

**Univerzita Karlova**  
**Přírodovědecká fakulta**  
**Ústav pro životní prostředí**

Studijní program: Ekologie a ochrana prostředí

Studijní obor: Ochrana životního prostředí



**Eliška Pospíchalová**

Separace mikroplastů z čistírenského kalu pomocí těžkých kapalin

*Separation of microplastics from sewage sludge using heavy liquids*

Bakalářská práce

Vedoucí práce: **RNDr. Petra Innemanová, Ph.D.**

Praha, 2019

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou 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 bakalářská práce je totožná s elektronickou verzí vloženou do SIS.

V Praze dne 12. srpna 2019

.....  
Eliška Pospíchalová

**Poděkování:**

Ráda bych poděkovala nejprve své školitelce RNDr. Petře Innemanová, Ph.D., za dlouhé a podnětné konzultace, trpělivost a vlídnost při vedení práce a při laboratorním výzkumu.

Dále bych chtěla speciálně poděkovat panu Mgr. Jaroslavovi Semerádovi za odbornou pomoc při analýze v laboratoři.

Poděkování patří také mé mamince za vytrvalou duševní podporu při psaní této práce, ale stejně tak i mým blízkým, kteří mi byli oporou během celého studia

## **Abstrakt**

Bakalářská práce se zaměřuje na problematiku mikroplastů v čistírenských kalech. Mikroplasty patří v poslední době mezi hodně diskutovaná témata, přičemž problematika jejich výskytu v čistírenských kalech není stále dostatečně prozkoumaná. Hlavním zdrojem mikroplastů v čistírenských kalech jsou odpadní vody. Mikroplasty se při procesu čištění vod v kalech akumulují a následně vstupují v mnohonásobně vyšších koncentracích do terestrických ekosystémů jako důsledek využívání čistírenských kalů v zemědělství a v rámci rekultivací. V České republice bylo v roce 2017 zpracováno 42 % kalů přímou aplikací na zemědělskou půdu a rekultivaci, 34 % kompostováním, 14 % jiným využitím, 7 % skládkováním a 3 % spalováním. Využití kalů v zemědělství demonstruje naléhavost studia problematiky výskytu mikroplastů v této matici. Testované vzorky byly odebrány z pěti anonymních čistíren odpadních vod v České republice. Na vzorcích byla testována aplikovatelnost metodiky separace mikroplastů, která spočívá v oxidaci organických nečistot přirozeného původu pomocí  $\text{Fe}^{2+}$  a 30%  $\text{H}_2\text{O}_2$  a flotaci plastových částic v roztoku 5 M NaCl. Následná identifikace mikroplastů byla provedena pod optickým mikroskopem se zvětšením 40x. Pro přesnější optickou detekci byly vzorky barveny roztokem bengálské červeně. Použitelnost zvolené metodiky pro separaci mikroplastů z kalů byla potvrzena. Kaly ze všech pěti testovaných lokalit obsahovaly různé částice mikroplastů včetně vláken, fólií a granulovaných částic o rozdílných velikostech, tvarech a barvách. Dále jsou v práci diskutovány nedostatky použité metody a nutnost modifikací pro případ přesné kvantifikace mikroplastů v čistírenských kalech.

## **Klíčová slova:**

Čistírenský kal, mikroplasty, separace, flotace

## **Abstract**

This bachelor thesis is focused on microplastics in sewage sludge. Microplastics are currently often discussed topic, but their occurrence in sewage sludge isn't still sufficiently researched. The main source of microplastics in sewage sludge is waste water. Microplastics are accumulating in sewage sludge during wastewater treatment and enter terrestrial ecosystems with multiple times higher concentration in comparison to freshwaters as a result of their use in agriculture or in restoration. In the year of 2017 sewage sludge was in Czech Republic further processed by direct land application within agriculture and restoration of 42 %, compostation of 34 %, other uses of 14 %, landfilling of 7 % and incineration of 3 %. The use of sewage sludge in agriculture demonstrates significance of microplastics issue. The tested samples were sampled from five anonymous wastewater treatment plants in Czech Republic. The samples were investigated for applicability of methodology of separation microplastics with oxidation of natural organic matter by  $\text{Fe}^{2+} + 30\% \text{H}_2\text{O}_2$  and flotation in saline solution of 5 M NaCl. Following identification of microplastics was carried out in optical microscope with magnification of 40x. For precise optical detection of microplastics the samples were dyed with rose bengal. The efficiency/usability of chosen methodology of separation microplastics from sewage sludge was confirmed. All five tested locations of sewage sludge contained of different kinds of microbeads, including fibers, films and granules with variable sizes, shapes and colours. This thesis further discusses deficiencies of used methodology and the need of modifications in case of precise quantification of microplastics in sewage sludge.

## **Key words:**

Sewage sludge, microplastics, separation, flotation

# Obsah

<b>1. ÚVOD</b> .....	<b>10</b>
<b>2. ČISTÍRENSKÉ KALY</b> .....	<b>11</b>
2.1 DEFINICE KALU.....	11
2.2. VZNIK A DRUHY KALU.....	11
2.3 ZPRACOVÁNÍ KALU V KALOVÉM HOSPODÁŘSTVÍ.....	12
2.3.1 Zahušťování.....	12
2.3.2 Stabilizace.....	12
2.3.3 Odvodnění.....	13
2.3.4 Hygienizace.....	13
2.4 VYUŽITÍ KALU.....	13
2.5 SLOŽENÍ KALU.....	14
2.5.1 Žádoucí příměsi.....	15
2.5.2 Nežádoucí příměsi.....	15
<b>3. MIKROPLASTY V KALECH</b> .....	<b>16</b>
3.1 DEFINICE A VZNIK MIKROPLASTŮ.....	16
3.2 VÝSKYT MIKROPLASTŮ.....	16
3.2.1 Mikroplasty v mořích.....	16
3.2.2 Mikroplasty ve sladkých vodách.....	17
3.2.3 Mikroplasty v terestrických ekosystémech.....	17
3.2.4 Mikroplasty v ovzduší.....	18
3.3 ZDROJE MIKROPLASTŮ V KALECH.....	18
3.4 ÚČINNOST ODSTRANĚNÍ MIKROPLASTŮ V ČOV.....	18
3.4.1 Primární čištění.....	19
3.4.2 Sekundární čištění.....	19
3.4.3 Terciální čištění.....	20
3.5 CHARAKTERISTIKA MIKROPLASTŮ V ČISTÍRENSKÝCH KALECH.....	20
3.6. VLIVY NA DISTRIBUCI MIKROPLASTŮ.....	21
3.7 METODY DETEKCE MIKROPLASTŮ.....	21
3.8 PŘÍPRAVA VZORKU KALU.....	22
3.8.1 Metoda digesce.....	22
3.8.2 Metoda hustotního rozdělení.....	22
3.9 KVANTIFIKACE.....	23
<b>4. KATEGORIE MIKROPLASTŮ</b> .....	<b>24</b>
<b>5. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST</b> .....	<b>25</b>
5.1 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE, PŘÍSTROJE A POMŮCKY.....	25
5.1.1 Chemikálie.....	25
5.1.2 Přístroje a pomůcky.....	25
5.2 TESTOVANÝ MATERIÁL.....	25
5.2.1 Příprava roztoků.....	26
5.2.2 Oxidace organického materiálu v kalech.....	26
5.2.3 Metoda flotace mikroplastů z kalů.....	26
5.2.4 Detekce a ověření separace mikroplastů v kalech.....	27
5.3 VÝSLEDKY.....	28
5.3.1 Spotřeba oxidačního činidla při odstranění organických nečistot a optimalizace metody.....	28
5.3.2 Detekce mikroplastů za použití mikroskopu.....	29
5.4 DISKUZE.....	33
<b>6. ZÁVĚR</b> .....	<b>36</b>
<b>SEZNAM LITERATURY</b> .....	<b>37</b>
<b>PŘÍLOHY</b> .....	<b>44</b>

## Seznam zkratk

ČOV	čistírna odpadních vod
ČSÚ	český statistický úřad
EO	ekvivalentní obyvatel
OV	odpadní voda
PA	polyamid
PE	polyethylen
PES	polyester
PET	polyethylentereftalát
POPs	perzistentní organické látky
PP	polypropylen
PS	polystyren
PVC	polyvinylchlorid
TOC	celkový organický uhlík

## 1. Úvod

Dnešnímu jednadvacátému století se často říká „doba plastová“. Publikace *Plastics: The Facts 2018* uvádí, že v roce 2017 bylo celosvětově vyprodukováno 348 milion tun plastu, které navíc nezahrnují ani všechny jeho vyráběné druhy – polyethylentereftalát (PET), polyamid (PA) a polyakrylová vlákna. Plasty podléhají pomalé degradaci a během stárnutí materiálu se vlivem slunečního záření a vodní, větrné či mechanické eroze uvolňují mikroskopické fragmenty plastu do okolí v podobě úlomků a vláken, které se nekontrolovatelně šíří v životním prostředí (Wright et. al. 2013). Současné studie nachází mikroplasty i na člověkem málo zasažených místech, jako jsou Arktické polární ledovce (Peaken et. al. 2018). Mikroplasty se nacházejí v mořských, sladkovodních, ale i terestrických ekosystémech. Ve vodním prostředí pronikají i do mořské fauny včetně zooplanktonu, měkkýšů, ryb, mořských ptáků a postupují dál potravním řetězcem (Lozano, R. L., Moua, J. 2009). Dnes se objevují nejenom v naší potravě, ale i v pitné vodě z kohoutku, balené vodě a ve vzduchu. Současné výzkumy naznačují, že by mikroplasty mohly představovat hrozbu pro zdraví člověka také vzhledem k jejich schopnosti adsorbovat perzistentní organické látky (POPs) na svůj povrch (Andrady 2011).

Přestože se většina publikovaných studií zabývá přítomností mikroplastů ve vodách, jejich velké množství je detekováno také v terestrických systémech. Absence dostatečného počtu studií mapujících výskyt mikroplastů v těchto systémech je dána, mimo jiné, dostupností vhodných technik pro detekci těchto polutantů v matricích jako je půda, sedimenty apod. Významným zdrojem mikroplastů na pevnině jsou čistírenské kaly, které jsou často aplikovány na zemědělskou půdu jako hnojivo, či využívány pro rekultivace. V čistírenských kalech se akumulují mikroplasty přítomné v odpadních vodách (OV), které obsahují plastové částice původem z praní syntetických textilních látek či využívání kosmetických produktů osobní péče (Browne, 2011, Napper et al. 2015, Murphy et al. 2016). Většina mikroplastů z OV se v čistírenských kalech koncentruje a pouze zlomek mikroplastů vstupuje odtokem z čistíren odpadních vod (ČOV) do vodních toků (Li et al. 2018 b).

Ve své práci se zaměřuji na problematiku výskytu mikroplastů v čistírenských kalech. Cílem experimentální části práce je ověření použitelnosti metodiky separace mikroplastů, která je využívána pro matrice jako je mořská voda, písek a sedimenty, pro identifikaci přítomnosti mikroplastů v odvodněných stabilizovaných kalech odebraných na pěti ČOV v ČR.



## 2. Čistírenské kaly

### 2.1 Definice kalu

Čistírenský kal je odpadním produktem čištění městských či průmyslových OV, při kterém se oddělují kapalné a pevné složky. Kapalná složka je zpracovaná v rámci procesu čištění OV a vypouštěna do vodních ekosystémů, pevná složka se dále zpracovává do výsledné stabilní formy v kalovém hospodářství (Fytili, D., Zabaniotou, A. 2008). V rámci procesu čištění OV vzniká několik druhů kalu, které představují 1–2 % objemu OV a je v nich zahuštěno 50–80 % veškerého znečištění (Web:2). Kal tvoří suspenzi pevných látek organického a anorganického charakteru ve vodě. Tato suspenze se často označuje jako sušina kalu (Bindzar et al. 2009). Pro jednotlivé typy kalu představuje hodnota sušiny tyto přibližné hmotnostní podíly: primární kal (3,5–4,5 %), přebytečný (aktivovaný) kal (2,5–3,5 %), surový kal (2–3 %), zahuštěný kal (4–9 %), odvodněný kal (18–35 %), sušený kal (> 90 %). Zdrojem kalu v ČOV jsou OV, se kterými kal vstupuje do ČOV přes mechanický stupeň předčištění (česle; lapák písku, šterku a tuků), nebo jsou produktem procesu vlastního čištění OV (Vítěz, T., Groda, B. 2008; Web:1; Web:2). Singht (2014) tvrdí, že v Evropě je denně vyprodukováno v průměru 90 g sušiny kalu na každého člověka, přičemž kal pochází z procesu primárního, sekundárního i terciálního čištění OV.

### 2.2. Vznik a druhy kalu

Primární kal vzniká zachycováním nerozpustných částic během procesu mechanického stupně čištění OV v usazovacích nádržích, kde vlivem rozdílných hustot sedimentují. Struktura primárního kalu je spíše zrnitá. Obsah jeho sušiny se pohybuje okolo 2,5–50 g·l<sup>-1</sup>. Primární kal nelze snadno odvodnit, protože obsahuje velké množství hydrofilních koloidních látek. Tento kal je dále zpracován a stabilizován v kalovém hospodářství (Vítěz, T., Groda B. 2008, Web:1).

Sekundární kal vzniká jako přebytečná biomasa v úseku biologického stupně čištění OV v dosazovacích nádržích. Vznik kalu je přímo úměrný poměru nerozpuštěných látek a biochemické spotřebě kyslíku a nepřímo úměrný stáří kalu. Tato biomasa částečně cirkuluje z dosazovacích nádrží do aktivačních, ve kterých se kalem aktivují mikroorganismy, a vrací se zpět jako inokulum do dosazovacích nádrží, částečně je odstraňována jako přebytečný kal. Struktura sekundárního kalu je spíše vločkovitá. Přebytečný kal se také dále zpracovává a stabilizuje v kalovém hospodářství (Vítěz, T., Groda B. 2008, Web:1; Web:2).

Terciální kal, tzv. chemický, se vytváří při odstraňování fosforu a dusíku z OV pomocí srážení s koagulanty. Nejčastěji vzniká během terciálního čištění OV ve větších ČOV, ovšem pokud proces srážení fosforu a dusíku probíhá během mechanického a biologického čištění, tak je součástí primárního či sekundárního kalu (Web:2).

Surovým kalem se nazývá směs primárního, sekundárního a případného terciálního kalu. Tento kal je nezahuštěný, nestabilizovaný, neodvodněný a nezhygienizovaný, tudíž obsahuje řadu škodlivin včetně patogenních virů a bakterií. U surového kalu původem z městské ČOV je poměr organických látek k anorganickým přibližně 2:1. Tento poměr klesá na 1:1 poté, co je surový kal anaerobně stabilizován v kalovém hospodářství. U takto vyhnílého kalu klesá kromě poměru organických a anorganických látek také obsah organické sušiny o 40–55 %. Procesem odvodnění dále klesá obsah sušiny až na 20–30 % (Bindzar et. al. 2009).

Hygienizovaný kal je výsledná forma kalu, jehož složení je natolik upravené, že obsah patogenních organismů splňuje limity dané legislativou (vyhláška č. 437/2016 Sb.) Tento kal nemá rovnocenné postavení s kalem stabilizovaným, protože stabilizovaný kal může stále obsahovat nadlimitní koncentrace znečištění, které je nutné dále eliminovat další hygienizací (Bindzar et. al. 2009).

## **2.3 Zpracování kalu v kalovém hospodářství**

### *2.3.1 Zahušťování*

Surový kal je před dalším využitím či likvidací dále zpracován v kalovém hospodářství. Nejprve se odebírají kaly z usazovacích a dosazovacích nádrží, případně se odebírá i terciální kal. Tyto kaly se smíchají v zahušťovacích nádržích při gravitačním či strojním zahušťování, aby se snížil jejich objem a zvýšila se koncentrace sušiny – tím se zlepšují podmínky pro další nakládání s kaly a jejich přesun (Bindzar et. al. 2009; Web:2).

### *2.3.2 Stabilizace*

Následná stabilizace kalu mění jeho biologické a fyzikálně-chemické vlastnosti, snižují se při ní koncentrace patogenních a jiných živých organismů, navíc klesá organicky rozložitelný podíl sušiny v kalech. Takto stabilizovaný a nezávadný kal se dále samovolně nerozkládá. Současně se nejvíce využívají tyto tři typy stabilizace: anaerobní, aerobní a chemická. Anaerobní stabilizace je typická pro střední a velké ČOV. Přítomné mikroorganismy rozkládají organickou hmotu při anaerobních mezo a termofilních podmínkách v metanizačních nádržích. Proces zahrnuje fáze hydrolýzy, acidogeneze, acetogeneze a výsledné metanogeneze. Produkty anaerobní stabilizace jsou bioplyn, vyhnílý kal a kalová voda. Aerobní stabilizace je vhodná u malých ČOV. Proces probíhá za oxických podmínek a dochází k oxidaci biologicky rozložitelných látek během prodloužené aerace kalu buď přímo v aktivaci, nebo separovaně ve stabilizačních nádržích. Chemická stabilizace čistírenských kalů probíhá minimálně 2 hodiny v silně alkalickém prostředí, které vzniká reakcí CaO (páleného nehašeného vápna) s vodou v kalech. Zvýšenou hodnotou pH a teplotou se odstraňují patogenní mikroorganismy. Tato metoda má silný hygienizační účinek,

avšak za cenu uvolnění amoniaku do ovzduší a snížení optimálních organických složek kalu využívaných v zemědělství (Bindzar et. al. 2009; Web:2)

### 2.3.3 Odvodnění

Proces odvodnění je určený k dalšímu snížení objemu kalu a zvýšení obsahu sušiny. Nejběžnější metodami jsou pásové lisy a dekantační odstředivky za pomoci polymerních flokulantů (Bindzar et. al. 2009; Web:2).

### 2.3.4 Hygienizace

Hygienizace kalů může probíhat několika způsoby, tj. před procesem stabilizace, při něm a po něm. Dělí se na chemické metody, které používají silná oxidační činidla ( $\text{Cl}_2$ ,  $\text{O}_3$ ), vápno a minerální kyseliny, dále na fyzikální metody, které zahrnují ultrazvuk, radiaci a působení teplot (vyhívání kalů). Posledním typem jsou biotechnologické metody, kterými je samotná standardní stabilizace. Nejvyšší kal kategorie I. musí odpovídat nejen limitním hodnotám patogenních organismů podle vyhlášky č. 437/2016 Sb., vyhlášce musí odpovídat také obsah rizikových látek (toxických kovů a POPs). Tento kal lze bez omezení využít v zemědělství. Kaly nižší kategorie II., které nesplňují některé limity, mají přísnější omezení při zemědělském využití. Kaly, které svou nízkou kvalitou nepatří do kategorie I. či II., jsou zakázané při jakémkoliv využití v zemědělství (Bindzar et al. 2019, Kutil, Dohányos 2005). V § 10 vyhlášky č. 437/2016 Sb. jsou stanoveny přísnější požadavky na ověření účinnosti technologie úpravy kalů (snížení koncentrace mikroorganismů *Escherichia coli* či enterokoků o  $10^5$  kolonií tvořících jednotku na g kalu po technologické úpravě).

## 2.4 Využití kalu

Nakládání s kaly je upraveno v zákoně č. 185/2001 Sb., o odpadech, v platném znění, který je definuje jako tzv. vybrané odpady. V roce 2017 bylo v ČR dle statistické ročenky z roku 2018 vyprodukováno 178 077 tun sušiny čistírenského kalu dle českého statistického úřadu (ČSÚ, 2018). Jejich jednotlivé procentuální zastoupení při nakládání s kaly je vyznačeno v grafu č. 1 (viz příloha). Stabilizovaný a zhygienizovaný čistírenský kal má v současné době několik využití.

Využití kalů pro přímou aplikaci a rekultivaci je upraveno vyhláškou č. 437/2016 Sb. Prvním nejčastějším způsobem využití čistírenských kalů je jejich aplikace na zemědělské půdě (42 % v roce 2017), zároveň se produkce kalů stále zvyšuje, a tudíž i stoupá množství použitých kalů na rekultivaci a přímou aplikaci (viz tabulka č. 1). Organické složky a stopové prvky přítomné v kalu jsou důležité pro zemědělské využití a zvyšují kvalitu a úrodnost půd (Web:3). Problematika kompostování kalů je upravena vyhláškou č. 341/2008 Sb., kompostování je

současně druhou nejpoužívanější metodou v ČR z roku 2017 (34 %). Četnost používání této metody se však v letech 2015–2017 snižuje (viz tabulka č. 1). Třetí nejčastěji používanou metodou nakládání s kaly jsou způsoby jiného využití, například jako technická vrstva skládky (Pohořelý et al. 2018), tyto metody ovšem také mají klesající tendenci. Skládkování představuje až čtvrtý nejčastější způsob nakládání s kaly (7 %). Tato metoda je podle legislativy (vyhláška č. 387/2016) zakázaná, přičemž mezi roky 2015–2017 vykazuje vzestupnou tendenci. Spalování čistírenského kalu představuje pátou a poslední, nejméně zastoupenou metodu nakládání s kaly (3 %). Příčinou je zřejmě nedostatek zařízení, která splňují přísné požadavky na energetické využití odpadů. V ČR se v současné době jedná čtyři spalovny v ČR: Pražské služby a.s. v Malešicích, Termizo a.s. v Liberci, SAKO Brno, a.s. a Plzeňská teplárenská, a.s. – ZEVO. Kritéria pro spalování kalů dle zákona č. 201/2012 Sb., o ochraně ovzduší splňují také cementářské pece (Kuti, Dohányos 2005). Podle ústního sdělení (Slepičková 2018) je tento materiál z technologického hlediska pro chod cementárny příznivý, v ČR však není dosud využíván.

Tabulka č. 1: Vývoj produkce kalů z ČOV a způsobu nakládání s kaly v letech 2015-2017 v ČR (ČSÚ 2018).

Rok	Celková produkce kalů [t]	Přímá aplikace a rekultivace [t]	Kompostování [t]	Skládkování [t]	Spalování [t]	Jinak [t]
2015	172 997	63 061	67 065	6 513	2 167	34 191
2016	173 709	62 551	65 163	10 183	4 814	30 998
2017	178 077	75 451	60 930	11 809	4 736	25 151

## 2.5 Složení kalu

Čistírenský kal, jakožto konečný produkt kalového hospodářství, obsahuje řadu organických a anorganických látek. Jeho složení je možné charakterizovat podle příměsí žádoucích (nutrienty, organická hmota) a nežádoucích (polutanty). Tyto polutanty se vyskytují v různých koncentracích, přičemž pevné příměsí mohou mít makro i mikroskopickou velikost. Všechny typy polutantů se koncentrují v kalech během různých stádiích procesu čištění OV, a tím pádem i v různých typech kalů. Složení a charakter kalu je určen původem OV, typem kanalizace a také způsobem technologických úprav OV a kalů (Bindzar et al. 2009). Koncentrace a složení

polutantů vykazují sezónní a lokální proměnlivost a souvisí také s různými technologickými způsoby zpracování OV (Schnaak et al. 1997).

### 2.5.1 Žádoucí příměsi

Kal je bohatý na biogenní prvky, kterými je převážně uhlík, dusík, fosfor a draslík. Také obsahují menší koncentrace vápníku, síry a hořčíku. Biogenní prvky představují optimální zdroj pro růst a vývoj rostlin a organická humusotvorná složka slouží jako protierozní opatření pro půdy (Web3).

### 2.5.2 Nežádoucí příměsi

Anorganické polutanty tvoří rizikové prvky, mezi které lze zařadit tyto těžké kovy: arsen, kadmium, chrom, měď, hořčík, nikl, olovo a zinek. Jsou to prvky, které působí toxicky a karcinogenně v závislosti na zvýšené koncentraci vlivem delší expoziční doby a špatné rozložitelnosti (Hanč 2003). Limitní koncentrace těchto rizikových prvků upravuje legislativa (vyhláška č. 437/2016 Sb.).

Organické polutanty v kalech lze rozdělit dle jejich obsahu a velikosti na makro a mikropolutanty. Dále je lze členit dle původu na syntetické (pesticidy, farmaka a průmyslové chemikálie) a přirozené, mezi které patří například rostlinné hormony (Křesinová et al. 2009). V kalech se také vyskytují infekční a patogenní organismy, lze v nich nalézt viry (hepatitida A, B), koliformní a termotolerantní bakterie (*Salmonella spp.*), parazitické prvky (*Entamoeba histolytica*) a rod škrkavkovitých hlístic (*Ascaris*). Původem patogenního znečištění jsou lidské a zvířecí exkrementy v OV (Stadelmann et al. 2001; Web:1).

Polutanty v kalech lze také rozdělit na skupinu látek, které jsou legislativně regulované, a látky, pro které regulace dosud nebyly zavedeny. Mezi regulované POPs v kalech, jejichž limitní koncentrace ukládá legislativa (vyhláška č. 437/2016 Sb.), v ČR patří halogenové organické sloučeniny, polycyklické aromatické uhlovodíky a polychlorované bifenyly. Mezi dosud neregulovanými mikropolutanty, kam lze zahrnout mimo jiné farmaka, pesticidy, detergenty či desinfekční prostředky, se v současné době objevují i tzv. mikroplasty, které kvůli své schopnosti adsorpce toxických látek na svůj povrch mohou negativně ovlivnit vlastnosti půd (Wang et al. 2019).

### 3. Mikroplasty v kalech

#### 3.1 Definice a vznik mikroplastů

Definice mikroplastů není zcela jednotná a v rámci jednotlivých studií se často liší. Jako mikroplasty jsou označovány různé typy úlomků polymerů o rozdílných velikostech a hustotě. Vědci často používají definici dle velikosti částic v rozmezí 5mm–1 μm (Fendall a Sewell 2009; Murphy et al. 2016; Horton et al. 2017; Mintenig et al. 2017), přičemž horní hranice velikosti není pevně daná, jelikož si ji autoři určují sami podle velikosti použitého síta, které se mohou pohybovat mezi 1 až 10 milimetry (Cole et al. 2011). Spodní hranice je často určována velikostí pórů filtračních materiálů.

Mikroplasty lze rozdělit na dva typy. Primární mikroplasty jsou mikročástice cíleně vyrobené v této velikosti a formě; mezi ně lze zařadit produkty osobní péče, surové výrobní mikroplastové materiály, nátěrové barvy, materiál pro abrazivní tryskování, pryžový granulát a další. Sekundární mikroplasty vznikají rozpadem větších plastových částic přítomných v životním prostředí, které se rozpadají na menší fragmenty vlivem faktorů abiotických (UV světlo, mechanická abraze) a biotických, tedy mikroorganismů (Lassen et al. 2015). Mezi ně lze zařadit uvolněná syntetická vlákna z praní textilií, úlomky z pneumatik, silničního značení, z pláště budov a nátěrových barev či například z běžného domácí nádobí na vaření (Sundt et al. 2014).

#### 3.2 Výskyt mikropastů

##### 3.2.1 Mikroplasty v mořích

Od 70. let minulého století se ve Spojených státech amerických začaly objevovat první zmínky o plastovém odpadu a jeho úlomcích plovoucích volně v oceánech či na jejich pobřežích (Carpenter a Smith 1972; Carpenter et al. 1972; Colton et al. 1974). V Evropě vznikly obdobné výzkumy o několik let později v souvislosti se znečištěním Středozemního moře. Zdrojem mikroplastů v oceánech a mořích je jednak přímé, tj. lokální znečištění z pobřeží z turistiky a rekreace, komerčního rybaření, námořních lodí, průmyslu akvakultur, ropných plošin apod. (Derraik 2002), avšak mikroplasty jsou do moří přinášeny i nepřímo, a to povrchovými toky, přičemž globálně se každý rok dostane do moří skrz říční systémy 1,15–2,41 milion tun plastového odpadu (Lebreton et al. 2017). Jeden z nebezpečných ekologických důsledků přítomnosti plastů v mořích a oceánech je jejich možná interakce s organismy – mořští živočichové a ptáci mohou tyto částice pozřít nebo se mohou do opuštěných rybářských plastových sítí zamotat a následně uhnout (Laist 1997, Derraik 2002).

