

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Ekologie a ochrana prostředí

Studijní obor: Ochrana životního prostředí



Barbora Fůrychová

Mikroplasty v hlubinných mořských rybách

Microplastics in the deep-sea fishes

Typ závěrečné práce:

Bakalářská práce

Vedoucí práce/školitel: Prof. RNDr. Tomáš Cajthaml, DSc.

Praha, 2024

Prohlášení:

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

V Praze dne 18.4. 2024

.....

Barbora Fůrychová

Poděkování

Tímto bych chtěla poděkovat mému školiteli prof. RNDr. Tomáši Cajthamlovi DSc., za cenné rady a odborné konzultace při tvorbě této bakalářské práce. Dále bych chtěla poděkovat Dr. Pavanee Angelee Annasawmy Ph.D., která mi byla velkou oporou a pomocí, a díky níž se účastním mezinárodního projektu, který podporuje tuto bakalářskou práci. Dále děkuji za odborné vedení a podporu v laboratoři na ostrově Réunion prof. Sebastien Jaquemet, za jeho trpělivost a velké srdce. K tomu chci poděkovat Dr. Ana Catarino za poskytnutí laboratoře v Národním výzkumném vlámském centru VLIZ, odborné rady a za poskytnutí a zaškolení na fluorescenčním mikroskopu, ATR spektrofotometru a mikro-spektrofotometru.

Abstrakt

Mikroplasty se staly významným problémem v mořských ekosystémech, představující závažnou hrozbu pro biodiverzitu a stabilitu těchto prostředí. Tato bakalářská práce se zaměřuje na zkoumání přítomnosti mikroplastů v trávicích traktech hlubokomořských ryb Indického oceánu. Tyto ryby představují zajímavé modelové organismy, které mohou napomoci pochopení šíření mikroplastů ve vodním mořském sloupci. Úvodní část práce shrnuje dosavadní poznatky o mikroplastech, jejich výskytu, metodách analýzy a přítomnosti mikroplastů ve vodním prostředí. Zvláštní pozornost je věnována hlubinným mořským rybám, jejichž úloha v mořských ekosystémech je klíčová.

V experimentální části byly provedeny detailní analýzy vzorků rybích trávicích traktů za účelem detekce a identifikace mikroplastů. Studie potvrdila přítomnost mikroplastů v trávicích traktech hlubokomořských ryb, přičemž byly identifikovány různé typy polymerů, včetně polystyrenu, nylonu, polyethylentereftalátu, polyvinylchloridu a polyesteru. Tato bakalářská práce jako první studie vůbec dokazuje, že se mikroplasty nachází v hlubinných rybách západní části Indického oceánu.

Závěry této práce podtrhují naléhavost situace týkající se kontaminace mořského prostředí mikroplasty a zdůrazňují nutnost přijmout opatření pro omezení produkce, používání a nakládání s plastovými materiály. Tento výzkum přispívá k lepšímu pochopení problematiky mikroplastů v hlubokomořském prostředí a poskytuje důležité informace pro ochranu a udržitelné využívání oceánů.

Klíčová slova

mikroplasty, hlubinné ryby, FTIR spektroskopie, mikroskopie, fluorescenční mikroskopie

Abstract

Microplastics have become a significant problem in marine ecosystems, posing a serious threat to the biodiversity and stability of these environments. This bachelor's thesis focuses on investigating the presence of microplastics in the digestive tracts of deep-sea fish in the Indian Ocean. These fish represent interesting model organisms that can aid in understanding the distribution of microplastics in the marine water column. The introductory part of the paper summarizes the existing knowledge on microplastics, their occurrence, methods of analysis and the presence of microplastics in the aquatic environment. Particular attention is paid to deep-sea fishes, whose role in marine ecosystems is crucial.

In the experimental part, detailed analyses of fish digestive tract samples were performed to detect and identify microplastics. The study confirmed the presence of microplastics in the digestive tracts of deep-sea fish, and various types of polymers were identified, including polystyrene, nylon, polyethylene terephthalate, polyvinyl chloride and polyester. This undergraduate thesis is the first study ever to demonstrate that microplastics are found in deep-sea fish in the western Indian Ocean.

The conclusions of this thesis underscore the urgency of the situation regarding contamination of the marine environment by microplastics and highlight the need to take measures to reduce the production, use and management of plastic materials. This research contributes to a better understanding of microplastics in the deep-sea environment and provides important information for the conservation and sustainable use of the oceans.

Keywords

microplastics, deep-sea fish, FTIR spectroscopy, microscopy, fluorescence microscopy

Seznam zkratek

ATR zeslabená totální reflektance

ČOV čistička odpadních vod

EPS expandovaný polystyren

FTIR infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací

MilliQ ultračistá voda

NČ nilská čerpeň

PA polyamid

PC polykarbonát

PE polyethylen

PES polyester

PET polyethylentereftalát

PP polypropylen

PS polystyren

PTFE polytetrafluorethylen

PUR polyuretan

PVC polyvinylchlorid

UV ultrafialové záření

μ -FTIR mikro infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací

Obsah

TEORETICKÁ ČÁST

Úvod

1. Mikroplasty	10
1.1. Kategorizace	10
1.2. Zdroje	12
2. Analýza	13
2.1. Optická mikroskopie	13
2.3. Fluorescenční mikroskopie	14
2.2. Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací (FTIR)	15
3. Výskyt mikroplastů v životním prostředí	16
3.1. Výskyt mikoplastů ve vodním prostředí	17
3.1.1. Šíření mikroplastů ve vodním prostředí	17
3.2. Mikroplasty v oceánech	18
3.2.1. Mikroplasty v mořských organismech	20
3.2.2. Mikroplasty v hlubinných mořských rybách: Stávající poznatky	21
4. Hlubinné ryby a jejich role v mořském ekosystému	23
4.1. Mezopalegické ryby	24

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

5. Materiály	26
6. Cíle	28
7. Metodologie	29
7.1. Původ a identifikace vzorků	29
7.2. Příprava roztoků a filtračního zařízení	30
7.3. Měření a odběr trávicího traktu	31
7.4. Filtrace	31
7.5. Kontroly	32
7.5.1. Atmosférické slepé vzorky	32
7.5.2. Slepé vzorky biologického materiálu	33

7.6. Analýza plastů	33
7.6.1. Identifikace a kvantifikace částic pod fluorescenčním mikroskopem	33
7.6.2. Identifikace polymerů pomocí μ -FTIR	35
7.6.3. Spektroskopie	35
8. Výsledky	36
8.1. Výsledky detekce plastových částic	36
8.2. Výsledky kontrol	37
9. Diskuze	38
10. Závěr	41
11. Reference	42
12. Přílohy	49

Úvod

Mořské ekosystémy jsou konečným recipientem pro veškeré znečištění způsobené člověkem. Mikroplasty (MP) představují v oceánech všudypřítomné znečištění, představující vážnou potenciální hrozbu pro mořskou ekologii (Andrady, 2017). Podle Eriksena et al., z roku 2014 se znečištění oceánů plastovým odpadem odhaduje na 5 bilionů částic plovoucích na hladině, tj. 250 000 tun, přičemž 92 % tohoto odpadu má podobu MP. V posledních dvou dekadách se tyto nepatrné částice staly předmětem aktivního environmentálního výzkumu, který potvrdil jejich přítomnost v celém vodním sloupci. Nadměrné používání a nesprávná likvidace plastového odpadu má negativní vliv na životní prostředí a stabilitu mořských ekosystémů. I když je známo, že plastový odpad ovlivňuje mnoho mořských organismů, o jeho přítomnosti a rozsahu v hlubinném mořském prostředí víme jen málo (Esposito et al., 2022).

Cílem této bakalářské práce je v první řadě souhrn dat a informací o MP, včetně některých užívaných metod jejich detekce a analýzy. Následně jsou shrnuty poznatky o MP v oceánském prostředí a v mořských organismech. Konečným zaměřením rešeršní části práce je sumarizace informací o hlubokomořských rybách, jejich významu v mořských ekosystémech a stávajících poznatků zahrnujících výskyt a četnost kontaktu těchto ryb s touto formou znečištění.

Cílem experimentální části je kvantifikovat a identifikovat typy MP, které se nacházejí v trávicích traktech hlubokomořských ryb západní části Indického oceánu. Pro dosažení těchto cílů jsou provedeny detailní analýzy vzorků rybích trávicích traktů s cílem detekovat a charakterizovat MP a identifikovat konkrétní typy polymerů. Studie přítomnosti MP v hlubinných mořských rybách má potenciál přinést nové poznatky o rozsahu plastové kontaminace v těchto prostředích. Identifikace konkrétních typů polymerů může pomoci v určení zdrojů znečištění a vypracování efektivnějších strategií pro udržitelnou ochranu oceánů.

Tato práce si klade za cíl přispět k lepšímu pochopení problematiky MP v hlubokomořském prostředí a poskytnout důležité informace pro ochranu a udržitelné využívání oceánů.

Hypotézy

Tato bakalářská práce je zaměřena na sběr, agregaci a analýzu dat týkajících se MP, zejména v hlubokomořském prostředí. Zaměřuje se na detekci, kvantifikaci a zkoumání přítomnosti MP v trávicím traktu hlubokomořských ryb západní části Indického oceánu. Konkrétně má práce za cíl odpovědět na tyto hypotézy:

1. Plastové mikročástice jsou přítomné v trávicím traktu hlubokomořských ryb ze západní části Indického oceánu.
2. V trávicím traktu hlubokomořských ryb ze západní části Indického oceánu lze nalézt různá množství a specifické typy plastových polymerů.

TEORETICKÁ ČÁST

1. Mikroplasty

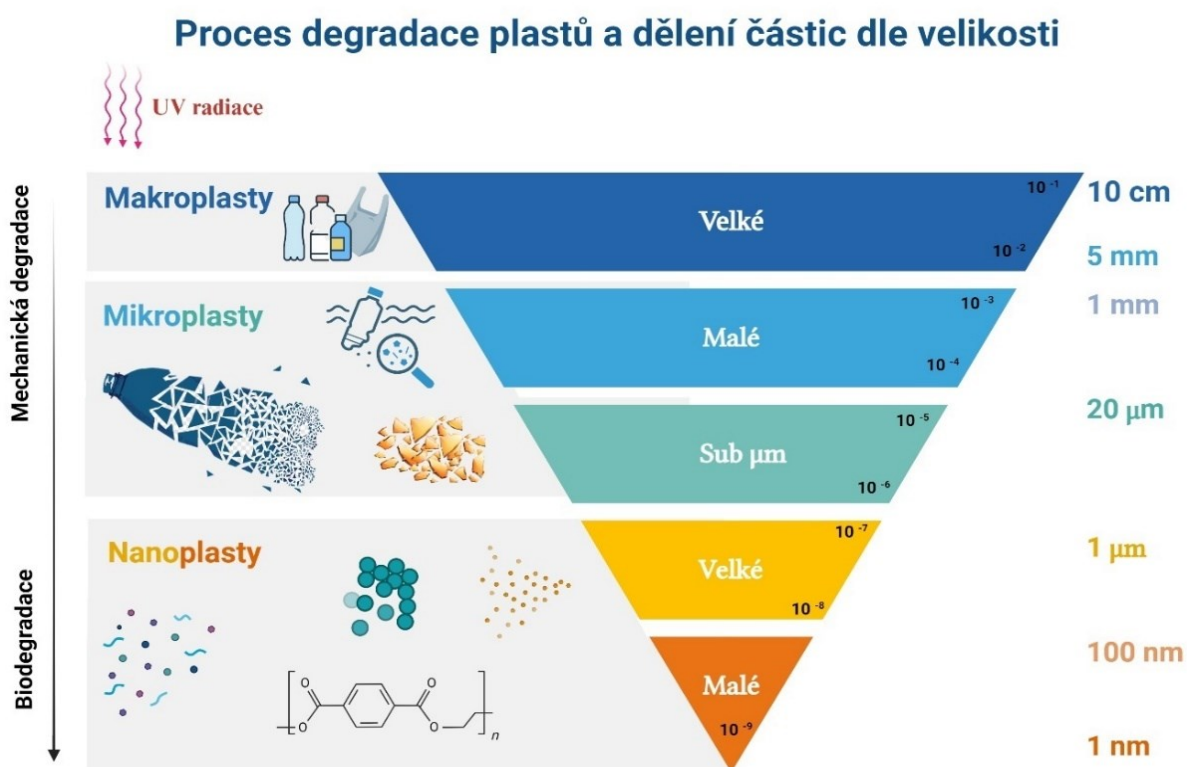
Plasty jsou syntetické organické polymery, které jsou produktem polymerace monomerů získaných z ropy nebo zemního plynu (Thompson et al., 2009). Vzhledem k tomu, že jsou univerzální, lehké a voděodolné, používají se v mnoha průmyslových a domácích odvětvích. Od doby, kdy byl vytvořen první plast (bakelit) v roce 1909, výroba a různorodost plastů neustále vzrůstá a stále se rozšiřuje. V Evropě bylo v roce 2022 vyrobeno 58.7 milionů tun plastu, zatímco celosvětová produkce tvořila 400.3 milionů tun (PlasticEurope, 2023). Nejčastěji používanými syntetickými polymery jsou polyethylen (PE), polypropylen (PP), polyvinylchlorid (PVC), polystyren (PS), polyethyltereftalát (PET) a polyuretan (PUR). Těchto šest polymerů (známých jako "velká šestka") představuje 80 % globální produkce plastů v roce 2022 (PlasticsEurope, 2023). Velmi malá část plastů je recyklována, a většina z nich končí v přírodě, kde se během dlouhé doby znehodnotí (Barnes et al., 2009). Od roku 2018 však došlo, alespoň v evropských státech, k nárůstu používání recyklovaných plastů o 70 % a recyklované plasty nyní tvoří 13,5 % všech plastových pryskyřic, které jsou přeměňovány na nové výrobky a komponenty (PlasticEurope, 2024).

