. LESNIEWSKI, Brian B. OAKLEY, Donovan H. PARKS, Courtney J. ROBINSON, Jason W. SAHL, Blaz STRES, Gerhard G. THALLINGER, David J. VAN HORN a Carolyn F. WEBER, 2009. Introducing mothur: Open-Source, Platform-Independent, Community-Supported Software for Describing and Comparing Microbial Communities. *Applied and Environmental Microbiology* [online]. **75**(23), 7537–7541. ISSN 0099-2240, 1098-5336. Dostupné z: doi:[10.1128/AEM.01541-09](https://doi.org/10.1128/AEM.01541-09)

SINGH, Nisha, Ekta TIWARI, Nitin KHANDELWAL a Gopala Krishna DARBHA, 2019. Understanding the stability of nanoplastics in aqueous environments: effect of ionic strength, temperature, dissolved organic matter, clay, and heavy metals. *Environmental Science: Nano* [online]. **6**(10), 2968–2976. ISSN 2051-8153, 2051-8161. Dostupné z: doi:[10.1039/C9EN00557A](https://doi.org/10.1039/C9EN00557A)

THOMPSON, R. C., 2004. Lost at Sea: Where Is All the Plastic? *Science* [online]. **304**(5672), 838–838. ISSN 0036-8075, 1095-9203. Dostupné z: doi:[10.1126/science.1094559](https://doi.org/10.1126/science.1094559)

TOKIWA, Yutaka, Buenaventurada CALABIA, Charles UGWU a Seiichi AIBA, 2009. Biodegradability of Plastics. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. **10**(9), 3722–3742. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:[10.3390/ijms10093722](https://doi.org/10.3390/ijms10093722)

VAN CAUWENBERGHE, Lisbeth, Ann VANREUSEL, Jan MEES a Colin R. JANSSEN, 2013. Microplastic pollution in deep-sea sediments. *Environmental Pollution* [online]. **182**, 495–499. ISSN 02697491. Dostupné z: doi:[10.1016/j.envpol.2013.08.013](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.08.013)

WAGNER, Martin a Scott LAMBERT, ed., 2018. *Freshwater Microplastics: Emerging Environmental Contaminants?* [online]. Cham: Springer International Publishing. The Handbook of Environmental Chemistry [vid. 2020-11-23]. ISBN 978-3-319-61614-8. Dostupné z: doi:[10.1007/978-3-319-61615-5](https://doi.org/10.1007/978-3-319-61615-5)

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019. *Microplastics in drinking water*. 2019. B.m.: Geneva.

WRIGHT, Stephanie L., Richard C. THOMPSON a Tamara S. GALLOWAY, 2013. The physical impacts of microplastics on marine organisms: A review. *Environmental Pollution* [online]. **178**, 483–492. ISSN 02697491. Dostupné z: doi:[10.1016/j.envpol.2013.02.031](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.02.031)

WWF, 2019. *No plastic in nature: Assessing plastic ingestion from nature to people* [online]. 2019. Dostupné z: https://wwfint.awsassets.panda.org/downloads/plastic_ingestion_web_spreads.pdf

YUAN, Jianhua, Jie MA, Yiran SUN, Tao ZHOU, Youcai ZHAO a Fei YU, 2020. Microbial degradation and other environmental aspects of microplastics/plastics. *Science of The Total Environment* [online]. **715**, 136968. ISSN 00489697. Dostupné z: doi:[10.1016/j.scitotenv.2020.136968](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.136968)

ZBYSZEWSKI, Maciej a Patricia L. CORCORAN, 2011. Distribution and Degradation of Fresh Water Plastic Particles Along the Beaches of Lake Huron, Canada. *Water, Air, & Soil Pollution* [online]. **220**(1–4), 365–372. ISSN 0049-6979, 1573-2932. Dostupné z: doi:[10.1007/s11270-011-0760-6](https://doi.org/10.1007/s11270-011-0760-6)

ZHANG, Kai, Wen GONG, Jizhong LV, Xiong XIONG a Chenxi WU, 2015. Accumulation of floating microplastics behind the Three Gorges Dam. *Environmental Pollution* [online]. **204**, 117–123. ISSN 02697491. Dostupné z: doi:[10.1016/j.envpol.2015.04.023](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.04.023)