### *3.2.2 Mikroplasty ve sladkých vodách*

První výzkumy o přítomnosti mikroplastů ve sladkovodních tocích a jezerech se datují do roku 2013 a týkaly se 3 z 5 Velkých jezer v Severní Americe (Eriksen et al. 2013). Od té doby započal výzkum výskytu mikroplastů i v říčních tocích, říčních sedimentech a v trávících traktech sladkovodních organismů (Campbell et al. 2017; Leslie et al. 2017; Vaughan et al. 2017; Vermaire et al. 2017; Wang et al. 2017; Windsor et al. 2019). Všudypřítomné mikroplasty ve vodních ekosystémech byly pozorovány i napříč trofickým systémem organismů (Farell a Nelson 2013). Biologickou dostupnost mikroplastů určují především tyto faktory: velikost částice, hustota částice (pohlcování různých typů mikroplastů v rozdílné hloubce vodního sloupce, například polyethylen s nízkou hustotou ve vyšších hladinách vodního sloupce je dostupný pro planktivorní ryby), hojnost částic (při vyšší koncentraci je větší šance, že organismus pozře částici) a barva, která může způsobit napodobení kořisti. Planktonní společenstva mají častou selektivní potravu založenou na optimálních velikostech, proto mohou přirozenou potravu omylem zaměnit s mikroplastovými částicemi (Moore et al. 2001; Wright et al. 2013).

### *3.2.3 Mikroplasty v terestrických ekosystémech*

Přestože výskyt mikroplastů v terestrických ekosystémech je méně zkoumaný než v mořských a sladkovodních ekosystémech, udává se, že kontaminace mikroplasty na pevninách může být 4krát až 23krát větší než v oceánech (Horton et al. 2017; Machado et al. 2018). Významným zdrojem mikroplastů v životním prostředí se stává použití čistírenských kalů v zemědělství (Li et al. 2018 b). Studie ukazují, že plastové syntetické částice se hromadí v půdě, která byla hnojena čistírenskými kaly. V Evropě a Severní Americe se podle Eurostatu spotřebovává kolem 50 % čistírenských kalů na zemědělské účely. Podle hrubého odhadu vstupuje do půdních ekosystémů 63 tisíc až 430 tisíc tun mikroplastů v Evropě a 44 tisíc až 300 tisíc tun v Severní Americe (Nizetto et al. 2016) vycházející z (Lassen et al 2015, Magnusson et al. 2016, Sundt et al. 2014). Tyto hodnoty překonávají odhadované množství 93–236 tisíc tun mikroplastů přítomných v mořích (Sebille et al. 2015). Přestože existují regulace na nadměrné množství polutantů v kalech (mikroorganismy, těžké kovy, POPs), zatím neexistuje v ČR limit pro množství mikroplastů v čistírenských kalech, kde jsou přípustné limity pro sledované škodliviny regulovány vyhláškou č. 437/2016 Sb., v Evropě (EU 86/ 278/EEC) ani v USA (40 CFR Part 503). Klasické metody čištění OV a stabilizace a hygienizace kalů nezabraňují akumulaci mikroplastů v životním prostředí. Mikroplasty v ovzduší se mohou stát také zdrojem mikroplastů v terestrických ekosystémech (Rillig 2012).

### 3.2.4 Mikroplasty v ovzduší

Zdrojem mikroplastů v ovzduší jsou malé částice, které se uvolňují vířením prachu ze skládek či rekultivací. Ve vzduchu jsou unášeny vzdušnými masami a atmosférickou depozicí jsou opět uloženy do půdních a vodních ekosystémů (Rillig 2012).

### 3.3 Zdroje mikroplastů v kalech

Do čistírenských kalů se mikroplasty dostávají prostřednictvím OV. Během procesu čištění OV jsou mikroplasty zachycovány v kalech, čímž je částečně zabráněno jejich vstupu do povrchových vod. Ačkoliv tato akumulace v kalech zabrání šíření mikroplastů ve vodních ekosystémech, nezabraňuje to zcela jejich vstupu do životního prostředí vlivem dalšího nakládání s kaly (Li et al. 2018 b). Mikroplasty v OV se hromadí ve formě tenkých vláken z procesů praní syntetických textilií v domácnostech. Tato vlákna nemusí být efektivně zachycena v kalech a mohou být dále uvolněna do vodního prostředí. Dalším zdrojem mikroplastů v OV jsou částice ve formě produktů osobní péče, např. produktů osobní péče či exfoliačních peelingových masek (Chang 2015).

### 3.4 Účinnost odstranění mikroplastů v ČOV

Sun et al. (2019) uvádí, že schopnost odstranění mikroplastů retencí v čistírenských kalech z OV je vysoká a většina částic je akumulována v kalech. Hodnota retence se pohybuje okolo 69–80 % (Talvitie et al. 2016, Sun et al. 2019). V průběhu čištění OV zachyceno 72–99,4 % všech mikroplastů (Gatidou et al. 2019). Účinnost zachycování mikroplastů v čistírenských kalech závisí na tvaru a hustotě částic. Ovšem autoři některých studií zaznamenávají ještě vyšší účinnost. Hodnotu celkové retence mikroplastů počítali Magnusson a Norén (2014) ze svých výsledků koncentrací mikroplastů v přítoku a odtoku OV podle vzorce [1]:

$$c [\%] = \frac{MP_{\text{přítok}} - MP_{\text{odtok}}}{MP_{\text{odtok}}} \cdot 100 \quad [1]$$

Vyšla jim hodnota 99,9 % účinnosti retence mikroplastových částic o velikostech  $\geq 300$   $\mu\text{m}$  skládajících se z vláken, partikulí a vloček. Takto vysokou retenci potvrzuje i Talvitie et al. (2017). V ČOV se nejnádhěji zachycují při mechanickém a biologickém čištění ty částice, jejichž hustota je větší než voda, a tudíž plavou na hladině. Plovoucí mikroplasty jsou téměř všechny zachyceny při mechanickém a biologickém čištění OV. Terciální čištění odstraňuje pouze větší plovoucí částice, kdežto malé zbytkové částice již nezachytí. Ty mohou dále pronikat do odtoků z ČOV (Murphy et al. 2016).



### 3.4.1 Primární čištění

Primární mechanické předčištění, tvořené česlemi a lapáky písku a tuků a sedimentační nádrží, má významný vliv na vylučování větších mikroplastových částic. Sun et al. (2019) uvádí, že při hrubém předčištění OV se zachycuje 35–59 % mikroplastů. V následné sedimentační fázi se odstraní 50–98 %, kde se stírají a odtahují z hladiny plovoucí částice mikroplastů, zároveň se odstraňují i částice usazené v hustém kalu na dně usazovacích nádrží. Tento fakt potvrzuje Dris et al. (2015) – podle této studie klesá koncentrace větších mikroplastů (1–5 mm) v OV na odtoku z ČOV ze 45 % na 7 %. Autoři studie (Murphy et al. 2016) zaznamenali 45% úbytek mikroplastů během mechanického předčištění a další 34% úbytek v následné usazovací nádrži. V mechanickém předčištění se efektivněji odstraňují vlákna než úlomky a vločky, protože se mohou snáze dostat do flokulantů, se kterými sedimentují (Dris et al. 2015; Talvitie et al. 2015). Mezi odstraněnými vlákny se při stírání povrchu hladiny nádrže hojně vyskytovaly mikroplastové částice typu polyethylen (PE), které mají přirozeně nižší hustotu, a tudíž se vyskytují výše ve vodním sloupci (Murphy et al. 2016). Přestože se vlákna efektivně odstraňují už v primárním stupni čištění a jejich výskyt v dalších stupních čištění OV klesá, tak Ziajahromi et al. (2017) potvrzuje jejich únik na odtoku z ČOV – v této studii se ovšem jednalo se o menší mikrovlákna, která jsou pravděpodobně díky svému unikátně tenkému a malému rozměru schopna pronikat přes různé filtrace a sedimentace v terciálním, sekundárním i primárním stupni čištění OV.

### 3.4.2 Sekundární čištění

Sekundární biologický stupeň čištění OV dále pročišťuje mikroplastové znečištění v dosazovacích nádržích podle studií (Murphy et al. 2016; Talvitie et al. 2016) o dalších 7–20 %, tudíž snižuje jejich koncentraci na 14–0,2 % (Sun et al. 2019). Na rozdíl od primárního čištění se v tomto sekundárním podle studií (Talvitie et al. 2015; Ziajahromi et al. 2017) odstraňuje více úlomků a vloček než vláken mikroplastů, které byly intenzivně odstraňovány v přechodí části mechanického čištění. Studie Talvie et al. (2016) naměřila pouze 8% zastoupení větších mikroplastových částic o velikostech >300  $\mu\text{m}$ . Jiní autoři se shodují, že mikroplasty od velikostí >500  $\mu\text{m}$  se téměř nevyskytovaly ve vzorcích OV po sekundárním čištění (Mintenig et al. 2017; Ziajahromi et al. 2017), přestože jedna studie naměřila vyšší výskyt mikroplastů (43 %) o velikostech 500–1000  $\mu\text{m}$  (Dris et al. 2015). Mikroplasty se během biologického čištění mohou zachycovat v aktivovaném kalu a mohou být také pozřeny mikroorganismy. Tento agregovaný shluk kalu následně sedimentuje a je odstraněn podobným mechanismem jako v usazovacích nádržích (Murphy et al. 2016; Sun et al. 2019). Přidávky chemikálií na bázi flokulantů (např. síran železitý) mohou v této fázi čištění zefektivnit odstranění mikroplastů, protože pomáhají srážet pevné částice do agregátů (Murphy et al. 2016), ovšem jak účinně přispívají chemické flokulanty

k separaci mikroplastů z aktivovaného kalu v biologickém stupni čištění, není dosud vyjasněno. Aktivovaný kal nemusí vždy sedimentovat na dno dosazovací nádrže z důvodů nepříznivých technologických parametrů kalu a složení OV (změny teplot, pH apod.), takže částice mikroplastů zůstávají v OV; čím delší čas se zdrží v OV, tím větší je šance, že vytvoří shluk s biogenními částicemi a mikroorganismy jakožto „biofilmem“ (Carr et al. 2016). Takovýto shluk ovlivňuje povrchové vlastnosti i hustotu mikroplastů a může znehodnotit proces usazování mikroplastů s kaly či jeho stírání z povrchu hladiny vlivem zachycení mikroplastů na biofilm (Rummel et al. 2017).

### 3.4.3 Terciální čištění

Poslední fáze čištění OV slouží pouze k dodatečnému zachytávání mikroplastů, při kterém klesá jejich již tak nízká koncentrace na 2–0,1 %. U takto nízké koncentrace mikroplastů je doporučeno při jejich zkoumání odebrat větší objem vzorků OV. Účinnost terciálního čištění závisí na druhu využití technologie (Sun et al. 2019). Nejúčinnější metodou je odstraňování mikroplastů z membránového bioreaktoru s účinností 99,9 %, po které následovaly pískové filtry s účinností 97 %, flotace rozpuštěným vzduchem s účinností 95 % a diskovými filtry s účinností 40–98,5 % (Talvitie et al. 2017). Kontaminace mikroplasty ve vzorcích byla účinně zredukována i novými technologiemi – ultrafiltrací a reverzní osmózou (Ziajahromi et al. 2017), přičemž v této studii se velikost zkoumaných částic mikroplastů po terciálním čištění OV se pohybovala okolo 20–100  $\mu\text{m}$  a 100–190  $\mu\text{m}$ ; zároveň se mezi nimi objevila opět i mikrovlákna, která jsou pravděpodobně kvůli svému unikátně tenkému a malému rozměru schopna pronikat přes různé filtrace a sedimentace v terciálním, sekundárním i primárním stupni čištění OV.

## 3.5 Charakteristika mikroplastů v čistírenských kalech

Mikroplasty v kalech zaujímají mnoho různých tvarů. Některé z nich jsou specifické pro jejich daný zdroj (například vlákna ze syntetických textilních látek). Podle jedné z nejnovějších studií se v čistírenských kalech vyskytovalo až 63 % mikrovláken (Lie et al. 2018 b). Naopak v italské studii zaznamenali jiné pořadí zástupných tvarů mikroplastů, které tvořilo 51 % fóliových částic, 34 % úlomků a 15 % vlákna (Magni et al. 2019). Autoři studie (Corradini et al. 2019), kteří studují mikroplasty v půdách, na kterých byl aplikován čistírenský kal, také potvrzují dominantní výskyt mikrovláken. V současné době je sledováno přes třicet druhů mikroplastových polymerních částic, které se vyskytují jak u přítoku, tak i odtoku OV z ČOV. Nejvíce zastoupenými je polyester (PES), který tvoří 28–89 % všech mikroplastů. Dále také PE z 4–51 %, který se hojně vyskytuje např. v produktech osobní péče (Fendall a Sewell 2009). Následuje PET z 4–35 %, PA z 3–30 % a v

poslední řadě tyto polymery: polypropylen (PP), polystyren (PS), polyuretan, akrylát, polyvinylalkohol a polyaktid, které dohromady tvoří menší zastoupení mikroplastů (5–27 %), případné další polymerní typy netvoří ani 1 % (Sun et al. 2019). Polymerní typy PA, PES a PET se využívají na výrobu syntetických textilních materiálů a oblečení, které se každým praním snadno dostávají do OV (Mahon et al. 2017). Typy polymerů ve zkoumaných vzorcích kalů se tvoří převážně PET, PES a PP (Li et al. 2018 b). Jiná studie zkoumala výskyt různých typů polymerů pouze o velikostech <500  $\mu\text{m}$ , které představovaly PE, PP, PA a PS (Minténig et al. 2017). Jejich koncentrace byla odhadována na  $1 \cdot 10^3$  na  $\text{kg}^{-1}$  až  $2,4 \cdot 10^4$  na  $\text{kg}^{-1}$  sušiny kalu. Čínská studie odhadovala množství  $4,6 \cdot 10^8$  zachycených částic mikroplastů v kalech z ČOV, kterou denně protéká  $10^3 \text{ m}^3$  OV. Navíc tato studie odhaduje počet  $1,56 \cdot 10^{14}$  částic mikroplastů v kalech, které ročně vstupují v Číně do životního prostředí. Průměrná hodnota těchto částic mikroplastů ze 79 testovaných vzorků z 28 ČOV byla  $22,7 \pm 12,1 \cdot 10^3$  částic na  $\text{kg}^{-1}$  sušiny kalu (Li et al. 2018 b). Obecně se dá konstatovat, že koncentrace mikroplastů v kalech jsou o několik řádů vyšší, než v OV před i po vyčištění. Podle některých studií (Carr et al. 2016; Murphy et al. 2016) obsahoval mokřý kal okolo 4000–7000 částic mikroplastů na  $\text{kg}^{-1}$  vzorku kalu. Koncentrace v suchém, odvodněném a stabilizovaném kalu mohou dosahovat až o tři řády vyšších hodnot, tj.  $1500$ – $170 \cdot 10^3$  částic na  $\text{kg}^{-1}$  (Sun et al. 2019).

### 3.6. Vlivy na distribuci mikroplastů

Studie provedená Li et al. (2018 b) vytvořila korelační závislost mezi koncentrací mikroplastů a třemi faktory: hustotou lidské populace, stupněm industrializace a hodnotou zalesněné plochy. Jejich výsledky potvrzují, že kladná korelační závislost existuje mezi množstvím mikroplastů, vysokou hustotou lidské populace a také vysokou hodnotou industrializace ( $p < 0,05$ ). Naopak záporná hodnota korelačního koeficientu vyšla s množstvím mikroplastů s nízko zalesněnou plochou ( $p < 0,01$ ). Tento záporný výsledek se dá vysvětlit souvislostí s urbanizací, se kterou podle výše uvedené pozitivní korelace existuje závislost.

### 3.7 Metody detekce mikroplastů

Současné metody analýzy mikroplastů se dají rozdělit do několika skupin. První skupina zahrnuje vizuální detekci, např. optickými mikroskopy. Tato metoda je výhodná kvůli rychlosti provedení, ovšem její vyhodnocení a spolehlivost výstupu je čistě subjektivní a záleží na zkušenostech pozorovatele. Další skupinou jsou spektroskopické metody – mezi ně patří Ramanova spektroskopie (RAMAN), infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací (FT-IR) a skenovací elektronová spektroskopie (SEM), které dokáží rozpoznat plastovou chemickou strukturu látek od ostatních a jsou spolehlivější metodou, než je použití optického mikroskopu.

Poslední skupinou jsou chromatografické metody, které představuje termicko-analytická metoda pyrolýzy GC/MS, jež při analýze sleduje pouze jeden polymer o dané hmotnosti (např. PE nebo PP), a kapalinová chromatografie (Rocha-Santos a Duarte 2015; Li et al. 2018 a).

### 3.8 Příprava vzorku kalu

#### 3.8.1 Metoda digesce

Analyzované vzorky kalu obsahují vysokou koncentraci jílovitých organických látek přírodního původu a anorganických pevných látek, které svým množstvím mohou ovlivnit pozorovatelnost mikroplastů. Aby byla usnadněna jejich identifikace a případná kvantifikace, musí být tyto rušivé částice odstraněny. Současně se využívá metoda digesce organických látek, které oxidují látky přírodního původu pomocí silných oxidačních činidel. Nejběžnějšími oxidačními činidly jsou peroxid vodíku ( $H_2O_2$ ), fentonová reakce s  $Fe^{2+}$  a  $H_2O_2$ , chlornan sodný ( $NaClO$ ), kyselina chlorovodíková ( $HCl$ ) a hydroxid sodný ( $NaOH$ ). Mokrý oxidace probíhá při použití fentonova činidla  $H_2O_2$  a chlornanu sodného. Reakce s fentonovým činidlem je jednou z možností, kterou používá Masura et al. (2015) při zkoumání mikroplastů v písčném sedimentu, mořské vodě a sedimentu mořského dna. Výhodou této metody je rychlý rozklad organických látek přírodního původu bez ztrát mikroplastových částic (Tagg et al. 2017). Při použití  $H_2O_2$  v mokré oxidaci bylo zjištěno, že tato metoda nemá mít vliv na změnu složení mikroplastů s výjimkou změny velikosti a ztenčení částic PE a PP (Nuelle et al. 2014). Dokonce byla potvrzena její 83% účinnost pro oxidaci organického materiálu vzorků o objemu  $>1$  L s menším obsahem přírodních organických látek, při které syntetické částice mikroplastů zůstaly nedotčeny po dobu 7 dní ve 35%  $H_2O_2$  (Tagg et al. 2015 a).

Další skupinou metod jsou alkalická a kyselá oxidační činidla.  $HCl$  je vhodné pouze v nižších koncentracích (kolem 20 %), jelikož studie při jejím použití ve větších koncentracích zaznamenaly rozklad určitých polymerů mikroplastů (Nuelle et al. 2014), podle jiných zásadité činidlo 10 M  $NaOH$  vykazovalo pro určité mikroplasty při 60 °C destruktivní vlastnosti (Cole et al. 2014).

#### 3.8.2 Metoda hustotního rozdělení

Metoda flotace je založena na hustotním rozdělení složek v objemu solného roztoku o známé hodnotě hustoty. Hustší částice, než je daný roztok, klesají na dno, kdežto lehké vyplavávají na hladinu. V případě mikroplastů jsou tyto částice lehké a v roztocích soli se většina vyskytuje na povrchu, čímž se usnadní jejich separace pro další výzkum. Nejběžnější solné roztoky využívané pro metodu flotace jsou  $NaCl$  (přibližná hustota  $\rho = 1,2 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ),

NaI ( $\rho = 1,6\text{--}1,8 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ) a  $\text{ZnCl}_2$  ( $\rho = 1,5\text{--}1,7 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ). Další vyzkoušenou metodou hustotního rozdělení mikroplastů v kalech je elutriace v koloně z polyvinylchloridového materiálu.

Nejprve jsou vzorky proseté sítím k zachycení největších částic, poté jsou při aeraci kolony unášeny vzrůstajícím proudem kapaliny, který rozděluje lehčí částice, jež zůstávají na hladině a jsou dále filtrovány membránovými filtry, od těžších, které budou vlivem své větší hmotnosti sedimentovat proti proudu. Tato metoda byla poprvé provedena ve studii Claessens et al. (2013) pro separaci mikroplastů ze vzorků mořského sedimentu a z tkáně bezobratlých. Nicméně studie Mahon et al. (2017) vyzkoušela tento postup pro separaci mikroplastů z kalů a výsledek ukázal 90%; 91% a 94% efektivnost separace červených, černých a modrých fragmentů vysoce hustotního polyethylenu a jen 80% efektivnost u fragmentů polyvinylchloridu (PVC). Jelikož tato studie nesledovala žádné jiné druhy mikroplastů, nelze tuto účinnost zobecnit pro všechny polymery.

### 3.9 Kvantifikace

K vyhodnocení počtu mikroplastových částic se využívá mikroskopie. Kvantifikace mikroplastů v optickém i elektronovém mikroskopu je vhodná pro čistší vzorky např. pitné vody, ve kterých je přítomno málo rušivých látek, a to včetně mikroplastů. Výhodné je (oproti zkoumání v optickém mikroskopu) použít SEM, protože SEM automaticky sčítá počet částic na vybraných výsečích filtračním papíru a vyhodnocuje celkový počet mikroplastů ve vzorku i s rozlišením různých tvarů a velikostí. Ovšem následná kvalitativní analýza pomocí FT-IR spektroskopie vyhodnotila, že zkoumané částice na jednotlivých vzorcích nebyly z 8–83 % plastového původu (Pivokonsky et al. 2018) – proto je pro kvantifikaci mikroplastů pod mikroskopem vhodné využít přesnější technické přístroje. Autoři studie Hermsen et al. (2018) vytvořili nový systém skórovacího hodnocení přípravy a analýzy vzorků pro posouzení spolehlivosti a aplikovatelnosti metod při identifikaci a kvantifikaci mikroplastů. Tento systém by mohl sjednotit přístup a věrohodnost jednotlivých výsledků, které by se daly efektivně porovnávat napříč různými studiemi mikroplastů i v různém testovaném materiálu (OV, kaly, sedimenty, půda, mořská voda, sladká voda atd.). Systém hodnotí odebrání vzorků a jejich uskladnění, laboratorní přípravu (použití vhodných materiálů a oblečení), čisté podmínky (vzduch) v laboratoři, negativní a pozitivní kontroly, zpracování vzorků (oxidace, flotace, elutriace atd.) a identifikaci mikroplastů. Každému úkonu se přiřazují na základě stanovených podmínek hodnoty: 2 (věrohodné), 1 (částečně věrohodné), 0 (nevěrohodné). Pouze data ze studií, které vykazují maximální hodnoty 18, by podle autora měla být spolehlivá.

#### 4. Kategorie mikroplastů

Při pozorování a analýze mikroplastů pod mikroskopem je vhodné přesně kategorizovat jednotlivé částice mikroplastů a je velmi obtížné je s jistou přesností kvalitativně a kvantitativně určit bez dalších, např. spektroskopických metod. Přesto byly jednotlivé částice mikroplastů kategorizovány do určitých skupin na základě jejich zdroje, typů, tvarů, eroze a barvy.

Tabulka č. 2 = Rozdělení mikroplastů podle zdroje, tvaru, eroze a barvy, upraveno dle Web:4)

Kategorie	Popis
Podle zdroje	Běžné produkty úlomků (z rybářských sítí, průmyslové pelety atd.)
Podle typu	Plastové fragmenty, pelety, vlákna, fólie, pěny, granulovité a částice PS
Podle tvaru	Pelety: kulaté, eliptické, cylindrické, diskovité, ploché
	Fragmenty: kulaté, polokulaté, hranaté, polohranaté
	Obecně: nepravidelné, degradované, protáhlé, hrubé a se zlomenými hrany
Podle eroze	Čisté, nepůvodní, původní, modifikované, konchoidální, nerovné, zubaté, lineárně lomené, rýhované, paralelně rýhované
Podle barvy	Průhledné, neprůhledné, pigmentované, krystalické, světle krémové, průsvitné, bílé, černé, červené, oranžové, růžové, hnědé, šedé, zelené, žluté

## 5. Experimentální část

### 5.1 Použité chemikálie, přístroje a pomůcky

#### 5.1.1 Chemikálie

<u>Síran železnatý heptahydrát p.a.:</u> ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; $M = 278,02 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ )	Lach-Ner, ČR
<u>Peroxid vodíku p.a.:</u> 30%, nestabilizovaný ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )	Lach-Ner, ČR
<u>Kyselina sírová p.a.:</u> koncentrovaná 96% ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ )	Penta, ČR
<u>Jedlá kamenná sůl s jódem:</u> (5 M NaCl; $\rho = 1,15 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ )	K+S, Solné mlýny, ČR
<u>Bengálská červeň:</u> (4,5,6,7-tetrachloro-2',4',5',7' - tetraiodofluorescein, $200 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ )	Sigma-Aldrich, USA

#### 5.1.2 Přístroje a pomůcky

<u>Analytické váhy:</u> Extend	Sartorius, Německo
<u>Sušárna:</u>	Memmert GmbH + Co. KG, Německo
<u>Mikroskop:</u> optický (MBL 2100) s kamerou (Moticam BTU 10)	Krüss, Německo Motic, Německo

#### Microsoft Office Excel 2019

<u>Aparatury na filtraci a obarvení vzorků:</u>	Odsávací baňka, filtrační nástavec, pryžová podložka, nitrocelulóзовý filtrační papír s velikostí pórů $0,45 \mu\text{m}$ , frit a vývěva.
---	--

#### Skleněné dělicí nálevky

#### Běžné laboratorní nádoby

### 5.2 Testovaný materiál

Přítomnost mikroplastů byla testována na vzorcích odvodněného stabilizovaného kalu, který byl odebrán z pěti anonymních ČOV v České republice. Vzorky byly odebrány dne 14. 2. 2019. Z každé ČOV byl odebrán vzorek kalu o hmotnosti cca 2 kg. Z něho byly po homogenizaci odebrány 3 podvzorky o hmotnosti cca 20 g a vysušeny při  $90^\circ\text{C}$  do konstantní hmotnosti. Tyto vzorky kalů sloužily k ověření použitelnosti metodiky separace plastových mikročastic v kalech pomocí oxidace a flotace vycházející z laboratorních metod pro analýzu mikroplastů v mořském prostředí pro vzorky mořské vody, písku a sedimentu z mořského dna (Masura et al. 2015).

Podstatou přípravy vzorků kalů pro analýzu byla oxidace organického materiálu, který by mohl znehodnocovat výsledky pozorované v mikroskopu (Tagg et al. 2015 b). Během přípravy těchto vzorků došlo ke změně a optimalizaci metody využitím dělicích nálevek pro lepší odstranění nežádoucích sedimentujících příměsí kalu ve vzorku. Po oxidaci byly vzorky kalů zkoumány pod optickým mikroskopem za účelem detekce mikroplastů. Pro spolehlivější rozlišení mikroplastů byly vzorky pozorovány před i po obarvení bengálskou červení podle německé studie (Liebzeit, G. a Liebzeit, E. 2014). Vyzkoušená metodika zachycuje mikroplasty o velikostech od 0,45  $\mu\text{m}$  bez horní hranice, protože vzorky nebyly prosety sítím. Podle Masury et al. (2015) je tak možné separovat tyto druhy polymerů: PP, PE, PS a PVC.

### *5.2.1 Příprava roztoků*

Byl vytvořen zásobní roztok činidla ze 7,5 g pevného  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  rozpuštěného v 500 ml destilované vody s přidavkem 3 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Byl vytvořen zásobní roztok NaCl rozpuštěním 30 g NaCl ve 100 ml destilované vody.

### *5.2.2 Oxidace organického materiálu v kádích*

Jednotlivé vzorky kalů byly vysušeny při 90 °C po dobu 19 h do konstantní hmotnosti. Z každého podvzorku bylo odváženo 5 g, které byly následně ve skleněné kádince o objemu 1000 ml vystaveny oxidační reakci. Nejprve byly vzorky smíchány s 20 ml zásobního roztoku  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  a s 20 ml  $\text{H}_2\text{O}_2$ , jako hlavním oxidačním činidlem (Masura et al. 2015). Po uplynutí přibližně 5 minut byly vzorky v kádinkách vloženy na 15 minut do vodní lázně o teplotě maximálně 75 °C. Pokud po nejméně 15 minutách vzorek kalu stále viditelně pění a byl zakalený vlivem přítomnosti organických příměsí, byla přidána další dávka  $\text{H}_2\text{O}_2$  o stejném množství (20 ml) a opět byly vzorky zahřívány ve vodní lázni po dobu minimálně dalších 15 minut. Počet kroků potřebných pro úplnou oxidaci viditelných nečistot (množství přidaného peroxidu vodíku) byl následně korelován s obsahem TOC v jednotlivých vzorcích. Tyto údaje poskytla firma DEKONTA, a.s.

### *5.2.3 Metoda flotace mikroplastů z kalů*

Po viditelném zoxidování veškerého organického materiálu bylo do jednotlivých vzorků kalu přisypáno 30 g chloridu sodného. Aby bylo dosaženo požadovaného poměru 30 g NaCl na 100 ml objemu vzorku kalu, tak byly vzorky kalů dále doplněny destilovanou vodou na 100 ml. Chlorid sodný byl rozpouštěn mícháním za studena. Pokud v roztoku stále zůstávaly viditelné krystalky soli, byly vzorky vloženy na několik minut do vodní lázně. Obsah kádinky byl poté kvantitativně převeden do dělicí nálevky. Stěny kádinky byly přitom oplachovány roztokem NaCl o požadované



koncentraci, dokud na nich neulpívaly žádné viditelné nečistoty. Tento podíl roztoku NaCl byl také přidán do dělicí nálevky. Vzorky poté sedimentovaly v dělicích nálevkách do druhého dne, maximálně však po dobu 24 hodin. Daný postup vychází z předpokladu, že specifická hmotnost plastů je nižší než specifická hmotnost použitého roztoku, a proto budou přítomné mikroplasty v horní vrstvě dělicí nálevky. Optimální doba pro sedimentaci se v této fázi procesu pohybovala v rozmezí 3–24 hodin. Po delší době usazený sediment ztuhl natolik, že jej nebylo možné vypustit krouhnutím dělicí nálevky. Při pokusu zprůchodnit výtok plastovým vláknem došlo k proražení vrstvy sedimentu a nežádoucímu vypuštění horní vrstvy obsahující mikroplasty.

Po odpuštění sedimentovaných částic kalu ze dna nálevek byl obsah těchto vzorků kvantitativně převeden do filtrační aparatury (proplachováním nádoby destilovanou vodou, dokud na stěnách nezůstaly žádné mikroplasty), kde byla přebytečná tekutina vakuově odsáta přes mřížkovaný nitrocelulózný filtrační papír s velikostí pórů 0,45  $\mu\text{m}$ . Vzhledem k přítomnosti hnědě zabarvených jílových částic na filtračním papíru byl postup hustotního rozdělení v dělicích nálevkách pro každý vzorek kalu jedenkrát opakován. Vzorky byly spláchnuty do dělicích nálevek zásobním roztokem NaCl, aby nedošlo k jejich naředění, a poté doplněny tímto roztokem na objem 100 ml. Druhá sedimentace trvala ideálně 1–3 hodiny, poté byl sediment odstraněn vypuštěním z dělicí nálevky. Pokud byly vzorky na filtračním papíru stále znečištěné, byl celý postup zopakován potřetí s dostačující dobou sedimentace 5–15 minut. Tímto postupem vznikly dostatečně přečištěné vzorky vhodné pro pozorování pod mikroskopem.

#### *5.2.4 Detekce a ověření separace mikroplastů v kalech*

Vzorky kalů byly pozorovány optickým mikroskopem se zvětšením 40x v Mikrobiologickém ústavu AV ČR pod vedením Mgr. Jaroslava Semeráda. Pro přesnější odlišení syntetických mikroplastových částic ve vzorcích kalu od organických jílovitých částic přírodního původu byly vzorky na původním filtračním papíru vystaveny 6 ml roztoku bengálské červeně přímo ve filtrační aparatuře napojené na vývěvu (Liebzeit, G. a Liebzeit, E. 2014). Po 5 minutách působení bylo přebytečné barvivo odfiltrováno a 3krát promyto destilovanou vodou. Barvení u každého vzorku bylo opakováno 3krát včetně promytí, aby došlo ke spolehlivému obarvení všech částí vzorku. Některá místa na filtračním papíru vykazovala dočasnou vodoodpudivost, při opakování procesu barvení však došlo k jejich smáčení. Výhoda obarvení vzorku spočívá v tom, že obarvuje pouze mikroskopické organické fragmenty přírodního původu ve vzorcích a syntetické plastové částice zůstávají neobarveny.

Pod mikroskopem byly částice mikroplastů určovány částečně na základě rezistence vůči obarvení bengálskou červení a částečně na základě jejich charakteristických tvarů (např. vlákna, fólie). Podle ústního sdělení (Semerád 2019) se mikroplasty, zejména fóliové částice, dají

identifikovat pomocí proostřování obrazu. Pokud je takové proostřování (při různých vzdálenostech okuláru) jednotlivých vrstev nebo záhybů fólie možné, jedná se pravděpodobně o materiál z plastu. Zároveň tyto materiály nemají buněčnou strukturu, a tak se dají snadno rozpoznat od organických částic přírodního původu. Dalším určujícím znakem přítomnosti mikroplastů jsou částice s výrazným nepřirozeným zabarvením, např. fialovým, červeným, zeleným nebo modrým (Web:4). Tyto částice bylo možné snadno rozpoznat ve vzorcích ještě před obarvením bengálskou červení. Naopak jejich přítomnost může být nejasná po obarvení vzorku, proto je vhodné provést hodnocení obsahu filtračního papíru jak před obarvením, tak po obarvení vzorku.

### 5.3 Výsledky

#### 5.3.1 Spotřeba oxidačního činidla při odstranění organických nečistot a optimalizace metody

Celková spotřeba oxidačního činidla peroxidu vodíku byla pro jednotlivé ČOV odlišná, zároveň se ovšem lišila v rámci stejných vzorků u ČOV 4 (tabulka č. 1). Pomocí programu Microsoft Office Excel 2019 byla zjištěna hodnota korelačního koeficientu pro celkovou průměrnou spotřebu oxidačního činidla a obsahem celkového organického uhlíku (TOC) u jednotlivých vzorků **-0,09** (tabulka č. 3). Nebyla tedy pozorována korelace mezi hodnocenými parametry. Je však nutné připomenout, že se jednalo o soubor 5 vzorků kalů.

Tabulka č. 3: Výsledné hodnoty TOC, spotřeby oxidačního činidla a detekce mikroplastů

Vzorek	Velikost ČOV [EO]*	Metoda stabilizace	Technologie odvodnění	TOC $\bar{x}$ [mg · kg <sup>-1</sup> ]	Spotřeba H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> $\bar{x}$ [ml]	Detekce mikroplastů
ČOV 1	>60000	Anaerobní	Odstředivka	362060 ± 2200	60±0	Ano
ČOV 2	141000	Anaerobní	Odstředivka	343520 ± 10650	90±0	Ano
ČOV 3	9100	-	Kalolis	403530 ± 13730	100±0	Ano
ČOV 4	130000**	Anaerobní	Kalolis	405310 ± 5790	73,33±9,43	Ano
ČOV 5	14000	-	Odstředivka	407665 ± 15865	60±0	Ano
<b>Korelační koeficient***</b>				<b>-0,09</b>		

Poznámky:

\* maximální kapacita ČOV vyjádřená v počtu ekvivalentních obyvatel (EO)

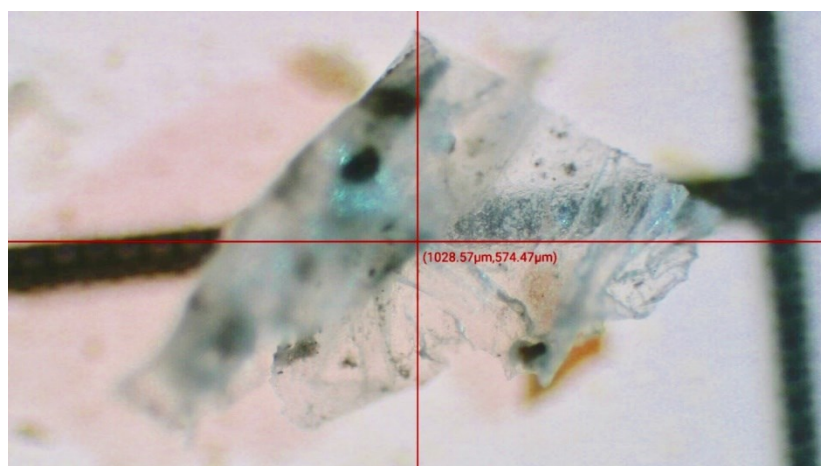
\*\* z toho 23 % tvoří průmyslové OV

\*\*\* hodnota korelačního koeficientu hodnot obsahu TOC a průměrné spotřeby H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

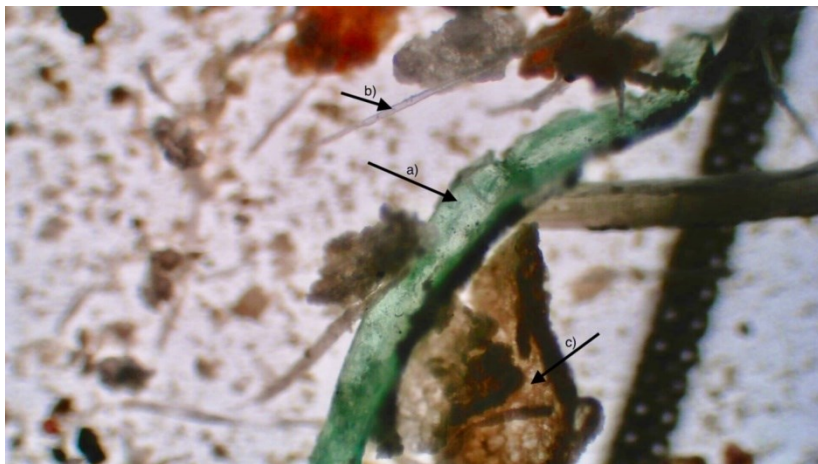
### 5.3.2 Detekce mikroplastů za použití mikroskopu

Ve všech vzorcích analyzovaných kalů byl prokázán výskyt různých druhů částic mikroplastů. U některých bylo možné pozorovat také makroskopické plastové částice ulpělé na filtračním papíru. Nejvíce zastoupenými částicemi, které se vyskytovaly ve všech vzorcích kalů, byly bezbarvé syntetické fóliové úlomky (obrázek č. 1; 3; 4; 6 a 9) a granulové či zrnité částice mikroplastů (obr. číslo 3 a 4). Mikroplastové fóliové úlomky byly viditelné v barevném provedení a byly dobře pozorovatelné i před obarvením (obrázek č. 2 a 10). Dále se hojně vyskytovala bezbarvá syntetická plastová mikrovlákná (obrázek č. 2; 4; 6; 7 a 8), ale i vlákna barevná (obrázek č. 5; 7 a 8). Ve vzorcích z ČOV 1 se vyskytovaly charakteristické druhy makro i mikroplastů pocházející z polystyrenových kuliček (obrázek č. 7; 8; 11 a 12). Tento původ byl jistě specifický pro zdroj OV, která ústí do ČOV 1.

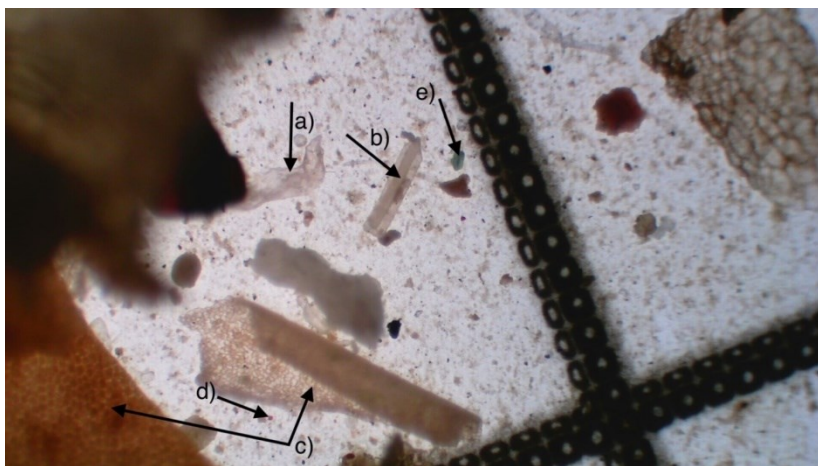
Na obrázcích č. 1–10 jsou znázorněny výsledky mikroskopického pozorování vybraných vzorků s příslušným komentářem. Jedná se o výběr z mnoha desítek jednotlivých pozorování, na kterém je dokumentována nejen rozmanitost pozorovaných mikroplastů, ale také úskalí jejich spolehlivé detekce. Každý obrázek má stejný rozměr snímku, který je znázorněn mřížkou v poli u obrázku č. 1.



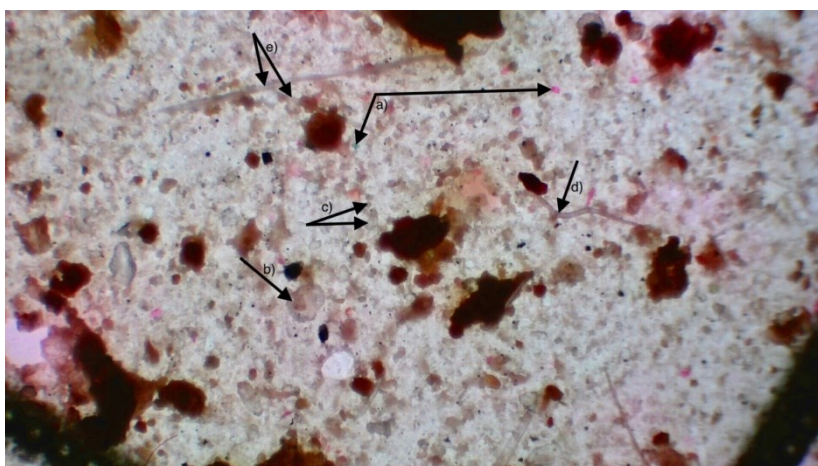
Obrázek č. 1: vzorek z ČOV 2, bezbarvá mikroplastová fóliová částice, rozměry jednoho pole mřížky snímku: 1028,57  $\mu\text{m}$ ; 574,47  $\mu\text{m}$ , přidané podsvícení LED světlem, před barvením bengálskou červení



Obrázek č. 2: vzorek z ČOV 5, před obarvením bengálskou červení, legenda: a) barevná fóliová částice mikroplastu, b) bezbarvé krátké vlákno mikroplastu, c) organická buněčná struktura

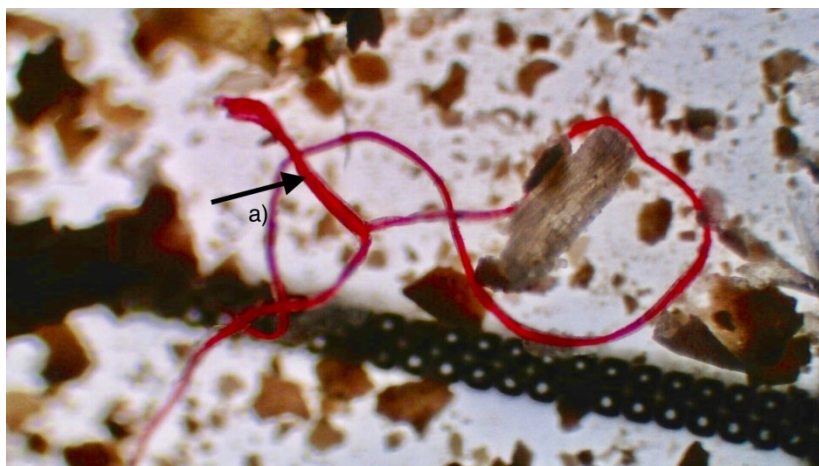


Obrázek č. 3: vzorek ČOV 2, před barvením bengálskou červení, černá linie je zvětšená mřížka na filtračním papíru, legendy: a) bezbarvá fóliová částice mikroplastu, b) bezbarvý úlomek mikroplastu, c) organická buněčná struktura, d) + e) zelená a růžově barevná granulovaná částice mikroplastu

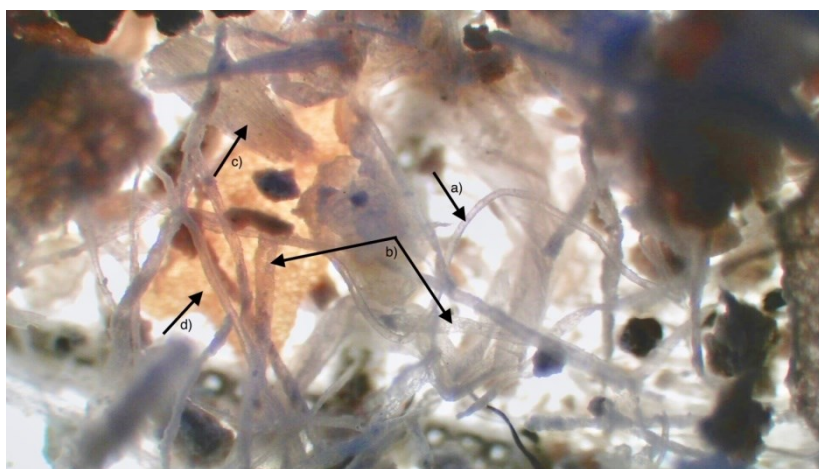


Obrázek č. 4: vzorek z ČOV 3, po obarvení bengálskou červení, legenda: a) zelenomodrá a růžově barevná granulovaná částice mikroplastu, b) větší bezbarvá granulovaná mikroplastová částice, c) malé bezbarvé granulované mikroplastové částice, d) bezbarvé vlákno mikroplastu, e) bezbarvá fóliová vlákna mikroplastu

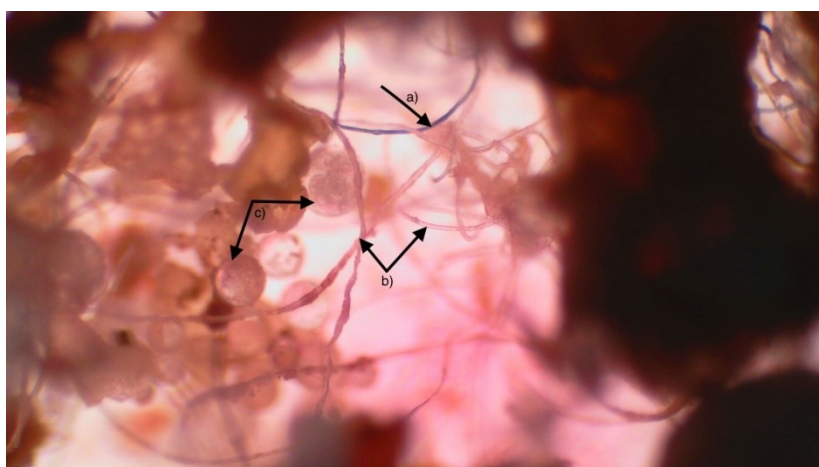




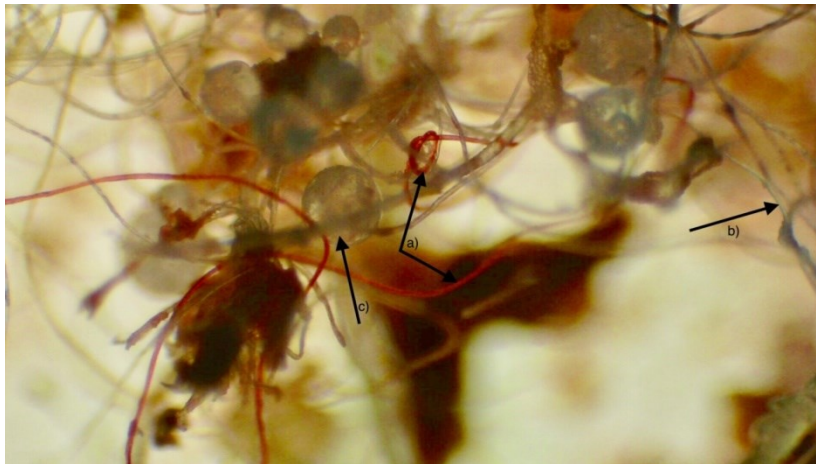
Obrázek č. 5: vzorek z ČOV 5, před obarvením bengálskou červení, legenda: a) červené mikroplastové vlákno



Obrázek č. 6: vzorek z ČOV 5, před obarvením bengálskou červení, legenda: a) + b) bezbarvá mikroplastová vlákna, c) bezbarvý fóliový úlomek částice mikroplastu, d) oranžová organická buněčná struktura



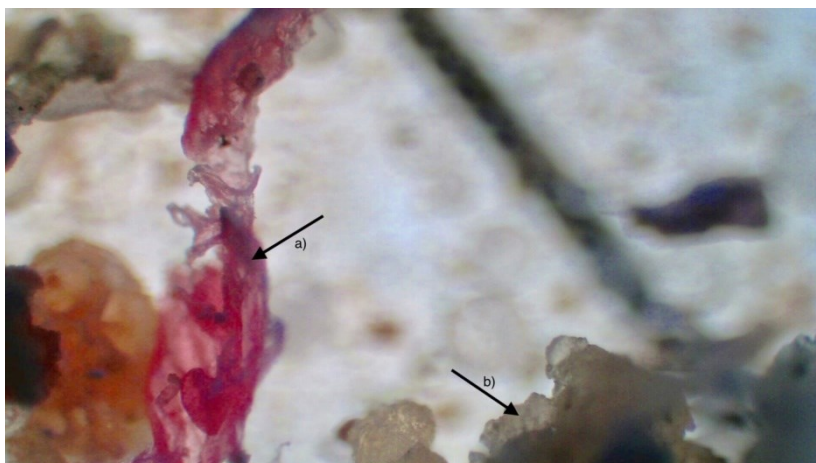
Obrázek č. 7: vzorek z ČOV 1, po obarvení bengálskou červení, legenda: a) barevné mikroplastové vlákno, b) bezbarvá mikroplastová vlákna, c) mikroskopické, pravděpodobně polystyrenové kuličky



Obrázek č. 8: vzorek z ČOV 1, před obarvením bengálskou červení, legenda: a) barevná mikroplastová vlákna, b) bezbarvé mikroplastové vlákno, c) mikroskopické, pravděpodobně polystyrenové kuličky



Obrázek č. 9: vzorek z ČOV 5, po obarvení bengálskou červení, legenda: a) mikroplastová krátká vlákna, b) organická částice s buněčnou strukturou



Obrázek č. 10: vzorek z ČOV 1, před obarvením bengálskou červení, legenda: a) růžová fóliová částice mikroplastu, b) mikroplastové fóliové úlomky

## 5.4 Diskuze

Během testování použitelnosti postupu separace mikroplastů vyvinutého pro vzorky mořské vody, písku a sedimentů bylo zjištěno, že tento postup je po částečné modifikaci vhodný také pro detekci mikroplastů v čistírenských kalech. Pro potřeby kvantifikace přítomných mikroplastů však bude nutné metodu ještě více optimalizovat.

Metoda flotace probíhala podle studie (Masura et al. 2015) a využívá roztok 5 M NaCl, u kterého je uvedena hustota  $1,15 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$  – to umožňuje hustotní rozdělení u nejběžnějších typů plastů: PP ( $0,94 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ), PE ( $0,91\text{--}0,97 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ), PS ( $1,05 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ) a PVC ( $1,4 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ). Materiály typu PET, nylon a PVC mají vyšší hustotu a podle studie Hidalgo-Ruz et al. (2012) (Hidalgo-Ruz et al. 2012) je u těchto typů polymerů možné, že roztok 5 M NaCl neumožňuje hustotní rozdělení, takže nemusely být ve výsledku zachyceny na filtračním papíru. Podle jiné studie (Mintening et al. 2017), v níž bylo užito roztoku  $\text{ZnCl}_2$  na flotaci mikroplastů ve vzorcích OV uvádí, že se hustota použitého roztoku pohybuje okolo  $1,6 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ , tudíž je vhodnější pro hustotní flotaci všech známých typů polymerů. Protože se jedná o dražší a toxičtější chemikálii, než je NaCl, je vhodné použít pro první screening použít NaCl a po optimalizaci navážky kalu přistoupit k flotaci za použití alternativních roztoků. Kromě  $\text{ZnCl}_2$  je použitelný také například NaI (Nuelle et al. 2014).

Jednotlivé vzorky z ČOV jsou svým složením z hlediska organického a anorganického materiálu individuální. Složení kalu závisí na typu OV a na jejich zdroji. Dále může obsah nežádoucích příměsí souviset s metodou technologických postupů při zpracování čistírenských kalů (Schnaak et al. 1997). Většinu příměsí anorganického původu se během dělicího procesu podařilo odseparovat. Problémem zůstávají jemné jílovité částice, které se v kalech přirozeně vyskytují a které se dostanou do vzosu při jakékoliv manipulaci se vzorkem. Vysoký obsah jílovitých látek na filtračním papíru může negativně ovlivnit pozorovatelnost a identifikaci mikroplastů; dále způsobují problémy při filtraci vzorku, protože ucpávají póry filtračního papíru. Je pak nutné volit filtrační papír s větší velikostí pórů, čímž dochází ke ztrátám mikroplastů o menších rozměrech. Problém s vysokým obsahem rušivých jílovitých částic bude možné částečně eliminovat zmenšením navážky kalu pro analýzu. Při použití 5 g navážky bylo na filtračním papíru pozorovatelné velké množství mikroplastů, které by nebylo možné kvantifikovat pouhým odečítáním pod mikroskopem. Doporučila bych v budoucnosti zvolit pro jednodušší pozorovatelnost a případnou kvantifikaci mikroplastů menší navážky, např. 0,5–1 g, pro jednodušší pozorovatelnost a případnou kvantifikaci mikroplastů.

Někteří autoři uvádí, že vizuální identifikace mikroplastů pod mikroskopem může vést k vysokému nadhodnocení či podhodnocení. Podle studie z roku 2012 (Hidalgo-Ruz et al.) na základě ústního sdělení s R. C. Thompson: „Až 70 % všech vizuálně určených mikroplastů v mikroskopu nejsou podle FT-IR spektroskopie jasně určenými mikroplasty.“ Uvádí se, že pouze



50 % syntetických mikrovláken ve vzorcích OV bylo v mikroskopu před spektroskopii určeno správně (Mintenig et al. 2017). Proto je doporučeno pro identifikaci mikroplastů používat tyto metody spektroskopie: FT-IR spektroskopie a RAMAN spektroskopie, které s vysokou spolehlivostí určují mikroplasty na základě jejich chemických struktur. Jejich nevýhodou je ovšem vysoká pořizovací cena a náročná obsluha přístroje (Mintenig et al. 2017).

Otestovanou metodu separace mikroplastů pomocí oxidace a flotace pro vzorky čistírenských kalů, kterou provedla Masura et al. (2015), bych označila za dostačující pro zběžný screening přítomnosti mikroplastů v kalech, ale nepřesnou a subjektivní z hlediska jejich následné identifikace a kvantifikace. Tato metoda vyžaduje častou manipulaci a přemísťování vzorků do různých typů laboratorního nádobí. Je tedy pravděpodobné, že během procesu může docházet ke ztrátám významného množství mikroplastů. Je však možné, že při snížení velikosti navážky nebude nutné zařazení dvou dočišťovacích kroků do postupu, takže bude možné tyto ztráty minimalizovat.

Podle autorů další studie (Munno et al. 2018) mohou být další ztráty mikroplastů ze vzorků způsobeny vysokou teplotou při sušení a digesci kalů pomocí oxidačních činidel proto doporučují udržovat teplotu pod 60 °C, a to jak při sušení kalů, tak při samotné oxidační reakci. Pro udržení požadovaných teplot je vhodné kádinky se vzorky ochlazovat v lázni (Munno et al. 2018; Simon et al. 2018).

Kromě nežádoucí ztráty materiálu mohou být výsledky také nadhodnoceny kontaminací mikroplasty z vnějšího prostředí. Mikroplasty v čistírenském kalu pocházejí z OV, další potenciální zdroje mikroplastů během přípravy materiálu a vzorkování jsou plastové laboratorní potřeby, pomůcky, jejich čisticí prostředky z umělých hmot, ale také syntetické oblečení, ze kterého se mohou uvolňovat nežádoucí mikroplasty a nadhodnocovat tak výsledky (Murphy et al. 2016). Proto je vhodné co nejvíce využívat skleněné, ale i kovové laboratorní pomůcky a přístroje, např. borosilikátové membránové a ocelové filtry, a bavlněné laboratorní pláště (Vollertsen, J. A. a Hansen, A. A. 2017; Gies et al. 2018; Mintenig et al. 2017). Před použitím laboratorních pomůcek je třeba vypláchnout je buď vysoce kvalitní vodou (Milli-Q), nebo alkoholem: fixativní 30% ethanol, formalin či methyl aldehyd (Hermsen et al. 2018). Dále sem patří znečištění z vnitřního a vnějšího ovzduší, protože ve vnitřním prostředí (laboratoři) může dojít ke kontaminaci vzorků kalů přímo z přístrojů, laboratorních nástrojů či infiltrací z již zmíněného plastového znečištění ve vnějším ovzduší. Proto se často doporučuje vzorky či laboratorní pomůcky překrývat, např. aluminiovou fólií (Schneider 2008).

Navzdory přijetí všech opatření proti kontaminaci vzorků mikroplasty z okolních zdrojů, nedá se této kontaminaci zcela vyhnout. Někteří vědci uvádí až 30% nadhodnocení výsledků, tudíž se při laboratorních experimentech musí předem počítat s určitým zkreslením výsledků (Talvitie et



al. 2016). Zároveň by všechna měření měla být několikrát opakována v různém čase a i různých sezónách, aby se tím zajistila spolehlivost a aplikovatelnost daných výsledků studií (Mintenić et al. 2017).

Na závěr autoři studie (Hurley, R. a Nizzetto, L. 2018) upozorňují na další možný zdroj mikroplastů v čistírenských kalech vznikající z procesu zahušťování kalů v kalovém hospodářství, které probíhá dávkováním organických polymerních flokulantů, což představuje samostatné téma, které by bylo vhodné rozpracovat.

## 6. Závěr

V této práci jsem se zaměřila na metodiku dle Masury et al. (2015) s cílem zhodnotit aplikovatelnost této metody pro čistírenské kaly a ověření separovatelnosti mikroplastů z této matrice. Dalším cílem bylo ověřit přítomnost mikroplastů v čistírenských kalech z pěti ČOV o velikosti v rozmezí 9 100–141 000 EO.

Částice mikroplastů se podařilo separovat ze všech vzorků z pěti testovaných ČOV. Byla potvrzena použitelnost metodiky separace mikroplastů pomocí metody flotace s předchozí oxidací organických nečistot přírodního původu. Ve všech pozorovaných vzorcích kalů byly – z hlediska velikosti, množství a druhu – zastoupeny různé mikroplasty. Bylo možné rozpoznat jednotlivé typy úlomků: vlákna, fóliové částice a zrnité či granulované částice mikroplastů. Kvantifikace a určení druhu mikroplastů nebyly předmětem řešení této bakalářské práce a bude na ně velmi pravděpodobně zaměřena navazující diplomová práce. – Byly proto diskutovány další možnosti modifikace použité metody tak, aby byla možná nejen separace, ale také následná kvantifikace a identifikace separovaných mikroplastů.

Při hodnocení souvislosti spotřeby oxidačního činidla a obsahu TOC ve vzorku byla zjištěna hodnota korelačního koeficientu blízká nule, tudíž se v tomto případě nejedná o žádnou závislost.

## Seznam literatury

- Andrady, A. L. (2011). Microplastics in the marine environment [Online]. *Marine Pollution Bulletin*, 62(8), 1596-1605. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.05.030>
- BINDZAR, J., JANDA, V., JENÍČEK, P., RŮŽIČKOVÁ, I. a STRNADOVÁ, N. (2009). *Základy úpravy a čištění odpadních vod*, Vysoká škola chemicko-technologická, Praha
- Browne, M. A., Crump, P., Niven, S. J., Teuten, E., Tonkin, A., Galloway, T., & Thompson, R. (2011). Accumulation of Microplastic on Shorelines Worldwide: Sources and Sinks [Online], 45(21), 9175-9179. <https://doi.org/10.1021/es201811s>
- Campbell, S. H., Williamson, P. R., Hall, B. D., & Schindler, D. (2017). Microplastics in the gastrointestinal tracts of fish and the water from an urban prairie creek [Online]. *Facets*, 2(1), 395-409. <https://doi.org/10.1139/facets-2017-0008>
- Carpenter, E. J., Anderson, S. J., Harvey, G. R., Miklas, H. P., & Peck, B. B. (1972). Polystyrene Spherules in Coastal Waters [Online]. *Science*, 178(4062), 749-750. <https://doi.org/10.1126/science.178.4062.749>
- Carpenter, E. J., & Smith, K. L. (1972). Plastics on the Sargasso Sea Surface [Online]. *Science*, 175(4027), 1240-1241. <https://doi.org/10.1126/science.175.4027.1240>
- Claessens, M., Van Cauwenberghe, L., Vandegehuchte, M. B., & Janssen, C. R. (2013). New techniques for the detection of microplastics in sediments and field collected organisms [Online]. *Marine Pollution Bulletin*, 70(1-2), 227-233. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.03.009>
- Cole, M., Lindeque, P., Halsband, C., & Galloway, T. S. (2011). Microplastics as contaminants in the marine environment: A review [Online]. *Marine Pollution Bulletin*, 62(12), 2588-2597. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.09.025>
- Colton, J. B., Knapp, D. F. a Burns, R. B. (1974). Plastic Particles in Surface Waters of the Northwestern Atlantic. *Science* 185(4150), 491–497. <https://www.jstor.org/stable/1738284>
- Corradini, F., Meza, P., Eguiluz, R., Casado, F., Huerta-Lwanga, E., & Geissen, V. (2019). Evidence of microplastic accumulation in agricultural soils from sewage sludge disposal [Online]. *Science Of The Total Environment*, 671, 411-420. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.368>
- ČSÚ (2018). *Produkce kalů v ČOV a způsob jejich zneškodnění*, Český statistický úřad, Praha. <https://www.czso.cz/csu/czso/3-zivotni-prostredi-zdsbcjzyh9>
- Derraik, J. G. B. (2002). The pollution of the marine environment by plastic debris: a review. *Marine Pollution Bulletin*, 44(9), 842-852. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(02\)00220-5](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(02)00220-5)
- Dris, R., Gasperi, J., Rocher, V., Saad, M., Renault, N., & Tassin, B. (2015). Microplastic contamination in an urban area: a case study in Greater Paris. *Environmental Chemistry*, 12(5). <https://doi.org/10.1071/EN14167>
- Eriksen, M., Mason, S., Wilson, S., Box, C., Zellars, A., Edwards, W., et al. (2013). Microplastic pollution in the surface waters of the Laurentian Great Lakes. *Marine Pollution Bulletin*, 77(1-2), 177-182. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.10.007>

- Farrell, P., & Nelson, K. (2013). Trophic level transfer of microplastic: *Mytilus edulis* (L.) to *Carcinus maenas* (L.). *Environmental Pollution*, 177, 1-3.  
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.01.046>
- Fendall, L. S., & Sewell, M. A. (2009). Contributing to marine pollution by washing your face: Microplastics in facial cleansers [Online]. *Marine Pollution Bulletin*, 58(8), 1225-1228.  
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2009.04.025>
- Fytili, D., & Zabaniotou, A. (2008). Utilization of sewage sludge in EU application of old and new methods—A review. *Renewable And Sustainable Energy Reviews*, 12(1), 116-140.  
<https://doi.org/10.1016/j.rser.2006.05.014>
- Gatidou, G., Arvaniti, O. S., & Stasinakis, A. S. (2019). Review on the occurrence and fate of microplastics in Sewage Treatment Plants. *Journal Of Hazardous Materials*, 367, 504-512.  
<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.12.081>
- Gies, E. A., LeNoble, J. L., Noël, M., Etemadifar, A., Bishay, F., Hall, E. R., & Ross, P. S. (2018). Retention of microplastics in a major secondary wastewater treatment plant in Vancouver, Canada. *Marine Pollution Bulletin*, 133, 553-561  
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.06.006>
- Hanč, A. (2003). Mobilita kadmia a zinku v čistírenských kalech. Doktorská disertační práce. Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, ČZU Praha
- Hermesen, E., Mintenig, S. M., Besseling, E., & Koelmans, A. A. (2018). Quality Criteria for the Analysis of Microplastic in Biota Samples: A Critical Review, 52(18), 10230-10240.  
<https://doi.org/10.1021/acs.est.8b01611>
- Hidalgo-Ruz, V., Gutow, L., Thompson, R. C., & Thiel, M. (2012). Microplastics in the Marine Environment: A Review of the Methods Used for Identification and Quantification, 46(6), 3060-3075. <https://doi.org/10.1021/es2031505>
- Horton, A. A., Walton, A., Spurgeon, D. J., Lahive, E., & Svendsen, C. (2017). Microplastics in freshwater and terrestrial environments: Evaluating the current understanding to identify the knowledge gaps and future research priorities. *Science Of The Total Environment*, 586, 127-141.  
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.01.190>
- Hurley, R. R., & Nizzetto, L. (2018). Fate and occurrence of micro(nano)plastics in soils: Knowledge gaps and possible risks, 1. <https://doi.org/10.1016/j.coesh.2017.10.006>
- Chang, M. (2015). Reducing microplastics from facial exfoliating cleansers in wastewater through treatment versus consumer product decisions. *Marine Pollution Bulletin*, 101(1), 330-333. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.10.074>
- Kutil, J., Dohányos, M. (2005). Efektivní využití a likvidace čistírenských kalů. *Biom.cz* [online] <https://biom.cz/cz/odborne-clanky/efektivni-vyuziti-a-likvidace-cistirenskych-kalu-2>, ISSN: 1801-2655
- Křesinová, Z., Svobodová, K., and Cajthaml, T. (2009). Microbial degradation of endocrine disrupting compounds, *Chemicke Listy* 103, 200–207.

- Laist, D. W. (1997). Impacts of Marine Debris: Entanglement of Marine Life in Marine Debris Including a Comprehensive List of Species with Entanglement and Ingestion Records. *Marine Debris*, 99-139. [https://doi.org/10.1007/978-1-4613-8486-1\\_10](https://doi.org/10.1007/978-1-4613-8486-1_10)
- Lassen, C., Hansen, S., F., Magnusson, K., Norén, F., Hartmann, N., I., B., Jensen, P., R., Nielsen, T., G., a Brinch, A. (2015). *Microplastics Occurrence, effects and sources of releases to the environment in Denmark*. Environmental project No. 1793, The Danish Environmental Protection Agency.
- Lebreton, L. C. M., van der Zwet, J., Damsteeg, J. -W., Slat, B., Andrady, A., & Reisser, J. (2017). River plastic emissions to the world's oceans [Online]. *Nature Communications*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/ncomms15611>
- Leslie, H. A., Brandsma, S. H., van Velzen, M. J. M., & Vethaak, A. D. (2017). Microplastics en route: Field measurements in the Dutch river delta and Amsterdam canals, wastewater treatment plants, North Sea sediments and biota. *Environment International*, 101, 133-142. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.01.018>
- Li, J., Liu, H., & Paul Chen, J. (2018) a. 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>
- Li, X., Chen, L., Mei, Q., Dong, B., Dai, X., Ding, G., & Zeng, E. Y. (2018) b. Microplastics in sewage sludge from the wastewater treatment plants in China. *Water Research*, 142, 75-85. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.05.034>
- Liebezeit, G., & Liebezeit, E. (2014). Synthetic particles as contaminants in German beers, 31(9), 1574-1578. <https://doi.org/10.1080/19440049.2014.945099>
- OSPAR (2009). *Marine litter in the North-East Atlantic Region: Assessment and priorities for response*. London, United Kingdom, 127 pp.
- Lusher, A. L., Tirelli, V., O'Connor, I., & Officer, R. (2015). Microplastics in Arctic polar waters: the first reported values of particles in surface and sub-surface samples [Online]. *Scientific Reports*, 5(1). <https://doi.org/10.1038/srep14947>
- Magni, S., Binelli, A., Pittura, L., Avio, C. G., Della Torre, C., Parenti, C. C., et al. (2019). The fate of microplastics in an Italian Wastewater Treatment Plant. *Science Of The Total Environment*, 652, 602-610. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.269>
- Magnusson, K. a Norén, F. (2014). Screening of microplastic particles in and down-stream a wastewater treatment plant, IVL Swedish Environmental Research Institute.
- Magnusson, K., Eliasson K., Fråne, A., Haikonen, K., Hultén, J., Olshamar, M., Stadmark, J. a Voisin, A., (2016). *Swedish sources and pathways for microplastics to the marine environment*. Swedish Enviromental Protection Agency, C 183.
- Mahon, A. M., O'Connell, B., Healy, M. G., O'Connor, I., Officer, R., Nash, R., & Morrison, L. (2016). Microplastics in Sewage Sludge: Effects of Treatment, 51(2), 810-818. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b04048>

- de Souza Machado, A. A., Kloas, W., Zarfl, C., Hempel, S., & Rillig, M. C. (2018). Microplastics as an emerging threat to terrestrial ecosystems [Online]. *Global Change Biology*, 24(4), 1405-1416. <https://doi.org/10.1111/gcb.14020>
- Masura, J., Baker, J. E., Foster, G. D., Arthur C. a Herring, C., (2015). Laboratory methods for the analysis of microplastics in the marine environment : recommendations for quantifying synthetic particles in waters and sediments [online]. NOAA technical memorandum NOS-OR&R ; 48. <https://repository.library.noaa.gov/view/noaa/10296>
- Mintemig, S. M., Int-Veen, I., Löder, M. G. J., Primpke, S., & Gerdts, G. (2017). Identification of microplastic in effluents of waste water treatment plants using focal plane array-based micro-Fourier-transform infrared imaging. *Water Research*, 108, 365-372. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.11.015>
- Moore, C. J., Moore, S. L., Leecaster, M. K., & Weisberg, S. B. (2001). A Comparison of Plastic and Plankton in the North Pacific Central Gyre. *Marine Pollution Bulletin*, 42(12), 1297-1300. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(01\)00114-X](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(01)00114-X)
- Munno, K., Helm, P. A., Jackson, D. A., Rochman, C., & Sims, A. (2018). Impacts of temperature and selected chemical digestion methods on microplastic particles. *Environmental Toxicology And Chemistry*, 37(1), 91-98. <https://doi.org/10.1002/etc.3935>
- Murphy, F., Ewins, C., Carbonnier, F., & Quinn, B. (2016). Wastewater Treatment Works (WwTW) as a Source of Microplastics in the Aquatic Environment [Online], 50(11), 5800-5808. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b05416>
- Napper, I. E., Bakir, A., Rowland, S. J., & Thompson, R. C. (2015). Characterisation, quantity and sorptive properties of microplastics extracted from cosmetics [Online]. *Marine Pollution Bulletin*, 99(1-2), 178-185. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.07.029>
- Nizzetto, L., Futter, M., Langaas, S., & Thompson, R. C. (2016). Are Agricultural Soils Dumps for Microplastics of Urban Origin? [Online]. *Marine Pollution Bulletin*, 50(20), 10777-10779. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b04140>
- Nuelle, M. -T., Dekiff, J. H., Remy, D., & Fries, E. (2014). A new analytical approach for monitoring microplastics in marine sediments [Online]. *Environmental Pollution*, 184(20), 161-169. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.07.027>
- Peeken, I., Primpke, S., Beyer, B., Gütermann, J., Katlein, C., Krumpen, T., et al. (2018). Arctic sea ice is an important temporal sink and means of transport for microplastic [Online]. *Nature Communications*, 9(1), 161-169. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03825-5>
- Pivokonsky, M., Cermakova, L., Novotna, K., Peer, P., Cajthaml, T., Janda, V., et al. (2018). Occurrence of microplastics in raw and treated drinking water [Online]. *Science Of The Total Environment*, 643(1), 1644-1651. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.102>
- Plastics Europe, (2018). An analysis of European plastics production, demand and waste data. [https://www.plasticseurope.org/application/files/6315/4510/9658/Plastics\\_the\\_facts\\_2018\\_AF\\_web.pdf](https://www.plasticseurope.org/application/files/6315/4510/9658/Plastics_the_facts_2018_AF_web.pdf)
- Pohořelý, M., Moško, J., Šyc, M., Václavková, Š., Skoblia, S., Beňo, Z., Svoboda K., (2018). Materiálové a energetické využití suchého stabilizovaného čistírenského kalu. [http://www.cpga.cz/files/prednasky/1806\\_KAO\\_Pohorely\\_fulltext.pdf](http://www.cpga.cz/files/prednasky/1806_KAO_Pohorely_fulltext.pdf)

- Rillig, M. C., Cermakova, L., Novotna, K., Peer, P., Cajthaml, T., Janda, V., et al. (2012). Microplastic in Terrestrial Ecosystems and the Soil? [Online]. *Science Of The Total Environment*, 46(12), 6453-6454. <https://doi.org/10.1021/es302011r>
- Rocha-Santos, T., Duarte, A. C., Novotna, K., Peer, P., Cajthaml, T., Janda, V., et al. (2015). A critical overview of the analytical approaches to the occurrence, the fate and the behavior of microplastics in the environment [Online]. *Trac Trends In Analytical Chemistry*, 65(12), 47-53. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2014.10.011>
- Rummel, C. D., Jahnke, A., Gorokhova, E., Kühnel, D., Schmitt-Jansen, M., Janda, V., et al. (2017). Impacts of Biofilm Formation on the Fate and Potential Effects of Microplastic in the Aquatic Environment [Online]. *Trac Trends In Analytical Chemistry*, 4(7), 258-267. <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.7b00164>
- van Sebille, E., Wilcox, C., Lebreton, L., Maximenko, N., Hardesty, B. D., van Franeker, J. A., et al. (2015). A global inventory of small floating plastic debris [Online]. *Environmental Research Letters*, 10(12), 258-267. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/10/12/124006>
- Shiber, J. G. (1979). Plastic pellets on the coast of Lebanon Author links open overlay panel. *Marine Pollution Bulletin*. 10(1), 28–30.
- Schnaak, W., Kijchle, Th., Kujawa M. a Donau, R. (1997). Organic contaminants in sewage sludge and their ecotoxicological significance in the agricultural utilization of sewage sludge. *Chemosphere*, 35(1/2), 5-11.
- Schneider, T. (2008). Dust and fibers as a cause of indoor environment problems, *SJWEH Suppl*, (4):10–1.
- Simon, M., van Alst, N., & Vollertsen, J. (2018). Quantification of microplastic mass and removal rates at wastewater treatment plants applying Focal Plane Array (FPA)-based Fourier Transform Infrared (FT-IR) imaging. *Water Research*, 142, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.05.019>
- Singh, K. P., Mohan, D., Sinha, S., & Dalwani, R. (2004). Impact assessment of treated/untreated wastewater toxicants discharged by sewage treatment plants on health, agricultural, and environmental quality in the wastewater disposal area. *Chemosphere*, 55(2), 227-255. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2003.10.050>
- Stadelmann, F. X., Külling D. a Herter, U. (2001). Sewage Sludge: Fertilizer or Waste? In: UKWIR Conference, EAWAG news 53, 9-11. <https://www.research-collection.ethz.ch/bitstream/handle/20.500.11850/156216/eth-50553-02.pdf>
- Sun, J., Dai, X., Wang, Q., van Loosdrecht, M. C. M., & Ni, B. -J. (2019). Microplastics in wastewater treatment plants: Detection, occurrence and removal. *Water Research*, 152(2), 21-37. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.12.050>
- Sundt, P., Schulze P.-E. a Syversen, F., (2014). Sources of microplastic-pollution to the marine environment. B.m.: Norwegian Environment Agency Miljødirektoret.
- Tagg, A. S., Harrison, J. P., Ju-Nam, Y., Sapp, M., Bradley, E. L., Sinclair, C. J., & Ojeda, J. J. (2017). Fenton's reagent for the rapid and efficient isolation of microplastics from wastewater. *Chemical Communications*, 53(2), 372-375. <https://doi.org/10.1039/C6CC08798A>

- Tagg, A. S., Sapp, M., Harrison, J. P., Ojeda, J. J., Bradley, E. L., Sinclair, C. J., & Ojeda, J. J. (2015). Identification and Quantification of Microplastics in Wastewater Using Focal Plane Array-Based Reflectance Micro-FT-IR Imaging. *Analytical Chemistry*, 87(12), 6032-6040. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.5b00495>
- Talvitie, J., Heinonen, M., Pääkkönen, J. -P., Vahtera, E., Mikola, A., Setälä, O., & Vahala, R. (2015). Do wastewater treatment plants act as a potential point source of microplastics? Preliminary study in the coastal Gulf of Finland, Baltic Sea. *Water Science And Technology*, 72(9), 1495-1504. <https://doi.org/10.2166/wst.2015.360>
- Vaughan, R., Turner, S. D., & Rose, N. L. (2017). Microplastics in the sediments of a UK urban lake [Online]. *Environmental Pollution*, 229, 10-18. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.05.057>
- Vermaire, J. C., Pomeroy, C., Herczegh, S. M., Haggart, O., Murphy, M., & Schindler, D. E. (2017). Microplastic abundance and distribution in the open water and sediment of the Ottawa River, Canada, and its tributaries [Online]. *Facets*, 2(1), 301-314. <https://doi.org/10.1139/facets-2016-0070>
- Vollertsen, J., A. a Hansen, A., A. (2015): Microplastic in Danish wastewater: Sources, occurrences and fate. 1906. B.m.: The Danish Environmental Protection Agency.
- Wang, J., Liu, X., Li, Y., Powell, T., Wang, X., Wang, G., & Zhang, P. (2019). Microplastics as contaminants in the soil environment: A mini-review [Online]. *Science Of The Total Environment*, 691(1), 848-857. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.209>
- Wang, W., Ndungu, A. W., Li, Z., & Wang, J. (2017). Microplastics pollution in inland freshwaters of China: A case study in urban surface waters of Wuhan, China. *Science Of The Total Environment*, 575, 1369-1374. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.09.213>
- Windsor, F. M., Tilley, R. M., Tyler, C. R., & Ormerod, S. J. (2019). Microplastic ingestion by riverine macroinvertebrates [Online]. *Science Of The Total Environment*, 646, 68-74. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.271>
- Wright, S. L., Thompson, R. C., & Galloway, T. S. (2013). The physical impacts of microplastics on marine organisms: A review [Online]. *Environmental Pollution*, 178, 483-492. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.02.031>
- Ziajahromi, S., Neale, P. A., Rintoul, L., & Leusch, F. D. L. (2017). Wastewater treatment plants as a pathway for microplastics: Development of a new approach to sample wastewater-based microplastics [Online]. *Water Research*, 112, 93-99. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.01.042>

### **Webové odkazy:**

Web:1 – Lyčková, B., Fečko, P. a Kučerová R. (2008). Zpracování kalů. Multimediální učební texty zaměřené na problematiku zpracování kalů.  
Dostupné z: <http://hgf10.vsb.cz/546/ZpracovaniKalu/>

Web:2 – Ministerstvo životního prostředí (2015). Optimalizace nakládání s kaly z komunálních čistíren odpadních vod,  
Dostupné z: [https://www.mzp.cz/C1257458002F0DC7/cz/projekty\\_po8\\_opzp\\_2007\\_2013/\\$FILE/OODP-Oddil\\_I\\_1\\_Analyticka%20cast-20160810.pdf](https://www.mzp.cz/C1257458002F0DC7/cz/projekty_po8_opzp_2007_2013/$FILE/OODP-Oddil_I_1_Analyticka%20cast-20160810.pdf)



Web:3 – Evropská komise (2019). Likvidace kalů,  
Dostupné z: [https://ec.europa.eu/environment/archives/waste/sludge/pdf/sludge\\_disposal3\\_xsum.pdf](https://ec.europa.eu/environment/archives/waste/sludge/pdf/sludge_disposal3_xsum.pdf)

Web:4 – Coalition clean Baltic (2017). Určovací klíč k identifikaci mikroplastů: Marine & Environmental Research Institute, Maine  
Dostupné z: [https://ec.europa.eu/environment/archives/waste/sludge/pdf/sludge\\_disposal3\\_xsum.pdf](https://ec.europa.eu/environment/archives/waste/sludge/pdf/sludge_disposal3_xsum.pdf)

### **Zákony a vyhlášky:**

Vyhláška č. 341/2008 Sb., o podrobnostech nakládání s biologicky rozložitelnými odpady a o změně vyhlášky č. 294/2005 Sb., o podmínkách ukládání odpadů na skládky a jejich využívání na povrchu terénu a změně vyhlášky č. 383/2001 Sb., o podrobnostech nakládání s odpady (vyhláška o podrobnostech nakládání s biologicky rozložitelnými odpady). In: Sbíрка zákonů. 1. 1. 2017

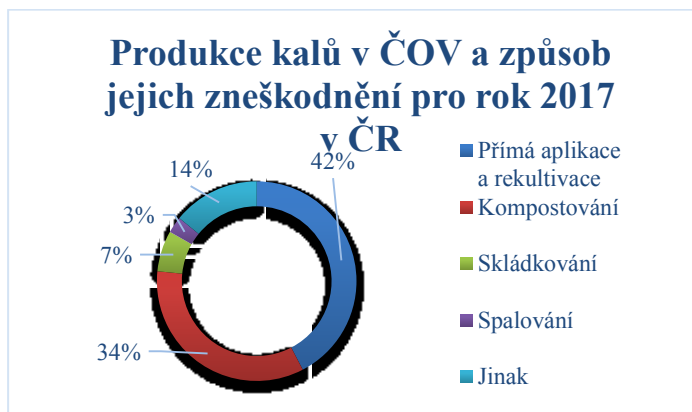
Vyhláška č. 387/2016 Sb., kterou se mění vyhláška č. 294/2005 Sb., o podmínkách ukládání odpadů na skládky a jejich využívání na povrchu terénu a změně vyhlášky č. 383/2001 Sb., o podrobnostech nakládání s odpady, ve znění pozdějších předpisů, a vyhláška č. 383/2001 Sb., o podrobnostech nakládání s odpady, ve znění pozdějších předpisů. In: Sbíрка zákonů. 1. 1. 2017

Vyhláška č. 437/2016 Sb., o podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě a změně vyhlášky č. 383/2001 Sb., o podrobnostech nakládání s odpady a změně vyhlášky č. 341/2008 Sb., o podrobnostech nakládání s biologicky rozložitelnými odpady a o změně vyhlášky č. 294/2005 Sb., o podmínkách ukládání odpadů na skládky a jejich využívání na povrchu terénu a změně vyhlášky č. 383/2001 Sb., o podrobnostech nakládání s odpady (vyhláška o podrobnostech nakládání s biologicky rozložitelnými odpady). In: Sbíрка zákonů: 1. 1. 2017

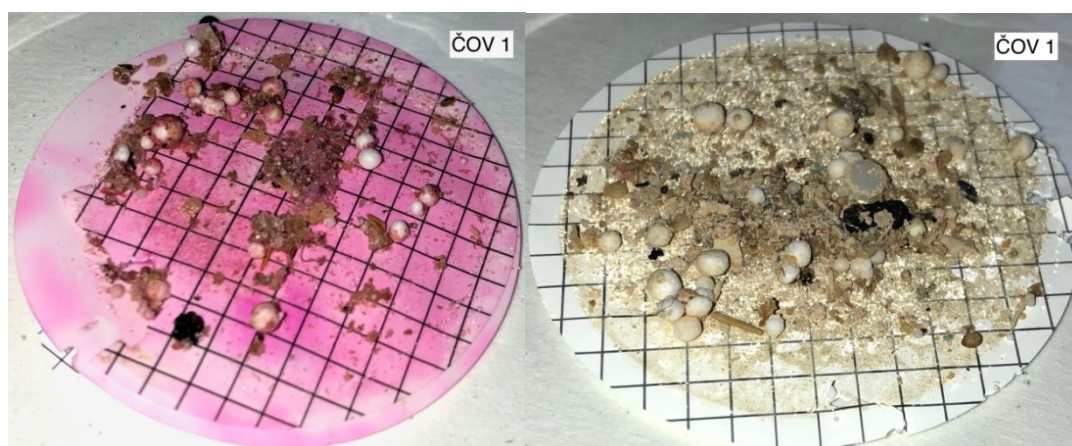
Zákon č. 185/2001 Sb., o odpadech a o změně některých dalších zákonů. In: Sbíрка zákonů. 1. 3. 2019

Zákon č. 201/2012 Sb., o ochraně ovzduší. In: Sbíрка zákonů. 1. 1. 2019

## Přílohy



Graf č. 1: Procentuální zastoupení metod nakládání s kaly v ČR za rok 2017, (ČSU, 2019)



Příloha č. 1 vlevo: Obarvený vzorek z ČOV 1, navážka 5 g, makroskopický pohled na strukturu vzorků na filtračním papíru

Příloha č. 2 vpravo: Neobarvený vzorek z ČOV 1, navážka 15 g, makroskopický pohled na strukturu vzorku na filtračním papíru



*Příloha č. 3 vlevo: Příprava vzorku kalu ke druhé sedimentaci, čištění usazenin na filtračním papírku roztokem NaCl*

*Příloha č. 4 vpravo: Ukázka již zoxidovaných vzorků kalů připravených k první sedimentaci v dělicích nálevkách*



*Příloha č. 5 vlevo: Aparatura na vakuové odsátí tekutiny ze vzorků kalů po sedimentaci v dělicích nálevkách*

*Příloha č. 6 vpravo: Aparatura na vakuové odsátí barviva při barvení vzorků bengálskou červení*



*Příloha č. 7 vlevo: První sedimentace vzorků kalů s vysokým obsahem usazenin u dna nálevek; nalevo lze vidět neusazené vzorky z ČOV 4, napravo usazené vzorky z ČOV 5*

*Příloha č. 8 vpravo: Druhá sedimentace čistších vzorků kalu s menším obsahem usazenin u dna nálevek, vzorky z ČOV 2*