MP jsou obecně charakterizovány podle velikosti, tvaru a barvy a podle Arthur et al., 2009 jsou definovány jako částice menší než 5 mm, nicméně definice se může mezi různými výzkumnými týmy lišit. Pro popis tvaru MP se běžně používá pět kategorií: fragmenty, koule, vlákna, průmyslové plastové granule (pelety) a pěna, což označuje fragmenty expandovaného polystyrenu (Hong et al., 2017).

1.1. Kategorizace

MP lze rozdělit do následujících tří skupin: termoplasty, reaktoplasty a elastomery. Tyto tři skupiny se liší svojí strukturou a svým mezimolekulárním chováním (Švorčík, 2002). Nejrozšířenější jsou termoplastické polymery, které tvoří 90 % plastů (PlasticsEurope, 2016). Typické termoplasty jsou amorfní nebo částečně krystalické polymery, jejich aplikační teplota je zpravidla pod teplotou skelného přechodu. Zpracovávají se nad jejich teplotou tání případně v blízkosti tečení, často ještě ve viskoelastickém stavu. Charakteristickou vlastností této skupiny polymerů je to, že je lze opakovaně tepelně tvarovat (Prokopová, 2007). Hlavní představitelé této kategorie jsou olefinické polymery (polyethylen a polypropylen), vinyl (polyvinylchlorid a polyvinylacetát), styreny (zesíťovaný a expandovaný polystyren,

akrylonitril-butadien-styren), polyamidy a nasycené polyestery (polyethyltereftalát). Reaktoplasty jsou materiály, jejichž tvar se získává působením tepla a nemění se ani při zvýšené teplotě (Švorčík, 2002). Na rozdíl od termoplastů jsou molekuly v matici spojeny dalšími vazbami, čímž vytvářejí vzájemně propojenou síť. Tyto polymery proto nelze přetvářet při vysokých teplotách jinak by došlo k jejich degradaci. Tuto kategorii polymerů představují především polyuretany, nenasyčené polyestery a epoxidové pryskyřice.



Obrázek. č.1. Převzato z Gillibert et al., 2019, upraveno pomocí Biorender

Elastomery jsou polymery s elastickými vlastnostmi, které odolávají velké deformaci a poté se vrátí do původního tvaru. Po natažení se jejich tvar změní. Mezi elastomery řadíme kaučuky a neopren (Prokopová, 2007)

1.2. Zdroje

MP v životním prostředí pochází ze dvou hlavních zdrojů. Do prvního zdroje MP (primární MP) řadíme plasty, které vstupují do prostředí přímo ve formě mikročástic. Tyto částice jsou záměrně vyráběny buď pro přímé použití, nebo jako prekurzory pro výrobu jiných produktů. Příkladem mohou být předvýrobní plastové pelety, průmyslová abraziva, exfolianty, plasty používané při rotačním frézování a další spotřební výrobky (Arthur et al., 2009).

Primární MP v životním prostředí pocházejí z domácností a průmyslu. V domácnostech jsou částice plastů (PE, PP) využívány jako exfoliační činidla a nahradila přírodní produkty, které se nacházejí například v kosmetice nebo zubních pastách (Fendall et al., 2009). Napper et al., (2015) prokázali, že exfoliant na obličej může uvolňovat 4 594 až 94 500 PE mikroperliček (průměrný průměr: 164 až 327 μm) do odpadní vody během jednoho použití. Tyto mikročástice prochází, celkově nebo částečně, různými procesy čištění odpadních vod než skončí ve vodním prostředí (Browne et al., 2011; Dris et al., 2015). Pračky představují rovněž významný zdroj primárních MP ve vodním prostředí, a to prostřednictvím vypouštění do okolního prostředí z čistíren odpadních vod. Zdá se, že přítok syntetických vláken do čistíren odpadních vod je 10krát větší než vstupy z kosmetických přípravků (UNEP, 2016). Už v roce 2011 Browne et al., prokázali, že při praní jediného syntetického oděvu se může uvolnit více než 1 900 vláken (polyesterových, akrylových, polyamidu). Zdrojem primárních MP je také atmosférický vstup syntetických vláken do vodního prostředí (Allen et al., 2022). Z průmyslu se například do mořského prostředí dostávají MP v důsledku nehod při skladování a přepravě (Gregory, 1978). MP také nahradily písek při čištění pískováním a jsou součástí složení některých průmyslových a automobilových abraziv (Gregory, 1996; UNEP, 2016).

Do druhého zdroje (sekundární MP) řadíme fragmenty větších plastových úlomků (>5mm), které vznikají prostřednictvím kombinace fyzikálních, chemických a biologických procesů (Andrady, 2011). Míra produkce sekundárních MP závisí na vlastnostech plastu, rozsahu zvětrávání a na energetice místního prostředí (Arthur et al., 2009). Toto rozdělení nám umožňuje identifikovat konkrétní zdroje MP a díky tomu je možné přijmout opatření ke snížení kontaminace životního prostředí (Shim et al., 2017).

2. Analýza

Z hlediska posuzování rizik environmentálních dopadů a dopadů na lidské zdraví roste potřeba analyzovat výskyt MP v submikronových velikostech (Shim et al., 2017). Pro komplexní studium MP v životním prostředí je klíčový rozvoj rychlých a přesných analytických metod pro jejich identifikaci a kvantifikaci. Byly vyvinuty různé analytické techniky, jako je mikroskopie (tj. vizuální detekce), spektroskopické metody, infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací (FTIR), Ramanova spektroskopie, a pyrolýzní plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií. Tyto postupy mohou být, jak časově, tak i finančně náročné a vyžadují odborné znalosti, což omezuje jejich širokou dostupnost. Důležitým aspektem při analýze MP je také úspěšná detekce a přesné měření částic o velikosti i jednoho mikrometru (Shruti et al., 2022). Proto je kombinace těchto analytických metod klíčem k účinné identifikaci MP v různorodých oblastech životního prostředí. (Shim et al., 2017). Nejčastěji používané techniky pro analýzu MP, které jsou zároveň používány v experimentální části této bakalářské práce, jsou detailně popsány v následujícím textu.

2.1. Optická mikroskopie

Vizuální pozorování je základním krokem pro fyzikální charakterizaci MP. Pro tento účel se využívají mikroskopy, kterými se MP se sledují přímo na použitém filtru (Anderson et al., 2017; Güven et al., 2017). Tato metoda je sice cenově dostupná a snadno realizovatelná, avšak náchylná k subjektivitě a chybám, zejména pokud nejsou extrakční a izolační kroky kompletní a dochází k výskytu nečistot (Shruti et al., 2022). Aby se minimalizovala možnost chybné identifikace plastů během vizuálního pozorování, je důležité brát v úvahu několik klíčových faktorů (Zobkov & Eisukova, 2018). Zaprvé je třeba se ujistit, že nejsou viditelné žádné buněčné nebo organické struktury, zejména u vláken. Jeden z případů, kdy toto pravidlo nemusí platit, je z angl. tzv. „biofouling“ nebo organický materiál přichycený na povrchu plastových vláken. V tomto případě je důležité rozlišit, zda se organická hmota nachází pouze na jedné části nebo na celém plastovém vlákně. Následně je sledována tloušťka vláken po celé jejich délce konzistence barvy a její rovnoměrnost. Tyto faktory jsou klíčové při vizuálním posouzení MP a přispívají k přesnější identifikaci a charakterizaci těchto materiálů (Zobkov & Eisukova, 2018).

Další metodou pro rozlišení mezi organickými částicemi a plastem je test horkého bodu, který ovšem vyžaduje, aby byly částice na filtračním papíře dostatečně rozptýleny a nebyly příliš

blízko u sebe. Velmi horký hrot jehly se přiloží dostatečně blízko částice a plast se zkroutí nebo roztaví (De Witte et al., 2014).

I když je optická mikroskopie jednoduchá, může být časově náročná a má omezenou přesnost, zejména při pozorování MP menších než 100 μm . Dalším problémem je identifikace průhledných MP. Song et al., 2015 pozorovali více než 70% chybovost v důsledku přítomnosti průhledných MP. Vzhledem k omezením optické mikroskopie je tato metoda považována pouze za pomocnou (Huang et al., 2023).

2.2. Fluorescenční mikroskopie

Vizuální kontrola pomocí mikroskopu není pro měření MP vzhledem k jejich malým rozměrům vždy ideální. V důsledku toho byla nedávno zavedena identifikace MP pomocí fluorescenčního značení jako jedno z řešení těchto problémů (Shruti et al., 2022).

Fluorescenční značení představuje jednu z moderních metod využívaných pro kvantitativní analýzu a vizualizaci morfologie MP. Existuje značná variabilita mezi studii ohledně přesného protokolu, avšak nejčastěji se pro fluorescenční značení MP používá barvivo zvané nilská červeň (NČ), (Shruti et al., 2022). Nilská červeň je hydrofobní, metachromatické a fotochemicky stabilní barvivo, které se běžně používá při výzkumu MP. NČ je nenabitá, organická a heterocyklická sloučenina složená z 5H-benzo[*a*]fenoxazin-5-onu (Greenspan et al., 1985). Toto lipofilní fluorescenční barvivo je schopno obarvit MP díky jejich hydrofobním vlastnostem, které jsou způsobeny vícerázovými vazbami C–H v jejich polymerních řetězcích. Molekuly tohoto barviva pronikají dovnitř polymeru a adsorbují se na povrch částic pomocí Van der Waalsových sil (Maes et al., 2017). Nejpoužívanějšími filtry pro fluorescenční barvení MP jsou černé filtry vyrobené z polycarbonátu (PC) nebo polytetrafluorethylenové (PTFE) filtry (Lv et al., 2019).

Pro vyhodnocení změn fluorescence je využíván fluorescenční mikroskop s vysokým rozlišením (Pramanik et al., 2024). Při identifikaci modelu MP na fluorescenčním mikroskopu jsou k dispozici tři barvy světla. Modrého světla excitace v rozmezí vlnových délek (340-380 nm), ultrafialového záření (UV), excitace v rozmezí vlnových délek 450-490 nm a zeleného (515-560 nm), (Bavo De Witte et al., 2024). Po nafocení filtru na fluorescenčním mikroskopu jsou částice dále analyzovány a kvantifikovány.

2.3. Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací (FTIR)

FTIR je úspěšně využívána v různých oblastech vědy a techniky (Lewis et al., 2005). Jedná se o nedestruktivní techniku, která se využívá pro kvalitativní analýzu částic. Rozšíření používání této techniky od roku 2001 je částečně důsledkem algoritmu matematické metody zvané Fourierovy transformace (Alvarez-Ordóñez et al., 2011). Princip spočívá v rozdělení světla na dva paprsky a měření interference mezi nimi. Signál získaný detektorem, který je funkcí změny délky dráhy mezi těmito dvěma paprsky, je následně převeden pomocí Fourierovy transformace na frekvenční spektrum. Popularitu této techniky zvýšilo také využití chemometrických nástrojů a schopnost FTIR spektroskopie analyzovat různé typy vzorků, jako jsou kapaliny, pasty, polymery a plyny (Lewis et al., 2005). FTIR spektroskopie zkoumá absorpci elektromagnetického záření ve střední infračervené oblasti, což zahrnuje rozsah 2500-25 000 nm nebo 4000-400 cm^{-1} (Alvarez-Ordóñez et al., 2011).

FTIR představuje výkonnou techniku v diagnostické analýze plastových polymerů, protože poskytuje informace o specifických vazbách plastů. Plastové zbytky a viditelné MP se obvykle identifikují pomocí ATR- FTIR (ATR – z angl. Attenuated Total Reflection), zatímco menší částice vyžadují použití mikro-FTIR (μ -FTIR), která je vybavena mikroskopem pro lokalizaci MP na filtrech (Chen et al., 2020). Mikro-FTIR spektroskopie výrazně usnadňuje identifikaci různých mikroplastových částic. I přes své náklady zůstává tato technika jednou z nejčastěji používaných, spolehlivých a dobře reprodukovatelných metod pro identifikaci MP v životním prostředí (Chen et al., 2020).

Tyto techniky mohou být ovlivněny a ztíženy přítomností barev, aditiv a připojených kontaminantů. Je třeba zdůraznit, že se jedná o kvalitativní metodu, která neumožňuje určit hmotnostní obsah těchto mikročástic (Shim et al., 2017).

3. Výskyt mikroplastů v životním prostředí

Fyzikální vlastnosti plastů (pevnost, pružnost a trvanlivost) vedly společnost ke zvýšení jejich spotřeby do té míry, že se plasty staly nepostradatelnou součástí každodenního života (Andrady et al., 2011). Tyto vlastnosti, které jsou pro společnost tak výhodné, jsou zároveň problematické z hlediska životního prostředí (Cole et al., 2011). Výskyt MP v přírodě je komplexní jev, ovlivněný kombinací průmyslové produkce, spotřebitelských návyků, nedostatečné recyklace a nevhodného nakládání s odpady. MP pochází jak z pevninských, tak z mořských zdrojů. Mezi zdroje MP v mořském prostředí patří odpady z lodí, včetně průmyslových, obchodních a rybářských plavidel, jakož i ropné plošiny, které kontaminují oceány. Dále sem lze zařadit z angl. tzv. „ocean dumping“, vojenský odpad, komunální odpad a další (Hammer et al., 2012). Na pevnině jsou MP šířeny především antropogenními činnostmi, jako jsou domácí aktivity, průmyslová výroba a zemědělské postupy. Tyto MP jsou transportovány prostřednictvím komunálního odpadu, dopravy, odpadních vod z domácností a průmyslu, povrchových a podpovrchových odtoků z krajiny, skládek a zemědělských ploch. Dále mohou být MP roznášeny i vzdušnými proudy (Hammer et al., 2012). Rozvoj plastového průmyslu provázal významný technologický pokrok, což vedlo ke zvýšené produkci plastových výrobků. Tento nárůst výroby však současně přinesl i nárůst plastového odpadu s jeho negativními dopady na životní prostředí (Gong & Xie, 2020). První záznam o kontaminaci životního prostředí MP pochází z roku 1972, kdy byly identifikovány polystyrenové kuličky v sedimentárních biotopech na pobřeží jižní Nové Anglie (Zhang et al., 2022). Od té doby byly provedeny řady studií, které potvrzují přítomnost MP v ekosystémech po celém světě. Přítomnost MP v životním prostředí má různé potenciaální environmentální dopady (Gong & Xie, 2020). Kromě fyzikálních toxických efektů mohou být MP zdrojem i dalších chemických látek nebezpečných pro organismy. Jednak obsahují velké množství aditiv a dále mají schopnost adsorbovat a hromadit různé škodlivé látky z okolního prostředí. Tyto látky mohou zahrnovat těžké kovy, pesticidy a organické kontaminanty. Jakmile jsou tyto MP požitý nebo přijdou do kontaktu s mořskými nebo suchozemskými organismy, mohou tyto látky proniknout do potravního řetězce, což má za následek řadu nepříznivých účinků (Hwang et al., 2019). Je zřejmé, že MP představují významný ekologický problém, který je třeba řešit (Gong & Xie, 2020).

3.1. Výskyt mikroplastů ve vodním prostředí

Kontaminace hydrosféry plasty a MP je dnes celosvětově známý fakt (Eriksen et al., 2014). Většinu odpadu v mořích tvoří plasty, a to jak na dně oceánů na vodní hladině a tak i na plážích (Van Sebille et al., 2015; Vianello et al., 2013; Yu et al., 2016). Jejich výskyt je popsán také v mořských biomech, přílivové zóně, pelagické zóně zahrnující povrchovou vrstvu, ve vodním sloupci, bentické zóně a abyssální zóně (Kane et al., 2020; Reisser et al., 2015; Van Sebille et al., 2015; Yu et al., 2018; Woodall et al., 2014). MP byly nalezeny i v nejdlehljších oblastech, daleko od antropologických aktivit, jako jsou polární oblasti (Lima et al., 2021; Rocha- Santos et al., 2022). Přítomnost MP je tedy prokázána nejen v mořích a oceánech, ale v celé naší hydrosféře. MP jsou přítomny i ve sladkovodních biomech, jako jsou jezera, řeky a ústí řek (Anderson et al., 2017; Browne et al., 2011).

3.1.2. Šíření mikroplastů ve vodním prostředí

Ve vodním prostředí ovlivňují šíření plastových mikročástic především faktory jako je rozloha vodního povrchu, hloubka vodního sloupce, povrchové proudy, termohalinní cirkulace, síla větru, koncentrace částic a tvar jednotlivých částic (Ferreira et al., 2023). MP často plavou na hladině, protože jsou lehčí než voda, a to jak v sladkých, tak v mořských vodách. Obecně platí, že čím větší je plastový odpad, tím snáze jej voda unáší, obvykle od řek směrem k mořím a oceánům (Lebreton et al., 2017). Mikroplastové částičky se poté mohou účastnit vertikálního transportu ve vodním sloupci, především díky jejich přichycení na povrchu živých organismů a mikroorganismů. Hustota výsledné struktury se tím zvyšuje a MP se stávají součástí planktonu. Ty s nižší hustotou jsou často unášeny větrem nebo povrchovými proudy, zatímco ty s vyšší hustotou klesají ke dnu, kde se mohou usazovat v sedimentech a být transportovány do hlubších vrstev (Andrady, 2011; Duis et al., 2016 ; Wu et al., 2019). Tabulka č.1. znázorňuje hustoty různých syntetických polymerů.

Typ polymeru	Hustota (g/cm³)
Polyethylen (PE)	0.917–0.965
Polypropylen (PP)	0.9–0.91
Polystyren (PS)	1.04–1.1
Polyamid (nylon)	1.02–1.05
Polyester	1.24–2.3
Polyinyl chlorid (PVC)	1.16–1.58

Tabulka. č.1. Hmotnostní schéma jednotlivých polymerů. Převzato z P. Wu, 2019, upraveno.

Bez ohledu na rychlost potopení jsou MP přenášeny větrem k pobřeží, přičemž šíření částic se liší podle rychlosti proudění. Větrém hnané proudy jsou silnější než termohalinní cirkulace v hlubokém moři (Lima et al., 2021). Oproti tomu studie z roku 2020 ukázala, že distribuce MP na mořském dně je řízena termohalinními proudy, ty vytváří rozsáhlé akumulace sedimentů na mořském dně a vytváří tzv. „horká místa“, až s počtem 190 částic na 50 gramů sedimentu. MP se vyskytují téměř ve všech částech oceánu, přičemž z dostupných výzkumů se nepodařilo vytvořit detailní věrohodný model jejich distribuce (Kane et al., 2020).

3.2. Mikroplasty v oceánech

Široké využití v každodenním životě, odolnost vůči přirozené degradaci a špatné nakládání s odpady činí z plastového znečištění globální problém. Přibližně 75 až 90 % MP a makroplastů se nachází v mořském prostředí. Pochází většinou z kontinentálního prostředí a přibližně 10-15 % pochází z činností na moři (cestovní ruch, plavba lodí, rybolov, akvakultura), (Obr.č.2). Jejich distribuce na hladině oceánů je rovněž závislá na environmentálních faktorech jako je hydrodynamika, přenos větru, zbytky biologického původu a klima (Barnes et al., 2009 ; Cole et al., 2011).

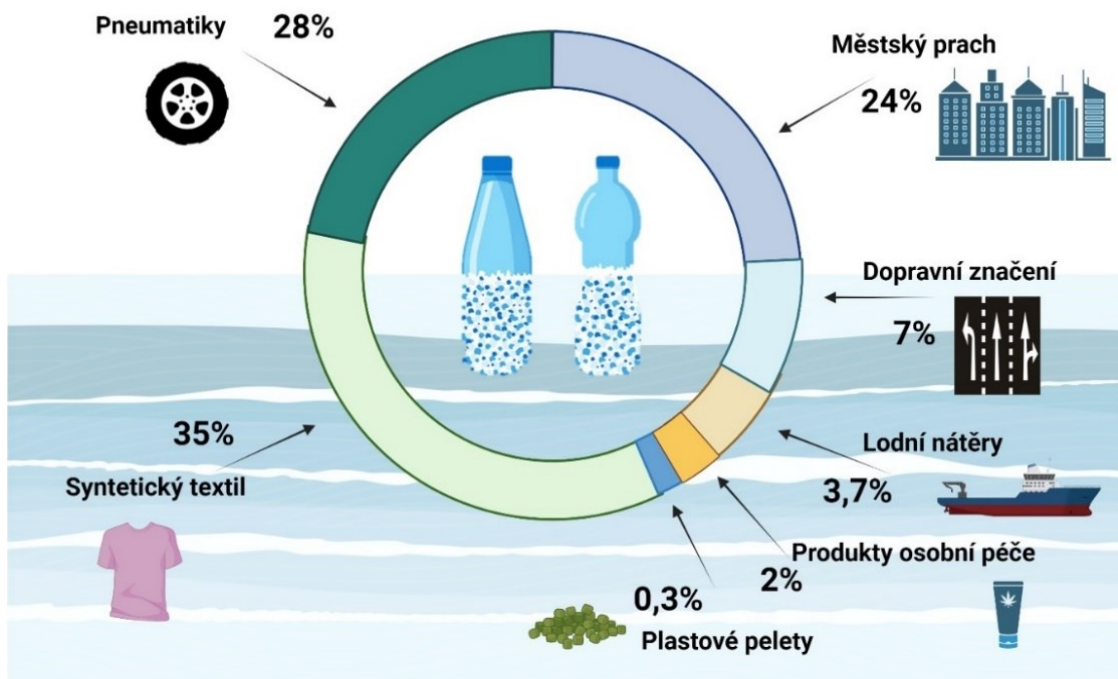
MP se v mořském prostředí vyskytují čím dál ve větší míře. Poté, co se plastové částice dostanou do oceánu, mohou podle hustoty plastu plavat na hladině, být zavěšeny ve vodním sloupci nebo se usadit na mořském dně. Jak ukazuje tabulka č.1 polyethylen a polypropylen mají nižší hustotu, proto se například často vyskytují v povrchové vrstvě a jsou větrem zanášeny k pobřeží (Wu et al., 2019). Plasty v povrchové vrstvě oceánu se vyskytují velmi nerovnoměrně a většinou se hromadí v konvergenčních zónách každého z pěti subtropických gyrů (Severní

Pacifik, Severní Atlantik, Jižní Pacifik, Jižní Atlantik, Indický oceán) a v uzavřeném moři (Středozevní moře), (Eriksen et al., 2014). Přibližně polovina plastového znečištění plave v subtropických gyrech (Van Sebille et al., 2015). Důkazy poukazují na to, že v subtropickém gyru dochází k rychlé akumulaci (Lebreton et al., 2018), přičemž jakýkoli globální odhad celkového nahromaděného plovoucího MP odpadu představuje pouze 1 % nebo méně celkové hmotnosti z množství plastového odpadu vypouštěného ročně do oceánu (Van Sebille et al., 2015). Odhady distribuce plastů vychází z předpokladu, že povrchové vody nejsou konečným cílem plovoucího plastového odpadu v oceánu. Vzhledem k tomu, že většina plastů na mořské hladině chybí, odhaduje se, že místem, kde se většina plastů nakonec hromadí, je mořské dno (Thompson et al., 2009).

Mořské pobřeží nebo litorální sedimenty jsou dalším místem hromadění MP. Průměrně 60 až 300 plastových mikročástic na kg písku bylo nalezeno mezi odlivem a přílivem na pobřeží jihovýchodní části Spojených států (Yu et al., 2018). V Bohajském moři v Číně bylo nalezeno 23 až 102 částic na kg písku (hloubka 2 – 20 cm), (Yu et al., 2016). Průměrně 1445 plastových mikročástic na kg litorálního sedimentu (hloubka 0-5 cm) bylo zjištěno na severovýchodním italském pobřeží (Vianello et al., 2013). V litorální zóně severního pobřeží Tuniska v Středozevním moři bylo zjištěno 141-461 plastových mikročástic na kg litorálního sedimentu (hloubka kolem 0-2 cm), (Abidli et al., 2018). Tyto i další měření prokazují, že pláže a litorální sediment jsou extrémně kontaminovány MP.

Jak bylo zmíněno, za oblast s vysokou koncentrací MP jsou považovány také hlubokomořské sedimenty. Studie prokázaly průměrný výskyt jedné plastové částice na 25 cm² sedimentu v hloubce od 1176 m 4844 m v oblasti od Atlantského oceánu po Středozevní moře (Van Cauwenberghe et al., 2013). Další měření uvádí průměr 13 částic MP na 50 cm² sedimentu v hloubce 900 až 3500 m Atlantského oceánu a pobřežních vod Španělska (Woodall et al., 2014).

Zdroje mikroplastových částic v oceánu



Obrázek. č.2. Převzato z D. Sáter, 2018, upraveno pomocí Biorender.

3.2.1. Mikroplasty v mořských organismech

Plastový odpad poškozuje a stále častěji se stává fatální hrozbou pro mnoho mořských živočichů. Plastový odpad ohrožuje jejich přežití zejména proto, že mnohé z těchto druhů jsou již teď ohroženy i jinými antropogenními činnostmi (Derraik, 2002). Časté zprávy o dopadech plastů na organismy zdůrazňují rostoucí případy požití či zamotání do plastů z 267 druhů v roce 1997 na 395 druhů v roce 2015 (Gall et al., 2015; Laist, 1997). Nejméně 17 % druhů zasažených zamotáním či požitím patří na Červený seznam ohrožených nebo téměř ohrožených druhů (Gall et al., 2015).

Požití MP a nanoplastů se může projevit na různých úrovních biologického systému. Mohou ovlivnit energetické zásoby nebo vyvolat fyziologickou nerovnováhu organismu. Bylo prokázáno, že MP mohou být příčinou oxidačního a patologického stresu, snížených imunitních funkcí a rakoviny. Tím, že MP mají vliv na subcelulární, buněčné i organické úrovni, předpokládá se, že tyto účinky budou mít dopad na celkové zachování určitých druhů a ekosystémů (Guzzetti et al., 2018).

Negativní dopady MP na mořské organismy lze rozčlenit do dvou hlavních kategorií: fyzikální účinky a chemické účinky. Fyzikální účinky jsou spojeny s vlastnostmi MP, jako je jejich velikost, tvar a koncentrace. Chemické účinky se týkají nebezpečných chemikálií spojených s MP (Hong et al., 2017). MP ve vodním prostředí mohou obsahovat dva hlavní typy chemických látek: (1) aditiva a polymerní suroviny, jako jsou monomery nebo oligomery, které pocházejí z plastů, a (2) chemické látky absorbované z okolní mořské vody. Aditiva jsou chemické látky, které jsou záměrně přidávány během výroby plastů za účelem zlepšení jejich vlastností, včetně změkčovadel, antioxidantů, UV stabilizátorů a zpomalovačů hoření. Nezreagované polymerní suroviny, jako jsou monomery nebo oligomery, mohou zůstat uvnitř MP (Hong et al., 2017).

3.2.2. Mikroplasty v hlubinných mořských rybách, stávající poznatky

Navzdory všudypřítomnosti plastového odpadu v mořském prostředí existují v našem chápání kontaminace hlubokomořských organismů plasty značné mezery ve znalostech (Esposito, et al., 2022). Jedna z prvních studií proběhla v Severním Pacifiku, kde přibližně 35 % studovaných ryb pozřelo plast, v průměru 2,1 kusu na jednu rybu (Boerger et al., 2010). Další studie v této oblasti prokázala, že celkem z 141 hlubinných ryb (27 druhů) byl výskyt mikroplastových částic v obsahu žaludku u 13 jedinců (9,2 %). Jedenáct ryb, které pozřely plast, mělo v žaludku pouze jednu částici plastu, zatímco 2 jedinci pozřely dvě částice (Davison and Asch, 2011).

Ve Středozezemním moři poprvé uvádí výskyt plastových úlomků Romeo et al. (2016) z obsahu žaludků čtyř druhů středomořských mezopelagických ryb. V obsahu žaludku byly nalezeny průměrně 4 plastové částice. Na jihovýchodním pobřeží Indie proběhla studie zkoumající 100 trávicích traktů 80 epipelagických a 20 mezopelagických druhů ryb. Celkem bylo detekováno 174 MP, z toho v průměrně nalezeno 0-2 částice MP na jedince. V trávicím traktu vzorků ryb bylo identifikováno pomocí ATR-FTIR šest typů polymerů: polyethylen (54 %), polyamid (15 %), polyester (14 %), polystyren (7 %), polypropylen (7 %) a akryl (3 %), (Sathish et al., 2020).

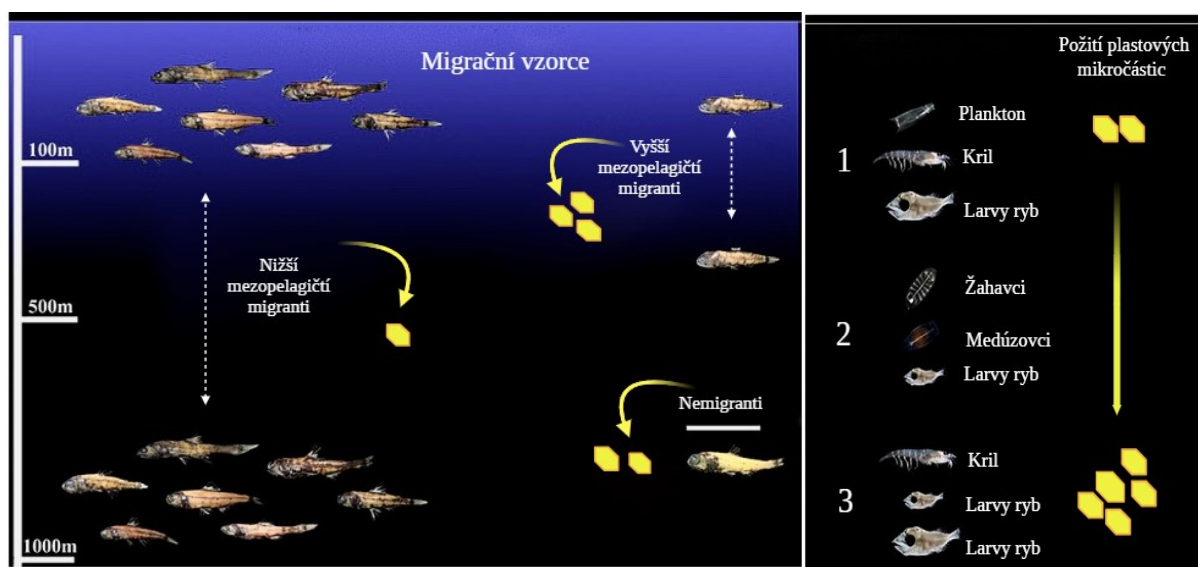
V roce 2020 provedl Pereira et al. studii u Azorského souostroví. Byl zkoumán obsah střev 390 ryb patřících ke třem pelagickým a dvěma hlubokomořským druhům. U hlubokomořských ryb byl přítomen téměř výhradně polypropylen, zatímco u pelagických ryb byl nejrozšířenějším typem polymeru polyetylen (Pereira et al., 2020).

Esposito et al., v roce 2022 měřili hladiny MP v trávicím traktu 34 ryb z osmi různých hlubokomořských druhů ve Středozemním moři u východní Sardinie. MP byly nalezeny u 16 z 34 ryb, přičemž nejběžnějším polymerem byl polyethylen (Esposito et al., 2022). Další studie téhož roku přinesla důležité poznatky o kontaminaci hlubokomořských ekosystémů, kdy byly plastové částice extrahovány z trávicího traktu 170 jedinců a detekováno bylo celkem 213 částic, přičemž MP byly nalezeny u 67 % vzorků. V průměru 1,2 částice v trávicím traktu na jednoho jedince. Nejčastějšími nalezenými polymery byly polyamid, polyethylen a polyethylentereftalát (Justino et al., 2022).

Nedávné studie také poukazují na škodlivé účinky MP na trávicí funkce ryb a koloběh živin (Annasawmy et al., 2020; Ferreira et al., 2023). Dopady konzumace plastů na hlubokomořské ryby nebyly zatím úplně vyhodnoceny, nicméně zahrnují dva hlavní problémy: fyzikální a toxikologické účinky (Hong et al., 2017). Plastový materiál se může hromadit v trávicím traktu a může působit dvěma různými mechanismy: nejmenší plastové částice mohou být rybami eliminovány, ale větší kusy plastu nemusí projít trávicím traktem a mohou vést k podvýživě a případnému vyhladování ryb, což je zvláště kritické u menších druhů (Boerger et al., 2010). Požití plastů může představovat vážné nebezpečí pro vertikálně migrující ryby vzhledem k tomu, že plastové fragmenty mohou způsobit změnu vztlaku, kterému jsou vystaveny. Většina ryb provádí rozsáhlé denní vertikální migrace do epipelagických vrstev, kde se živí zooplanktonem, a během dne se vrací do hlubších vod. Zvýšení vztlaku způsobené požitím plastů může zabraňovat jejich návratu do hlubších vod, což může vést k potenciální smrti (Olivar et al., 2012).

Výzkum hlubinných ryb ze severního kontinentálního svahu Jihočínského moře odhalil u všech vzorků kontaminaci MP, což naznačuje extrémní míru znečištění v této oblasti. Průměrné množství MP v žaludcích ryb činilo 1,96 kusů/jedince a ve střevech 1,77 kusů/jedince. Tyto výsledky ukazují úzkou souvislost mezi požitím MP a znečištěním mořského prostředí MP, přičemž převažují plastové částice o velikosti < 1 mm (Zhu et al., 2019).

Hlubinné druhy jsou vystaveny menší expozici znečištění MP než ty, které obývají povrchové vody (Pereira et al., 2020; Sathish et al., 2020). Důvodem je, že většina plastů má tendenci plavat na hladině a hlubinné druhy jsou většinou vzdálenější od hlavních zdrojů znečištění, kde se vytvářejí akumulací zóny díky povrchovým proudům a větru (Lima et al., 2021). Ferreira et al. (2023) dokázali, že významnou roli v potravním řetězci hraje strategie hledání potravy hlubokomořských ryb, která je také spojená s mírou kontaminace MP (Obr.č.3.).



Obrázek.č.3. Schéma migračních vzorců a požití plastových mikročástic převzato z Feirreira et al., 2023, upraveno

4. Hlubinné ryby a jejich role v mořském ekosystému

Oceány tvoří 70 % zemského povrchu, které pokrývají více než 95 % neobyvatelného prostoru Země. Polovina těchto oceánských ploch leží v hloubce 3000 metrů, přičemž průměrná hloubka je 3800 metrů. Největší biom na naší planetě proto tvoří hlubokomořské ekosystémy, které zahrnují přibližně 1 miliardu km³ hlubokých vod a 326 milionů km² mořského dna (Ramirez-Llodra, 2020).

Za začátek hlubokomořské oblasti se obvykle považuje hloubka 200 metrů, za níž už není dostatečné sluneční záření (Ramirez-Llodra, 2020), (Cherel et al., 2020). Sluneční energie proniká pouze do nejvyšších jednoho až dvou metrů vody. Světlo nutné pro fotosyntézu dosahuje maximálně do hloubky 100-150 metrů v čistých vodách otevřeného oceánu (Ryther, 1956). Hlubinné ryby tedy obývají oblasti vzdálené od hlavního zdroje energie, proto mnoho druhů vyvinulo speciální adaptace, aby se vyrovnalo s omezenou dostupností potravy v těchto hloubkách. Hlubokomořské ryby získávají svou potravu z různých zdrojů. Patří mezi ně organické částice, které lze přirovnat k dešťovým kapkám padajícím z hladiny, a většina ryb je nemůže přímo využít. Dále se jedná o velké množství potravy, která dopadá na mořské dno a je konzumována některými mrchožravými druhy. Nejčastěji se však ryby živí kořistními organismy, které obývají mořské dno, sedimenty nebo vodní sloupec (Priede, 2017). V hloubkách přesahujících 1000 metrů je oceán plně ve tmě, teploty se obvykle pohybují pod

4 °C a ryby, které v těchto podmínkách žijí, lze považovat za hlubokomořské druhy. Mezi 200 a 1000 metry existuje přechodná zóna, kde je dostatečné světlo pro viditelnost díky vysoce citlivým speciálně přizpůsobeným očím, avšak život pro běžné druhy ryb obývajících hladinu je zde prakticky nemožný. Tato zóna je domovem některých nejzajímavějších hlubinných ryb, které se značně odlišují od mělkovodních druhů (Priede, 2017).

4.1. Mezopelagické ryby

Mezopelagické ryby (hloubka 200-1000 m) patří k nejhojnějším obratlovcům v mořské biosféře (Irigoién et al., 2014; Nelson et al., 2016). Obvykle mají globální rozšíření, vertikální migrační chování a jsou přizpůsobeni k unikátním podmínkám které přináší hlubokomořské prostředí (Sutton, 2013). Nízká rychlost metabolismu, vysoká tolerance ke změnám prostředí a složité vizuální a bioluminiscenční systémy patří mezi příklady jejich adaptace (Priede, 2017). V důsledku toho má mezopelagická zóna jedno z nejvýznamnějších postavení v rámci nejrozmanitějších rybích společenstev světového oceánu, která přispívají k několika ekosystémovým procesům (St. John et al., 2016). Svojí klíčovou úlohu sehrávají v biogeochemickém cyklu, zejména při přenášení organického uhlíku z povrchových vod do hlubin (Bianchi et al., 2013). Společenstva mikronektonu tvoří spojnicí mezi primární produkcí a predátory (Cherel et al., 2020; Kloser et al., 2009). Díky své velké biomase a výživové hodnotě představují ekonomický zdroj s potenciálem pro nové komerční rybolovy, a představují jeden z mála potenciálně nově celosvětově dostupných mořských zdrojů (Catul et al., 2011).

Další zásadní roli hrají tím, že recyklují živiny a působí jako klíčové složky ekosystému. Tvoří trofické spojení mezi primárními konzumenty a vyššími trofickými úrovněmi (např. většími rybami, savci a mořskými ptáky), (Ariza et al., 2015; Cavan et al., 2019; Eduardo et al., 2020). Jsou také důležitým zdrojem potravy pro lovné populace ryb a klíčovým článkem mezi mělkými a hlubokomořskými ekosystémy (Cherel et al., 2020). Mezopelagická společenstva jsou stále více ohrožena změnou klimatu znečištěním plasty a znečištěním životního prostředí či využíváním hlubokomořských zdrojů (Davison and Asch, 2011; Hidalgo et al., 2019; Levin et al., 2019). Hlubinné ryby jsou extrémně citlivé na rušivé vlivy z důvodu jejich pozdního dospívání, dlouhověkosti, nízké plodnosti a pomalého růstu, (Moore, 1999). Některé z těchto ryb se rozmnožují na podmořských horách a mořském dně, což zvyšuje jejich zranitelnost vůči nadměrnému rybolovu (Koslow, 2000).

Hlubokomořské ryby podstupují za úsvitu denní vertikální migraci z mořské hladiny do větších hloubek, a jsou tak zodpovědné za přenos organického uhlíku a recyklaci živin

(Annasawmy et al., 2018; Bianchi et al., 2013). Organický materiál se uvolňuje ve formě trusu a klesá z horní hladiny do hlubin oceánu. Navzdory desetiletím výzkumu a rybolovu zůstávají podmořské ekosystémy stále nedostatečně prozkoumané (Rogers et al., 2017).

EXPERIMENÁLNÍ ČÁST

5. Materiály

- **Skleněné nádobí**

- Borosilikátové scintilační lahvičky 25ml, HF Scientific Technologies, Francie
- Uzavřené Petriho misky - Vakuové filtrační zařízení LABOPORT® N 86 KT.18 KNF, Francie
- Sada filtračních rozdělovačů
- Skleněná nálevka
- Skleněná základna se zátkou na vzorek
- Hliníková svorka na vzorek
- Vakuová pumpa- Büchnerova nálevka se skleněným filtrem
- Odsávací baňka (1 l)
- Skleněná Pasteurova pipeta s gumovou zarážkou
- Skleněná kádinka 600 ml

- **Laboratorní přístroje**

- Ultrazvuková čistící lázeň Vevor JPS-30A, VEVOR®, Německo
- Milli-Q Direct Water Purification System NO Zar, 0,2 PES High flux Capsule Filter, Replile, France- FTIR Spektrometr Perkin Elmer Frontier, Velká Británie
- FTIR Microscope Perkin Elmer Spotlight 200i, Velká Británie
- Fluorescenční mikroskop Leica DM 2000 led, USA

- **Materiály**

- Laboratorní spotřební materiál
- Ubrousky Kim-Tech, HF Scientific Technologies, Francie- Filtry ze skleněných mikrovláken Whatman GF/F (0,7 μm , \varnothing 47 mm), HF Scientific Technologies, Francie
- Filtry ze skleněných mikrovláken Whatman GF/A (1,6 μm , \varnothing 90 mm), HF Scientific Technologies, Francie
- Membránové filtry PTFE (10 μm , \varnothing 47 mm), OmniporeTM, Francie
- Nitrilové ochranné rukavice, HF Scientific Technologies, Francie
- Kleště (průměr hrotu: 25 μm)

- **Software**

- Software LAS Core
- Software Spectra IR, verze. 10.7.2.1630

- **Činidla**

- Nílská červeň, N 3013 Sigma Aldrich, USA
- Hydroxid sodný (NaOH 1 mol L⁻¹), HF Scientific Technologies, Francie
- Peroxid vodíku (3% H₂O₂), HF Scientific Technologies, Francie- Surfaktant decon 90%, Camlab, Velká Británie

6. Cíle

Cílem experimentální části této bakalářské práce je v první řadě extrahovat, detekovat a kvantifikovat MP v trávicím traktu hojně se vyskytujících hlubokomořských ryb západní části Indického oceánu. Studovány byly 3 různé čeledě hlubinných ryb ve třech odlišných oblastech. Po detekci potenciálních plastových mikročástic byly pozorovány rozdíly v množství těchto částic mezi dvěma izolovanými podmořskými horami v Indickém oceánu (La Pérouse a MAD-Ridge) a ostrovem Réunion. V poslední řadě byla provedena analýza náhodně vybraných potenciálních částic u každého jedince a zjištěny konkrétní typy polymerů.

První praktická část proběhla v laboratoři Entropie na ostrově Réunion, kde proběhla pitva mořských hlubinných ryb a rozklad extrahovaného trávicího traktu. Následně byla provedena filtrace roztoků s obsahem trávicího traktu a pozorování pomocí binokulární lupy za účelem extrahovat a kvantifikovat MP. Druhá část se uskutečnila ve Vlámském národním výzkumném centru (VLIZ) s cílem identifikovat typy plastových polymerů pomocí μ -FTIR, FTIR spektroskopie a Fluorescenčního mikroskopu.

Pro zpracování a filtraci vzorků trávicího traktu byl použit protokol od (Ferreira et al., 2023) a pro analýzu MP pomocí nilské červeně (NČ) byl následně použit protokol (Bavo De Witte et al., 2024).

7. Metodologie

7.1. Původ a identifikace vzorků

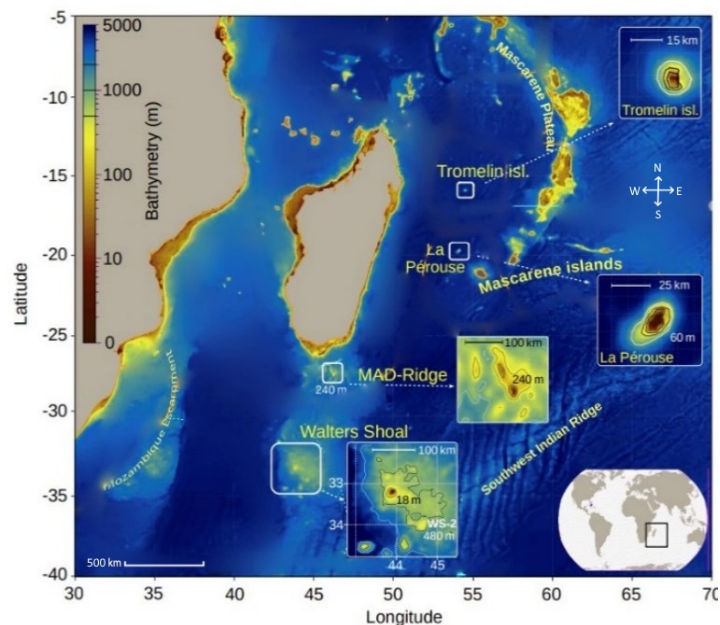
Hlubinné ryby byly vyloveny během předchozích výzkumných plaveb na mělkých podmořských horách La Pérouse a MAD-Ridge v roce 2016 a v okolí ostrova Réunion v letech 2016 a 2022 (Obr.č.4.), (Obr.č.5.), (Obr.6.), (Francis, 2016; Jean-François, 2016; Sébastien, 2016).



Obrázek. č.4. Mapa znázorňuje jednotlivé výlovy ryb z plaveb IOTA a La Pérouse. Zeměpisné souřadnice odběru z plavby IOTA jsou zaznamenány červeně. Zeleně jsou zaznamenány odběry z plavby La Pérouse, vytvořeno pomocí programu GIS, zeměpisné souřadnice převzaty od Sébastien, 2016 a Francis.



Obrázek. č.5. Mapa znázorňuje jednotlivé výlovy ryb z plavby MAD-Ridge. Každé místo je označeno žlutě. Vytvořeno pomocí programu GIS, zeměpisné souřadnice převzaty od Jean-François, 2016



Obrázek. č.6. Geografická poloha podmořských hor La Pérouse, MAD-Ridge a Walters Shoal vzhledem k pevnině (Mauricius a Réunion, Madagaskar a africký kontinent) (Upraveno a převzato z Demarcq et al., 2020).

Studovány byly tři hlubokomořské čeledě Gonostomatidae, Sternoptychidae a Chauliodontidae (Tabulka č.2.). K identifikaci byla použita tabulka (Tab. I-3.).

Plavba	Čeď	Rod	Hloubka (m)
La Pérouse	Gonostomatidae	<i>Gonostoma elongatum</i>	100 -1500
Mad - Ridge	Sternoptychidae	<i>Argyropelecus hemigymnus</i>	300-1000
IOTA	Chauliodontidae	<i>Chauliodus sloani</i>	200 -4700

Tabulka. č.2. Uveden název plavby, během které byla ryba ulovena, čeď, rod a hloubka, ve které se jedinci tohoto druhu pohybují (Froese, R. et. al, 2024).

7.2. Příprava filtračního zařízení

Byla přijata četná opatření, aby se zabránilo jakékoli kontaminaci vzorků při pitvě, rozkladu, extrakci a pozorování částic. Všechny roztoky potřebné pro oplachování a pro rozklad (70% ethanol, NaOH, 3% H₂O₂) byly předem filtrovány, aby nedošlo ke kontaminaci vzorků mikročásticemi potenciálně přítomnými ve vzduchu nebo roztocích. Vakuová filtrace byla provedena na filtrech s vysokou porézností, ze skleněných vláken typu GF/A (90 mm, pórovitost 1,6 μm. Přefiltrovaný roztok byl přelit do skleněné kádinky, na kterou byla umístěna parafólie mezi zátkou a hrdlem, aby bylo vstupní místo nepropustné pro plasty.

Veškerý materiál byl vyčištěn (skleněné nádoby a kovy) nejprve zředěným surfaktantem Decon o koncentraci 2 %, vodou z vodovodu a poté opláchnut vodou MilliQ. Filtry používané k filtrování digestátu byly očištěny od všech částic nebo vláken přítomných na jejich povrchu pod binokulární lupou a poté žíhány 5 h při teplotě 500 °C. Následně byly uloženy ve skleněných Petriho miskách, aby byla zajištěna jejich čistota. Filtry byly vyjmuty z Petriho misky pouze před jejich použitím.

Borosilikátové scintilační lahvičky byly naplněny 3% H₂O₂ a nechány 15 min. působit, poté opláchnuty a naplněny MiliQ vodou. Skleněné lahvičky byly naskládány do ultrazvukové lázně (45 kW) po dobu 10 min. Celkově proběhly tři cykly sonikace.

Veškeré nádoby bylo od okamžiku, kdy opustilo prostor pro čištění, zakryto hliníkovou fólií. Práce probíhala v průtokové digestoři předem vyčištěné ethanolem. Pokud byla použita pinzeta či skalpel byli mezi použitím položeny na předem vyčištěnou Petriho misku.

7.3. Měření a odběr trávicího traktu

V první řadě byla navážena hmotnost daného jedince. Následně byla ryba otevřena a trávicí trakt (žaludek a střeva) byl vyjmut od řitního otvoru až po jícn. Extrahovaný trávicí trakt byl opláchnut MilliQ vodou, aby se odstranily případné MP ulpělé na povrchu tkání. Poté následovalo měření ryb, přičemž byla zaznamenávána maximální standardní délka, délka horní a dolní čelisti, a průměr rybích ok pomocí posuvného měřítka, pro případně další následnou analýzu. Poté co byl extrahován jejich trávicí trakt, byla změřena jeho hmotnost a samostatně byla zvážena i samotná ryba bez trávicího traktu.

Extrahovaný trávicí trakt byl vložen do označené borosilikátové scintilační lahvičky. Poté byl podroben chemickému rozkladu pomocí hydroxidu sodného (NaOH 1 mol L⁻¹), aby se rozložily bílkoviny, což usnadnilo identifikaci MP. Použití NaOH je ekonomicky nenáročná metoda a neohrožuje integritu plastu při zkoumání polymerů (Budimir et al., 2018).

Borosilikátové lahvičky byly inkubovány v peci při 60 °C po dobu 24 hodin. Během inkubace byl vzorek dvakrát promíchán skleněnou tyčinkou, aby roztok homogenizoval. Po 24 hodinách byly lahvičky vyndány z trouby.

7.4. Filtrace

Vakuová pumpa byla umístěna pod průtokovou digestoř. Na filtry se pinzetou položily 47 mm skleněno vláknité filtrační papíry (GF/F 0.7 µm Whatman). Obsah scintilační lahvičky byl nalit na GF/F filtr a třikrát propláchnut vodou MilliQ, aby se zachytily všechny částice. Okraje nálevky byly rovněž opláchnuty vodou MilliQ.

Po přefiltrování roztoku byly filtry prohlédnuty pod binokulární lupou. Částice a vlákna byly následně odebrány ultra jemnými kleštěmi (průměr hrotu: 25 µm) a poté umístěny na PTFE filtrační papír. Filtry byly poté jednotlivě uloženy na mikroskopické sklo v uzavřené Petriho misce, předem označené.

Připravilo se opět filtrační zařízení v boxu s lminárním prouděním. Následně se vzorky obarvily Nilskou červení (NČ). Nilská červeň byla umístěna na filtr 1 stlačením Pasteurovy pipety

a nalita do kruhu od okrajů směrem dovnitř membrány. Nechala se barvit po dobu 15 minut. Po 15 minutách bylo čerpadlo zapnuto, aby se přebytek nilské červeně odstranil přidanou vodou MilliQ (minimálně 50ml).

Nakonec byla Petriho miska s membránou uložena při pokojové teplotě ve tmě. Doporučuje se analyzovat vzorky obarvené nilskou červení během jednoho nebo dvou týdnů, aby se zachovala intenzita fluorescence částic (Bavo De Witte et al., 2024). Pro identifikaci polymerů přítomných v prostředí prošly vzorky několikastupňovým procesem. Pro identifikaci polymerů jsme použili kombinaci několika metod.

7.5. Kontroly

Během celého procesu byly vytvořeny dva typy kontrol. Tzv. slepé vzorky, které zaručují kontrolu případné kontaminace z okolí. Slepé vzorky biologického materiálu a enviromentální/atmosférické slepé vzorky.

7.5.1. Slepé vzorky biologického materiálu

První typ kontroly proběhl během extrakce trávicího traktu. Scintilační lahvička byla naplněna roztokem hydroxidu sodného bez přidaného trávicího traktu a uzavřena víčkem. Následně byla umístěna do laboratorní trouby při teplotě 60 °C po dobu 24 hodin, aby se zvýšila rychlost reakce. Během inkubace byly vzorky dvakrát promíchány skleněnou tyčinkou pro homogenizaci roztoku. Chemický roztok byl poté filtrován přes čisté filtrační papíry ze skleněných vláken za použití laboratorního vakuového zařízení v boxu s laminárním prouděním. Počáteční scintilační lahvička byla propláchnuta vodou MQ vodou pro optimalizaci výtěžnosti MP. Filtrační papíry ze skleněných vláken byly následně umístěny do hliníkové fólie a následně umístěn do trouby při teplotě 60 °C po dobu 24 hodin. Obsah lahvičky by přefiltrován přes filtr ze skleněných vláken GF/A (1,6 μm) a umístěn do Petriho misky.

7.5.2. Atmosférické slepé vzorky

Byla systematicky zavedena také kontrola manipulace (atmosférické slepé pokusy). Jedná se o kontrolu, která určuje kontaminaci částicemi suspendovanými v okolním vzduchu. Kádinka byla ponechána po celou dobu práce na vzduchu na volném prostranství. Následně třikrát vypláchnuta vodou MilliQ a poté naplněna vodou MilliQ. Tento slepý vzorek byl přefiltrován přes filtr ze skleněných vláken GF/A (1,6 μm). Oba typy kontrol byly analyzovány stejným postupem jako ostatní filtry.

7.6. Analýza plastů

Pro analýzu jednotlivých plastových částic byly využity tři metody detekce MP. Fluorescenční mikroskopie, μ -FTIR a ATR-FTIR.

7.6.1. Identifikace a kvantifikace částic pod fluorescenčním mikroskopem

Pro identifikaci částic plastů, přítomných ve vzorcích, byly filtry pozorovány pod fluorescenčním mikroskopem s použitím softwaru LAS Core. Na mikroskopu jsou k dispozici tři barvy světla, které slouží k identifikaci modelu MP: UV (450-490 nm), modré (340-380 nm) a zelené (515-560 nm), (Tabulka č.3.).

Každá částice údajně identifikovaná jako plast byla vyfotografována pod všemi intervaly vlnových délek. Při barvení niiskou červení částice plastů fluoreskují, avšak některé částice organického původu jako je například celulóza, taktéž fluoreskují pod UV zářením a některé částice plastů pod některými filtry nefluoreskují vůbec. Částice, které se zdály být zajímavé pro identifikaci, byly zakroužkovány tužkou a označeny, aby je bylo možné zpětně najít pomocí přístroje Microscope Perkin Elmer.

Polymer	MODRÝ filtr (BP 450-490)	UV filtr (BP 340-380)	ZELENÝ filter (BP 515-560)
Polystyren			
Nylon			
PVC			
Nylon			
Polyester			

Tabulka. č.3. Fotky detekovaných plastových polymerů pod odlišnými světelnými filtry.

Plavba	Čeď	Rod	Počet detekovaných MP částic pomocí fluorescenčního mikroskopu	Analyzované částice pomocí μ -FTIR	Analyzované částice pomocí ATR-FTIR
La Pérouse	Gonostomatidae	<i>Gonostoma elongatum</i>	12	9	1
Mad - Ridge	Sternoptychidae	<i>Argyropelecus hemigymnus</i>	11	10	0
IOTA	Chauliodontidae	<i>Chauliodus sloani</i>	19	10	0

Tabulka. č.4. Schéma detekce a analýzy MP částic pomocí fluorescenčního mikroskopu, μ -FTIR a ATR-FTIR. Analýza pomocí ATR-FTIR byla možná pouze u jedné mikročástice vzhledem k velikosti těchto částic.

7.6.2. Identifikace polymerů pomocí μ -FTIR

Pro identifikaci polymerů pomocí μ -FTIR byly filtry vyjmuty z mikroskopického skla a pinzetou umístěny na μ -FTIR desku. Protože filtry mají tendenci se po vyjmutí ze skla prohýbat, byla k jejich rovnému přidržení použita deska z plexiskla nebo černý plastový kroužek. Pro identifikaci částic byla nastavena akumulace 32 skenů s aperturou 100x100 μ m. V závislosti na velikosti částic však bylo možné aperturu zkrátit a počet akumulací zvýšit z 32 na 64. Před samotnou analýzou částic bylo při každé změně apertur změřeno pozadí.

7.6.3. Spektroskopie ATR-FTIR

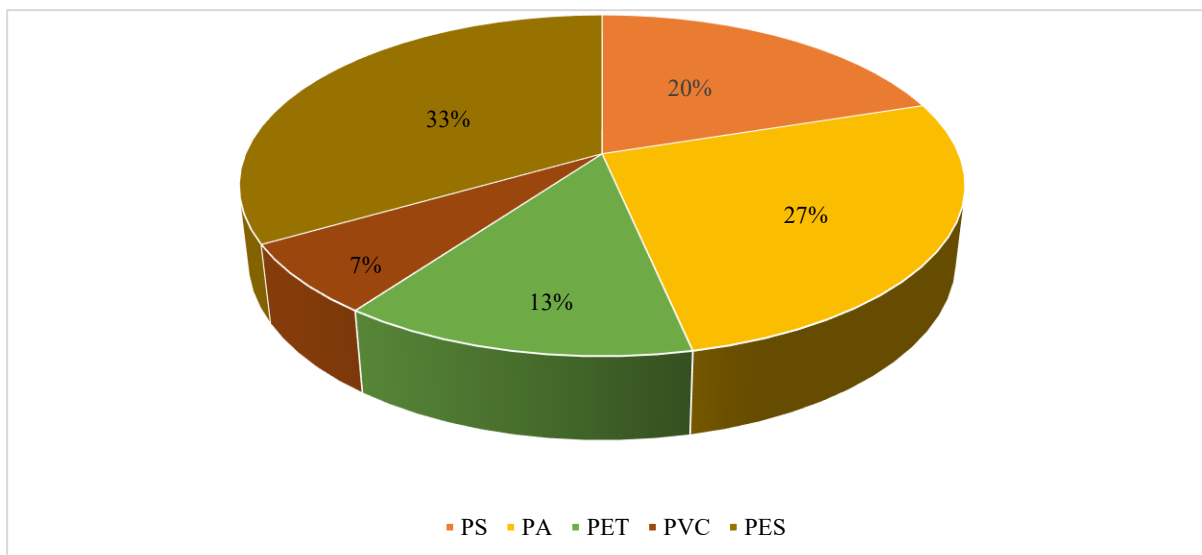
K identifikaci polymerů částic větších jak 1 mm byla použita spektroskopie ATR-FTIR. Částice byly analyzovány pomocí FTIR spektrometru Perkin Elmer Frontier a spektra byla vizualizována pomocí softwaru Spectrum IR (v. 10.7.2.1630). Rozsah spekter byl 4000-380 cm^{-1} a rozlišení 4,0 cm^{-1} s 8 nebo 25 skeny pro každé měření. Identifikace polymerů byla provedena porovnáním naměřených spekter s referenčními spektry získanými z řady referenčních databází dodaných se softwarem. Přijaty byly pouze vzorky vykazující více než 70% spektrální podobnost (Tab I-1.).

8. Výsledky

8.1. Výsledky detekce mikroplastových částic

MP částice byly nalezeny u všech tří plaveb ve všech třech zkoumaných čeledích. Během analýzy byly u každého ze tří vzorků analyzovány náhodné částice. Tyto částice byly předem identifikovány jako možné potenciální plastové částice a byly označeny při mikroskopování pomocí fluorescenčního mikroskopu. Díky náhodnému procesu selekce bylo zajištěno, že částice z plastu nebyly upřednostněny (Tabulka I-2). Byla sledována tloušťka vláken po celé jejich délce, zda nejsou viditelné žádné buněčné nebo organické struktury a konzistence barvy. Je také zřejmé, že každý polymer fluoreskuje jinak či odlišně pod jiným typem filtru. Například polyester je známý tím, že svítí zářivě zeleně pod modrým světlem, zatímco pod UV filtrem nezáří vůbec (Tabulka č.3.).

Z plavby La Pérouse byl analyzován jedinec *G.elongatum* z čeledě Gonostomatidae. (12 potenciálních MP). Bylo vybráno náhodně 10 potenciálních MP částic. Z těchto částic byla vybrána a analyzována jedna částice pod ATR-FTIR spektrometrem, tato jediná částice byla větší jak 1 mm (Tabulka I-2.). Částice byla identifikována jako PS, dále byly identifikovány částice materiálů v následujících počtech: 1 PA, 1 PET, 1 PS a 1 PES. Z plavby Mad-Ridge byl studován jedinec rodu *A.hemigymnus* z čeledě Sternoptychidae (11 potenciálních MP), (Tabulka č.4.). Pomocí μ -FTIR byly u *A.hemigymnus* identifikovány 4 polymery: 1 PS, 1 PA, a 2 PES (Tabulka č.4). Z plavby IOTA, která je nejbližší k urbanizované oblasti byl studován jedinec *Ch. sloani* z čeledě Chauliodonthidae (19 potenciálních MP), (Tabulka č.4). Analyzováno bylo 10 částic pomocí μ -FTIR a všech 7 mikročástic byly identifikovány jako plastové. Byly identifikovány částice materiálů v následujících počtech: 1 PS, 1 PET, 2 PA, 1 PVC a 2 PES (Graf. č.1.).



Graf č.1. Procentuální zastoupení polymerů mikroplastů (PS, PA, PET, PVC, PES) analyzovaných pomocí μ -FTIR a ATR-FTIR u *Gonostoma elongatum*, *Argyropelecus hemigymnus* a *Chauliodus sloani*.

8.2. Výsledky kontrol

V žádném z kontrolních vzorků nebyly nalezeny žádné potenciální mikroplastové částice. Detekce částic pro kvantifikaci byla provedena za použití fluorescenčního obarvení a následného použití μ -FTIR. Z toho lze usoudit, že veškeré použité laboratorní nádobí, prostředky a materiály nebyly v průběhu experimentu kontaminovány. Prostředí, ve kterém se pracovalo bylo důkladně vyčištěno. Důležité je zdůraznit, že se po celou dobu experimentu pracovalo v boxu s laminárním prouděním.

9. Diskuze

Studium kontaminace hlubinných ryb MP je relativně nové téma, proto je třeba vzhledem k neustálené metodice při analýze organických tkáňových digestátů postupovat velmi opatrně. Co se týče metodiky pro rozklad trávicích traktů mořských ryb, s jistotou lze říci, že roztok NaOH je účinný pro rozklad biologických tkání (Ferreira et al., 2023), stejně jako následně zavedená metodika podle (Bavo De Witte et al., 2024) při detekci a analýze částic. Důraz byl kladen na udržování čistoty prostředí a materiálů. Výsledkem jsou kontroly s úspěšností dosahující 100 %. Ve slepých vzorcích nebyla detekována žádná kontaminace plastovými částicemi.

Tato bakalářská práce jako první studie vůbec dokazuje, že se MP nachází v hlubinných rybách západní části Indického oceánu. Tyto mezopelagické ryby patří k nejhojnějším obratlovcům v mořské biosféře (Irigoiien et al., 2014) a hrají zásadní roli v recyklaci živin. Působí tak jako klíčové složky ekosystému. Vzhledem k svému vysokému počtu jsou tyto organismy potenciálními zdroji pro lidskou konzumaci a jednou z cest do trofického řetězce až k člověku (Catul et al., 2011).

V naší studii jsme se zaměřili na analýzu MP částic přítomných u vybraných druhů hlubinných mezopelagických ryb ze tří odlišných čeledí. Výsledky naší analýzy dokazují výskyt MP u všech tří čeledí ze tří odlišných oblastí západní části Indického oceánu: Gonostomatidae, Sternoptychidae a Chauliodontidae. To poukazuje na rozšíření tohoto problému v oceánských ekosystémech Indického oceánu. Zjištění, že plastové mikročástice byly nalezeny u ryb z různých čeledí, naznačuje širokou distribuci MP v hlubinách oceánu. Tento faktor poukazuje na potenciální dopad MP na různé druhy mořských živočichů a na mořské ekosystémy jako celek (Guzzetti et. al., 2018).

Analýza jednotlivých druhů ryb odhalila přítomnost různých typů MP. Identifikované syntetické polymery v trávicích traktech zkoumaných ryb byly: polystyren (PS), polyamid (PA), polyethyltereftalát (PET), polyvinylchlorid (PVC) a polyester (PES). To naznačuje různorodost zdrojů plastových mikročástic v mořském prostředí. Tento faktor je důležitý z hlediska identifikace zdrojů znečištění a umožňuje nám lépe porozumět původu MP v oceánech. Z výsledků analýzy vyplývá, že nejběžnějším nalezeným polymerem byl polyester, který má rozsah hustoty mezi 1,24 a 2,3 g/cm³ (Wu et al., 2019). Rozdílnost zjištěných polymerů v různých částech vodního sloupce lze částečně vysvětlit jejich vlastnostmi. Díky své hustotě má PES tendenci spolu s PET klesat k mořskému dnu. Polyethylen (PE), polypropylen

(PP) a polystyren (PS) se díky své hustotě vznášejí na mořské hladině (Davison & Asch, 2011). To může vysvětlit nepřítomnost polypropylenu a polyethylenu v trávicích traktech zkoumaných jedinců. Zatímco přítomnost PE a PS v hlubokomořských rybách dokázal už i Pireira et al., 2020, nadměrný výskyt polyesteru zas tak obvyklý není. To je s největší pravděpodobností způsobeno biofoulingem a následným vertikálním transportem. Biofouling se může začít projevovat již během několika hodin po vstupu plastů do mořského prostředí, a to nakonec působí na změnu hustoty částic a způsobí jejich potopení. To spolu s mechanismy vertikálního transportu MP umožňuje, aby se vztlakové polymery nacházely i v hlubokých vodách nebo organismech (Davison & Asch, 2011).

Významným zjištěním je také detekce nejvyšší kontaminace MP u ryby *Ch.sloani* z oblasti nejbližší urbanizovaným územím. Větší množství nalezených plastových částic v trávicím traktu naznačuje, že lidská aktivita ovlivňuje významně kvantitu MP v hlubokomořských organismech. Naše výsledky se však liší od jiných studií z jiných geografických oblastí, které uvádějí nižší míru kontaminace částic u jedinců žijících v hloubkách větších jak 800 m (Justino et al., 2022). V našem experimentu je *Ch.sloani* zástupce, který se může vyskytovat v hloubkách až 4700 m. Tento jev lze vysvětlit hloubkou, ve které byl jedinec vyloven a jeho migračním vzorcům, které zahrnují pohyb v rozmanitých hloubkách. Dalším vysvětlením může být zvyšující se plastové znečištění zasahující do dříve nedotčených vrstev.

Při detekci mikročástic pomocí fluorescenčního mikroskopu jsme určili 41 částic jako plastové. Z těchto bylo analyzováno 30 částic, které byly vybrány metodou náhodné selekce. Z této vzorkové skupiny bylo 15 částic identifikováno jako plastového původu a dalších 15 jako neplastové částice. Zjištěná 50% úspěšnost analýzy plastu náhodné selekce u 30 částic naznačuje, že všech zbylých 11 potenciálních plastových částic pravděpodobně nepatří mezi plastové materiály. Nadhodnocení výsledku přikládáme vysokému počtu organických zbytků, především zbytkům schránek korýšů, které jsou v potravním řetězci hlubokomořských ryb (Ferreira et al., 2023) a které fluoreskují s NČ pod fluorescenčním mikroskopem. Nicméně je nutno podotknout, že posudek analýzy pod fluorescenčním mikroskopem vycházel ze subjektivního pozorování. Tato skutečnost zdůrazňuje, že kombinace metod k identifikaci polymerů například pomocí μ -FTIR je nadmíru důležitá pro přesnější rozpoznání plastových částic a minimalizaci chybných identifikací. Mnoho organických neplastových částic také fluoreskuje pod fluorescenčním mikroskopem, což může vést k nadhodnocení výsledků (Shim et al., 2017).

Postupy pro analýzu MP částic se neustále zdokonalují, technologický pokrok směřuje k vyšší přesnosti a schopnosti detekce. Zatím se zaměřujeme, co se týče velikosti, na částice, které jsou v rozsahu naší detekční schopnosti. Pokud bychom expandovali do submikronových rozměrů, množství detekovaných částic by bylo mnohem vyšší. Metody jako μ -FTIR, ATR-FTIR a fluorescenční mikroskopie slouží k detekci částic s omezenými velikostními limity.

V poslední řadě je podstatné zmínit, že tato bakalářská práce pracuje pouze se třemi jedinci hlubokomořských ryb. Výsledky naší studie poskytují omezené podklady pro objektivně platné závěry týkající se výskytu plastů v celé oblasti západní části Indického oceánu. To otevírá možnosti pro navazující studie. Pokračující výzkum považujeme za hlavní cestu k exaktním výsledkům, které poskytnou jasné argumenty a podklady pro konkrétní kroky k účinné a dlouhodobé ochraně oceánů a jejich ekosystémů.

10. Závěr

V průběhu práce bylo prokázáno, že MP nejsou pouze abstraktním pojmem a mediálním hitem, ale skutečně pronikají nezadržitelně do různých částí naší planety, včetně hlubokomořských ekosystémů a potravních řetězců.

První hypotéza vytyčená v této práci týkající se přítomnosti plastových mikročástic v trávicím traktu hlubokomořských ryb ze západní části Indického oceánu byla potvrzena. Tato práce jako první studie jasně dokazuje výskyt MP v trávicím traktu hlubokomořských ryb v této oblasti. Druhá hypotéza týkající se nálezu různých množství a specifických typů plastových polymerů v trávicím traktu hlubokomořských ryb ze západní části Indického oceánu byla naopak vyvrácena. Byly nalezeny různé typy polymerů nezávisle na jejich specifických vlastnostech jako je například hustota.

Skutečnost, že byla zjištěna přítomnost MP i v hlubokomořských rybách, ukazuje na naléhavost situace týkající se kontaminace mořského prostředí. Množství MP v životním prostředí se nejenom nesnižuje, ale i z rešeršní části logicky vyplývá, že se naopak zvyšuje spolu se spotřebou a tento trend bude nadále přetrvávat. Dosavadní pokusy s omezením využívání plastů a jejich recyklováním jsou chvályhodné, ale vzhledem k omezenému rozsahu svých dopadů zůstávají spíše symbolické a problém zásadně neřeší. Ve světle této studie a jí podobných lze konstatovat, že dosavadní aktivity v této oblasti jsou nedostatečné pro to, aby se trendy znečištění MP významně zvrátily.

Závěrem je tedy třeba říci, že je nutné přijmout další opatření pro omezování produkce, používání a nakládání s plastovými materiály, a to v souladu s principem udržitelného rozvoje a ochrany životního prostředí. Pouze tak lze zajistit zachování čistoty a integrity naší planety pro budoucí generace.

Reference:

- Abidli, S., Antunes, J. C., Ferreira, J. L., Lahbib, Y., Sobral, P., & Trigui El Menif, N. (2018). Microplastics in sediments from the littoral zone of the north Tunisian coast (Mediterranean Sea). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 205, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2018.03.006>
- Allen, D., Allen, S., Abbasi, S., Baker, A., Bergmann, M., Brahney, J., Butler, T., Duce, R. A., Eckhardt, S., Evangeliou, N., Jickells, T., Kanakidou, M., Kershaw, P., Laj, P., Levermore, J., Li, D., Liss, P., Liu, K., Mahowald, N., ... Wright, S. (2022). Microplastics and nanoplastics in the marine-atmosphere environment. *Nature Reviews Earth & Environment*, 3(6), 393–405. <https://doi.org/10.1038/s43017-022-00292-x>
- Alvarez-Ordóñez, A., Mouwen, D. J. M., López, M., & Prieto, M. (2011). Fourier transform infrared spectroscopy as a tool to characterize molecular composition and stress response in foodborne pathogenic bacteria. *Journal of Microbiological Methods*, 84(3), 369–378. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2011.01.009>
- Anderson, P. J., Warrack, S., Langen, V., Challis, J. K., Hanson, M. L., & Rennie, M. D. (2017). Microplastic contamination in Lake Winnipeg, Canada. *Environmental Pollution*, 225, 223–231. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.02.072>
- Andrady, A. L. (2011). Microplastics in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, 62(8), 1596–1605. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.05.030>
- 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>
- Annasawmy, P., Ternon, J. F., Marsac, F., Cherel, Y., Béhagle, N., Roudaut, G., Lebourges-Dhaussy, A., Demarcq, H., Moloney, C. L., Jaquemet, S., & Ménard, F. (2018). Micronekton diel migration, community composition and trophic position within two biogeochemical provinces of the South West Indian Ocean: Insight from acoustics and stable isotopes. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 138, 85–97. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2018.07.002>
- Annasawmy, P., Ternon, J.-F., Lebourges-Dhaussy, A., Roudaut, G., Cotel, P., Herbette, S., Ménard, F., & Marsac, F. (2020). Micronekton distribution as influenced by mesoscale eddies, Madagascar shelf and shallow seamounts in the south-western Indian Ocean: An acoustic approach. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 176, 104812. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2020.104812>
- Ariza, A., Garijo, J. C., Landeira, J. M., Bordes, F., & Hernández-León, S. (2015). Migrant biomass and respiratory carbon flux by zooplankton and micronekton in the subtropical northeast Atlantic Ocean (Canary Islands). *Progress in Oceanography*, 134, 330–342. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2015.03.003>
- Arthur C., Baker J., Bamford H., eds. 2009. Proceedings of the International Research Workshop on the Occurrence, Effects, and Fate of Microplastic Marine Debris. September 9- 11, 2008. NOAA Technical Memorandum NOS-OR&R-30 : 530
- Barnes, D. K. A., Galgani, F., Thompson, R. C., & Barlaz, M. (2009). Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1526), 1985–1998. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0205>
- Bavo De Witte, Orla-Peach Power, Fitzgerald, E., Kopke, K., Booth, A. M., Bouwens, J., Brandt, J., Buhhalko, N., Catarino, A. I., Everaert, G., Foscari, A., Hasselov, M., Herzke, D., Kikas, V., Lind,

K., Lips, U., Mattsson, K., Meyers, N., Mowafi, R., Sempere, R. (2024). ANDROMEDA Portfolio of Microplastics Analyses Protocols. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.21010.06088>

Bianchi, D., Stock, C., Galbraith, E. D., & Sarmiento, J. L. (2013). Diel vertical migration: Ecological controls and impacts on the biological pump in a one-dimensional ocean model. *Global Biogeochemical Cycles*, 27(2), 478–491. <https://doi.org/10.1002/gbc.20031>

Boerger, C.M., G.L. Lattin, S.L. Moore & C.J. Moore 2010. Plastic ingestion by planktivorous fishes in the North Pacific Central Gyre. *Mar. Pollut. Bull.*, 60: 2275-2278.

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. *Environmental Science & Technology*, 45(21), 9175–9179. <https://doi.org/10.1021/es201811s>

Budimir, S., Setälä, O., & Lehtiniemi, M. (2018). Effective and easy to use extraction method shows low numbers of microplastics in offshore planktivorous fish from the northern Baltic Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 127, 586–592. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.12.054>

Catul, V., Gauns, M., & Karuppasamy, P. K. (2011). A review on mesopelagic fishes belonging to family Myctophidae. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 21(3), 339–354. <https://doi.org/10.1007/s11160-010-9176-4>

Cavan, E. L., Laurenceau-Cornec, E. C., Bressac, M., & Boyd, P. W. (2019). Exploring the ecology of the mesopelagic biological pump. *Progress in Oceanography*, 176, 102125. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2019.102125>

Cole, M., Lindeque, P., Halsband, C., & Galloway, T. S. (2011). Microplastics as contaminants in the marine environment: A review. *Marine Pollution Bulletin*, 62(12), 2588–2597. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.09.025>

Davison, & P., Asch, R. (2011). Plastic ingestion by mesopelagic fishes in the North Pacific Subtropical Gyre. *Marine Ecology Progress Series*, 432, 173–180. <https://doi.org/10.3354/meps09142>

De Witte, B., Devriese, L., Bekaert, K., Hoffman, S., Vandermeersch, G., Cooreman, K., & Robbens, J. (2014). Quality assessment of the blue mussel (*Mytilus edulis*): Comparison between commercial and wild types. *Marine Pollution Bulletin*, 85(1), 146–155. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.06.006>

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), 592. <https://doi.org/10.1071/EN14167>

Duis, K., & Coors, A. (2016). Microplastics in the aquatic and terrestrial environment: Sources (with a specific focus on personal care products), fate and effects. *Environmental Sciences Europe*, 28(1), 2. <https://doi.org/10.1186/s12302-015-0069-y>

Eduardo, L. N., Bertrand, A., Mincarone, M. M., Santos, L. V., Frédou, T., Assunção, R. V., Silva, A., Ménard, F., Schwamborn, R., Le Loc'h, F., & Lucena-Frédou, F. (2020). Hatchetfishes (Stomiiformes: Sternoptychidae) biodiversity, trophic ecology, vertical niche partitioning and functional roles in the western Tropical Atlantic. *Progress in Oceanography*, 187, 102389. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2020.102389>

Eriksen, M., Lebreton, L. C. M., Carson, H. S., Thiel, M., Moore, C. J., Borerro, J. C., Galgani, F., Ryan, P. G., & Reisser, J. (2014). Plastic Pollution in the World's Oceans: More than 5 Trillion Plastic

Pieces Weighing over 250,000 Tons Afloat at Sea. *PLoS ONE*, 9(12), e111913. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111913>

Esposito, G., Prearo, M., Renzi, M., Anselmi, S., Cesarani, A., Barcelò, D., Dondo, A., & Pastorino, P. (2022). Occurrence of microplastics in the gastrointestinal tract of benthic by-catches from an eastern Mediterranean deep-sea environment. *Marine Pollution Bulletin*, 174, 113231. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.113231>

Fendall, L. S., 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>

Ferreira, G. V. B., Justino, A. K. S., Eduardo, L. N., Schmidt, N., Martins, J. R., Ménard, F., Fauvelle, V., Mincarone, M. M., & Lucena-Frédou, F. (2023). Influencing factors for microplastic intake in abundant deep-sea lanternfishes (Myctophidae). *Science of The Total Environment*, 867, 161478. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.161478>

Francis, M. (2016). LA PEROUSE cruise, Antea R/V. <https://doi.org/10.17600/16004500>

Froese, R. and D. Pauly. Editors. 2024. FishBase.

Gall, S. C., & Thompson, R. C. (2015). The impact of debris on marine life. *Marine Pollution Bulletin*, 92(1–2), 170–179. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.12.041>

Gong, J., & Xie, P. (2020). Research progress in sources, analytical methods, eco-environmental effects, and control measures of microplastics. *Chemosphere*, 254, 126790. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126790>

Gillibert, R., Balakrishnan, G., Deshoules, Q., Tardivel, M., Magazzù, A., Donato, M. G., Maragò, O. M., Lamy De La Chapelle, M., Colas, F., Lagarde, F., & Gucciardi, P. G. (2019). Raman Tweezers for Small Microplastics and Nanoplastics Identification in Seawater. *Environmental Science & Technology*, 53(15), 9003–9013. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b03105>

Greenspan, P., Mayer, E. P., & Fowler, S. D. (1985). Nile red: A selective fluorescent stain for intracellular lipid droplets. *The Journal of Cell Biology*, 100(3), 965–973. <https://doi.org/10.1083/jcb.100.3.965>

Gregory, M. R. (1978). Accumulation and distribution of virgin plastic granules on New Zealand beaches. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 12(4), 399–414. <https://doi.org/10.1080/00288330.1978.9515768>

Gregory, M. R. (1996). Plastic ‘scrubbers’ in hand cleansers: A further (and minor) source for marine pollution identified. *Marine Pollution Bulletin*, 32(12), 867–871. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(96\)00047-1](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(96)00047-1)

Guzzetti, E., Sureda, A., Tejada, S., & Faggio, C. (2018). Microplastic in marine organism: Environmental and toxicological effects. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 64, 164–171. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2018.10.009>

Güven, O., Gökdağ, K., Jovanović, B., & Kıdeyş, A. E. (2017). Microplastic litter composition of the Turkish territorial waters of the Mediterranean Sea, and its occurrence in the gastrointestinal tract of fish. *Environmental Pollution*, 223, 286–294. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.01.025>

Hammer, J., Kraak, M. H. S., & Parsons, J. R. (2012). Plastics in the Marine Environment: The Dark Side of a Modern Gift. In D. M. Whitacre (Ed.), *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* (Roč. 220, s. 1–44). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-3414-6_1

- Hidalgo, M., Browman, H. I. (2019). Developing the knowledge base needed to sustainably manage mesopelagic resources. *ICES Journal of Marine Science*, 76(3), 609–615. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsz067>
- Hong, S. H., Shim, W. J., & Hong, L. (2017). Methods of analysing chemicals associated with microplastics: A review. *Analytical Methods*, 9(9), 1361–1368. <https://doi.org/10.1039/C6AY02971J>
- Huang, Z., Hu, B., Wang, H., 2023. Analytical methods for microplastics in the environment: a review. *Environ. Chem. Lett.* 21, 383–401. Volume 21, pages 383–401
- Hwang, J., Choi, D., Han, S., Choi, J., & Hong, J. (2019). An assessment of the toxicity of polypropylene microplastics in human derived cells. *Science of The Total Environment*, 684, 657–669. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.071>
- Chen, Y., Wen, D., Pei, J., Fei, Y., Ouyang, D., Zhang, H., & Luo, Y. (2020). Identification and quantification of microplastics using Fourier-transform infrared spectroscopy: Current status and future prospects. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 18, 14–19. <https://doi.org/10.1016/j.coesh.2020.05.004>
- Cherel, Y., Romanov, E. V., Annasawmy, P., Thibault, D., & Ménard, F. (2020). Micronektonic fish species over three seamounts in the southwestern Indian Ocean. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 176, 104777. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2020.104777>
- Irigoiien, X., Klevjer, T. A., Røstad, A., Martinez, U., Boyra, G., Acuña, J. L., Bode, A., Echevarria, F., Gonzalez-Gordillo, J. I., Hernandez-Leon, S., Agusti, S., Aksnes, D. L., Duarte, C. M., & Kaartvedt, S. (2014). Large mesopelagic fishes biomass and trophic efficiency in the open ocean. *Nature Communications*, 5(1), 3271. <https://doi.org/10.1038/ncomms4271>
- Jean-François, T. (2016). MAD-RIDGE-2 cruise, Antea R/V. <https://doi.org/10.17600/16004900>
- Justino, A. K. S., Ferreira, G. V. B., Schmidt, N., Eduardo, L. N., Fauvelle, V., Lenoble, V., Sempéré, R., Panagiotopoulos, C., Mincarone, M. M., Frédou, T., & Lucena-Frédou, F. (2022). The role of mesopelagic fishes as microplastics vectors across the deep-sea layers from the Southwestern Tropical Atlantic. *Environmental Pollution*, 300, 118988. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.118988>
- Kane, I. A., Clare, M. A., Miramontes, E., Wogelius, R., Rothwell, J. J., Garreau, P., & Pohl, F. (2020). Seafloor microplastic hotspots controlled by deep-sea circulation. *Science*, 368(6495), 1140–1145. <https://doi.org/10.1126/science.aba5899>
- Kloser, R. J., Ryan, T. E., Young, J. W., & Lewis, M. E. (2009). Acoustic observations of micronekton fish on the scale of an ocean basin: Potential and challenges. *ICES Journal of Marine Science*, 66(6), 998–1006. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsp077>
- Koslow, J. (2000). Continental slope and deep-sea fisheries: Implications for a fragile ecosystem. *ICES Journal of Marine Science*, 57(3), 548–557. <https://doi.org/10.1006/jmsc.2000.0722>
- 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. In J. M. Coe & D. B. Rogers (Ed.), *Marine Debris* (s. 99–139). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4613-8486-1_10
- 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. *Nature Communications*, 8(1), 15611. <https://doi.org/10.1038/ncomms15611>
- Lebreton, L., Slat, B., Ferrari, F., Sainte-Rose, B., Aitken, J., Marthouse, R., Hajbane, S., Cunsolo, S., Schwarz, A., Levivier, A., Noble, K., Debeljak, P., Maral, H., Schoeneich-Argent, R.,

Brambini, R., & Reisser, J. (2018). Evidence that the Great Pacific Garbage Patch is rapidly accumulating plastic. *Scientific Reports*, 8(1), 4666. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-22939-w>

Levin, L., Baker, M., Thomson, A., 2019. Deep-ocean climate change impacts on habitat, fish and fisheries. FAO, Rome, Italy.

Lewis, E. N., Schoppelrei, J., Lee, E., Kidder, L. H., & Bakeev, K. A. (2005). Process analytical technology.

Lima, A. R. A., Ferreira, G. V. B., Barrows, A. P. W., Christiansen, K. S., Treinish, G., & Toshack, M. C. (2021). Global patterns for the spatial distribution of floating microfibers: Arctic Ocean as a potential accumulation zone. *Journal of Hazardous Materials*, 403, 123796. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123796>

Lv, L., Qu, J., Yu, Z., Chen, D., Zhou, C., Hong, P., Sun, S., & Li, C. (2019). A simple method for detecting and quantifying microplastics utilizing fluorescent dyes—Safranin T, fluorescein isophosphate, Nile red based on thermal expansion and contraction property. *Environmental Pollution*, 255, 113283. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113283>

Maes, T., Jessop, R., Wellner, N., Haupt, K., & Mayes, A. G. (2017). A rapid-screening approach to detect and quantify microplastics based on fluorescent tagging with Nile Red. *Scientific Reports*, 7(1), 44501. <https://doi.org/10.1038/srep44501>

Moore, J. A. (1999). Deep-sea Finfish Fisheries: Lessons from History. *Fisheries*, 24(7), 16–21. [https://doi.org/10.1577/1548-8446\(1999\)024<0016:DFFLFH>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8446(1999)024<0016:DFFLFH>2.0.CO;2)

Napper, I. E., Bakir, A., Rowland, S. J., & Thompson, R. C. (2015). Characterisation, quantity and sorptive properties of microplastics extracted from cosmetics. *Marine Pollution Bulletin*, 99(1–2), 178–185. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.07.029>

Nelson, J.S., Grande, T.C., Wilson, M.V.H., 2016. *Fish of the world*, 5th ed, Wiley. Wiley, New Jersey.

Olivar, M.P., A. