

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Ekologie a ochrana prostředí
Studijní obor: Ochrana životního prostředí



Bc. Lucie Havlíčková

Využití analytické pyrolýzy pro detekci plastů a mikroplastů v ŽP
Application of analytical pyrolysis for the detection of plastics and
microplastics in the environment

Diplomová práce

Vedoucí závěrečné práce: prof. RNDr. Tomáš Cajthaml, DSc.

Praha, 2022

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu. Předložená tištěná verze diplomové práce je totožná s elektronickou verzí vloženou do SIS.

V Praze, 2022

.....

Bc. Lucie Havlíčková

Poděkování:

Ráda bych touto cestou poděkovala svému školiteli a vedoucímu práce prof. RNDr. Tomáši Cajthamlovi, DSc., který mi po celou dobu zpracovávání mé diplomové práce poskytoval odborné konzultace. Děkuji za jeho trpělivost, vlídnost a ochotu. Ráda bych také poděkovala panu Ing. Václavovi Koblihovi, který se při konstrukci pyrolytické jednotky stal nedílnou součástí našeho týmu. Dále bych chtěla poděkovat kolegyním a kolegovi, Ing. Aleně Filipové, RNDr. Janě Boháčkové a RNDr. Jaroslavovi Semerádovi, Ph.D., kteří mi byli vždy ochotni pomoci a zodpovědět jakýkoliv dotaz. Mé díky patří také kolegyni Bc. Elišce Pospíchalové, která mi poskytla reálné vzorky kalů z ČOV pro finální odzkoušení dané metody. V neposlední řadě bych ráda poděkovala mé rodině a mým nejbližším, kteří mi byli nejen během mého studia a psaní této závěrečné práce velmi důležitou oporou.

Abstrakt

Plastové fragmenty o rozměrech menších než 5 mm byly již nalezeny téměř po celé planetě ve všech sférách životního prostředí. Velmi důležitými faktory k řešení této tematiky je např. omezení výroby a nadužívání plastového materiálu, unifikace a zdokonalení systému nakládání s odpady a zabránění jeho nechtěnému úniku do životního prostředí, studie možných toxických vlivů mikroplastů na živé organismy a rozvoj separačních a detekčních technik, pro co nejpřesnější detekci a identifikaci mikroplastů a nanoplastů. Spojení pyrolýzy, plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie (Pyr-GC-MS) se v posledních letech ukazuje jako potencionálně vhodný nástroj pro kvalitativní i kvantitativní analýzu těchto plastových částic. Výsledky této diplomové práce ukazují, že metoda Pyr-GC-MS dokáže být především dostatečně citlivá a přesná pro detekci mikroplastů v reálných vzorcích životního prostředí, kde se vyskytují právě ve velmi nízkých koncentracích. Vzhledem k vysoké různorodosti fyzikálních a chemických vlastností polymerů je velmi obtížné sestavit jednu analytickou metodu pro celou škálu typů mikroplastových fragmentů. V případě metody Pyr-GC-MS, která může být komplementární k celé řadě mikroskopických technik, je důležité nepodcenit žádný z parametrů této metody (teplota pyrolytického štěpení, vnitřní standard, rychlost průtoku děliče atd.). Veškeré tyto faktory byly v práci při analýze zohledněny a proměřeny. Optimalizace této analytické metody a následné sestavení kalibračních přímků třech zástupců nejvíce vyráběných polymerů (polyethylen tereftalát, polypropylen a polystyren), které jsou součástí této práce, dokladují, že tato rychlá a spolehlivá metoda je aplikovatelná pro detekci mikroplastů v životním prostředí.

Klíčová slova: mikroplasty, detekce, Pyr-GC-MS, optimalizace metody, polyethylen tereftalát, polypropylen, polystyren

Abstract

The issue of microplastics is becoming increasingly important every year and so is the need for finding solutions. Plastic fragments smaller than 5 mm have already been found all over the planet in all spheres of the environment. Among the crucial factors of resolving this issue are, for example, restrictions in the production and overuse of plastic materials, unification and improvement of the waste management system, prevention of unintended release of plastic waste into the environment, the study of possible toxic effects of microplastics on living organisms, and the development of separation and detection techniques for the precise detection and identification of microplastics and nanoplastics. In recent years, the combination of pyrolysis, gas chromatography, and mass spectrometry (Pyr-GC-MS) has proven to be a potentially suitable instrument for the qualitative and quantitative analysis of these plastic particles. This Master's thesis proves that the Pyr-GC-MS method can, above all, be sensitive and accurate enough for the detection of microplastics in real environmental samples, where the particles are present in very low concentrations. Due to the broad diversity of physical and chemical properties of polymers, it is highly difficult to develop a single analytical method for the whole range of types of microplastic fragments. Therefore, it is important not to underestimate any of the parameters of this method (pyrolytic fission temperature, internal standard, divider flow rate, etc.). All the factors mentioned above were considered in the analysis and properly examined. The optimization of this analytical method and the subsequent construction of calibration bisectors of three representatives of the most produced polymers (polyethylene terephthalate, polypropylene, and polystyrene), which were included in this thesis, proves that this fast and reliable method is applicable for the detection of microplastics in the environment.

Key words: microplastics, detection, pyrolysis-GC-MS, method optimization, polyethylen terephthalate, polypropylene, polystyrene

Obsah

SEZNAM UŽÍVANÝCH ZKRATEK	8
1. ÚVOD	9
1.1. HYPOTÉZY A CÍLE PRÁCE	10
2. SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY	11
2.1. PLASTY	11
2.1.1. HISTORIE	12
2.1.2. TYPOLOGIE A VYUŽITÍ PLASTŮ	12
2.2. PROBLEMATIKA MIKROPLASTŮ A NANOPLASTŮ V ŽIVOTNÍM PROSTŘEDÍ	13
2.2.1. ZDROJE MIKROPLASTŮ	14
2.2.1.1. PŘÍPRAVKY OSOBNÍ PÉČE	15
2.2.1.2. TEXTIL	15
2.2.1.3. ODPAD	16
2.2.1.4. ZEMĚDĚLSTVÍ	17
2.2.1.5. DOPRAVA	17
2.2.2. TOXICITA MIKROPLASTŮ A NANOPLASTŮ V ŽIVOTNÍM PROSTŘEDÍ	18
2.2.3. DETEKCE MIKROPLASTŮ	19
2.2.3.1. SEPARACE	20
2.2.3.2. IDENTIFIKACE A KVANTIFIKACE	21
2.3. PYR-GC-MS	24
2.3.1. VYUŽITÍ	25
2.3.2. VYUŽITÍ PYR-GC-MS PRO DETEKCI MIKROPLASTŮ V ŽIVOTNÍM PROSTŘEDÍ	27
2.3.3. PODMÍNKY METODY PYR-GC-MS	28
3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	29
3.1. MATERIÁL A CHEMIKÁLIE	29
3.1.1. PŘÍSTROJOVÉ VYBAVENÍ	29
3.1.2. CHEMIKÁLIE A OSTATNÍ MATERIÁL	30
3.2. METODIKA	31
3.2.1. PŘÍPRAVA MIKROPLASTŮ	31
3.2.2. FRAKCIONACE	31
3.2.3. PŘÍPRAVA VZORKU NA PYR-GC-MS	32
3.2.3.1. ECO-CUP LF NEREZOVÉ PYROLYTICKÉ KALÍŠKY	32
3.2.3.2. VNITŘNÍ STANDARD	33
3.2.3.3. PŘÍPRAVA SUSPENZE MIKROPLASTŮ S ROZPOUŠTĚDLEM	33
3.2.3.4. DERIVATIZAČNÍ ČINIDLO	34
3.2.3.5. FILTR	34
3.2.4. PYR-GC-MS	35
3.2.5. PŘÍPRAVA REÁLNÉHO VZORKU ZE ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ	37
3.2.6. VYHODNOCENÍ DAT	37
4. VÝSLEDKY A DISKUZE	38
4.1.1. OPTIMALIZACE PŘÍPRAVY VZORKU NA PYR-GC-MS	38
4.1.1.1. VNITŘNÍ STANDARD – ANTHRACEN	38
4.1.1.2. FILTR	39
4.1.1.3. DERIVATIZAČNÍ ČINIDLO – TMAH	40
4.1.2. PYR-GC-MS	42
4.1.2.1. DĚLIČ TOKU A TYP PŘEDKOLONY	42
4.1.2.2. ANALÝZA VYBRANÝCH POLYMERŮ	46
POLYETHYLEN TEREFTALÁT	46

POLYPROPYLEN.....	47
POLYSTYREN.....	48
KALIBRAČNÍ PŘÍMKY POLYMERŮ.....	49
4.1.2.3. PYROLÝZNÍ TEPLOTA.....	54
4.1.2.4. ANALÝZA REÁLNÉHO VZORKU.....	57
5. ZÁVĚR.....	62
6. ZDROJE.....	64

Seznam užívaných zkratk

(mikro) FTIR – (mikro) infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací
ABS – akrylonitril-butadien-styren
ATR – z angl. attenuated total reflectance
DCM – dichlormethan
FAO – z angl. Food and Agriculture Organization of the United Nations
FPA – z angl. focal plane array
FTIR – Fourierova transformace ve spojení s infračervenou spektroskopií
NaCl – chlorid sodný
NaI – jodid sodný
NIST – Národní institut pro standardy a technologie
PA – polyamid
PA-6 – nylon
PC – polykarbonát
PCPs – přípravky osobní péče (z angl. personal care products)
PE – polyetylen
PET – polyethylentereftalát
PMMA – polymethylmethakrylát
PP – polypropylen
PS – polystyren
PUR – polyuretan
PVC – polyvinylchlorid
Pyr-GC-MS – spojení pyrolýza - plynová chromatografie - hmotnostní spektroskopie
RT – retenční čas (z angl. retention time)
SEM – snímací elektronová spektroskopie
TMAH – tetramethylammonium hydroxid

1. Úvod

Plast a výrobky z něj se staly součástí našich každodenních životů a je velmi obtížné je nahradit. Mezi lety 2006 a 2016 se v zemích Evropské Unie, Norsku a Švýcarsku objem recyklovaného plastového odpadu zvýšil o 79 %, objem energeticky využitého plastového odpadu stoupl o celých 61 % a na zemních skládkách skončilo o 43 % odpadu plastového původu méně. Vzhledem k neustávající celosvětové poptávce po plastovém materiálu, však jeho spotřeba bohužel ani nadále neklesá (PlasticEurope, 2017). I proto je plastový odpad řazen mezi největší environmentální hrozby naší doby. Nesprávné a neefektivní systémy nakládání s odpady, stejně tak jako záměrné vypouštění jsou příčinou hromadění plastových objektů a jejich fragmentů napříč životním prostředím, kterým se nadále samovolně pohybují.

V roce 2004 se poprvé objevil pojem mikroplast, s odkazem na malé fragmenty plastu (Thompson a kol., 2004). O pět let později byly do tohoto pojmu zahrnuty veškeré plastové částice o průměru menším než 5 mm a větším než 1 μm . Zbylé částice, (menší než 1 μm) spadají z velikostního hlediska do kategorie nanoplastů. Mikroplasty a nanoplasty vznikají jednak fragmentací a rozpadem větších plastových objektů za působení slunečního záření, mechanického opotřebování a mikrobiálního působení. Nebo také přímou výrobou plastových částic v mikro a nano velikostech, které mají široké spektrum užití (Silva a kol., 2018).

Čím menší rozměry, tím vyšší je potenciál částic pronikat biologickými membránami. I proto se očekává, že vliv nanoplastů je mnohem škodlivější a závažnější než u mikroplastových částic. Je proto velmi důležitá neustálá snaha o prohloubení znalostí jejich potencionálních toxikologických účinků na nejrůznější živé organismy a životní prostředí jako celek, a to včetně vývoje citlivých a spolehlivých metod detekce mikroplastů v prostředí (Choi a kol., 2018; Khalid a kol., 2021; Ter Halle a kol., 2017).

1.1. Hypotézy a cíle práce

Tato diplomová práce se zabývá možnostmi využití analytické pyrolýzy ve spojení s plynovou chromatografií a hmotnostní spektrometrií (Pyr-GC-MS) v řešení problematiky detekce mikroplastů v životním prostředí. Hlavním cílem práce je optimalizace a následná validace metody Pyr-GC-MS pro analýzu mikroplastů. Pomocí suspenzí mikroplastů (PET, PP) o známé koncentraci byly parametry analytické metody optimalizovány k dosažení co nejvyšší účinnosti a citlivosti.

Stanovené hypotézy této práce:

- Pomocí Pyr-GC-MS lze stanovit mikroplasty při velmi nízkých koncentracích
- Při použití derivatizačního činidla tetramethylammonium hydroxidu (TMAH) bude možné snížit teplotu pyrolýzy z 600 °C, metoda tak bude celkově citlivější
- Množství derivatizačního činidla (TMAH) lze snížit při zachování citlivosti z obvyklých 2,5 mg ve vzorku pro snížení pozadí způsobeného zbytky TMAH

2. Současný stav řešené problematiky

2.1. Plasty

Už od počátku dějin lidstva hledal člověk univerzální materiál, který by mu pomohl v nejrůznějších sférách života. Potřeboval, aby byl lehký, tvarovatelný, odolný, víceúčelový a především levný a dobře dostupný. Přes dobu kamennou, bronzovou a železnou, kdy vystřídal veškeré přírodní materiály, které měl k dispozici, se uchýlil k vytvoření zcela převratného objevu a vstoupil tak do nové éry, do „doby plastové“. Než byly vyvinuty nám známé systémy syntetických polymerů, existovalo již mnoho materiálů, které by se mohly klasifikovat jako „plastové“. Materiály z přírodních pryskyřic nebo exsudátů a tkání z rostlin, zvířat a hmyzu. Zahřátí těchto materiálů je uvádí do změkčeného stavu, což následně umožňuje jejich formování a tvarování před konečným ochlazením (Rueggeberg, 2002).

Rozhodující sloučeniny ve výrobě plastů jsou nafta (jakožto jedna z frakcí po destilaci surové ropy), zemní plyn, uhlí, celulóza a voda. Po prvotním zpracování jsou dané suroviny přeměněny do podoby jednoduchých látek, tzv. monomerů, jako je například etylen a propylen. K získání finální podoby plastů se využívají procesy polymerace, polyadice a polykondenzace. Ve všech těchto případech je třeba přítomnost určitých katalyzátorů. Monomery a oligomery jsou během polymerace spojovány do dlouhých polymerních řetězců a dávají tak vzniknout polymerním látkám, které mají své specifické vlastnosti odvozené právě od užitých základních monomerů (PlasticEurope, 2017).

Od počátku masové výroby plastů v padesátých letech se jejich produkce rok od roku neustále zvyšuje. V roce 2018 dosáhla globální výroba plastových produktů 3,6 miliardy tun, z čehož celých 30 % připadá pouze Číně. Velké množství vyřazených plastů způsobilo nezanedbatelné znečištění mořského i suchozemského prostředí. Je to způsobeno především nedostatkem vhodných opatření pro nakládání s plastovým odpadem a nízkou mírou degradace samotných plastů (Lv a kol., 2021a). Celkové množství vypouštěného plastového odpadu do oceánu z pevniny do roku 2010 čítalo 480 – 1207 miliónů tun plastového odpadu ze 192 pobřežních zemí (Jambeck a kol., 2015).

2.1.1. Historie

Jako počátek využívání plastů se datuje rok 1600 př.n.l., kdy obyvatelé Mesoameriky začali mísit latex ze stromů *Castilla elastica* s nektarem květů *Ipomoea alba* za vzniku pryže. Existují však důkazy, že přednosti kaučuku a pryže využívali již mnoho let předtím (až 2500 př.n.l.). Tyto materiály u mesoamerických obyvatel, jakožto byli Májové, Aztékové, Olmekové či další, našly nezastupitelné postavení v léčitelství, rituálech, ve výrobě pryžových míčů pro jejich míčovou hru a podrážek tehdejších sandálů (Tarkanian a Hosler, 2011).

Dalším zásadním mezníkem ve výrobě plastů se stal rok 1839. Zasloužil se o to Američan Charles Goodyear svým vynálezem vulkanizovaného kaučuku spolu s Eduardem Simonem, který v témže roce objevil polystyren (PS). Roku 1856 Alexander Parkes odpařením roztoku nitrocelulózy dal vzniknout novému materiálu původně pojmenovanému Parkesin, který je dnes známý pod názvem celuloid. O pár dekád později zpod rukou bratrů Hyattových vzešlo zařízení, které umožnilo proces tzv. vstřikování plastů. To bylo v evoluci plastu následováno polymerizací polyvinylchloridu (PVC). Zásadním přelomem produkce plastů se však považuje rok 1907, kdy Leo Baekeland utvořil první synteticky hromadně vyráběný reaktoplast. Všechny tyto významné objevy napomohly k rozvoji moderních termoplastů, tak jak je známe dnes (Andrady a Neal, 2009). Největší rozmach termoplastů byl na počátku 20. století, kdy se povedlo syntetizovat více jak 15 nových skupin polymerů. Díky stoupající poptávce po tomto materiálu, především jakožto materiálu spotřebním, během druhé světové války, byl iniciován další rozvoj tohoto odvětví (Rueggeberg, 2002). Vytvořením síťovaného typu polymeru, s mnohem stabilnějším řetězcem, který odolal i zahřátí, se otevřely dveře do nového světa využití těchto materiálů (Andrady a Neal, 2009; Rueggeberg, 2002). Od této doby se plastový materiál dostal do všech odvětví každodenního života, kde jsou na něj kladeny čím dál tím větší nároky.

2.1.2. Typologie a využití plastů

Obecně se plasty dělí na termoplasty a reaktoplasty. Termoplasty jsou látky, které lze při zahřátí roztavit a následně při chlazení vytvrdit. Tento proces je u termoplastů reverzibilní, což znamená, že jej lze opakovaně ohřívat a přetvářet. Díky

těmto vlastnostem jsou také recyklovatelné. Patří sem například polypropylen, polyetylen a polyvinylchlorid. Představují téměř 80 % poptávky po plastových materiálech. Oproti tomu reaktoplasty, které procházejí při zahřátí chemickými změnami, nelze dále tvarovat. Používají se ve speciálních obalech na potraviny, jako ochranný nátěr nábytku, ochranné nátěry povrchů lodí a ropných plošin pro ochranu před nepříznivým počasím. Řadíme sem například polyuretany, což jsou polymery složené z organických jednotek spojených karbamátovými vazbami. Mezi hlavní aplikace tohoto plastu patří stavební izolace, matrace, čalouněný nábytek, autosedačky, chladničky, obuv atd. (Millet a kol., 2019).

2.2. Problematika mikroplastů a nanoplastů v životním prostředí

První zmínka o možném nebezpečí způsobeném vstupem plastů a jejich fragmentů do životního prostředí je zaznamenána z roku 1972 (Carpenter a Smith, 1972). Od té chvíle se výzkum této environmentální hrozby každým rokem rozšiřuje. Během roku 2020 bylo publikováno téměř 1500 vědeckých publikací na dané téma. Přesná definice pojmu mikroplast však doposud neexistuje, tudíž ne všechny studie jsou snadno porovnatelné v důsledku různého pojetí, především rozměrové škály. Většina studií zahrnuje do mikroplastů veškeré částičky plastů, které jsou menší než 5 mm. Tvar mikroplastových částic odpovídá nejčastěji vláknům, peletám a nejrůznějším nepravidelně tvarovaným fragmentům původně větších plastových částic (Yang a kol., 2021).

Mikroplasty se v porovnání s většími plastovými fragmenty stávají mnohem větší hrozbou, a to především z důvodu snadné disperze napříč životním prostředím, která je způsobena jejich malým rozměrem, hmotností, hustotou a vysokou schopností adsorpce. Mikroplastové částice byly identifikovány v atmosférickém, akvatickém i terestriálním prostředí a jsou tedy v životním prostředí všudypřítomné. Stejně tak i v pitné vodě a v potravinářských výrobcích určených k lidské spotřebě. Experimentální studie dokazují, že mohou vyvolávat celou řadu nepříznivých účinků na živé organismy. Obavy o výskyt, distribuci a toxicitu mikroplastů jsou nyní středem celosvětové pozornosti (Senathirajah a kol., 2021).

Hodnocení toxicity je však komplikováno skutečností, že mikroplasty nejsou pouze jednou homogenní entitou, ale obsahují mnoho různých polymerů, aditiv a vedlejších produktů. Fyzikální a chemické vlastnosti mikroplastů se odvíjejí také od jejich rozměrů a tvarů. Proto je tedy nemožné na základě studie osudu a vlivů jednoho plastového materiálu, se specifickým tvarem a velikostí, určit osud a účinky mikroplastů obecně. Rochman a kol. ve své studii z roku 2019 upozorňují na chybné pojetí problematiky mikroplastů, které spočívá v prezentaci mikroplastů jako jedné jediné sloučeniny nebo typu materiálu, což následně vede k zavádějícím závěrům. Je tedy velmi důležité, si tuto skutečnost uvědomit a pracovat s ní, například i u zavádění analytických metod, jelikož některé metody jsou přesné pouze pro konkrétní velikosti, tvary nebo typy mikroplastových částic (Rochman a kol., 2019; Senathirajah a kol., 2021). Mikroplastové částice představují rozmanitou sadu kontaminantů, které označujeme právě slovem „mikroplasty“.

2.2.1. Zdroje mikroplastů

Pro potřebnou orientaci v problematice mikroplastů v životním prostředí je velmi důležité porozumět a analyzovat zdroje tohoto problému.

Mikroplasty se obecně dělí na dvě skupiny, na primární a sekundární. Tyto kategorie se od sebe liší různým způsobem vzniku. Mezi primární mikroplasty řadíme částice, které jsou již průmyslově produkovány ve velikosti menší, než 5 mm. Využívají se například v produktech osobní péče obsahující exfolianty, jako brusné mikročástice při čištění lodí, či průmyslový materiál sloužící k dalšímu zpracování. Do životního prostředí unikají při výrobě, přepravě a užívání daných produktů. Do skupiny sekundárních mikroplastů pak spadají plastové částice, které vznikají fragmentací, mechanickým opotřebováním a degradací větších plastových produktů. Patří sem například veškerá mikrovlákna uvolňující se z textilu při praní, zbytky mulčovacích fólií užívaných v zemědělství a především zdegradovaný plastový odpad (Andrady, 2017; Sun a kol., 2020).

Definovat veškeré zdroje mikroplastů v životním prostředí je velmi obtížné, jelikož se do prostředí dostávají více cestami. Například pouhým užitím čajového sáčku, který je vyroben z nylonu či polyetylen tereftalátu, se při obvyklé teplotě 95°C uvolní průměrně 2,3 milionu mikroplastů a 14,7 miliardy nanoplastových částic do jednoho

šálku čaje (Hernandez a kol., 2019). Mezi hlavní zdroje řadíme především produkty osobní péče (PCP), textil, odpad, čistírenské kaly, zemědělství a dopravu.

2.2.1.1. Přípravky osobní péče

V posledních letech se trend přechodu z přírodních exfoliatorů k syntetickým podepsal na tom, že z původně minoritního zdroje plastového znečištění v oceánech se kosmetika a přípravky osobní péče staly jedním z hlavních vstupů mikroplastů do životního prostředí. Jedná se především o čisticí peelingové gely a zubní pasty. Hlavním plastem v PCP je polyethylen (PE), což je velmi odolný polymer vůči degradaci. Polyetylenové mikročástice, které jsou obsaženy například v pleťových peelinzích, pak procházejí čistírnami odpadních vod a vstupují do oceánů a následně do potravního řetězce (Fendall a Sewell, 2009; Sun a kol., 2020; R. Zhou a kol., 2020). Mnoho studií prokázalo, že čistírny odpadních vod často nejsou schopné během procesu čištění mikroplasty úspěšně zachytit (Möhlenkamp a kol., 2018). Ročně mikroplasty uvolněné touto cestou do oceánů čítají až 1500 tun. Za posledních 50 let se v životním prostředí naakumulovalo až 300 tisíc tun mikroplastových částic pocházejících z přípravků osobní péče (Sun a kol., 2020).

Fendall a Sewell (2009) ve své studii porovnali čtyři různé čisticí gely na obličej. Prokázal se široký rozsah velikostí i rozměrů identifikovaných mikroplastů. U všech značek byla však většina mikroplastických částic menší než 0,5 mm. Tři ze čtyř produktů obsahovali nejvíce částic menších než 0,1 mm.

2.2.1.2. Textil

Jako prvotní studii této problematiky můžeme zařadit studii z roku 2011, která uvedla, že během praní jednoho kusu oděvu se uvolní do odpadních vod více jak 1900 mikrovláken (Browne a kol., 2011). Napper a Thompson (2016) došli později k výsledku, že během praní standardního množství prádla (6 kg) syntetických tkanin počet uvolněných mikrovláken dosahuje až 700 000. Čemuž zhruba odpovídá i výsledek výzkumu Carney-Almroth a kol. (2018), kde bylo dokázáno, že z jednoho kusu oděvu se uvolňuje přibližně 100 tisíc vláken během jednoho praní. Fleecové tkaniny ve srovnání s ostatními pletenými textiliemi uvolňují při praní významně větší

počet mikrovláken. Na základě těchto zjištění autoři navrhli několik způsobů omezení uvolňování mikrovláken z oděvů, jako například odolnější textilní struktura, užití předpírky, vakuové odsávání ve výrobních závodech a použití účinnějších filtrů v domácích pračkách.

Je dokázáno, že vyšší teplota, doba praní a mechanické působení zvyšuje počet mikrovláken, které jsou během praní uvolňována. Další důležitou roli hraje tvrdost vody, a proto je doporučeno použití změkčovače vody, což může snížit tvorbu mikroplastických vláken až o 35 % (De Falco a kol., 2018).

Vedle praní je užívání sušiček na prádlo dalším emisním zdrojem plastových mikrovláken v ovzduší, a to především ve vnitřním prostředí. Při standardním mechanickém sušení (56-59 °C, po dobu 20 minut) jedné polyesterové fleecové bundy běžnou domácí sušičkou bylo naměřeno až 60 uvolněných mikrovláken do domácího prostředí (O'Brien a kol., 2020).

Zhou a kol. poukázali na zatím neprobádanou problematiku, uvolňování mikroplastových vláken z textilií přímo z průmyslových textilních závodů. V dané textilní industriální oblasti v Číně, došli k závěru, že se denně uvolní do životního prostředí až 430 miliard mikrovláken skrze průmyslové čistírny odpadních vod, a to v případě pokud jejich účinnost odstraňování mikroplastů dosahuje 85 % (Zhou a kol., 2020).

2.2.1.3. Odpad

Mezi lety 1950 až 2015 bylo celosvětově vygenerováno přibližně 6 miliard tun primárního a sekundárního (recyklovaného) plastového odpadu. Kolem 9 % se recyklovalo, 12 % energeticky využilo a zbylých 79 % se uložilo na skládkách nebo se dostalo přímo do životního prostředí (Geyer a kol., 2017). Vzhledem k tomu, že se i v roce 2017 ve Spojených státech amerických podařilo recyklovat pouhých 8 % plastového odpadu, je očividné, že majoritní část plastů končí na skládkách či rovnou v životním prostředí (Hou a kol., 2020). Vytváření, akumulace a následné uvolňování mikroplastů ze skládek je dlouhodobý proces. Ve výluhu z aktivních i uzavřených skládek tuhého komunálního odpadu ve čtyřech městech jižní Číny byla detekována koncentrace mezi 0,4 až 24,6 částicemi v jednom litru. Polyethylen a polypropylen zde byly převládajícími typy polymerů (He a kol., 2019).

2.2.1.4. Zemědělství

Z nesčetného množství vstupů mikroplastů do zemědělské půdy můžeme zdůraznit především mulčovací fólie či netkané textilie na záhonech a polích, spolu s užíváním čistírenských kalů, jakožto hnojiv (Xu a kol., 2020). Důvodem vysokého výskytu fragmentů pocházejících z plastových folií v půdě je především jejich charakteristická tenkost a nedostatek možností recyklace. Tyto makroplasty jsou následně podrobeny vlivům zpracování půdy, UV záření a biodegradaci za vzniku plastových mikro a nano partikulí. Qi a kol. vyčíslují kontaminaci zemědělských půd přibližně na 50-250 kg plastových fragmentů na hektar. Globálně nejčastěji vyskytujícími se polymery v půdě jsou polyethylen a polypropylen (PP) (Qi a kol., 2020).

Odhaduje se, že každý rok vstupuje do evropských zemědělských půd přímým hnojením kaly z čistíren odpadních vod 125-850 tun mikroplastů na milion obyvatel za rok (Nizzetto a kol., 2016).

2.2.1.5. Doprava

Stejně tak, jako PE, PET (polyethylen tereftalát) nebo PVC, se i syntetický kaučuk řadí mezi termoplasty. Díky tomu patří pneumatiky mezi největší zdroje plastových částic v rozměrech mikro- a nanometrů. Tento vstup mikroplastů do životního prostředí byl dlouho přehlížen, ale provedené studie odhadují, že více jak 26 % mikroplastů je odvozeno z opotřebování pneumatik (Xu a kol., 2020). Dle stávajících údajů z 13 zemí světa je celosvětový průměr emisí mikroplastů odvozených z pneumatik až 0,81 kg na obyvatele za rok (Jan Kole a kol., 2017). Při odírání pneumatik se mikročástice neuvolňují pouze z nich, ale dále také například z termoplastických nátěrových hmot pro značení povrchu vozovky (Horton a kol., 2017).

2.2.2. Toxicita mikroplastů a nanoplastů v životním prostředí

Mikroplasty mohou vstupovat do živých organismů různými procesy. V některých případech jsou mikroplasty přijímány v nechtěné záměně za přirozenou potravu, vedle toho ale dochází také k pasivnímu příjmu spolknutím či vdechnutím. Vzhledem k tomu, že jsou mikroplasty perzistentní, tak dochází k jejich následné akumulaci ve vyšších trofických úrovních. V neposlední řadě jde tedy o pasivní příjem skrze potravinový řetězec. Například dle FAO (z angl. Food and Agriculture Organization of the United Nations) (2016) při analýze 25 druhů ryb, které mají největší podíl na celosvětovém rybolovu, byly mikroplasty detekovány u 11 druhů z nich. Po požití může nastat distribuce oběhovým systémem a vstup do tkání a buněk organismu, což může následně vést k nepříznivým účinkům. Rozlišujeme dva způsoby, jak mohou mikroplasty negativně ovlivňovat funkce organismu. Z fyzikálního hlediska může samotná částice organismus poškodit mechanicky, právě svým tvarem a velikostí. Chemickým působením složek, které se z částic uvolňují, mohou být ovlivněné biochemické procesy v těle organismu (Barboza a kol., 2018).

Ačkoliv jsou plasty díky své velké molekulární struktuře považovány za inertní materiál, každý fragment plastu obsahuje komplexní chemickou směs monomerů, oligomerů a aditiv. Právě aditiva velmi často představují velkou část celkové hmotnosti plastů. Například ftaláty, mohou tvořit až 50 % celkové hmotnosti produktu z PVC. Tyto látky se využívají ke změkčování plastů a mění tak tvrdý a křehký materiál na měkký a tvarovatelný.

Je dokázáno, že mikroplasty akumulují na svém povrchu těžké kovy, farmaceutické prostředky, pesticidy a nejrůznější perzistentní organické i anorganické znečišťující látky z okolního prostředí. Tyto kontaminanty jsou spojeny s nejrůznějšími lidskými nemocemi, včetně obezity, cukrovky, nádorovým onemocněním, endokrinních poruch, vývojových, kardiovaskulárních a reprodukčních problémů, což podkládá domněnku, že přítomnost mikroplastů v lidském organismu může představovat významné riziko pro lidské zdraví (Rochman a kol., 2019; Senathirajah a kol., 2021).

Typ a množství chemických látek, které jsou na dané partikuli plastu adsorbovány, závisí na fyzikálních a chemických vlastnostech polymeru. Částice plastů s vysokým poměrem povrchu k objemu (malé, podlouhlé nebo nepravidelně tvarované)

mají vyšší adsorpční kapacitu, což může vést k většímu hromadění škodlivých chemických látek, které se s mikroplasty mohou transportovat životním prostředím až do organismů. Na základě těchto faktorů jsou nanoplasty (fragmenty plastu menší než 1 μm) považovány za větší hrozbu než samotné mikroplasty (Khalid a kol., 2021; Rochman a kol., 2019).

Nejčastěji identifikovanými plastovými částicemi v gastrointestinálním traktu bioty na všech trofických úrovních jsou mikrovlákna. Jejich zvýšený výskyt byl také prokázán v potravinách určených k lidské spotřebě. Právě mikroplastová vlákna jsou nejčastěji nalezenými mikroplastovými částicemi i v lidských plicích, kam se dostávají vdechováním a představují tak potenciální riziko pro lidský organismus (Barboza a kol., 2018; O'Brien a kol., 2020).

2.2.3. Detekce mikroplastů

Jako první krok výzkumu je nutné zvolení vhodné metody odběru vzorků v terénu, tak aby byly poskytnuty komplexní a reprezentativní vzorky mikroplastů z daného prostředí. Existují zjevné rozdíly mezi jednotlivými metodami odběru matrice, přičemž je ovlivněna i konečná analyzovaná koncentrace. Například při odběru vzorků v severovýchodním Tichém oceánu Desforges a kol. (2014) detekovali mnohem vyšší četnost mikroplastů pomocí filtračních pórů o velikosti 0,062 mm, než Doyle a kol. (2011) za použití vlečné sítě s oky o rozměru 0,5 mm. Celkově tedy proces od vzorkování po identifikaci a kvantifikaci mikroplastů vyžaduje v budoucnosti standardizaci.

Fragmenty plastů jsou přítomné v různých matricích životního prostředí, jako jsou sladkovodní a mořské vody, odpadní vody, sedimenty, půdy, potraviny a tkáň bioty. Tyto environmentální nebo biologické vzorky obsahují složitou matici organických a anorganických látek (Cai a kol., 2021). Voda, sediment a biota jsou tedy tři hlavní oblasti sběru mikroplastů. Pro každé prostředí je potřeba zvolit vhodný způsob odběru vzorku, přičemž je nutné při výběru zohlednit i následný způsob analýzy.

K odběru vzorků ve vodném prostředí se používají různé typy vlečných sítí (např. Bongo, Manta nebo Neutson sítě) (Rocha-Santos a Duarte, 2015). Vlečné sítě jsou velmi výhodné pro odběr vzorků povrchové vody, ve velkém měřítku v jezerech nebo mořích, díky jejich schopnosti filtrovat velké množství vody a shromažďovat

plovoucí mikroplasty. Velikost clony, rychlost vlečných sítí a doba vzorkování by měla být však standardizována, pro budoucí srovnatelnost dat (Mai a kol., 2018).

Vzorky sedimentu se odebírají nejčastěji z povrchu pláží nebo ze dna stojatých vod. Díky tomu, že odběr vzorků na plážích je snadný, je celosvětově intenzivně využíván ke sledování kontaminace mikroplastů daných lokalit. Neexistuje však zatím žádný standardizovaný postup pro vzorkování sedimentů, u kterého by byla jasně specifikována kritéria, jako je například hloubka, objem či plocha vzorkování. Nejčastěji se analyzuje prvních 5 cm na kvadrantech o velikosti obvykle 25 cm². Tyto vzorkovací oblasti jsou buď rovnoměrně rozmístěny, nebo je vybráno několik reprezentativních kvadrátů. Některé studie vybírají místa odběru náhodně, jiné odebírají vzorky při přílivu nebo volí odběr z přílivové čáry (Lv a kol., 2021; Mai a kol., 2018).

Vzhledem k tomu, že jsou mikroplasty přijímány živými organismy, lze využívat pro pozorování kontaminace prostředí právě vzorky bioty. Nejčastěji se uplatňují ryby, mořské želvy, mořští ptáci, mlži, mořští červi a plankton. Při odběru vzorků bioty je třeba následné pitvy pro konečnou analýzu mikroplastů. V závislosti na velikosti organismu se volí způsob separace. U větších jedinců lze trávicí trakt oddělit a analyzovat samostatně, zatímco u menších se může analyzovat kompletně celý organismus (Lv a kol., 2021).

Před identifikací a kvantifikací je nezbytná předběžná úprava, k odstranění nečistot, ale zároveň zachování původních vlastností a množství mikroplastů. Po odběru vzorků se nejčastěji, pro separaci mikroplastů od matrice vzorku, využívá rozdílných hustot. Vizuální klasifikace je jednou z nejběžnějších metod identifikace, která se při propojení s dalšími metodami stává ještě účinnější. Ale nelze ji využít pro detekci nanoplastů, což může vést k zavádějícím výsledkům. Kvalitativní i kvantitativní výsledky analýz mikroplastů se liší dle metody detekce. Je tedy nezbytně nutné, aby byly analytické metody pro mikroplasty co nejdříve standardizovány a zároveň, aby byly vyvinuty nové metody pro analýzu nanoplastů (Lv a kol., 2021; Mai a kol., 2018).

2.2.3.1. Separace

Separace mikroplastů od sedimentů, vody nebo organismů je kritickým krokem pro následnou analýzu. Existuje několik hlavních kroků při separaci vzorků: separace, prosévání nebo filtrace a čištění (Lv a kol., 2021).

Plastové fragmenty lze oddělit pomocí rozdílné hustoty a digesce organické hmoty. Hustotní flotace je založena na nízké hustotě plastů a používá se pro jejich separaci z písku, bláta, sedimentu a jiných matric s vyšší hustotou za přítomnosti roztoku s vyšší hustotou než dané plasty. Hustota mikroplastů se liší dle typu polymeru a výrobního procesu v rozmezí od 0,01 do 2,30 g.cm⁻³ (Campanale a kol., 2020). Pro určité typy polymerů je velmi často využíván nasycený roztok NaCl, ten je ale díky své hustotě nevhodný pro komplexní směsi mikroplastových fragmentů. Oproti tomu roztok NaI, s vyšší hustotou, se díky své vysoké účinnosti a nízké toxicitě k separaci velmi doporučuje (Lv a kol., 2021; Silva a kol., 2018).

Prosévání a filtrace se běžně používá k oddělení mikroplastů od vzorků vody a sedimentů, či pro jejich konečnou frakcionaci. Pro celkové zrychlení a zvýšení efektivity separace se užívá mokré filtrace a spojení více sít s různými rozměry ok (Lv a kol., 2021; Mai a kol., 2018).

2.2.3.2. Identifikace a kvantifikace

Po extrakci a izolaci částic následuje přesná identifikace a kvantifikace mikroplastů. Identifikace plastových mikročástic se obvykle provádí vizuálním pozorováním. Tento proces vyžaduje značné množství času a prostředků. Vzhledem k přítomnosti lidského faktoru je zde také vysoké riziko nadhodnocení dat pro falešně pozitivní výsledky, a proto je čím dál tím větší snaha o vyvinutí automatické analýzy obrazu. Dalšími faktory, které znesnadňují přesnou optickou identifikaci a kvantifikaci je matrice vzorku a typ zobrazovacího zařízení (Li a kol., 2018). Pro chemickou charakterizaci mikroplastů se běžně využívá analytických metod založených na hmotnosti nebo na specifických fyzikálně-chemických vlastnostech jednotlivých molekul. Můžeme je rozdělit do dvou skupin. První skupina zahrnuje metody spektroskopické (SEM, skenovací elektronová spektroskopie; FTIR, infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací nebo Ramanova spektroskopie). Do druhé skupiny se řadí termo-analytické techniky (PYR-GC-MS, spojení pyrolýzy s plynovou chromatografií a hmotnostní spektrometrií; TED-GC-MS, termální desorpce ve spojení s plynovou chromatografií a hmotnostní spektroskopií; TGA, termogravimetrická analýza) (Lv a kol., 2021; Mai a kol., 2018).

Spektroskopické metody jsou nejběžnější při chemické identifikaci, především proto, že jsou tyto techniky nedestruktivní. A je tedy možná i následná analýza vzorku jinými metodami, pro získání dalších doplňujících informací ohledně daného polymeru (Lv a kol., 2021).

Skenovací elektronová spektroskopie zajišťuje obrazy vzorku s vysokým rozlišením, vznikající zářením elektronového paprsku na povrch částice a následným skenováním sekundárních iontů. Nevýhodou je, že se vzorky musí analyzovat ve vakuu a nelze o nich získat detailnější informace. SEM lze také využít při analýze procesu zvětrávání mikroplastových částic v životním prostředí měřením charakteristických povrchových struktur, jako jsou praskliny a otvory. Spojením SEM a energeticky disperzní rentgenové spektroskopie (SEM-EDS) lze získat podrobné informace o elementárním složení mikroplastů a anorganických aditivech, které tyto polymerní mikročástice obsahují. Přestože je SEM technika velmi vhodná a přesná pro povrchovou charakterizaci mikroplastů, je tato metoda limitována potřebným časem a náročností pro přípravu vzorku, a proto není vhodná pro analýzu velkého počtu vzorků (Wang a Wang, 2018).

FTIR a Ramanova spektroskopie identifikuje mikroplastové částice pomocí jejich vibračních spekter, které jsou specifické pro každý typ polymeru. Připojením spektrometru k mikroskopu pak vzniká tzv. mikrospektrometrie, která je schopna analyzovat i mnohem menší částice. Výhodou Ramanovy spektroskopie je schopnost analyzovat částice již od 1 μm a také větší citlivost na nepolární funkční skupiny polymerů oproti ostatním analytickým metodám (Mai a kol., 2018). Jak uvádí Silva a kol. (2018), limitace Ramanovy spektroskopie tkví především v nepřesných odezvách při měření vzorků, které jsou poškozeny UV zářením a jejich spektrum je tedy již pozměněno fotodegradací. Jelikož je fotodegradace v životním prostředí téměř nevyhnutelný faktor, je důležité s touto změnou při vyhodnocování dat kalkulovat a zahrnout je tedy do knihoven referenčních spekter (Silva a kol., 2018).

Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací poskytuje jedinečná infračervená spektra pro dané chemické vazby. Vysoká spolehlivost této techniky odpovídá jejímu častému využití při charakterizaci mikroplastů ze vzorků životního prostředí (Corami a kol., 2020; Wang a Wang, 2018). Tato metoda dokáže nejen přesně identifikovat typ polymeru, ale také poskytnout informace i o pozměněném fyzikálně-chemickém stavu mikroplastových fragmentů, který je způsoben vlivy životního prostředí jako je např. oxidace. Corcotan a kol. (2009) dokládají, že částice obsahující

substituenty produkují nejintenzivnější píky odezvy v oblasti nižších vlnových čísel FTIR spektra. Nevýhodou však zůstává, že touto metodou lze analyzovat pouze fragmenty plastů, které jsou větší než 10 μm . K tomu se ještě přidává fakt, že analýza je velmi časově náročná a vyžaduje velmi zkušeného operátora. Díky neustálé snaze o optimalizaci technologie FTIR a odstranění výše zmíněných limitací se objevují rozšířené techniky jako je například mikro-FTIR spektroskopie, umožňující detekci menších částic. Oproti tomu ATR-FTIR (z angl. attenuated total reflectance FTIR) je vhodná pro analýzu velkých částic ($> 500 \mu\text{m}$) s nepravidelným povrchem bez předchozí úpravy vzorku. Dalším typem optimalizace metody FTIR je FPA-FTIR (z angl. focal plane array FTIR). Tato metoda zajišťuje vysoce výkonnou analýzu veškerých plastových částic ($> 20 \mu\text{m}$) skenováním filtračního papíru s vysokým stupněm laterálního rozlišení. Ve srovnání s FTIR je FPA-FTIR mnohem rychlejší, ale zároveň i finančně náročnější (Huppertsberg a Knepper, 2018; Wang a Wang, 2018).

Méně konvenční, termo-analytické metody jsou destruktivní techniky, které za pomoci pyrolytického rozkladu produkují charakteristické produkty každého polymeru. Analyzuje se tedy celková hmota mikroplastických fragmentů, na rozdíl od předešlých technik, kdy se analyzují jednotlivé částice. Proto jsou tyto metody vhodné na jakékoliv rozměry částic, především jsou ale výhodné pro ty nejmenší. Klíčovou výhodou těchto technik je možnost charakterizace nejen samotného polymeru, ale i dalších přítomných aditiv, které lze následně využít pro profilování zdrojů a výpočet toxicity během jedné analýzy. Na rozdíl od spektroskopických metod, které zkoumají pouze povrch částic, termo-analytické metody umožňují komplexní analýzu částice (Lv a kol., 2021).

Povahu neznámých polymerních fragmentů lze určit porovnáním jejich naměřených hmotnostních spekter se spektry standardů běžně se vyskytujících polymerů. Velkou výhodou metody Pyr-GC-MS je minimální potřeba předúpravy vzorku, metoda není nijak nezohledňuje tvar, rozměr či případné organické a anorganické kontaminanty analyzovaných částic. Metoda je velmi citlivá a k analýze je potřeba pouze malé množství vzorku, což je velmi výhodné pro stopové analýzy. Metoda Pyr-GC-MS poskytuje současně detailní informace nejen o chemickém složení polymeru, ale zároveň i o obsažených organických aditivech. Dříve byla analýza pomocí metody Pyr-GC-MS limitována ruční aplikací vzorku do pyrolytické jednotky. Tento způsob značně omezoval rozsah a rychlost analýz větších sérií vzorků. Postupně

byla tato technika inovována a vznikla například rozšířená metoda tepelné extrakce a desorpční plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (TED-GC-MS), která stejně jako metoda Pyr-GC-MS nepotřebuje speciální úpravu vzorku před analýzou, ale je ještě mnohem rychlejší, což je výhodné pro velké sady vzorků. TED-GC-MS je kombinací tepelné extrakce s termogravimetrickou analýzou (TGA) na adsorbérech pevné fáze a následnou analýzou těchto adsorbérů pomocí tepelné desorpční plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie (TDS-GC-MS) (Dümichen a kol., 2017; Wang a Wang, 2018). Vzorky jsou zahřívány v inertní atmosféře na termogravimetrické váze. Specifické produkty rozkladu, jejichž bod varu je vyšší než 100 °C, se adsorbují na tuhém adsorbéru, který je poté převeden do jednotky tepelné desorpce. Organické molekuly jsou následně desorbovány při daných teplotách a separovány chromatografickou kolonou. Nakonec jsou analyzovány hmotnostním spektrometrickým detektorem (Elert a kol., 2017).

Kvantitativní hodnota mikroplastů je obzvláště důležitá, jelikož její hodnota ilustruje reálnou úroveň znečištění daného prostředí. Po identifikaci jsou plastové částice počítány ručně nebo automaticky pomocí mikroskopu. Dalším způsobem kvantitativního stanovení je pomocí kalibrační řady. Koncentrace mikroplastů v povrchové vodě se nejčastěji uvádí jako částice na plochu (m^2) či objem (m^3). U vzorků sedimentu či půdy je koncentrace mikroplastových částic vyjádřena pomocí částic či jednotek hmotnosti (kg) na plochu (m^2). Dále se využívá počet částic na jednotky hmotnosti (kg) suchého nebo mokrého vzorku a počet částic na vzorkovací plochu (m^2). Pokud jsou vzorky sedimentu shromažďovány na daném povrchu a v určené hloubce, lze koncentraci mikroplastů snadno převést z jednotek plochy (m^2) na jednotky objemu (m^3) (Mai a kol., 2018).

2.3. Pyr-GC-MS

Pyr-GC-MS nabízí především výhodu v minimální nutné úpravě vzorku před samotnou analýzou. Tato technika se využívá k získání informací o chemickém složení vybraných látek ve vzorcích životního prostředí analýzou jejich produktů

tepelné degradace v inertní atmosféře (Dris a kol., 2018). Jedná se o analytickou metodu, během níž vznikají rozkladem vzorku menší molekuly, které se dělí plynovou chromatografií a poté analyzují hmotnostním spektrometrem. Při dosažení dostatečně vysokých teplot (600-1000 °C) se rozkládají vazby polymerů a dále degradují reprodukovatelnými mechanismy a vytvářejí tak charakteristické chromatogramy (tzv. pyrogramy) původních materiálů, které se využívají pro jejich přesnou identifikaci. Pyrogramy jsou obecně velmi složité a skládají se z několika stovek sloučenin (Pöerschmann, 2000). Výsledné produkty, tzv. pyrolyzáty uchovávají strukturní informace z původního vzorku, což umožňuje identifikaci nejen čistých materiálů ale i směsí a kopolymerů (Dris a kol., 2018; Sam, 2019).

Přímá analýza netěkavých a polymerních organických vzorků, které jsou velmi často složitými směsmi přírodního nebo syntetického původu, je znesnadněna jejich odolností a stabilitou. Díky zakomponování analytické pyrolýzy do plynové chromatografie či spojení GC-MS se rozšiřuje využití těchto metod i pro netěkavé pevné látky, jakožto jsou například právě polymery. Tato analytická metoda je v poslední době stále více využívána k analýze mikroplastových a nanoplastových částic vyskytujících se v různých složkách životního prostředí (Cai a kol., 2021).

Pro zajištění ještě širšího spektra detekovatelných látek je analýza pomocí Pyr-GC-MS podpořena přidáním derivatizačního činidla (např. TMAH), takto rozšířená metoda se nazývá termochemolýza. Tato technika je velice efektivní při charakterizaci i mnoha přírodních složitých makromolekul, jako jsou huminové látky, lignin, lipidy a karbohydráty. Jedná se o chemolytickou metodu, která hydrolyzuje a methyluje estery a etherové vazby a napomáhá tak k celkové depolymerizaci a methylaci makromolekul. Methylace činí polární produkty pyrolytické reakce dostatečně těkavými pro následnou separaci a analýzu pomocí GC-MS (Chefetz a kol., 1995).

2.3.1. Využití

Analytická pyrolýza je tedy efektivní technikou pro rozklad jinak netěkavých makromolekul organického původu na menší fragmenty, které jsou následně vhodné pro další analýzu pomocí plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie. Hojně se využívá k charakterizaci geo- a biomakromolekul a detekci jejich biomarkerů. Tato metoda byla široce využívána k charakterizaci zdrojových hornin ropy, a i přes

rozsáhlou fragmentací s nadměrnou tepelnou energií přináší dostatek detailů ohledně specifických biomarkerů, čímž se stává důležitým nástrojem pro hodnocení kvality zdrojové horniny. Konvenční analytická pyrolýza je užitečná také při detekci určitých stavebních bloků, včetně látek podobných polysacharidům, aromatických jednotek obsahující dusík a alifatických jednotek pocházející z půdní organické hmoty, což poskytuje určité důkazy o struktuře, původu, genezi, stupni rozkladu a humifikace analyzovaného polymeru. Například pyrogramy získané analýzou půdy jsou charakterizovány především tripletovými řadami alkanů, alkenů a alkadienů. Oproti tomu vzorky mořských sedimentů vykazují v pyrogramech proteinové produkty pocházející z fytoplanktonu, ale neobsahují žádné sloučeniny, které jsou odvozeny od ligninu a jsou běžné tedy pouze pro terestriální a sladkovodní vzorky (Pöerschmann, 2000).

Rychlé rozšíření analytické pyrolýzy do různých odvětví, jako je taxonomie a chemie půdy, bylo do značné míry způsobeno pokrokem v pyrolýze biologických molekul. Ikan a Crammer prokázali, že různé skupiny biomolekul poskytují velmi charakteristické pyrogramy a umožňují tak detekci původu fragmentů složitých vzorků, jako jsou například vzorky bakterií a složek půdy (Ikan a Crammer, 2003).

Kusch a kol. (2016) popisují ve své studii výhody aplikace analytické pyrolýzy ve spojení s GC-MS pro analýzu a identifikaci závad v chemickém, gumárenském a automobilovém průmyslu. Doprovodné informace z analýzy SEM umožňují dále i přesnou lokalizaci poškození daných komponent, jako jsou brzdové kapaliny motorových vozidel, laky a gumové materiály pneumatik automobilů. V této oblasti se totiž stále více vyskytují případy poškození vyžadujících identifikaci polymerů/kopolymerů. Například z barvy povrchu gumové membrány tlakové nádoby automobilového integrálního akumulátoru nebo identifikaci složení kalu na povrchu stěny kompresoru z klimatizace automobilu. Dále je ve studii demonstrována například identifikace látek z ventilového bloku z porušeného lékařského kyslíkového resuscitačního zařízení. Použité analytické techniky tedy umožňují potvrzení zdroje poruchy, identifikaci kontaminantů způsobující selhání a překonání problému ve vývoji daného produktu (Kusch a kol., 2016).

2.3.2. Využití Pyr-GC-MS pro detekci mikroplastů v životním prostředí

Vzhledem ke své vysoké citlivosti a nízké potřebě úpravy vzorku před analýzou se využití metody Pyr-GC-MS rozšířilo, a stále více rozšiřuje, k získávání informací ohledně složení plastových polymerů, se specifickými aplikacemi na identifikaci jednotlivých mikroplastových fragmentů. Za použití analytické metody Pyr-GC-MS jsou analyzovány mikroplasty z nejrůznějších zdrojů znečištění ve všech sférách životního prostředí.

Vodné prostředí je ze všech složek životního prostředí probádáno nejvíce. Ať už se provádí analýza sedimentů (Ceccarini a kol., 2018; Fries a kol., 2013; Hendrickson a kol., 2018; Nuelle a kol., 2014), přímo vodných vzorků (Hendrickson a kol., 2018; Ter Halle a kol., 2017) nebo kumulace mikroplastických částic v tělech živých organismů (Dehaut a kol., 2016; Fischer a Scholz-Böttcher, 2017; Peters a kol., 2018). Metoda Pyr-GC-MS se využívá nejen k analýze vzorků vodného prostředí moří, řek a jezer, ale také například k detekci mikroplastů ve zdrojích pitné vody (Gomiero a kol., 2021). V této studii byla analyzována pitná voda ve středně velké norské městské oblasti. Vzorky byly odebrány v různých fázích řetězce vodovodního systému. Množství mikroplastů bylo naměřeno v rozmezí 6,1-93,1 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ dle stanoviště. V prvních fázích, tedy ještě v surové odpadní vodě před procesem úpravy vod, byly přítomny vyšší hodnoty mikroplastových částic než po nich. Snížení přítomnosti mikroplastů po úpravě vody bylo zaznamenáno v rozmezí 43-100 %, v závislosti na typu polymeru. Nejčastěji detekovanými typy polymerů byly polyetylen, polyamid (PA) a polyester.

Dierkes a kol., přišli s novou metodou, kombinující kapalinovou extrakci za zvýšeného tlaku (tzv. pressurized fluid extraction) a Pyr-GC-MS pro kvantitativní detekci mikroplastů v pevných vzorcích, jako je půda a sedimenty. Jejich výsledky ukázaly, že se jim touto metodou podařilo snížit detekční limit vzorků mikroplastů na 0,007 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (Dierkes a kol., 2019).

Dalším významným zdrojem mikroplastů jsou čistírenské kaly, které se následně využívají například při hnojení zemědělské půdy a tím se dostávají přímo do životního prostředí. Tímto významným zdrojem mikroplastů se zabýval i El Hayany a kol. (2020), kdy pro identifikaci kalu z laguny, používaného jako hnojivo, využil

právě metody Pyr-GC-MS. Výsledkem studie bylo, že průměrné mikroplastové fragmenty se v čerstvém kalu vyskytují v koncentraci $40,5 \pm 11,9 \cdot 10^3$ částic.kg⁻¹ a v sušině $36 \pm 9,7 \cdot 10^3$ částic.kg⁻¹. Rozdíl v hodnotách studie přiřazují k možným ztrátám mikroplastových částic během sušení (El Hayany a kol., 2020).

O'Brien a kol. (2021) se ve své studii naopak zaměřili na mikroplasty, kterým je člověk vystavován v ovzduší ze silničního provozu. Mikroplastové fragmenty se prostředím pohybují prostřednictvím transportu atmosférického aerosolu a atmosférickou depozicí, díky které se pak dostávají i do vodních toků a dalších sfér životního prostředí. Analyzován byl silniční prach podél pozemních komunikací, jak ve městech, tak na venkově, v jihovýchodním Queenslandu v Austrálii. Koncentrace mikroplastů se pohybovaly od 0,5 mg.g⁻¹ (venkov) do 6 mg.g⁻¹ (město Brisbane). Převládajícími polymery byly polyvinylchlorid (29 %) a polyetylenotereftalát (29 %) a zároveň bylo doloženo, že frakce o velikosti menší než 250 µm obsahovala většinu hmotnosti (mg.g⁻¹) mikroplastických fragmentů z celkového měření.

2.3.3. Podmínky metody Pyr-GC-MS

V literatuře se objevují rozličné postupy nejen při separaci vzorků ze životního prostředí, ale také při jejich přípravě k analýze a v nastavení jednotlivých parametrů konkrétních detekčních metod. Problematické vkládání vzorku a analýza postupně pouze po jednom vzorku a tím i způsobená časová náročnost původní metody je vyřešena aplikací automatizovaného dávkovače vzorků k pyrolytické jednotce (Dehaut a kol., 2016; Hermabessiere a kol., 2018; Nuelle a kol., 2014). S ohledem na různorodost fyzikálně-chemických vlastností široké skupiny mikroplastů, je velmi obtížné nalézt optimální nastavení parametrů pyrolytické analýzy tak, aby byly vhodné pro celou škálu typů polymerů. Mezi tyto parametry se řadí např. teplotní stupeň pyrolytického štěpení; doba, po kterou je vzorek podroben těmto vysokým teplotám v inertní atmosféře; zvolený typ kolony; přítomnost či absence derivatizačního činidla pro zlepšení citlivosti i na jinak málo těkavé látky; teplotní gradient neboli program, který určuje rychlost a účinnost separace plynové chromatografie.

3. Experimentální část

3.1. Materiál a chemikálie

3.1.1. Přístrojové vybavení

Pyr-GC-MS sestava

Pyrolytická jednotka	Ing. Podolák a Ing. Kobliha, ČR
Plynový chromatograf: Varian 3400	Varian, USA
Hmotnostní spektrometr: ITS40	Finnigen MAT, USA
Předkolona: Rtx-1, délka 2 m, vnitřní průměr 0,53 mm, tloušťka filmu 0,25 µm	Restek, USA
Předkolona: Fused silica, délka 2 m, vnitřní průměr 0,53 mm, bez sorpčního filmu	Agilent Technologies, USA
kolona: DB-5MS, délka 30 m, průměr 0,25 mm, tloušťka filmu 0,25 µm	Agilent Technologies, USA

analytické váhy Kern ALJ I20-4	Kern, Německo
muflová pec LE 15/11	LAC, ČR
ultrazvuk Ecoson U-7 STH	Ecoson, SR
předvážky ABC plus 600n	Schoeller, ČR
třepačka vortex ZX Classic	VELP Scientifica, Itálie
membránová vývěva N86 LABOPORT	KNF, Německo
síta pluriStainer	pluriSelect, Německo
síta s nerezovou tkaninou Vustah Brno	VUSTAH, ČR
Retsch centrifugační mlýn ZM 200	Retsch, Německo

3.1.2. Chemikálie a ostatní materiál

dichlormethan $\geq 99,8\%$	VWR Chemicals, Francie
tetramethylammonium hydroxid	Sigma-Aldrich, USA
pentahydrát $\geq 97\%$	
anthracen 99%	Sigma-Aldrich, USA
kyselina dusičná p.a. $\geq 65\%$	Lachema, o.p., ČR
denaturovaný líh 99%	Bioferm Lihovar Kolín, ČR
aceton pro HPLC	VWR Chemicals, Francie
methanol	VWR Chemicals, Francie
skelný filtrační papír GF- 75, 25mm	Advantec, Japonsko
pyrolytické nerezové kalíšky Eco – Cup LF	Frontier Lab, Japonsko
<i>Standardy plastů</i>	
polyethylentereftalát	GoodFellow, Velká Británie
polystyren	GoodFellow, Velká Británie
polypropylen	GoodFellow, Velká Británie

3.2. Metodika

Polymery (PET, PP a PS) použité pro optimalizaci analytické metody patří mezi celosvětově nejvíce vyráběné plasty a tím pádem i mezi nejvíce se vyskytující mikroplastové částice v životním prostředí (PlasticEurope, 2017). Jejich výroba byla optimalizována tak, aby byly získány co nejrelevantnější rozměry plastových fragmentů. Následovala frakcionace a přenesení do pyrolytického kalíšku za přidání vnitřního standardu (anthracen) a derivatizačního činidla (TMAH). Vzorčky byly vysušeny do sucha, analyzovány pomocí Pyr-GC-MS a statisticky vyhodnoceny.

3.2.1. Příprava mikroplastů

Pro přípravu mikroplastů byly využity komerčně dostupné surové plastové pelety určené pro výrobu plastových produktů. Aby byly standardizované vzorky co nejbližší reálným, byla jejich výroba optimalizována tak, aby byly získány co nejmenší rozměry plastových fragmentů. Podařilo se získat i částice menší než 1 mikrometr. Pelety byly namlety na centrifugačním mlýnu (Retsch, Německo) za použití tekutého dusíku pro získání větší křehkosti plastu a snazší fragmentaci.

3.2.2. Frakcionace

Získaná heterogenní směs mikroplastových částic byla frakcionována na určené frakce (< 1 μm , 1-20 μm , 20-40 μm , 40-60 μm , 60-100 μm , 100-200 μm a > 200 μm). Frakcionace byla provedena za použití soustavy sít na buňky o různých velikostech pórů (pluriStrainer, Německo). Pro snížení prašnosti, zamezení nevyžádané mobility částic a jako nosné medium při prosévání byl užit ethanol. Ethanol je vhodný především i díky jeho schopnosti smáčet plasty a chemické nulové agresivitě vůči všem typům polymerů. Proces byl urychlen použitím podtlaku vakuovou vývěvou. Do 40 ml vialy byla odebrána část směsi namletých mikroplastových částic a přidán ethanol v poměru 1:9. Suspenze byla homogenizována a přenesena do vrchního síta. Následně byla suspenze podtlakem separována. Výsledek frakcionace (PP) je vidět na Obrázku 1 str. 32. Po frakcionaci byly částice vysušeny v digestoři za pokojové teploty.



Obrázek 1: Vzorky po separaci jednotlivých frakcí polypropylenu

3.2.3. Příprava vzorku na Pyr-GC-MS

Do pyrolytického nerezového kalíšku byla přidána homogenní suspenze daného standardu mikroplastových částic v rozpouštědle o známé koncentraci. Po odpaření rozpouštědla byl do kalíšku přidán roztok vnitřního standardu a následně derivatizační činidlo. Poté byl do kalíšku vložen skelný filtr. Mezi jednotlivými kroky byly kalíšky ponechány k vysušení při pokojové teplotě v exsikátoru za přítomnosti desikantu – hydroxidu sodného.

3.2.3.1. Eco-CUP LF nerezové pyrolytické kalíšky

Pyrolytické nerezové kalíšky (Eco-Cup LF Frontier Lab, Japonsko) o celkovém objemu 80 μ l byly při analýzách používány opakovaně. Pro dosažení nejvyšší možné čistoty byly kalíšky čištěny pomocí ultrazvukové lázně zahřáté na 80 °C, postupně v 86% kyselině dusičné, dvakrát ve vodě, v methanolu a nakonec v acetonu

(viz Tabulka 1). Nakonec byly kalíšky v muflové peci vystaveny teplotě 600 °C po dobu 8 hodin pro jejich kompletní vyčištění.

Tabulka 1: Postup čištění pyrolytických kalíšků v ultrazvukové lázni

rozpuštědlo	Čas v ultrazvukové lázni [min]
<i>HNO₃</i>	10
<i>H₂O</i>	2 x 5
<i>methanol</i>	10
<i>aceton</i>	10

3.2.3.2. Vnitřní standard

Pro zaručení reprodukovatelnosti výsledků jednotlivých analýz byl používán vnitřní standard. Po porovnání několika typů látek teoreticky vhodných pro dané potřeby (anthracen, perfluorononan, octafluoronaftalen, hexachlorbenzen, perfluorooctyl acrylate, perfluorobutanová kyselina a octadecan) v různých koncentracích a kombinacích byl finálně jako vnitřní standard zvolen anthracen. Do pyrolytického kalíšku bylo přidáno 20 µl roztoku anthracenu (2,5 µg.ml⁻¹ v DCM), tedy 50 ng vnitřního standardu, a necháno v exsikátoru po dobu 30 minut k vysušení do sucha.

3.2.3.3. Příprava suspenze mikroplastů s rozpouštědlem

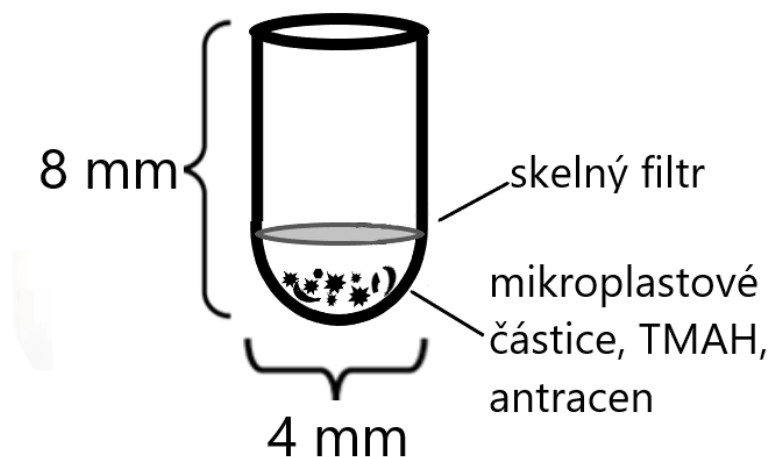
Snadné a přesné manipulace s mikroplastovými částicemi, o velikostech 20-40 µm, bylo dosaženo vytvořením suspenze v rozpouštědle dichlormethan (DCM). DCM díky své hustotě zajišťuje optimální podmínky homogenizace suspenze před odebráním a převedením do pyrolytického kalíšku k analýze. Navíc se DCM velmi rychle odpařuje a neprodlužuje tedy dobu přípravy vzorku k analýze.

3.2.3.4. Derivatizační činidlo

Methylace, depolymerizace a následné zvýšení těkavosti chemicky stabilních makromolekul jednotlivých typů polymerů bylo dosaženo přidáním derivatizačního činidla, konkrétně TMAH. Bylo testováno několik typů rozpouštědel (methanol, MilliQ voda, a směsný roztok methanolu a MilliQ vody v poměru 1:1), objemů vzniklých roztoků (1 μl , 5 μl , 10 μl , 20 μl) a jejich následné kombinace. Nejvhodnější odezvy byly získány při aplikaci 10 μl TMAH (25% v methanolu, V/V) do pyrolytického kalíšku a při pokojové teplotě ponecháno po dobu 8 hodin v exsikátoru pro dostatečné vysušení.

3.2.3.5. Filtr

Pro zabránění vztlínání a úniku vzorku byly použity filtry ze skelných vláken bez přidaného pojiva o velikosti pórů 0,3 μm a průměru 0,5 mm. Pro odstranění reziduálních chemikálií z výroby filtrů byly filtry před použitím vystaveny v muflové peci teplotě 600 $^{\circ}\text{C}$ po dobu 4 hodin. Filtr ze skelných mikrovláken byl použit pro zabránění vztlínání a zajištění vzorku uvnitř pyrolytického kalíšku. Aplikován byl tedy až na konci přípravy vzorku – viz Obrázek 2.

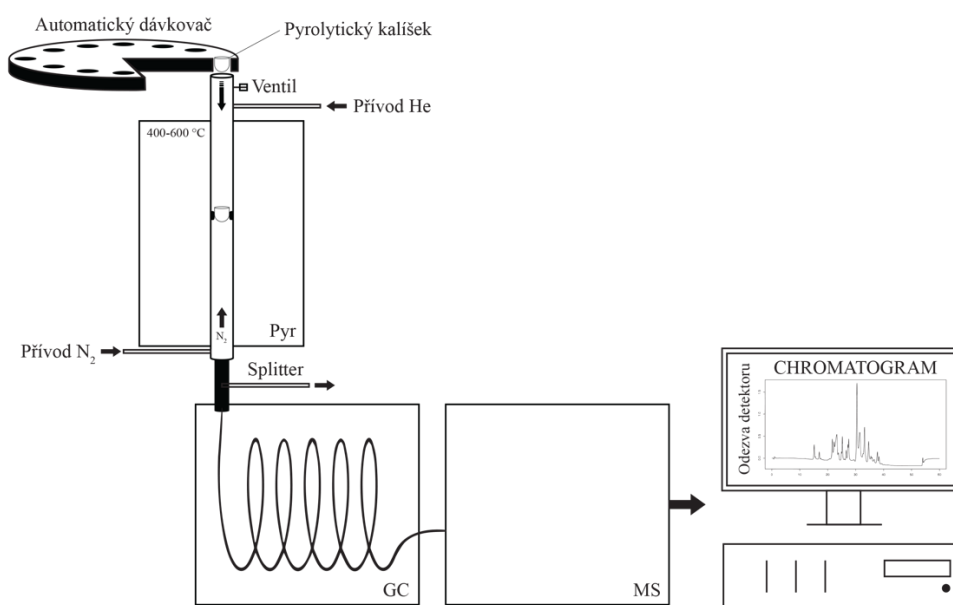


Obrázek 2: Schéma pyrolytického kalíšku se vzorkem a filtrem, který je připraven k následné analýze na Pyr-GC-MS

3.2.4. Pyr-GC-MS

Pyr-GC-MS analýza probíhala pomocí pyrolyzátoru (Ing. Koblíha a Ing. Podolák, ČR) ve spojení s plynovým chromatografem Varian 3400 (Varian, USA) a hmotnostním spektrometrem ITS40 (Finnigan MAT, USA) (viz Obrázek 3).

Pyrolytické kalíšky se vzorky byly do přístroje dávkovány za pomoci automatického podavače, který byl součástí pyrolyzní jednotky. Gravitační silou kalíšky padaly kapilárou z křemenného skla dovnitř pyrolytické pece, kde byly podrobeny v inertní atmosféře helia vysokým teplotám. Po ukončení analýzy byly kalíšky pomocí vysokého tlaku dusíku vytlačeny zpět do dávkovače.



Obrázek 3: Schéma Pyr-GC-MS zařízení (vlastní zpracování)

Teplotní stupeň pyrolytického štěpení byl testován ve třech úrovních (400, 500 a 600 °C). Vzhledem k tomu, že při teplotě 400 °C nedocházelo ke vzniku požadovaných pyrolytických produktů (viz. kapitola 4. Výsledky a Diskuze – 4.1.2.2. Pyrolyzní teplota) bylo od této teploty upuštěno a zbylé analýzy byly prováděny při 500 °C nebo 600 °C.

Teplota injektoru byla nastavena na hodnotu 240 °C a nosným plynem bylo helium.

Dělič toku neboli tzv. splitter byl pro získání nejlepších odezev při optimalizaci testován v různých poměrech (1:50, 1:80, 1:110), módech (split, split/splitless) a jejich kombinacích (viz. kapitola 4. Výsledky a Diskuze – 4.1.2.1. Dělič toku). Díky užití děliče je pouze část objemu vzorku zavedena přímo do kolony a následně podrobena analýze. Zbýlá část objemu vzorku je odvedena splitterem ven ze zařízení. Průtok kolonou byl 1 ml.min⁻¹ a optimální průtok děliče byl zvolen 50 ml.min⁻¹. Dělicí poměr byl tedy finálně nastaven 1:50.

Plynový chromatograf byl vybaven předkolonou Rtx-1 (Restek, USA), o délce 2 m a průměru 0,53 mm a velikosti částic vnitřního sorbentu 0,25 μm, pro snížení vlivu mrtvého objemu nástřiku a kolonou DB-5MS (Agilent Technologies, USA), o délce 30 m, průměru 0,25 mm a tloušťce stacionární fáze 0,25 μm ((5%-fenyl)-methylpolysiloxan).

Teplotní program plynového chromatografu byl nastaven v rozsahu 45-240 °C. Gradient probíhal s rychlostí 13 °C.min⁻¹ po dobu 15 minut. Celkově metoda analýzy trvala 27 minut. Tento program byl zvolen pro jeho univerzálnost a je vhodný pro řešení optimalizace analytické metody daných látek. Jedná se o rychlý separační program startující na nejnižší aplikovatelné teplotě a finální teplota představuje dostatečnou hodnotu pro eluci veškerých látek z kolony. Při analýzách reálných vzorků bude teplotní program upravován dle potřeb konkrétní matrice (prodloužení teplotní rampy či celé metody).

Teplota tzv. transfer line byla nastavena na 220 °C. Detekce při analýzách PET a PP probíhala od 8. minuty analýzy. Zatímco pro PS bylo zpoždění sběru dat snižené na 4 minuty z důvodu retenčního času (RT) jeho specifického iontu (viz kapitola 4.1.2.2. Analýza vybraných polymerů). Hmotnostní detektor ITS40 (Finnigen MAT, USA), s iontovou pastí o teplotě 200 °C, byl vybaven EI zdrojem (70 eV). Celkový iontový proud (tzv. TIC) byl měřen v rozsahu 50-450 m/z. Záznam jednotlivých iontů probíhal rychlostí 2/0,55 microScans.s⁻¹, kdy se záznam jednoho bodu vytváří z průměrné hodnoty dvou mikroskenů.

Dané standardy polymerů (PET, PP a PS) byly analyzovány za již optimalizovaných podmínek (viz výše). Přítomné mikroplasty byly identifikovány na základě porovnání hmotnostních spekter s příslušnou literaturou a knihovnou spekter NIST 2008 (Národní institut pro standardy a technologie). Pro jednotlivé polymery byly

analyzovány řady standardů v rozmezí hmot 50-1000 ng (vždy přidáno ve 20 μ l DCM) a následně zhotoveny jejich kalibrační křivky.

3.2.5. Příprava reálného vzorku ze životního prostředí

Na závěr byla metoda, se zavedenou knihovnou specifických iontů a RT pro jednotlivé standardy polymerů, otestována na reálném vzorku. Konkrétně byl analyzován vzorek čistírenského kalu z ČOV v České republice (čistírna odpadních vod s kapacitou 500 000 ekvivalentních obyvatel). Vzorek obsahoval 0,1 g sušiny lyofilizovaného kalu, který byl 10x zředěn. Reálný vzorek byl vypreparován flotační metodou s digescí dle protokolu vypracovaného v bakalářské práci (Pospíchalová, 2019). Ze získaného filtru se vzorkem obsahujícím mikroplasty o průměru 2 cm, byly vyříznuty náhodné výřezy o průměru 5 mm a vzorek dále připraven a analyzován dle parametrů výše.

3.2.6. Vyhodnocení dat

Veškeré chromatogramy získané metodou Pyr-GC-MS byly vyhodnocovány v programu Mass Spectrometry Workstation Version 6.9.1 (Varian, USA).

Pro následné vyhodnocení a grafické znázornění dat byl využíván program MS Excel 2016 a pro jejich konečné statistické zpracování dat byl použit software Origin 2019b (OriginLab, USA).

4. Výsledky a Diskuze

4.1.1. Optimalizace přípravy vzorku na Pyr-GC-MS

4.1.1.1. Vnitřní standard – anthracen

Volba vnitřního standardu se odvíjí především od typu a způsobu přípravy vzorků, a je parametrem z velké části subjektivním. Tento fakt dokládá i různorodá škála vnitřních standardů vyskytující se v dostupné literatuře (Dierkes a kol., 2019; Fischer a Scholz-Böttcher, 2019; La Nasa a kol., 2021; Matsui a kol., 2020), která se zabývá detekcí mikroplastů pomocí metody Pyr-GC-MS. Je třeba zvolit látku, která není přítomna v matrici vzorku, má eluční čas odlišný od složek v analyzované směsi a jeho příprava je co nejméně komplikovaná. Na základě těchto faktorů byly analyzovány vybrané látky (anthracen, perfluorononan, oktafluoronaftalen, hexachlorbenzen (HCB), perfluorooktyl alryláte (PTAcr), perfluorobutanová kyselina (PFBA) a octadekan).

Perfluorované látky (perfluorononan, oktafluoronaftalen, PTAcr a PFBA) byly vybrány jako potenciální vnitřní standardy díky jejich vysoké termostabilitě a chemické odolnosti. Kromě oktafluoronaftalenu nebyly zmíněné perfluorované látky za daných optimalizovaných podmínek detekovány, pravděpodobně z důvodu nekompatibilních separačních podmínek či nedostatečné ionizace. Další testovanou látkou byl oktadekan, který nebyl detekován vlivem matričního efektu přítomného derivatizačního činidla (TMAH).

Tři detekované chemické látky (anthracen, HCB a oktafluoronaftalen) byly následně porovnány z hlediska jejich relativní odezvy přístroje a RT. Dle výsledků (viz. Tabulka 2 str. 39), anthracen vykazoval nejvyšší odezvu z testovaných chemických látek a zároveň měl dobrou reprodukovatelnost.

Tabulka 2: Porovnání relativních odezev přístroje při optimalizaci vnitřního standardu. Výška jednotlivých píků je uváděná v relativních jednotkách counts a plocha píků v jednotkách counts.min⁻¹. Uvedené hodnoty představují průměr ze tří měření a jejich směrodatné odchylky (SD).

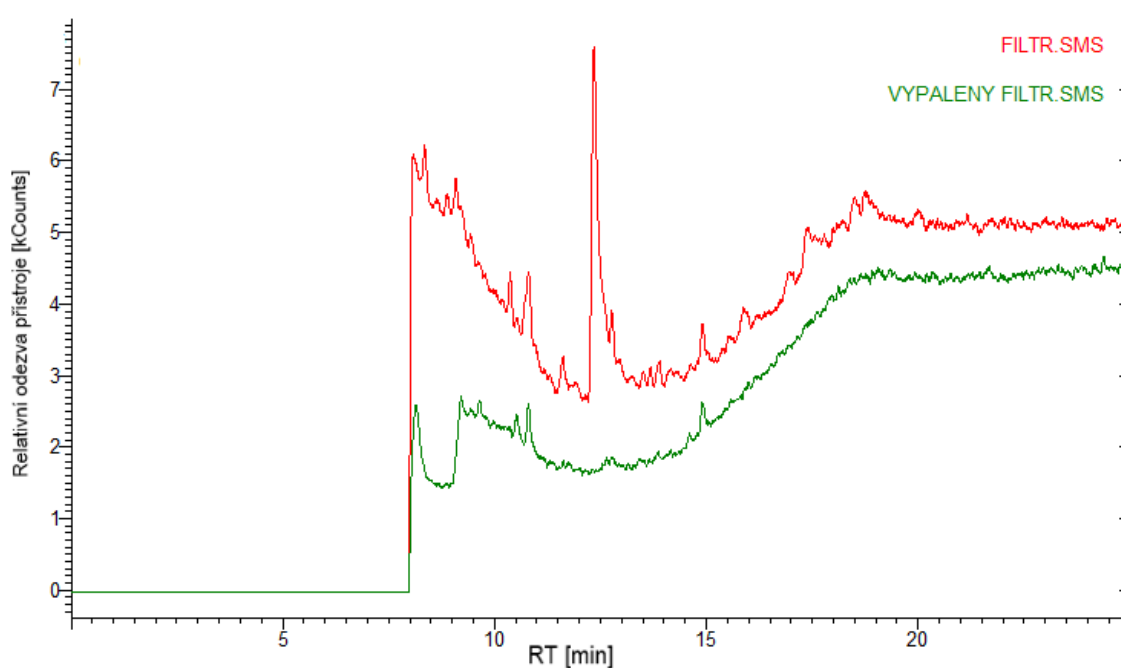
	Ion [m/z]	RT [min]	10 ng ± SD	25 ng ± SD	50 ng ± SD	100 ng ± SD	
výška [counts]	anthracen	178	14,5	808 ± 283	1933 ± 304	6616 ± 40	27023 ± 2248
	HCB	284	14,1	64 ± 7	629 ± 124	3430 ± 584	28085 ± 3816
	oktafluornaftalen	272	6,9	11 ± 8	9 ± 3	18 ± 9	21 ± 3
plocha [counts.min-1]	anthracen	178	14,5	4326 ± 1216	20200 ± 2456	31262 ± 1308	252614 ± 22115
	HCB	284	14,1	355 ± 42	2772 ± 573	14860 ± 2730	114628 ± 13585
	oktafluornaftalen	272	6,9	18 ± 10	41 ± 2	55 ± 11	73 ± 25

Oproti oktafluoronaftalenu anthracen vykazuje vhodný RT pro danou analytickou metodu a cíle analýzy. Z kolony, je eluován v druhé části chromatogramu, a tak na jeho detekci nemají vliv potencionální změny v prodlevě sběru dat na začátku metody. V porovnání s HCB, je anthracen lépe detekován, i díky tomu, že nepodléhá fragmentaci a je reprezentován pouze jedním iontem. Dalšími výhodami anthracenu jsou jeho dostupnost, chemická a teplotní stálost a to, že netěká při odpařování při přípravě vzorku.

4.1.1.2. Filtr

V odborných publikacích (Fischer a Scholz-Böttcher, 2019; Käßler a kol., 2018) se vyskytují totožné údaje ohledně nebezpečí vzlínání vzorku z pyrolytických kalíšků a následné aplikaci skelných filtrů v průměru 6 mm. V rámci optimalizace přípravy vzorku byl tento parametr rovněž otestován. Byly testovány celkem tři rozměry filtrů 4, 5 a 6 mm. Ukázalo se, že filtry o průměru 5 mm jsou pro zabezpečení vzorku dostačující a pro manipulaci s nimi a jejich aplikaci do pyrolytického kalíšku i nejvhodnější. I přesto, že byl vybrán filtrační papír ze skelných mikrovláken bez užití

pojiv, byly detekovány organické látky v něm přítomné (především v kombinaci s přítomností derivatizačního činidla). K dosažení co nejnižšího pozadí při chromatografické analýze byl zohledněn právě vliv filtračního papíru, ze kterého byly filtry o průměru 5 mm vyrobeny. Z chromatogramů na Obrázku 4 níže je zřejmé, že filtr, který nebyl před analýzou podroben vysoké teplotě a obsahoval tedy stále stopy reziduálních chemikálií z výroby, má vyšší odezvy pozadí a tzv. systémových píků. Z tohoto měření tedy vyplývá, že i filtry musí být vždy před užitím ošetřeny při 600 °C, a tedy zbaveny nežádoucích interferujících látek.



Obrázek 4: Optimalizace vlivu filtru ze skelných vláken. Porovnání Pyr-GC-MS chromatogramů při optimalizaci vlivu filtru ze skelných vláken. Červený signál je odezvou pro filtr, který nebyl nijak upraven, zelený signál je odezvou pro filtr, který byl nejdříve vystaven teplotě 600 °C a tím zbaven reziduální organických látek z výroby.

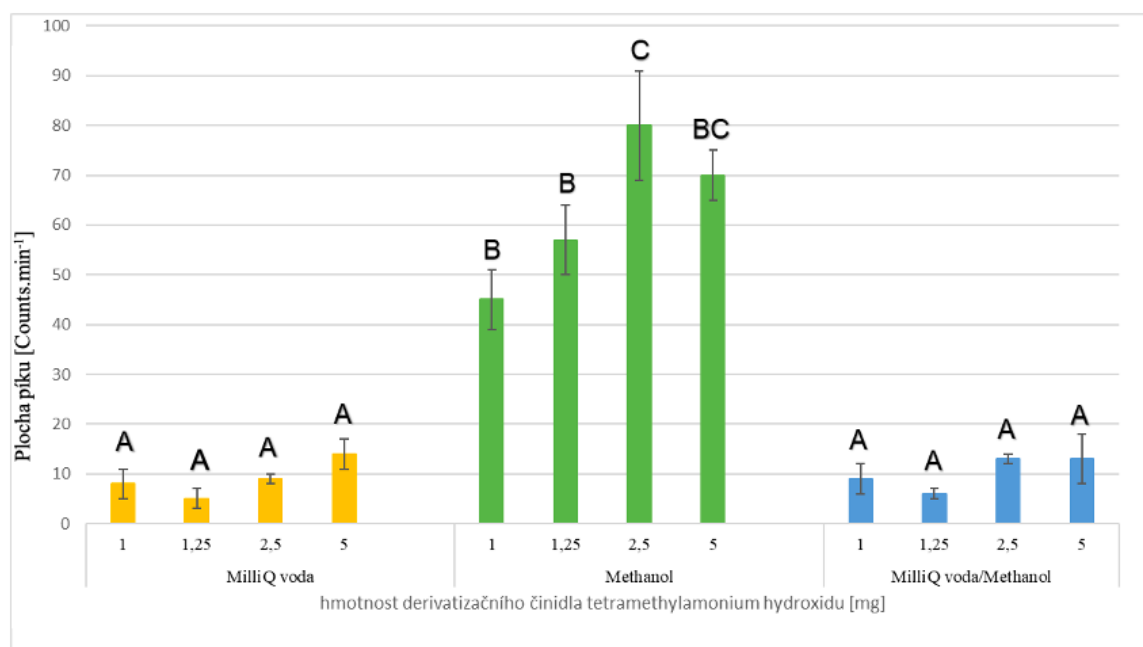
4.1.1.3. Derivatizační činidlo – TMAH

Mikroplastové částice PET (o velikosti 20-40 μm) byly použity pro optimalizaci užití derivatizačního činidla. Literatura se shoduje v užití chemické látky TMAH. Liší se však ve zvoleném rozpouštědle a přidaném objemu roztoku ke vzorku. Užívaným rozpouštědlem je například methanol, kdy je používáno například 10 μl 25% roztoku

TMAH (Fischer a Scholz-Böttcher, 2019; Käßpler a kol., 2018) nebo jako ve studii autorů Matsui a kol. (2020) 20 µl 5% roztoku TMAH. Dalším typem rozpouštědla je voda. Při této volbě rozpouštědla bylo do pyrolytického kalíšku přidáno 10 µl 25% roztoku (Fischer a Scholz-Böttcher, 2017; Gomiero a kol., 2019; Gomiero a kol., 2021).

Oproti tomu Ter Halle a kol. (2017) uvádí, že pro průběh procesu termochemolýzy bylo využito navážky 10 mg TMAH.

Během optimalizace v rámci této práce bylo zjištěno, že výběr rozpouštědla (methanol, Milli-Q voda a směs methanolu a Milli-Q vody v poměru 1:1) a přidaného objemu roztoku (4 µl, 5 µl, 10 µl, 20 µl) 25% TMAH, má signifikantní vliv na výslednou odezvu, tedy výšku a plochu píku. Odezva je význačně vyšší při užití samotného methanolu, jakožto rozpouštědla, a zároveň z Obrázku 5 vyplývá, že nejúčinněji derivatizace probíhá při přidaném objemu 10 µl 25% TMAH, tedy hmotnosti 2,5 mg derivatizačního činidla. Fischer a Scholz-Böttcher (2019) uvádí, že se přidáním TMAH zvyšuje citlivost metody Pyr-GC-MS především pro PET a PC (polykarbonát) oproti ostatním plastům, které ve své studii analyzovali.



Obrázek 5: Optimalizace rozpouštědla derivatizačního činidla – porovnání ploch píků [Counts.min⁻¹] odezvy anthracenu o hmotnosti 50 ng v různých koncentracích derivatizačního činidla TMAH v kombinaci s různými typy rozpouštědel (milliQ voda, methanol, a roztok mi milliQ vody s methanolem v poměru 1:1). Písmena (A, B, BC, C) odpovídají statisticky významné odlišnosti odezvy po statistickém vyhodnocení (one way Anova post-hoc Tuckey test, $p=0,05$).

4.1.2. Pyr-GC-MS

Pro optimalizaci a nastavení parametrů analytické metody Pyr-GC-MS bylo vyhodnoceno jako nejvýhodnější nejdříve proměřit optimální nastavení průtoku děliče toku (tzv. splitteru) a prověřit nejrůznější kombinace s nastavením počáteční teploty kolony na známých hodnotách vnitřního standardu anthracenu a polymeru PET z dřívějšího měření. To vše se provádělo při standardní teplotě pyrolýzy 600 °C. Dalším krokem byla právě optimalizace teploty pyrolytického stupně a následovala finální detekce daných polymerů, sestavení kalibračních přímků a ověření metody na analýze reálného vzorku ze životního prostředí.

4.1.2.1. Dělič toku a typ předkolony

Vzhledem k tomu, že při našem uspořádání přístroje Pyr-GC-MS dochází k pyrolytickému zplynění analytu ve velkém mrtvém objemu, který přechází následně v místě injektoru do úzké kapiláry kolony, je důležité zajistit, že do kolony vstoupí reprodukovatelné množství pyrolytických fragmentů vzorku, které jsou následně na hmotnostním spektrometru analyzovány. Mezi hlavní parametry tohoto faktoru bylo zařazeno zvolení módu děliče, včetně nastavení jeho průtoku ($\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$), posunutí počátečního bodu teplotního programu kolony a jejich vzájemné kombinace. Dále také možnost přidání předkolony pro zlepšení vlastností detekce.

Optimální průtok děliče byl měřen na základě relativní odezvy Pyr-GC-MS při analýze vnitřního standardu anthracenu o hmotnosti 50 ng v objemu 20 μl DCM. Ostatní parametry metody byly zvoleny dle uvedených podmínek v kapitole 3.2. Metodika. Bylo potřeba zajistit optimální podmínky pro sorpci analyzovaných látek na kapiláře kolony, ale zároveň snížit sorpci možné matrice, která by mohla analýzy znehodnotit. Odezva byla tedy měřena při průtoku děličem 50 $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$, 80 $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$ a 110 $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$ a následně porovnána. V Tabulce 3 jsou uvedeny odezvy vnitřního standardu (anthracenu) v tzv. counts, tedy dopadech iontů na elektronový násobič hmotnostního detektoru. Výsledná data ukazují, že průtok děličem 50 $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$, má největší hodnoty odezvy a je tedy optimální pro detekci a reprodukovatelnost výsledků při budoucích analýzách.

Tabulka 3: Porovnání různých průtoků děliče – relativní odezva Pyr-GC-MS anthracenu. Průtok děliče byl analyzován ve třech nastaveních: 50 ml.m⁻¹ (SP 50), 80 ml.m⁻¹ (SP 80) a 110 ml.m⁻¹ (SP 110). Uveden je vždy průměr ze tří naměřených hodnot a relativní směrodatná odchylka [%]. Hodnoty jsou zobrazeny v relativních jednotkách kiloCounts pro výšku a v kiloCounts.min⁻¹ pro plochu píku odezev vnitřního standardu anthracenu o hmotnosti 50 ng.

Relativní odezva Pyr-GC-MS anthracenu

	Plocha píku [counts.min ⁻¹]		Výška píku [counts]	
	průměr	RSD [%]	průměr	RSD [%]
SP 50	583	12	13	5
SP 80	166	30	8	22
SP 110	20	60	2	59

Optimalizace průtoku děliče byla doplněna přidáním předkolony. Předkolona, o větším vnitřním průměru než samotná kolona, napomáhá vyšší pravděpodobnosti vstupu jednotlivých analytů a umožňuje tedy jejich následnou analýzu. Testovány byly dva druhy předkolon. Obě předkolony byly o stejných rozměrech (délka 2 m, vnitřní průměr 0,53 mm). Jedna byla bez sorpčního filmu, tzv. retention gap ve formě křemenné kapiláry a druhá s univerzálním sorpčním filmem o tloušťce 0,25 μm (Rtx-1; Restek, USA).

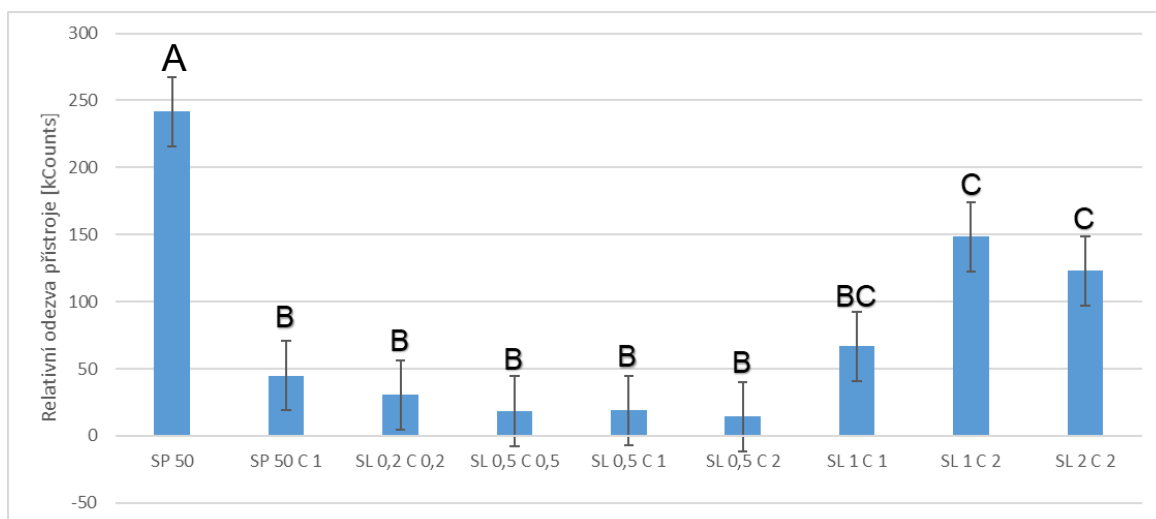
Různé nastavení děliče, teplotních programů předkolony a jejich následné kombinace, byly měřeny při použití obou kolon, a následně tato data byla porovnána mezi sebou. Porovnání vlivu na relativní odezvu přístroje lze vidět na Obrázku 6 (předkolona Rtx-1) a Obrázku 7 (křemenná kapilára). Z dat sice vyplývá, že se liší nejvhodnější nastavení děliče a teplotního režimu předkolony pro jednotlivé typy předkolon, ovšem celkově bylo vyšších odezev docíleno při aplikaci předkolony se sorpčním filmem a jako vhodnější byla tedy zvolena předkolona typu Rtx-1. Univerzální sorpční film, který předkolona obsahuje, zajišťuje zvýšenou sorpci vznikajících chemických látek pyrolytickým štěpením a tím rovněž zvyšuje vstup analytů do kolony.

Na Obrázku 6 a Obrázku 7 na str. 45 jsou znázorněny výsledky odezev anthracenu při různých teplotních podmínkách kolony a jejich kombinace s děličem. Dělič může být buď v základním nastavení, kdy je dělič po celou dobu analýzy otevřen a nebo v tzv. split/splitless modu, kdy je dělič po určitou dobu zavřen a posléze otevřen.

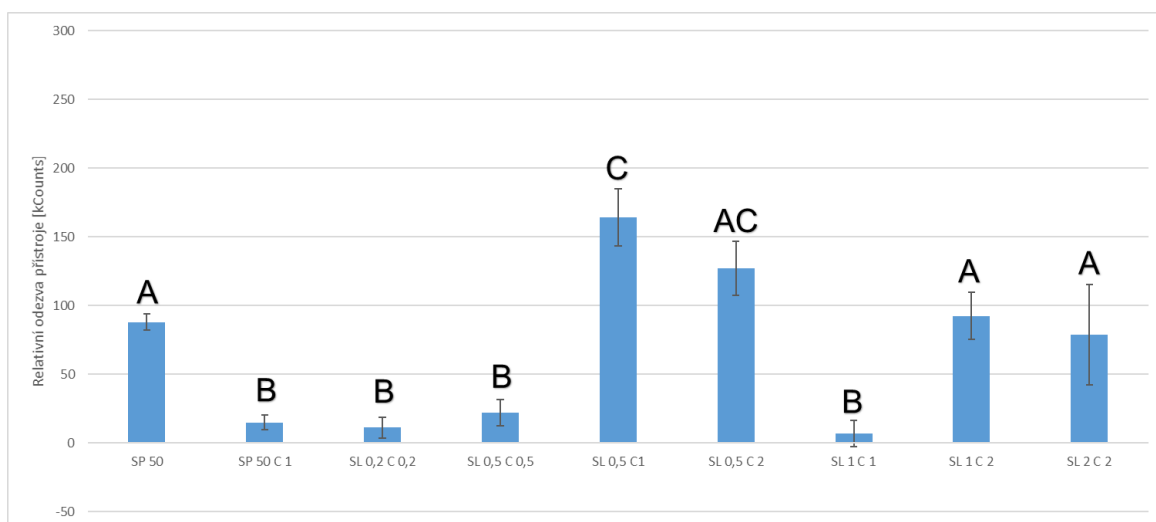
Pro zjištění, jaká kombinace je nejvýhodnější, bylo naměřeno hned několik variant. Průtok děliče byl pevně nastaven na 50 ml.m^{-1} pro všechny měřené kombinace. Z Obrázku 6 na str. 45 vyplývá, že nejvyšších odezev a zároveň nejnižších odchylek při analýze, která probíhala za použití vnitřního standardu anthracenu (o hmotnosti 50 ng), dochází při užití pouze otevřeného děliče s průtokem 50 ml.m^{-1} bez jiných úprav teplotního režimu předkolony.

Teplotní program plynového chromatogramu byl nastaven na teplotní gradient $45\text{-}240 \text{ }^\circ\text{C}$ ($13.0 \text{ }^\circ\text{C.min}^{-1}$) (viz. kapitola 3.2.4. Pyr-GC-MS). Ostatní parametry metody byly nastaveny dle kapitoly 3.2. Metodika.

Vzhledem k různým vlastnostem pyrolytických aparatur lze tyto parametry zařadit mezi ty, které je třeba ověřit čistě na základě empirických dat. Například Fries a kol. užívali průtok nosného plynu (helium) děličem 60 ml.min^{-1} . V čase 0,01 minuty proběhlo zavření děliče na jednu minutu a poté byl opět otevřen po zbytek analýzy (Fries a kol., 2013). Některé studie uvádí dělicí poměr a nastavení děliče v závislosti na hmotnosti a rozměrech analyzovaných částic (Hendrickson a kol., 2018; Hermabessiere a kol., 2018; Ter Halle a kol., 2017). Ter Halle a kol. (2017) použili pro nanoplastové částice průtok děliče 5 ml.min^{-1} , pro mikrometrové plastové částice 10 ml.min^{-1} , a 100 ml.min^{-1} pro mezoplasty a komerčně vyráběné plastové pelety. Poměr průtoku kolony a děliče 1:100 byl finálně zvolen také například ve studii Hendrickson a kol. (2018) pro částice těžší než $20 \text{ }\mu\text{g}$ a částice lehčí než $20 \text{ }\mu\text{g}$ byly analyzovány při kombinaci zavření a otevření děliče. Fisher a Sholz-Böttcher (2017) uvádí poměr průtoku kolony a děliče 1:15 s užitím split/splitless módu, bez podrobnějších informací o časovém rozložení těchto parametrů.



Obrázek 6: Porovnání nastavení děliče, teplotního programu předkolony Rtx-1 a jejich kombinací. Otevřeným děličem proudilo helium o průtoku $50 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ (SP 50). (SL) Split/splitless mód s dobou jeho uzavření v minutách (0,2; 0,5; 1 a 2). Posunutí startu teplotního gradientu (C) v minutách (0,2; 0,5; 1; 2). Písmena (A, B, BC, C) odpovídají statisticky významné odlišnosti odezvy po statistickém vyhodnocení (one way Anova post-hoc Tuckey test, $p=0,05$).



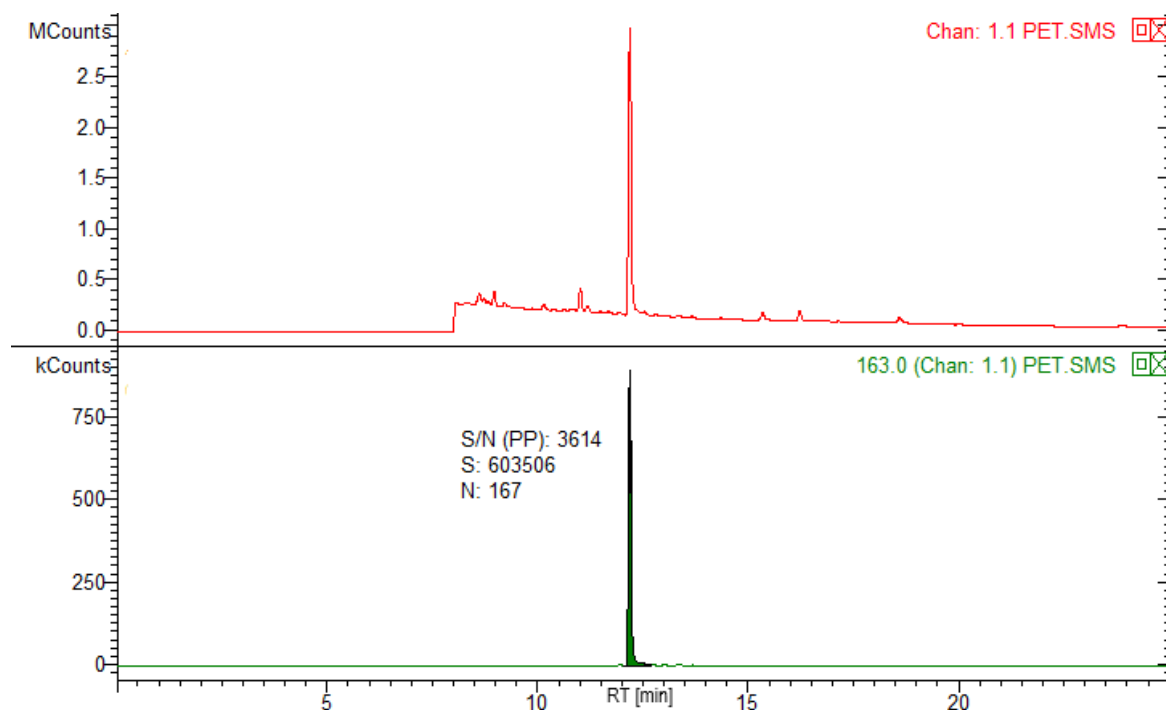
Obrázek 7: Porovnání nastavení děliče, teplotního programu předkolony ve formě křemenné kapiláry a jejich kombinací. Otevřeným děličem proudilo helium o průtoku $50 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ (SP 50). (SL) Split/splitless mód s dobou jeho uzavření v minutách (0,2; 0,5; 1 a 2). Posunutí startu teplotního programu předkolony (C) v minutách (0,2; 0,5; 1; 2). Písmena (A, B, BC, C) odpovídají statisticky významné odlišnosti odezvy po statistickém vyhodnocení (one way Anova post-hoc Tuckey test, $p=0,05$).

4.1.2.2. Analýza vybraných polymerů

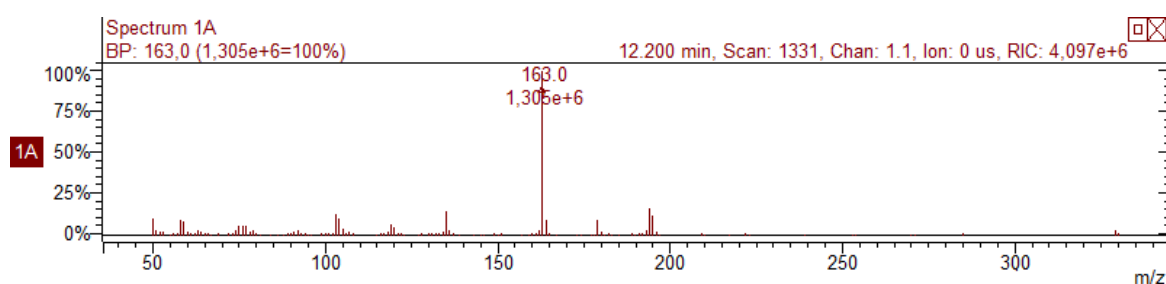
Detekce pyrolytických produktů jednotlivých plastů (PET, PP a PS) probíhala při teplotě 600 °C za daných podmínek (viz kapitola 3.2. Metodika). Výběr charakteristických iontů, které umožňují specifickou detekci polymerů, probíhal na základě publikovaných dat (Fischer a Scholz-Böttcher, 2019; Fries a kol., 2013; Hermabessiere a kol., 2018) a dle knihovny hmotnostních spekter NIST 2008. Výběr specifického iontu a jejich retenční časy se napříč literaturou liší a závisí na pyrolytických podmínkách daného zařízení. Níže jsou uvedeny vybrané ionty, na základě kterých byly naměřeny koncentrační řady pro jednotlivé polymery při obou optimálních teplotách pyrolýzní pece (500 a 600 °C), vytvořeny jejich kalibrační přímky a porovnány mezi sebou.

Polyethylen tereftalát

Ve vzorku standardu PET, byl signifikantním iontem určen ion 163 m/z (zvýrazněn na Obrázku 8, str. 47) pro dimethyl tereftalát (Fischer a Scholz-Böttcher, 2019; Gomiero a kol., 2019; Käßpler a kol., 2018; Matsui a kol., 2020) v retenčním čase 12,20 min. Jeho referenční spektrum je zobrazeno na Obrázku 9, str. 47.



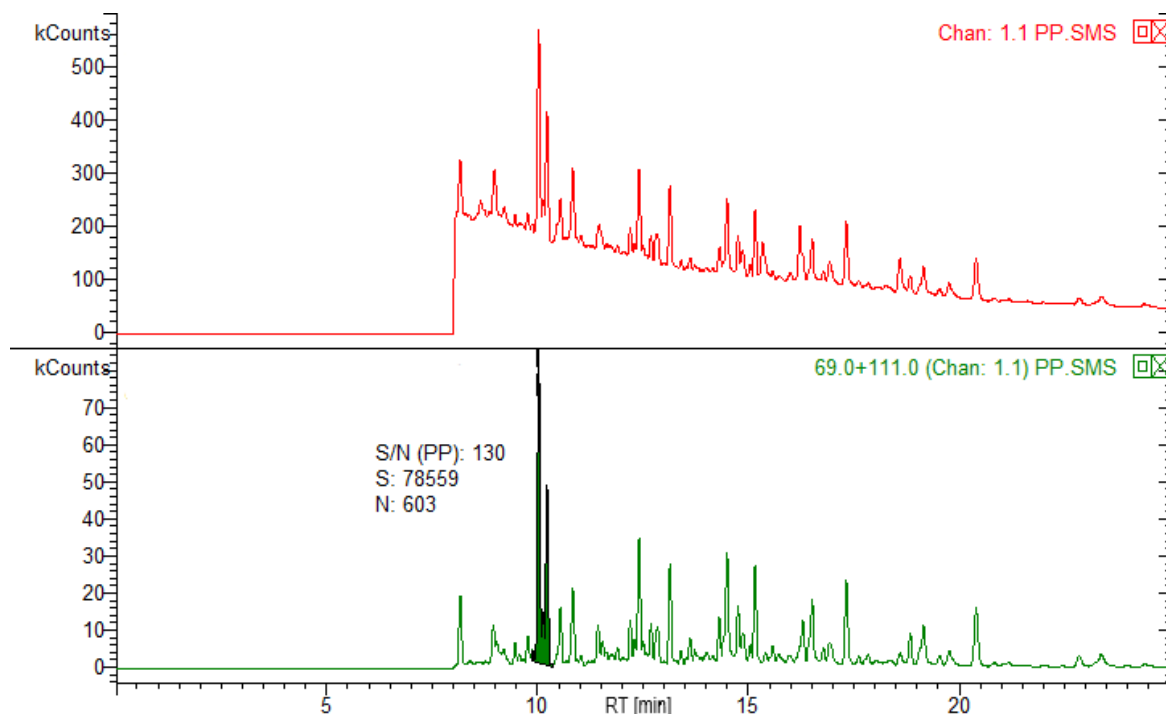
Obrázek 8: Chromatogram PET (hmotnost 10 μg). Červeně chromatogram s celkovým iontovým proudem (tzv. TIC), zeleně vyfiltrován ion 163 m/z. V obou chromatogramech zvýrazněn ion 163 m/z pro dimethyl tereftalát s RT 12,20 min. Uveden je i S/N (z ang. signal to noise), který uvádí poměr signál:šum.



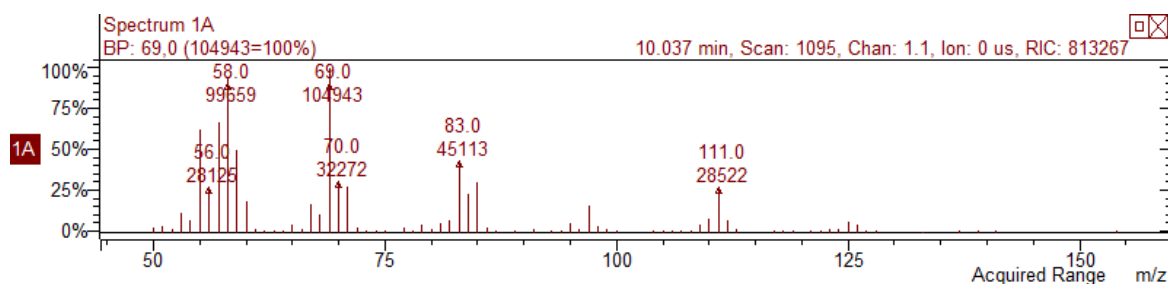
Obrázek 9: Hmotnostní spektrum iontu 163 m/z (dimethyl tereftalát) pro identifikaci PET (hmotnost 10 μg), RT 12,20 min

Polypropylen

Polypropylen byl identifikován na základě pyrolytického produktu 2, 4, 6, 8-tetramethyl-1-undecen v intervalu retenčního času 9,97-10,32 min., který se vyskytuje ve třech izomerech. Konkrétně byly vybrány ionty 69 a 111 m/z (Fischer a Scholz-Böttcher, 2019; Gomiero *akol.*, 2019) (zvýrazněn na Obrázku 10, str. 48). Referenční spektrum této látky je zobrazeno na Obrázku 11, str. 48.



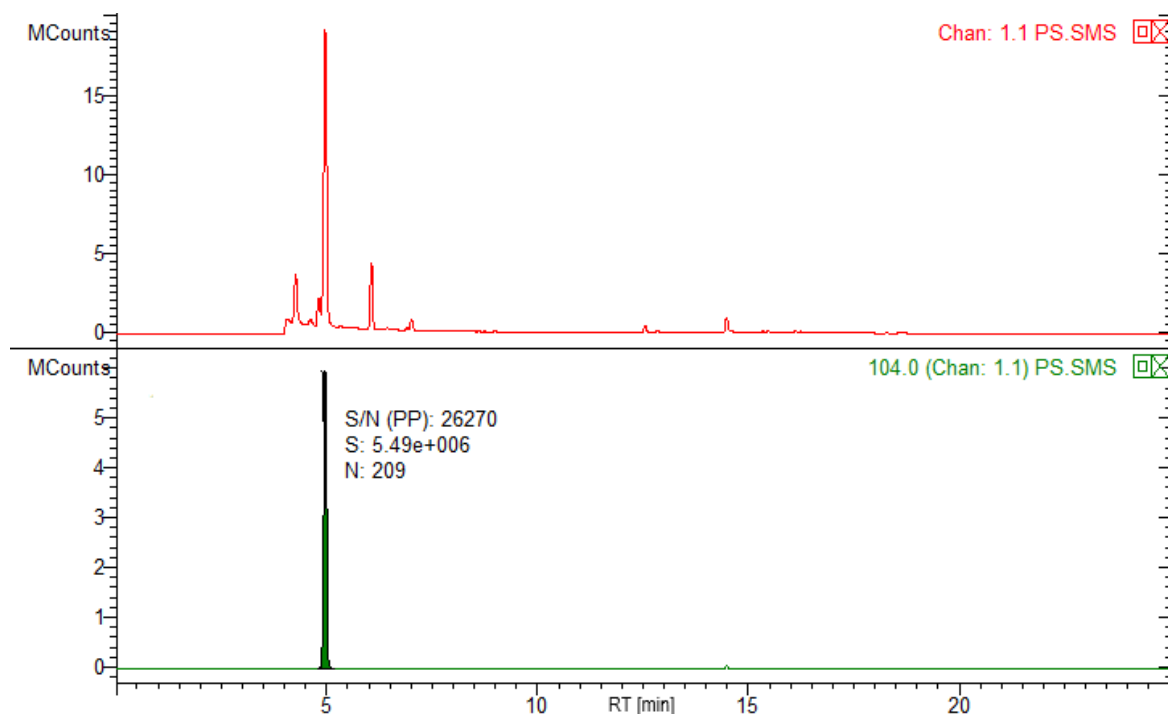
Obrázek 10: Chromatogram PP (hmotnost 10 μg). Červeně chromatogram s celkovým iontovým proudem (tzv. TIC), zeleně vyfiltrovány ionty 69 a 111 m/z. V obou chromatogramech zvýrazněn trojitý pík iontů 69 a 111 m/z pro 2, 4, 6, 8-tetramethyl-1-undecen ve třech izomerech, interval RT = 9,97 - 10,32 min. Uveden je i S/N (z ang. signal to noise), který uvádí poměr signál:šum.



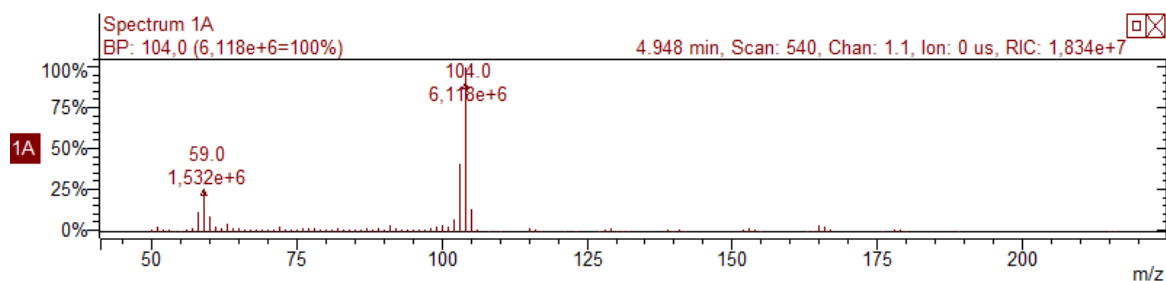
Obrázek 11: Hmotnostní spektrum iontu 69 a 111 m/z (2, 4, 6, 8-tetramethyl-1-undecen) pro identifikaci PP (hmotnost 10 μg), RT 10,04 min.

Polystyren

Dalším polymerem, který byl identifikován, byl polystyren. Jako signifikantní ion byl zvolen ion 104 m/z (Fischer a Scholz-Böttcher, 2019; Hendrickson a kol., 2018; Hermabessiere a kol., 2018) pro styren (zvýrazněn na Obrázku 12, str. 49) v retenčním čase 4,95 min. Obrázek 13, str. 49 zobrazuje referenční spektrum tohoto iontu.



Obrázek 12: Chromatogram PS (10 µg). Červeně chromatogram s celkovým iontovým proudem (tzv. TIC), zeleně vyfiltrován ion 104 m/z. V obou chromatogramech zvýrazněn ion 104 m/z pro styren s RT 4,95 min. Uveden je i S/N (z ang. signal to noise), který uvádí poměr signál:šum.



Obrázek 13: Hmotnostní spektrum iontu 104 m/z (styren) pro identifikaci PS (hmotnost 10 µg), RT = 4,95 min.

Kalibrační přímky polymerů

Optimální hmotnostní (koncentrační) rozsah analytů pro užití metody Pyr-GC-MS při analýzách mikroplastů závisí především jednak na typu separačního a detekčního zařízení, ale také na typu polymeru.

Při analýzách se měřené hmotnosti mikroplastových částic daných polymerů (PET, PP a PS) pohybovaly v rámci jednotek až stovek nanogramů. Většina publikací uvádí detekované mikroplastové fragmenty minimálně o řád vyšší. Fries a kol. (2013) detekovali separované částice ze sedimentů v rozmezí 10-350 µg. Ve studii byly zahrnuty následující typy polymerů: PVC, PC, PET, PE, PP, polyurethan (PUR),

akrylonitrilbutadienstyren (ABS) a nylon 6 (PA-6). V rozmezí 0,1-4,7 mg se pohybovaly mikroplasty (PE, PP, PVC, PS a PET) analyzované dle Hendrickson a kol. (2018) ze vzorků vody. Limitující zde bylo ruční vážení a separace jednotlivých částic pro přípravu k následné analýze. Stejně tak ve studii Fischer a Scholz-Böttcher (2019) byla nejnižší možná navážka mikroplastických částic: PVC, PS, polymethylmethakrylát (PMMA), PE, PP, PA, PET a PC určena citlivostí analytických vah (minimum 0,0001 mg a zajištění reprodukovatelnosti při 0,0025 mg).

Oproti tomu Zhou a kol. (2019) se pohybují ve své práci již v rozmezí 0,1-10 µg při detekci PS a PMMA. Nejnižší limity detekce jsou publikovány v práci Hermabessiere at al. (2018), kdy při analýzách všech detekovaných polymerů (PE, PS, PMMA, PA-6, PP, PET, PC a PVC) nabývají hodnot v řádech desítek nanogramů. Stejně tak Funck a kol. (2020), který se při analýzách PS dokonce dostal na jednotky nanogramů.

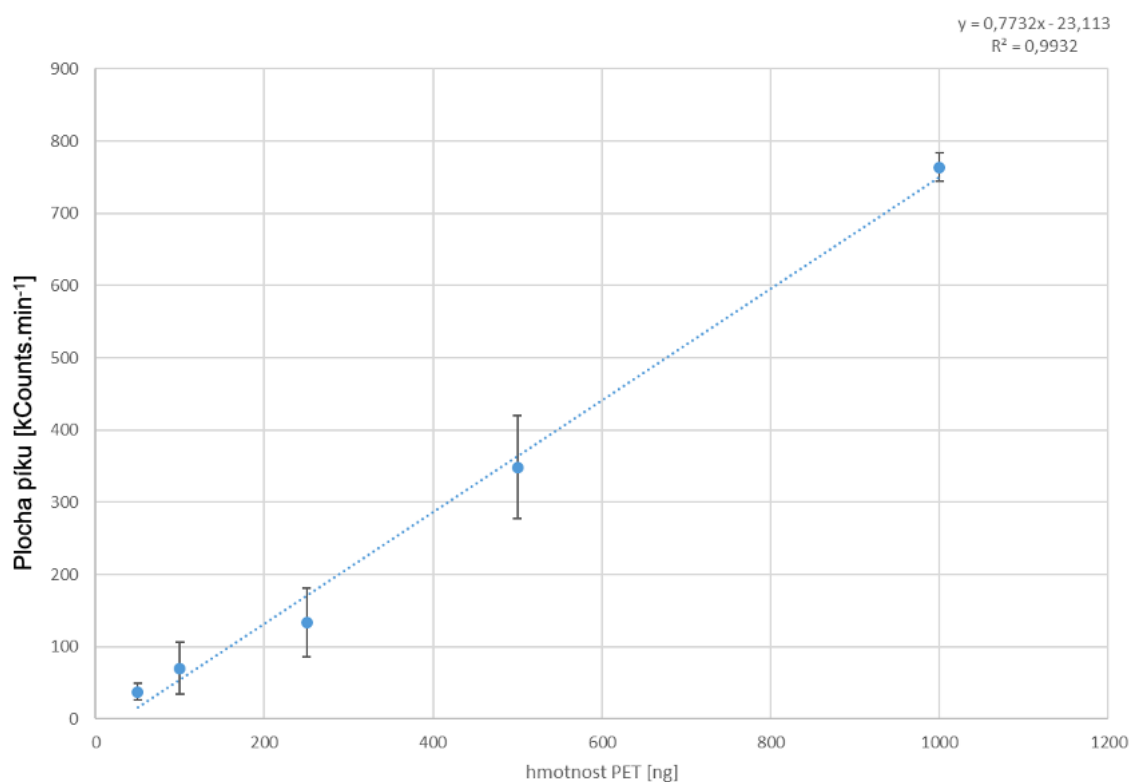
Celkově získané kalibrační křivky polymerů (v rozmezí: 50–1000 ng pro PET a PP, 50-700 ng pro PS) vykazují dlouhodobě stabilní relativní odezvy přístroje (viz kalibrační křivky níže – Obrázek 14 - Obrázek 19, str. 51-54). Všechny body kalibračních přímk jsou vždy průměrem ze tří měření. Svislé chybové úsečky reprezentují směrodatnou odchylku. Veškeré měřené kalibrační křivky mají lineární charakter.

Korelační koeficient (R^2) pro PET (Obrázek 14 a Obrázek 15) se při porovnání různých teplot (500 °C – $R^2 = 0,993$; 600 °C – $R^2 = 0,994$) pyrolytického štěpení nijak výrazně neliší. Liší se však celková odezva jeho specifického iontu (163 m/z), která je při pyrolytické teplotě 600 °C přibližně 1,4 krát větší. Gomiero a kol. (2019) docílili při sestavení jejich kalibrační přímk pro PET hodnot $R^2 = 0,979$ a Fischer a Scholz-Böttcher (2019) ve své práci pouhých $R^2 = 0,90$. Přičemž obě studie analyzovali částice PET o hmotnostech v řádech mikrogramů.

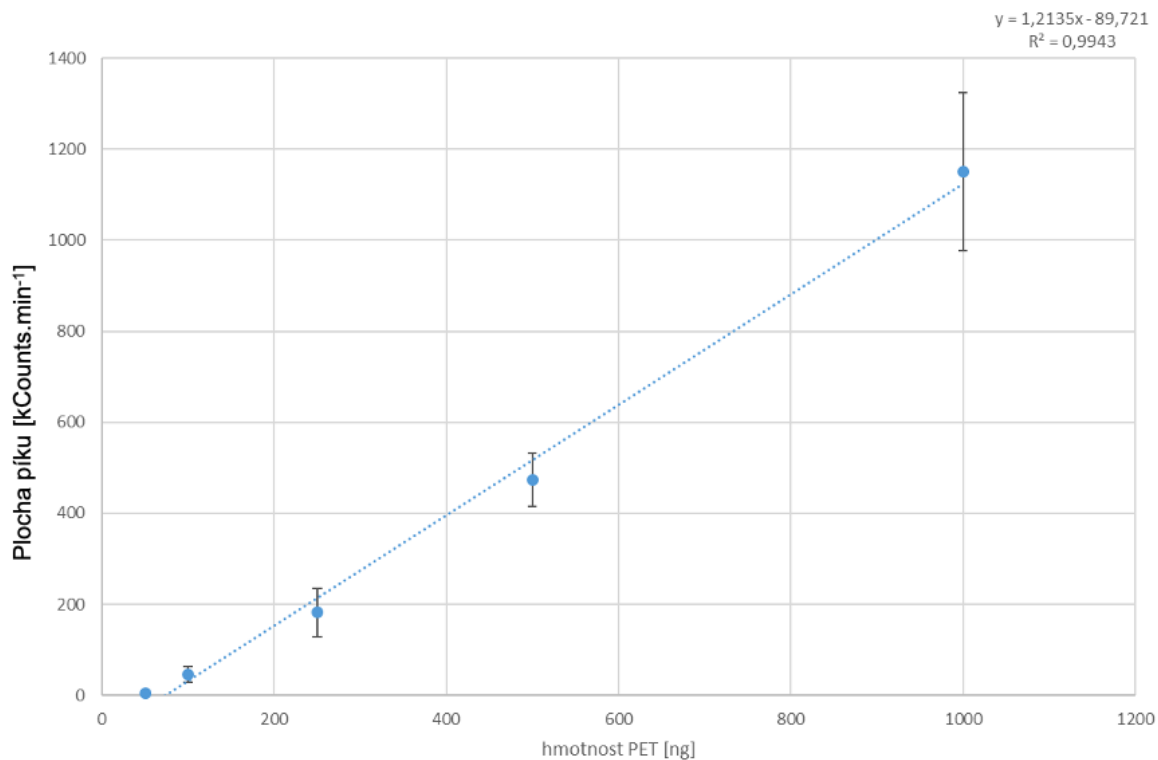
U měření a zhotovení kalibračních přímk polypropylenových částic byly zaznamenány největší rozdíly mezi aplikovanými teplotami nejen ve velikosti odezev, ale také pro hodnotu korelačního koeficientu. Odezvy byly, jak se předpokládalo, nižší při nastavení pyrolýzní pece na 500 °C, přibližně 1,6 krát nižší u horních hodnot kalibrační přímk, zatímco nejnižší hodnoty byly nižší 1,2 krát. R^2 při 500 °C nabývalo hodnoty 0,977 a při 600 °C hodnoty 0,995. Zde se tedy ukazuje, že pro analýzu PP s danou přístrojovou soustavou je výhodnější používat teplotu pyrolýzní pece

při 600 °C. V literatuře se korelační koeficient R^2 pro PP pohybuje v rozmezí 0,960-0,998 (Fischer a Scholz-Böttcher, 2019; Gomiero a kol., 2019; Dierkes a kol., 2019).

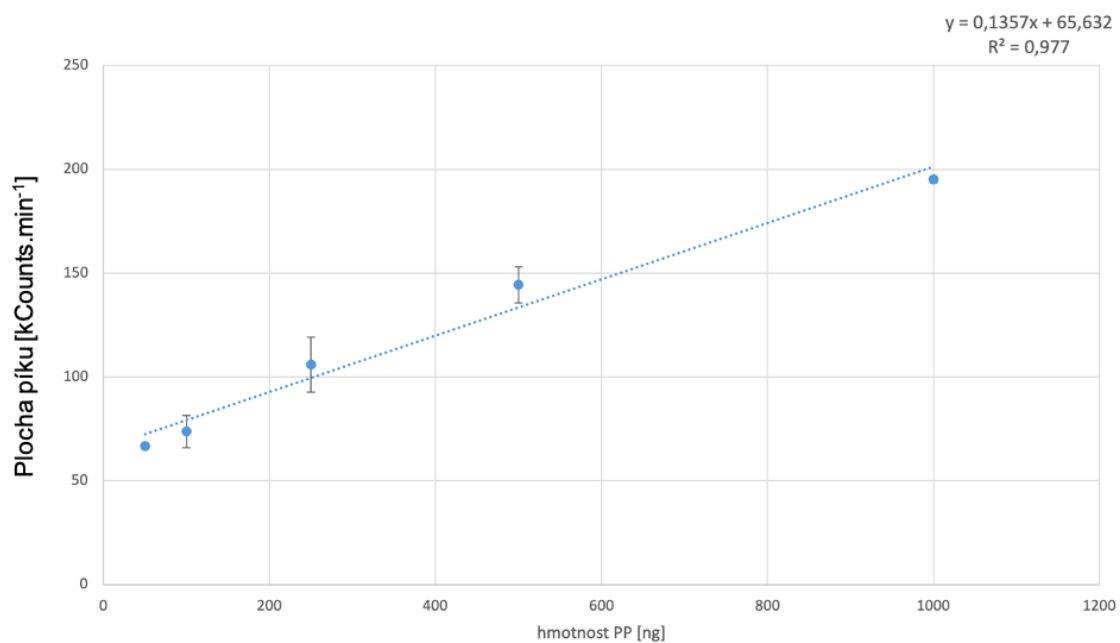
Polystyren ze všech tří analyzovaných polymerů vykazoval nejpřesnější výsledky. Opět, stejně jako u předešlých dvou typů plastů, byly odezvy přibližně 1,5 krát vyšší při pyrolyzní teplotě 600 °C. Pro PS byla ovšem upravena koncentrační řada, jelikož od hodnoty 700 ng linearita prudce klesá a proto byla kalibrační řada ukončena posledním lineárním bodem (m PS = 700 ng). Korelační koeficient dosáhl nejvyšších hodnot ze všech naměřených kalibračních křivek a to $R^2 = 0,994$ při 500 °C a $R^2 = 0,996$ při 600 °C. Stejně tak v literatuře je PS nejbližší dokonalé pozitivní závislosti ze všech měřených polymerů. Dierkes a kol. (2019), Fanck a kol. (2020), Fischer a Scholz-Böttcher (2019) a Zhou a kol. (2019) uvádí R^2 kalibračních křivek PS mezi hodnotami 0,991-0,997. Gomiero a kol. (2019) hodnotu $R^2 = 0,936$.



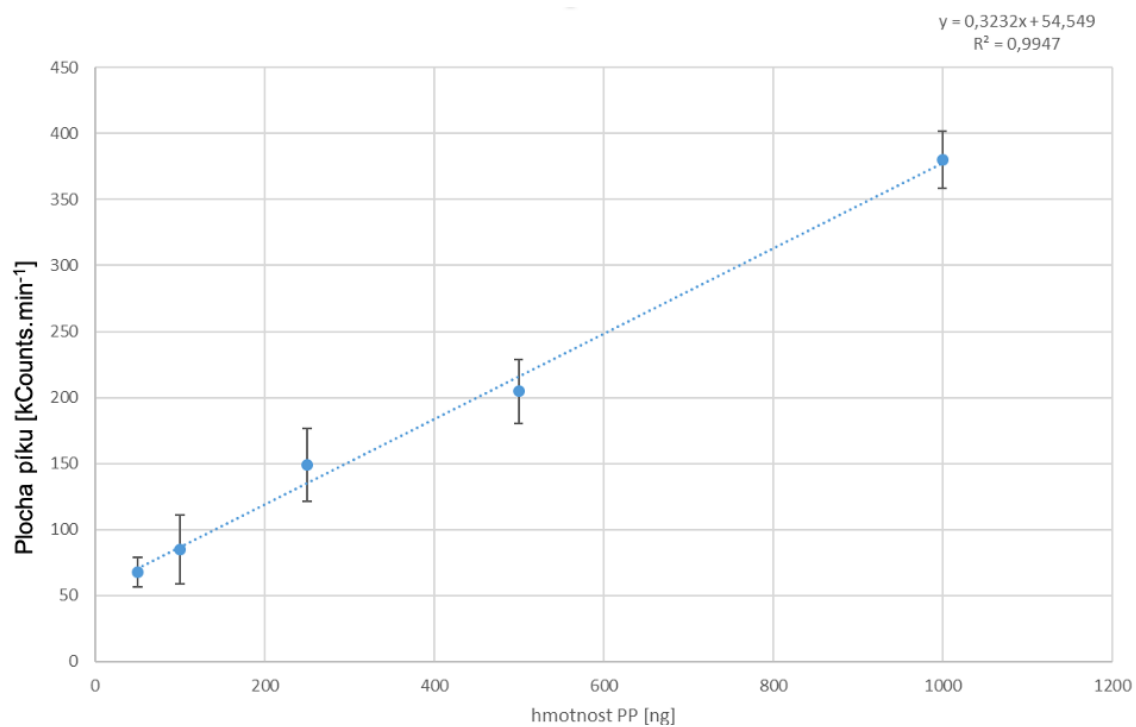
Obrázek 14: Kalibrační přímka polyethylen tereftalátu (PET) při pyrolytické teplotě 500°C, dle iontu 163 m/z, RT = 12,20 min.



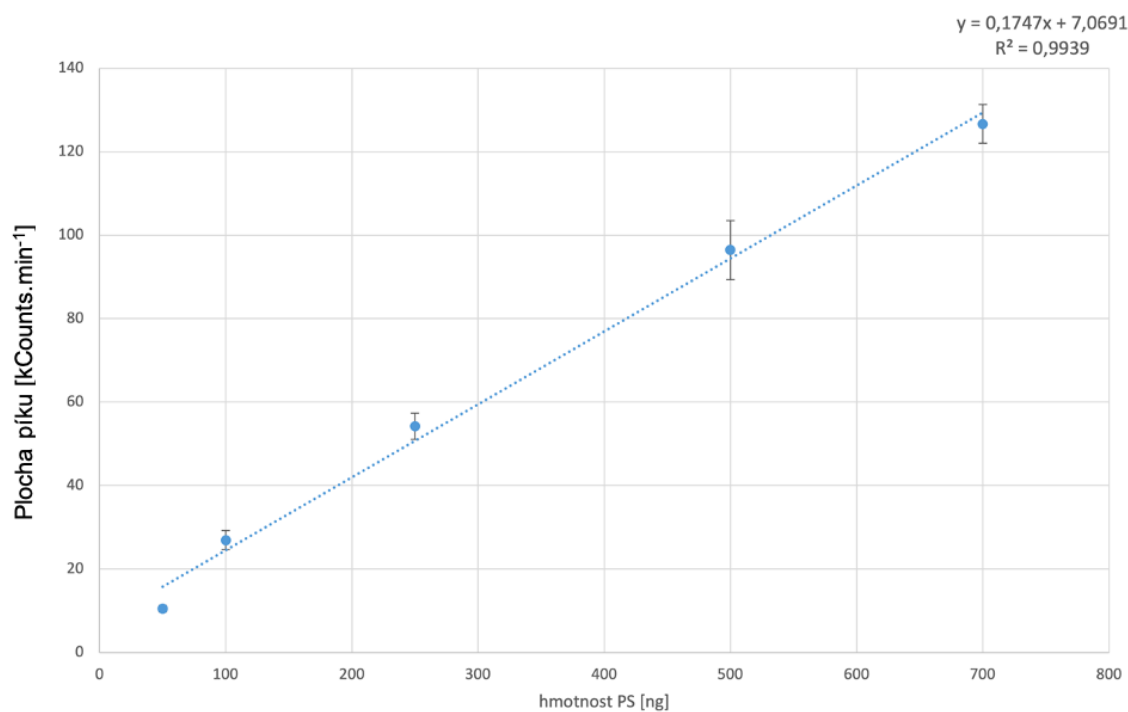
Obrázek 15: Kalibrační přímka polyethylen tereftalátu (PET) při pyrolytické teplotě 600°C dle iontu 163 m/z, RT = 12,20 min.



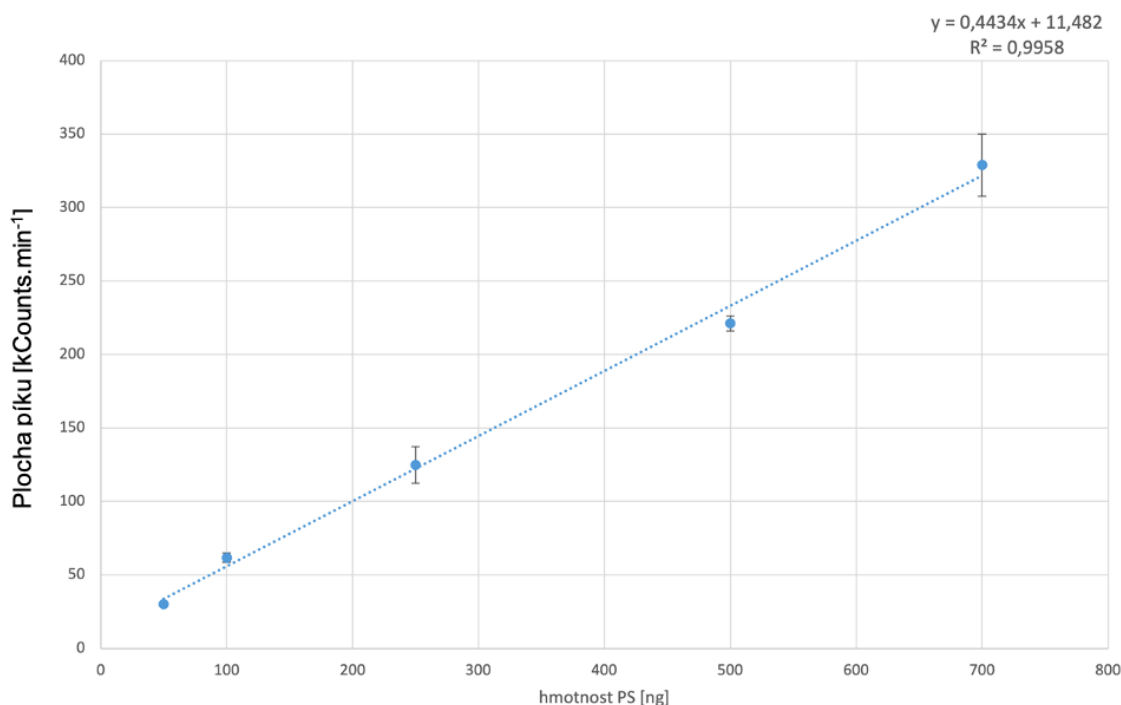
Obrázek 16: Kalibrační přímka polypropylenu (PP) při pyrolytické teplotě 500°C dle iontů 69 a 111 m/z, interval RT = 9,97 - 10,32 min.



Obrázek 17: Kalibrační přímka polypropylenu (PP) při pyrolytické teplotě 600°C dle iontů 69 a 111 m/z, interval RT = 9,97 - 10,32 min.



Obrázek 18: Kalibrační přímka polystyrenu (PS) při pyrolytické teplotě 500°C dle iontu 104 m/z, RT = 4,95 min

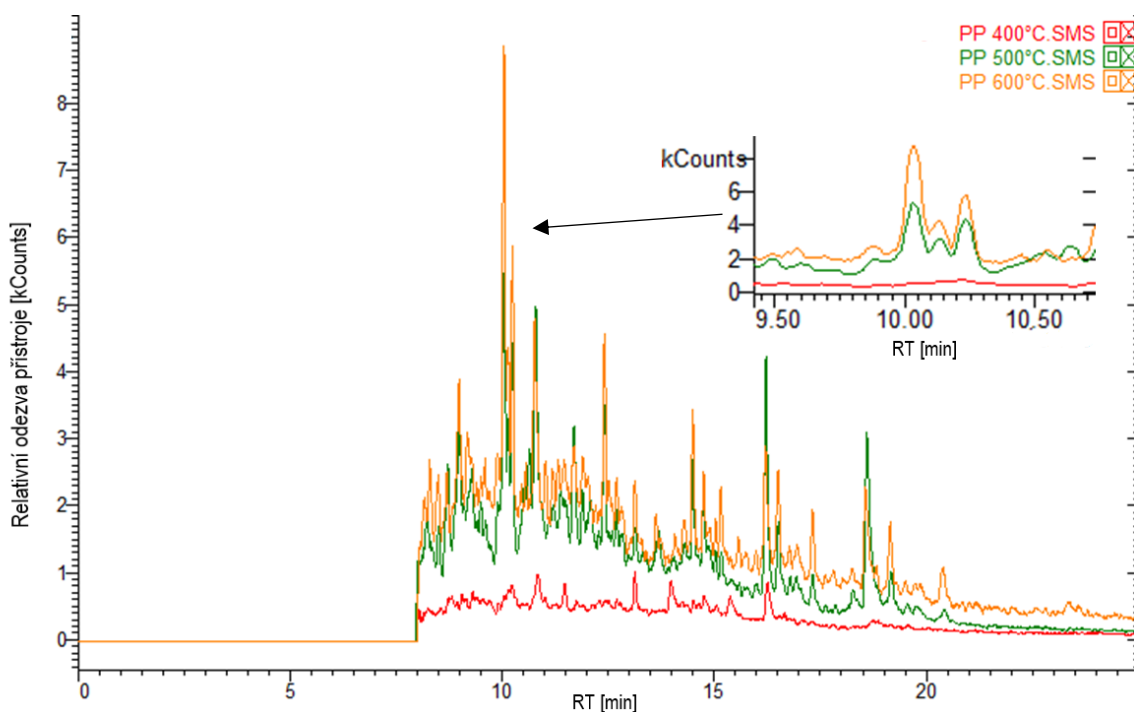


Obrázek 19: Kalibrační přímka polystyrenu (PS) při pyrolytické teplotě 600°C dle iontu 104 m/z, RT = 4,95 min

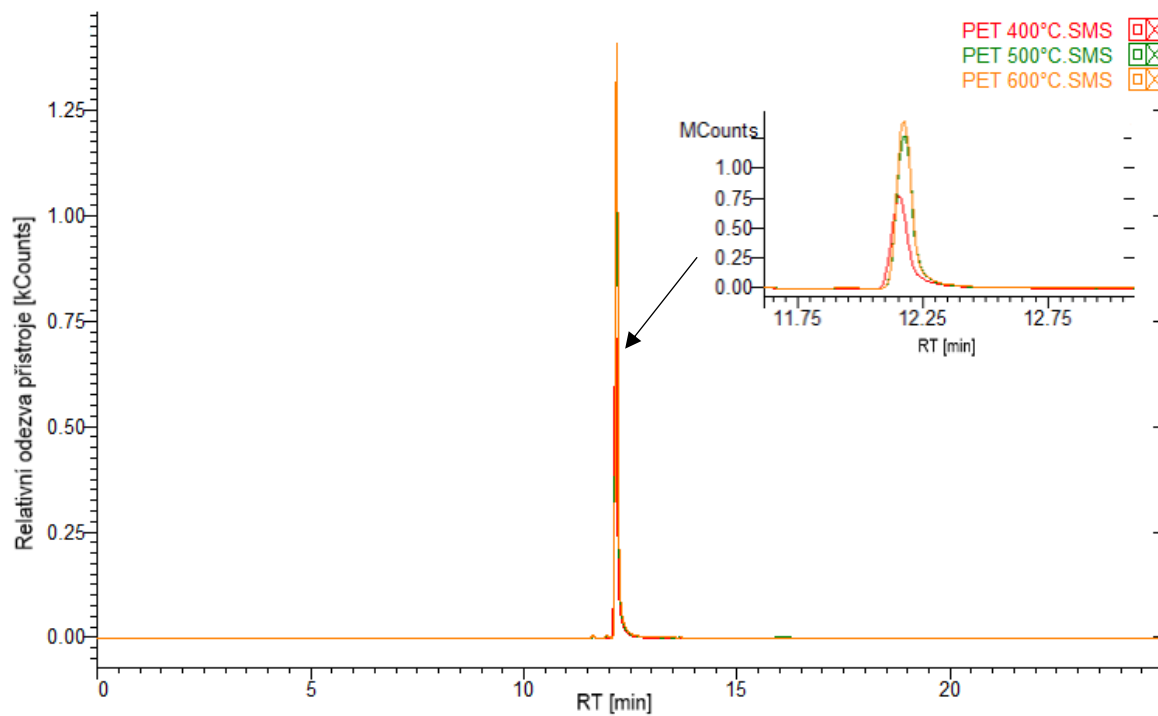
4.1.2.3. Pyrolýzní teplota

Mezi hlavní parametry, lišící se napříč publikacemi, je právě teplotní stupeň pyrolytického štěpení. Obvykle je při pyrolýze využívána teplota 600 °C. Při této teplotě vznikají optimální pyrolytické produkty, a zároveň se předpokládá lepší odezva hledaných látek. Tato teplota je tedy výchozí pro většinu měření a je tedy nejčastěji volenou teplotou pro analýzu mikroplastů (Dehaut a kol., 2016; Fischer a Scholz-Böttcher, 2017, 2019; Zhou a kol., 2019). Čím vyšší teplota, tím vyšší odezvy a větší pravděpodobnost, že daná látka bude podléhat pyrolytickému štěpení. Zvyšuje se ovšem i produkce dalších látek vznikajících z matrice, které mohou interferovat s detekcí cílových látek. Nejvyšší teploty pyrolýzy při analýze mikroplastů se dle literatury vyskytují kolem 700 °C (Fries a kol., 2013; Hermabessiere a kol., 2018; Ter Halle a kol., 2017; Ravit a kol., 2017) a oproti tomu nejnižší se nachází v rozmezí 300-500 °C. Přičemž u nižších teplot je třeba buď přítomnost derivatizačního činidla (Ter Halle a kol., 2017), či zakomponování termodesorpční jednotky (TDE) (Hendrickson a kol., 2018; Ter Halle a kol., 2017).

Během optimalizace byly porovnány tři různé teploty (400, 500 a 600 °C) za přítomnosti 10 µl derivatizačního činidla (TMAH) a mikroplastových částic (PET a PP) o celkové hmotnosti 1 µg. Při analýze PP bylo prokázáno, že při teplotě 400 °C nedochází k dostatečnému rozkladu polymerního řetězce a je třeba teplotu zvýšit (Obrázek 20). Během analýzy PET pyrolytické štěpení probíhalo při všech testovaných teplotách (Obrázek 21, str. 56), ale odezva při 400 °C byla nejnižší a rovněž byla vyhodnocena jako nevhodná pro další měření. Rozdíl mezi naměřenými odezvami při teplotě 500 °C a 600 °C nebyl nijak výrazný. Proto byly při těchto dvou teplotních podmínkách (500 a 600 °C) naměřeny různé koncentrace daných polymerů a sestaveny jejich kalibrační přímky, které byly následně porovnány. Zvolení pyrolýzní teploty se finálně odvíjí rovněž dle matrice vzorku, tak aby pozadí měřené analýzy bylo co nejnižší.



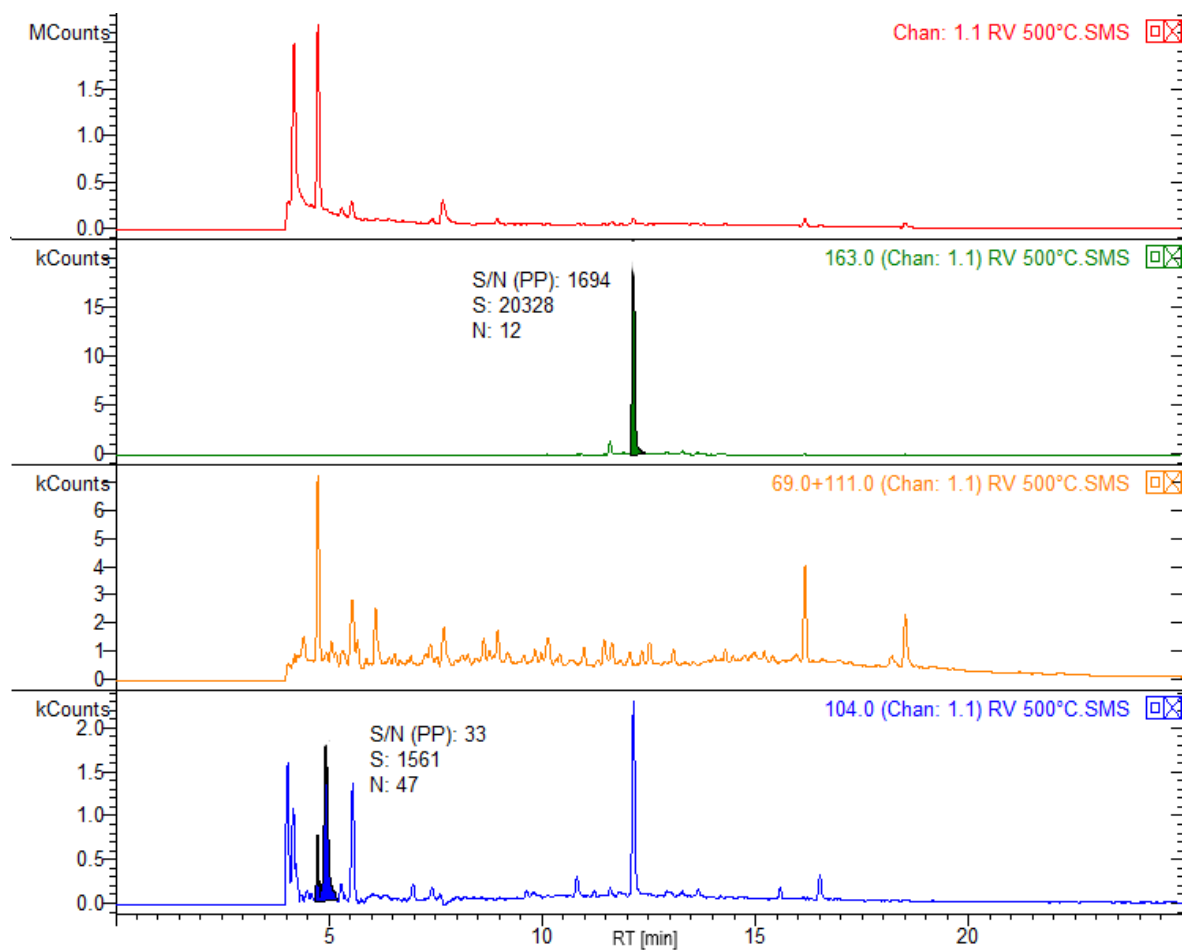
Obrázek 20: Pyr-GC-MS chromatogram PP mikročástic - porovnání teplot pyrolytického štěpení. 400 °C (červená odezva), 500 °C (zelená odezva) a 600 °C (žlutá odezva) tři charakteristických pyrolytických produktů (2, 4, 6, 8-tetramethyl-1-undecen ve třech izomerech) PP v retenčním intervalu 9,97 - 10,32 min.



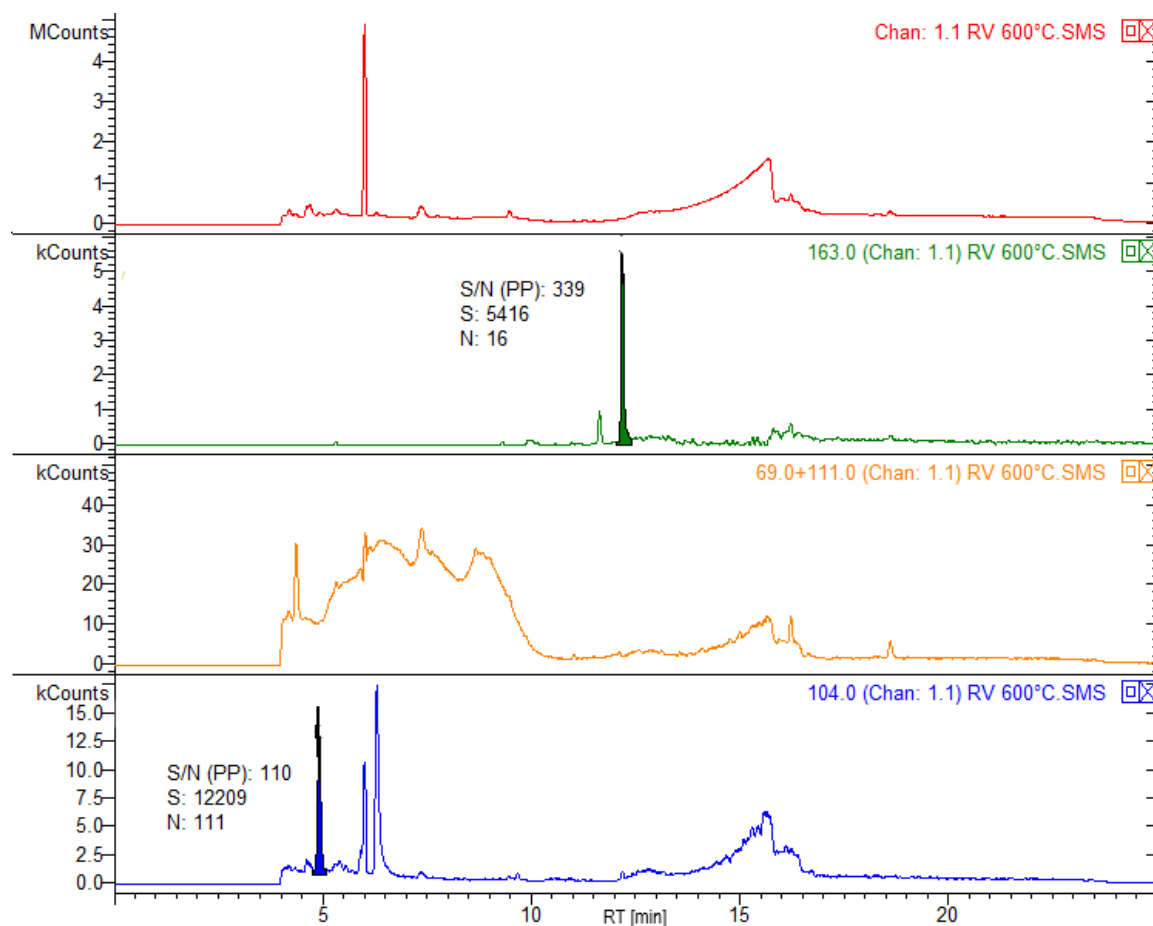
Obrázek 21: Pyr-GC-MS chromatogram PET mikročastic - porovnání teplot pyrolytického štěpení. 400 °C (červená odezva), 500 °C (zelená odezva) a 600 °C žlutá odezva charakteristického pyrolytického produktu (dimethyl tereftalát) PET s retenčním časem 12,20 min.

4.1.2.4. Analýza reálného vzorku

Metoda byla nakonec testována na reálném vzorku ze životního prostředí. Vzorek čistírenského kalu byl připraven k analýze dle parametrů v kapitole 3.2.5. Metodika. Na Obrázku 22, str. 58 a Obrázku 23, str. 59 jsou znázorněné chromatogramy při celkovém iontovém toku a sestojené z vybraných charakteristických iontů pro PET (163 m/z) a PS (104 m/z). PP ve vzorcích nebyl detekován. Je velice nepravděpodobné, že se částice PP ve vzorcích čistírenských kalů budou vyskytovat. Jak je již uvedeno v kapitole 2.2.1.3. Odpad, PP se vyskytuje (spolu s PE) například ve výluzích skládek (He a kol., 2019). Oproti tomu PET se zde dá očekávat, vzhledem k přítomné odpadní vodě z automatických domácích praček. Touto cestou se uvolňují mikroplastová vlákna ze syntetických oděvů (např. fleece, který je vyráběn z polyethylen tereftalátu). Analýza byla provedena při teplotě 500 °C (Obrázek 22) a 600 °C (Obrázek 23). Jedná se pouze o ukázkou detekce, kdy pro další kvantifikaci by bylo potřeba zjistit potřebné množství analyzovaných výsečí z celkového filtru reálného vzorku pro zajištění reprezentativnosti výsledků.



Obrázek 22: Chromatogramy reálného vzorku čistírenského kalu při pyrolytické teplotě 500°C. Červeně chromatogram s celkovým iontovým proudem (tzv. TIC), zeleně vyfiltrovaný ion 163 m/z pro PET, RT = 12,21 min, žlutě vyfiltrované ionty 69 a 111 m/z pro PP – nenalezeno, modře vyfiltrovaný ion 104 m/z pro PS, RT = 4,98 min. U všech iontů je uveden S/N (z ang. signal to noise), který uvádí poměr signál:šum.

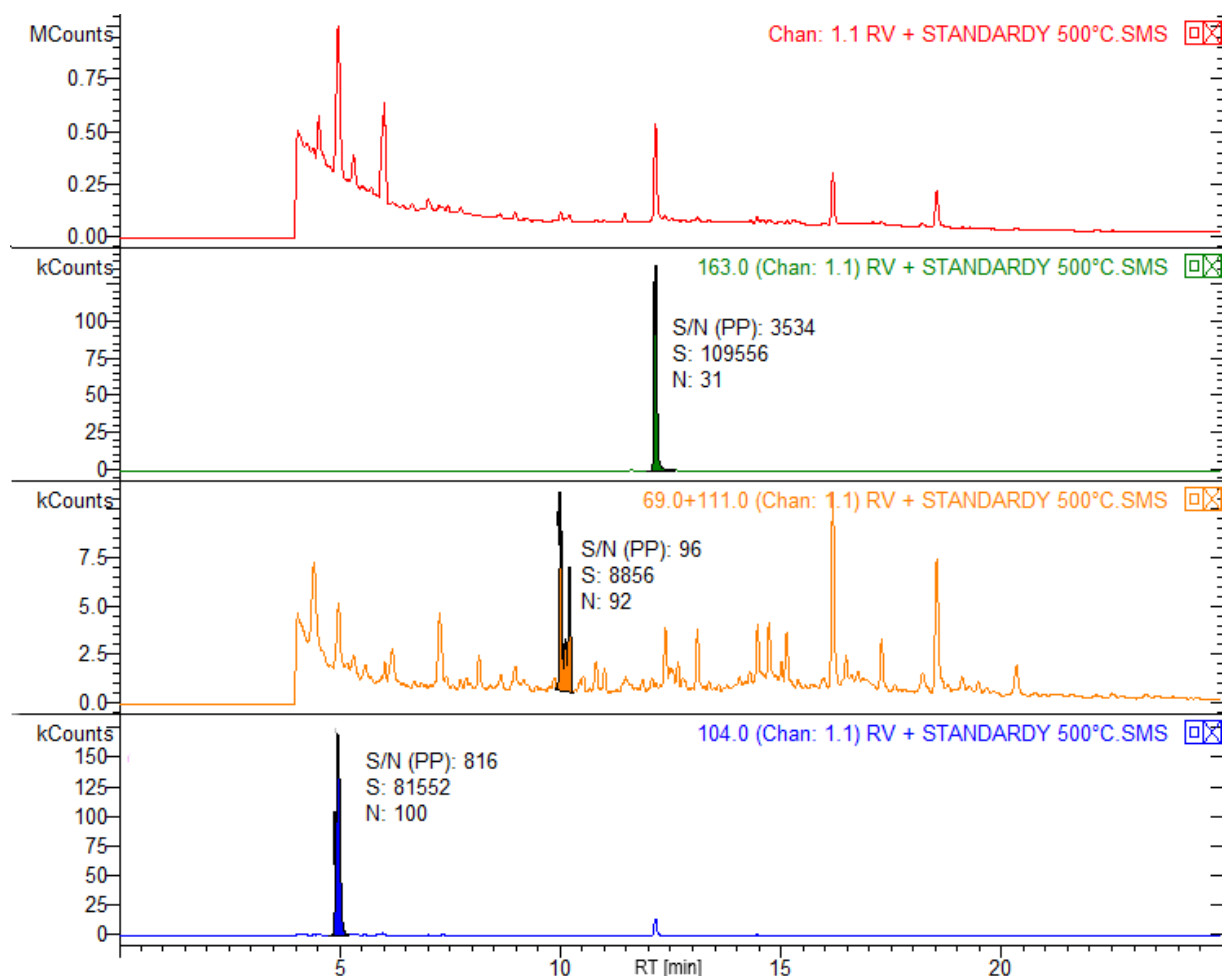


Obrázek 23: Chromatogramy reálného vzorku čistírenského kalu při pyrolytické teplotě 600°C. Červeně chromatogram s celkovým iontovým proudem (tzv. TIC), zeleně vyfiltrovaný ion 163 m/z pro PET, RT = 12,21 min, žlutě vyfiltrované ionty 69 a 111 m/z pro PP – nenalezeno, modře vyfiltrovaný ion 104 m/z pro PS, RT = 4,98 min. U všech iontů je uveden S/N (z ang. signal to noise), který uvádí poměr signál:šum.

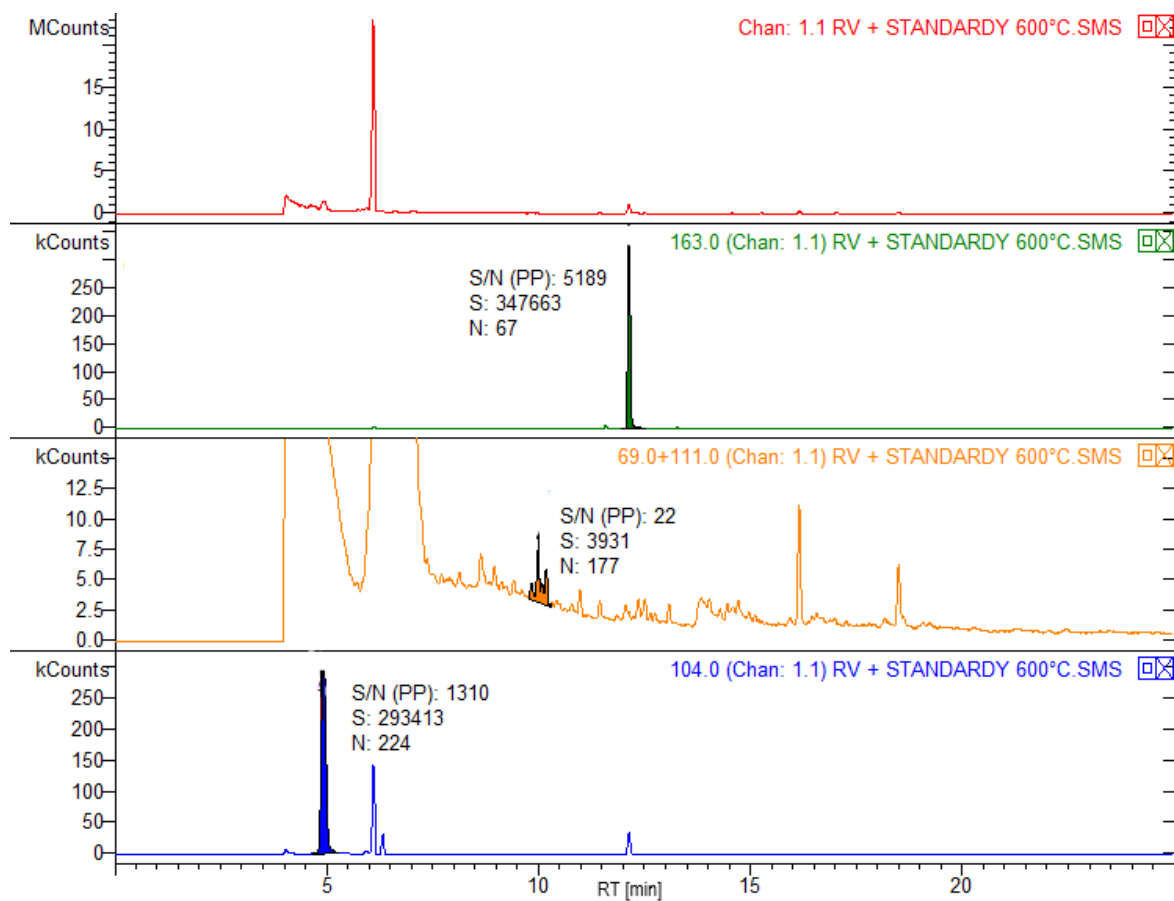
Přítomnost složité matrice reálného vzorku může způsobit zeslabení či úplné zastínění odezev jednotlivých specifických iontů polymerů. Jak uvádí Fischer a Scholz-Böttcher (2019), možností snížení vlivu matrice je aplikace enzymatických a chemicky oxidativních rozkladů, což může ovšem způsobit narušení a ztráty mikroplastových částic ve vzorku. Veškeré úpravy a čištění reálných vzorků se tedy vždy odvíjí od specifických vlastností dané matrice.

Pro ověření, jaké budou odezvy polymerů v přítomnosti reálné matrice, byly změřeny tzv. fortifikované reálné vzorky. Tedy vzorky obohacené o přidané známé množství (1 μg) standardů analyzovaných polymerů (PET, PP a PS). Opět naměřeno při teplotě 500 °C (Obrázek 24, str. 60) a při teplotě 600 °C (Obrázek 25, str. 61). Jak je z chromatogramů patrné, při vyšší teplotě jsou detekovány vyšší odezvy. Což se ale odráží i na několikrát vyšších odezvách pozadí, což má negativní vliv na detekční aparaturu a z uvedených hodnot poměrů signál:šum (S/N, z ang. signal to noise)

je patrné, že metoda je pro PP při 500°C citlivější. Je proto tedy nutné vybrané parametry optimalizovat vždy dle konkrétní série vzorků a jejich matrice.



Obrázek 24: Chromatogramy reálného vzorku čistírenského kalu obohacené o 1 µg standardů polymerů (PET, PP a PS) při pyrolytické teplotě 500°C. Červeně chromatogram s celkovým iontovým proudem (tzv. TIC), zeleně vyfiltrovaný ion 163 m/z pro PET, RT = 12,21 min, žlutě vyfiltrované ionty 69 a 111 m/z pro PP, RT 10,13 min, modře vyfiltrovaný ion 104 m/z pro PS, RT = 4,98 min. U všech iontů je uveden S/N (z ang. signal to noise), který uvádí poměr signál:šum.



Obrázek 25: Chromatogramy reálného vzorku čistírenského kalu obohacené o 1 μg standardů polymerů (PET, PP a PS) při pyrolytické teplotě 600°C. Červeně chromatogram s celkovým iontovým proudem (tzv. TIC), zeleně vyfiltrovaný ion 163 m/z pro PET, RT = 12,21 min, žlutě vyfiltrované ionty 69 a 111 m/z pro PP, RT 10,13 min, modře vyfiltrovaný ion 104 m/z pro PS, RT = 4,98 min. U všech iontů je uveden S/N (z ang. signal to noise), který uvádí poměr signál:šum.

5. Závěr

Tato diplomová práce detailně popisuje optimalizaci parametrů analytické metody Pyr-GC-MS pro využití při detekci mikroplastů ze vzorků životního prostředí. Byly stanoveny tři hypotézy, a sice že (1) pomocí Pyr-GC-MS lze stanovit mikroplasty i při velmi nízkých koncentracích. (2) Je reálné při použití derivatizačního činidla (TMAH) snížit teplotu pyrolytického štěpení oproti standardním 600 °C a metoda tak bude i celkově citlivější. Poslední hypotézou bylo, že (3) množství derivatizačního činidla (TMAH) lze snížit při zachování citlivosti z obvyklých 5 mg ve vzorku pro snížení vlivu pozadí, způsobeného přítomností přebytečného TMAH a možnosti jeho reakce s matricí vzorku.

Díky optimalizaci, bylo doloženo, že při aplikaci TMAH o hmotnosti 2,5 mg dochází k nejlepším odezvám, a větší množství TMAH je přebytečné a může naopak komplikovat detekci analytů při jeho reakcích s matricí vzorku. Přítomnost TMAH je žádoucí, ale může se lišit dle použité pyrolytické jednotky. Na základě optimalizace těchto parametrů bylo dosaženo detekovatelného množství standardů v řádech nanogramů a sestaveny kalibrační přímky pro tři vybrané polymery (PET, PP a PS) v rozmezí 50-1000 ng (PET a PP) a 50-700 ng (PS). Čímž se potvrzuje první a třetí hypotéza této práce. Teplota pyrolýzy je zcela určitě rozhodujícím faktorem, jak bude detekce úspěšná. Z naměřených dat standardů plastů vyplývá, že minimální teplota pro pyrolytické štěpení je 500 °C, při které jsou výsledky analýz adekvátní s minoritními rozdíly mezi 500 a 600 °C, pokud nebereme v úvahu pouze odezvu jednotlivých látek, ale také odezvu pozadí a její vliv na přístrojovou aparaturu.

Ověření optimalizované metody Pyr-GC-MS proběhlo na závěr při analýze reálných vzorků čistírenského kalu. Možnost nežádoucích reakcí s matricí vzorku bylo ověřeno analýzou tzv. fortifikovaných vzorků, kdy byly k reálným vzorkům přidány standardy plastů (PET, PP a PS) o hmotnosti 10 µg. Ukázalo se, že všechny tři plasty jsou v matrici za použití dané metody detekovatelné. Empiricky byla zde částečně potvrzena i část druhé hypotézy. Kdy se výsledky liší dle typu polymeru. Výsledky analýzy fortifikovaného reálného vzorku naznačují, že PP má vyšší odezvy oproti pozadí při 500 °C pyrolytické teploty než při 600 °C. Zbylé dva polymery mají vyšší odezvy při vyšší teplotě.

Metoda Pyr-GC-MS se tedy potvrdila jako velice vhodná pro detekci mikroplastů, díky její vysoké citlivosti, snadné obsluze a vysoké toleranci k matici vzorku.

6. Zdroje

- Andrady, A. L. (2017). The plastic in microplastics: A review. *Marine Pollution Bulletin*, 119(1), 12–22. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.01.082>
- Andrady, A. L., a Neal, M. A. (2009). Applications and societal benefits of plastics. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1526), 1977–1984. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0304>
- Barboza, L. G. A., Dick Vethaak, A., Lavorante, B. R. B. O., Lundebye, A. K., a Guilhermino, L. (2018). Marine microplastic debris: An emerging issue for food security, food safety and human health. *Marine Pollution Bulletin*, 133(May), 336–348. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.05.047>
- Browne, M. A., Crump, P., Niven, S. J., Teuten, E., Tonkin, A., Galloway, T., a Thompson, R. (2011). Accumulation of microplastic on shorelines worldwide: Sources and sinks. *Environmental Science and Technology*, 45(21), 9175–9179. <https://doi.org/10.1021/es201811s>
- Cai, H., Xu, E. G., Du, F., Li, R., Liu, J., a Shi, H. (2021). Analysis of environmental nanoplastics: Progress and challenges. *Chemical Engineering Journal*, 410. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.128208>
- Campanale, C., Savino, I., Pojar, I., Massarelli, C., a Uricchio, V. F. (2020). A practical overview of methodologies for sampling and analysis of microplastics in riverine environments. *Sustainability (Switzerland)* 12 (6755), 17. <https://doi.org/10.3390/SU12176755>
- Carney-Almroth, B. M., Åström, L., Roslund, S., Petersson, H., Johansson, M., a Persson, N. K. (2018). Quantifying shedding of synthetic fibers from textiles; a source of microplastics released into the environment. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(2), 1191–1199. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0528-7>
- Carpenter, E. J., Smith, K. L., (1971). Plastic on the Sargasso sea surface. *Science* 175, 1240-1241. <https://doi.org/10.1126/science.175.4027.1240>
- Ceccarini, A., Corti, A., Erba, F., Modugno, F., Nasa, J. La, a Bianchi, S. (2018). The Hidden Microplastics: New Insights and Figures from the Thorough Separation and Characterization of Microplastics and of Their Degradation Byproducts in Coastal Sediments [Research-article]. *Environmental Science a Technology*, 52, 5634–5643. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b01487>
- Corami, F., Rosso, B., Bravo, B., Gambaro, A., a Barbante, C. (2020). A novel method for purification, quantitative analysis and characterization of microplastic fibers using Micro-FTIR, *Chemosphere*, Volume 238, 124564, ISSN 0045-6535, <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124564>

- Corcoran, P. L., Biesinger, M. C., a Grifi, M. (2009). Plastics and beaches: A degrading relationship. *Marine Pollution Bulletin*, 58(1), 80–84. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2008.08.022>
- De Falco, F., Gullo, M. P., Gentile, G., Di Pace, E., Cocca, M., Gelabert, L., Brouta-Agnésa, M., Rovira, A., Escudero, R., Villalba, R., Mossotti, R., Montarsolo, A., Gavignano, S., Tonin, C., a Avella, M. (2018). Evaluation of microplastic release caused by textile washing processes of synthetic fabrics. *Environmental Pollution*, 236, 916–925. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.10.057>
- Dehaut, A., Cassone, A. L., Frère, L., Hermabessiere, L., Himber, C., Rinnert, E., Rivière, G., Lambert, C., Soudant, P., Huvet, A., Duflos, G., a Paul-Pont, I. (2016). Microplastics in seafood: Benchmark protocol for their extraction and characterization. *Environmental Pollution*, 215, 223–233. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.05.018>
- Dekiff, J. H., Remy, D., Klasmeier, J., a Fries, E. (2014). Occurrence and spatial distribution of microplastics in sediments from Norderney. *Environmental Pollution*, 186, 248–256. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.11.019>
- Desforges, J. P. W., Galbraith, M., Dangerfield, N., a Ross, P. S. (2014). Widespread distribution of microplastics in subsurface seawater in the NE Pacific Ocean. *Marine Pollution Bulletin*, 79(1–2), 94–99. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.12.035>
- Dierkes, G., Lauschke, T., Becher, S., Schumacher, H., Foeldi, C., Ternes, T. (2019). Quantification of microplastics in environmental samples via pressurized liquid extraction and pyrolysis-gas chromatography. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 411, 6959–6968. <https://doi.org/10.1007/s00216-019-02066-9>
- Doyle, M. J., Watson, W., Bowlin, N. M., a Sheavly, S. B. (2011). Plastic particles in coastal pelagic ecosystems of the Northeast Pacific ocean. *Marine Environmental Research*, 71(1), 41–52. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2010.10.001>
- Dris, R., Imhof, H. K., Löder, M. G. J., Gasperi, J., Laforsch, C., a Tassin, B. (2018). Microplastic Contamination in Freshwater Systems: Methodological Challenges, Occurrence and Sources. *Microplastic Contamination in Aquatic Environments: An Emerging Matter of Environmental Urgency*, 51–93. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813747-5.00003-5>
- Dümichen, E., Eisentraut, P., Bannick, C. G., Barthel, A. K., Senz, R., a Braun, U. (2017). Fast identification of microplastics in complex environmental samples by a thermal degradation method. *Chemosphere*, 174, 572–584. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.02.010>
- EL Hayany, B., EL Fels, L., Quénéa, K., Dignac, M. F., Rumpel, C., Gupta, V. K., a Hafidi, M. (2020). Microplastics from lagooning sludge to composts as revealed by fluorescent staining- image analysis, Raman spectroscopy and pyrolysis-GC/MS. *Journal of Environmental Management*, 275(July), 111249. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111249>

- FAO, 2016. The State of World Fisheries and Aquaculture 2016. In: Contributing to Food Security and Nutrition for All [online], 2016 [cit. 2020-09-03] 200. Dostupné z: <http://www.fao.org/3/a-i5555e.pdf>
- Fendall, L. S., a Sewell, M. A. (2009). Contributing to marine pollution by washing your face: Microplastics in facial cleansers. *Marine Pollution Bulletin*, 58(8), 1225–1228. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2009.04.025>
- Fischer, M., a Scholz-Böttcher, B. M. (2017). Simultaneous Trace Identification and Quantification of Common Types of Microplastics in Environmental Samples by Pyrolysis-Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Environmental Science and Technology*, 51(9), 5052–5060. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b06362>
- Fischer, M., a Scholz-Böttcher, B. M. (2019). Microplastics analysis in environmental samples-recent pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry method improvements to increase the reliability of mass-related data. *Analytical Methods*, 11(18), 2489–2497. <https://doi.org/10.1039/c9ay00600a>
- Fries, E., Dekiff, J. H., Willmeyer, J., Nuelle, M. T., Ebert, M., a Remy, D. (2013). Identification of polymer types and additives in marine microplastic particles using pyrolysis-GC/MS and scanning electron microscopy. *Environmental Sciences: Processes and Impacts*, 15(10), 1949–1956. <https://doi.org/10.1039/c3em00214d>
- Funck, M., Yildirim, A., Nickel, C., Schram, J., Schmidt, T. C., a Tuerk, C., 2020. Identification of microplastics in wastewater after cascade filtration using Pyrolysis-GC-MS, *MethodsX*, Volume 7, 100778, ISSN 2215-0161, <https://doi.org/10.1016/j.mex.2019.100778>.
- Geyer, R., Jambeck, J. R., a Law, K. L. (2017). Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science Advances*, 3(7), 25–29. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1700782>
- Gomiero, A., Øysæd, K. B., Agustsson, T., van Hoytema, N., van Thiel, T., a Grati, F. (2019). First record of characterization, concentration and distribution of microplastics in coastal sediments of an urban fjord in south west Norway using a thermal degradation method. *Chemosphere*, 227, 705–714. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.04.096>
- Gomiero, A., Øysæd, K. B., Palmas, L., a Skogerbø, G. (2021). Application of GCMS-pyrolysis to estimate the levels of microplastics in a drinking water supply system. *Journal of Hazardous Materials*, 416 (March), 125708. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125708>
- He, P., Chen, L., Shao, L., Zhang, H., a Lü, F. (2019). Municipal solid waste (MSW)landfill: A source of microplastics? -Evidence of microplastics in landfill leachate. *Water Research*, 159, 38–45. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.04.060>
- Hendrickson, E., Minor, E. C., a Schreiner, K. (2018). Microplastic Abundance and Composition in Western Lake Superior As Determined via Microscopy, Pyr-GC/MS, and FTIR. *Environmental Science and Technology*, 52(4), 1787–1796. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b05829>

- Hermabessiere, L., Himber, C., Boricaud, B., Kazour, M., Amara, R., Cassone, A. L., Laurentie, M., Paul-Pont, I., Soudant, P., Dehaut, A., & Duflos, G. (2018). Optimization, performance, and application of a pyrolysis-GC/MS method for the identification of microplastics. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, *410*, 6663–6676. <https://doi.org/10.1007/s00216-018-1279-0>
- Hernandez, L. M., Xu, E. G., Larsson, H. C. E., Tahara, R., Maisuria, V. B., a Tufenkji, N. (2019). Plastic Teabags Release Billions of Microparticles and Nanoparticles into Tea. *Environmental Science and Technology*, *53*(21), 12300–12310. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b02540>
- Horton, A. A., Svendsen, C., Williams, R. J., Spurgeon, D. J., a Lahive, E. (2017). Large microplastic particles in sediments of tributaries of the River Thames, UK – Abundance, sources and methods for effective quantification. *Marine Pollution Bulletin*, *114*(1), 218–226. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.09.004>
- Hou, L., Kumar, D., Yoo, C. G., Gitsov, I., a Majumder, E. L. (2020). Conversion and Removal Strategies for Microplastics in Wastewater Treatment Plants and Landfills. *Chemical Engineering Journal*, *406* (April 2020), 126715. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.126715>
- Huppertsberg, S., & Knepper, T. P. (2018). Instrumental analysis of microplastics—benefits and challenges. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, *410* (25), 6343–6352. <https://doi.org/10.1007/s00216-018-1210-8>
- Chefetz, B., Chen, Y., Clapp, C.E., a Hatcher, P.G. (2000). Characterization of Organic Matter in Soils by Thermochemolysis Using Tetramethylammonium Hydroxide (TMAH). *Soil Science Society of America Journal* *64* (2), 583–589. <https://doi.org/10.2136/sssaj2000.642583x>
- Ikan, R., a Crammer, B. (2003). Organic Chemistry, Compound Detection. *Encyclopedia of Physical Science and Technology*, 459–496. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227410-5/00541-X>
- Jambeck, J. R., Geyer, R., Wilcox, C., Siegler, T. R., Perryman, M., Andrady, A., Narayan, R., a Law, K. L. (2015). Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science*, *347*(6223), 768–771. <https://doi.org/10.1126/science.1260352>
- Jan Kole, P., Löhr, A. J., Van Belleghem, F. G. A. J., a Ragas, A. M. J. (2017). Wear and tear of tyres: A stealthy source of microplastics in the environment. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *14*, 10. <https://doi.org/10.3390/ijerph14101265>
- Käppler A, Fischer M, Scholz-Böttcher BM, Oberbeckmann S, Labrenz M, Fischer D, Eichhorn KJ, Voit B. (2018). Comparison of μ -ATR-FTIR spectroscopy and py-GCMS as identification tools for microplastic particles and fibers isolated from river sediments. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, *410*(21), 5313-5327. <https://doi.org/10.1007/s00216-018-1185-5>

- Khalid, N., Aqeel, M., Noman, A., Hashem, M., Mostafa, Y. S., Alhaithloul, H. A. S., a Alghanem, S. M. (2021). Linking effects of microplastics to ecological impacts in marine environments. *Chemosphere*, 264, 128541. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128541>
- Kusch, P., Schroeder-Obst, D., Obst, V., Knupp, G., Fink, W., a Steinhaus, J. (2016). Application of pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry (Py-GC/MS) and scanning electron microscopy (SEM) in failure analysis for the identification of organic compounds in chemical, rubber, and automotive industry. *Handbook of Materials Failure Analysis with Case Studies from the Chemicals, Concrete and Power Industries*, 441–469. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100116-5.00017-X>
- La Nasa, J., Biale, G., Mattonai, M., a Modugno, F. (2021). Microwave-assisted solvent extraction and double-shot analytical pyrolysis for the quali-quantitation of plasticizers and microplastics in beach sand samples. *Journal of Hazardous Materials*, 401. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123287>
- Li, J., Liu, H., a Paul Chen, J. (2018). Microplastics in freshwater systems: A review on occurrence, environmental effects, and methods for microplastics detection. *Water Research*, 137, 362–374. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.12.056>
- Lv, L., Yan, X., Feng, L., Jiang, S., Lu, Z., Xie, H., Sun, S., Chen, J., a Li, C. (2021). Challenge for the detection of microplastics in the environment. In *Water Environment Research Vol. 93, Issue 1*, 5–15. John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/wer.1281>
- Mai, L., Bao, L. J., Shi, L., Wong, C. S., a Zeng, E. Y. (2018). A review of methods for measuring microplastics in aquatic environments. In *Environmental Science and Pollution Research 25, Issue 12*, 11319–11332. Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1692-0>
- Matsui, K., Ishimura, T., Mattonai, M., Iwai, I., Watanabe, A., Teramae, N., Ohtani, H., a Watanabe, C. (2020). Identification algorithm for polymer mixtures based on Py-GC/MS and its application for microplastic analysis in environmental samples. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 149. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2020.104834>
- Millet, H., Vangheluwe, P., Block, C., Sevenster, A., Garcia, L., a Antonopoulos, R. (2019). The Nature of Plastics and Their Societal Usage. *Issues in Environmental Science and Technology*, 2019 January (47), 1–20. <https://doi.org/10.1039/9781788013314-00001>
- Möhlenkamp, P., Purser, A., a Thomsen, L. (2018). Plastic Microbeads: An Experimental Study of The Hydrodynamic Behaviour of Cosmetic Microbeads, Vertical Transport by Phytoplankton Aggregates and Resuspension. *Elementa: Science of the Anthropocene*, 6, 61. <https://www.elementalscience.org/>
- Napper, I. E., a Thompson, R. C. (2016). Release of synthetic microplastic plastic fibres from domestic washing machines: Effects of fabric type and washing conditions.

Marine Pollution Bulletin, 112(1–2), 39–45.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.09.025>

- Nizzetto, L., Futter, M., a Langaas, S. (2016). Are Agricultural Soils Dumps for Microplastics of Urban Origin? *Environmental Science and Technology*, 50 (20), 10777–10779. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b04140>
- Nuelle, M. T., Dekiff, J. H., Remy, D., a Fries, E. (2014). A new analytical approach for monitoring microplastics in marine sediments. *Environmental Pollution*, 184, 161–169. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.07.027>
- O'Brien, S., Okoffo, E. D., O'Brien, J. W., Ribeiro, F., Wang, X., Wright, S. L., Samanipour, S., Rauert, C., Toapanta, T. Y. A., Albarracin, R., a Thomas, K. V. (2020). Airborne emissions of microplastic fibres from domestic laundry dryers. *Science of the Total Environment*, 747, 141175. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141175>
- O'Brien, S., Okoffo, E. D., Rauert, C., O'Brien, J. W., Ribeiro, F., Burrows, S. D., Toapanta, T., Wang, X., a Thomas, K. V. (2021). Quantification of selected microplastics in Australian urban road dust. *Journal of Hazardous Materials*, 416 (April), 125811. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125811>
- Peters, C. A., Hendrickson, E., Minor, E. C., Schreiner, K., Halbur, J., a Bratton, S. P. (2018). Pyr-GC/MS analysis of microplastics extracted from the stomach content of benthivore fish from the Texas Gulf Coast. *Marine Pollution Bulletin*, 137(June), 91–95. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.09.049>
- Plastics-the Facts 2017 An analysis of European plastics production, demand and waste data. PlasticEurope [online]. 2017 [cit. 2022-05-01]. Dostupné z: <https://plasticseurope.org/wp-content/uploads/2021/10/2017-Plastics-the-facts.pdf>
- Pöerschmann, J. (2000). Humic Substances | Gas Chromatography. *Encyclopedia of Separation Science*, 3026–3032. <https://doi.org/10.1016/B0-12-226770-2/05431-4>
- POSPÍCHALOVÁ, Eliška, *Separace mikroplastů z čistírenského kalu pomocí těžkých kapalin*. 2019. Bakalářská práce. Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, Ústav pro životní prostředí. Vedoucí práce Innemanová, Petra.
- Qi, R., Jones, D. L., Li, Z., Liu, Q., a Yan, C. (2020). Behavior of microplastics and plastic film residues in the soil environment: A critical review. *Science of the Total Environment*, 703, 134722. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134722>
- Ravit, B., Cooper, K., Moreno, G., Buckley, B., Yang, I., Deshpande, A., Meola, S., Jones, D., a Hsieh, A. (2017). Microplastics in urban New Jersey freshwaters: distribution, chemical identification, and biological affects. *AIMS Environmental Science*, 4(6), 809–826. <https://doi.org/10.3934/environsci.2017.6.809>
- Rocha-Santos, T., a Duarte, A. C. (2015). A critical overview of the analytical approaches to the occurrence, the fate and the behavior of microplastics in the environment.

TrAC - Trends in Analytical Chemistry, 65, 47–53.
<http://doi.org/10.1016/j.trac.2014.10.011>

- Rochman, C. M., Brookson, C., Bikker, J., Djuric, N., Earn, A., Bucci, K., Athey, S., Huntington, A., McIlwraith, H., Munno, K., Frond, H. De, Kolomijeca, A., Erdle, L., Grbic, J., Bayoumi, M., Borrelle, S. B., Wu, T., Santoro, S., Werbowski, L. M., ... Hung, C. (2019). Rethinking microplastics as a diverse contaminant suite. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 38(4), 703–711. <https://doi.org/10.1002/etc.4371>
- Rueggeberg, F. A. (2002). From vulcanite to vinyl, a history of resins in restorative dentistry. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 87 (4), 364–379. <https://doi.org/10.1067/mpr.2002.123400>
- Sam, K. D. (2019). Gas Chromatography | Pyrolysis. *Encyclopedia of Analytical Science*, 245–261. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.11447-7>
- Senathirajah, K., Attwood, S., Bhagwat, G., Carbery, M., Wilson, S., a Palanisami, T. (2021). Estimation of the mass of microplastics ingested – A pivotal first step towards human health risk assessment. *Journal of Hazardous Materials*, 404(PB), 124004. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124004>
- Silva, A. B., Bastos, A. S., Justino, C. I. L., da Costa, J. P., Duarte, A. C., a Rocha-Santos, T. A. P. (2018). Microplastics in the environment: Challenges in analytical chemistry - A review. In *Analytica Chimica Acta 1017*, 1–19. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.02.043>
- Sun, Q., Ren, S. Y., a Ni, H. G. (2020). Incidence of microplastics in personal care products: An appreciable part of plastic pollution. *Science of the Total Environment*, 742, 140218. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140218>
- Tarkanian, M. J., a Hosler, D. (2011). America's First Polymer Scientists: Rubber Processing, Use and Transport in Mesoamerica. *Latin American Antiquity*, 22 (4), 469–486. <https://doi.org/10.7183/1045-6635.22.4.469>
- Ter Halle, A., Jeanneau, L., Martignac, M., Jardé, E., Pedrono, B., Brach, L., a Gigault, J. (2017). Nanoplastic in the North Atlantic Subtropical Gyre. *Environmental Science and Technology*, 51 (23), 13689–13697. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b03667>
- Thomas, C. D., Cameron, A., Green, R. E., Bakkenes, M., Beaumont, L. J., Collingham, Y. C., Erasmus, B. F. N., De Siqueira, M. F., Grainger, A., Hannah, L., Hughes, L., Huntley, B., Van Jaarsveld, A. S., Midgley, G. F., Miles, L., Ortega-Huerta, M. a, Peterson, a T., Phillips, O. L., a Williams, S. E. (2004). Extinction risk from climate change. *Nature*, 427 (6970), 145–148. <https://doi.org/10.1038/nature02121>
- Thompson, R. C., Olsen, Y., Mitchell, R. P., Davis, A., Rowland, S. J., John, A. W. G., McGonigle, D., Russel, A. E. (2004). Lost at sea: where is all the plastic? *Science* 304, 838. <https://doi.org/10.1126/science.1094559>

- Wang, W., a Wang, J. (2018). Investigation of microplastics in aquatic environments: An overview of the methods used, from field sampling to laboratory analysis. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 108, 195–202. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.08.026>
- What are plastics?. PlasticsEurope [online]. 2016 [cit. 2020-09-03]. Dostupné z: <https://www.plasticseurope.org/en/about-plastics/what-are-plastics>
- Xu, C., Zhang, B., Gu, C., Shen, C., Yin, S., Aamir, M., a Li, F. (2020). Are we underestimating the sources of microplastic pollution in terrestrial environment? *Journal of Hazardous Materials*, 400 (June), 123228. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123228>
- Yang, L., Zhang, Y., Kang, S., Wang, Z., a Wu, C. (2021). Microplastics in freshwater sediment: A review on methods, occurrence, and sources. *Science of the Total Environment*, 754, 141948. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141948>
- Zhou, H., Zhou, L., a Ma, K. (2020). Microfiber from textile dyeing and printing wastewater of a typical industrial park in China: Occurrence, removal and release. *Science of the Total Environment*, 739, 140329. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140329>
- Zhou, R., Lu, G., Yan, Z., Jiang, R., Bao, X., a Lu, P. (2020). A review of the influences of microplastics on toxicity and transgenerational effects of pharmaceutical and personal care products in aquatic environment. *Science of the Total Environment*, 732, 139222. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139222>
- Zhou, X. X., Hao, L. T., Wang, H. Y. Z., Li, Y. J., a Liu, J. F. (2019). Cloud-Point Extraction Combined with Thermal Degradation for Nanoplastic Analysis Using Pyrolysis Gas Chromatography-Mass Spectrometry [Brief-report]. *Analytical Chemistry*, 91(3), 1785–1790. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b04729>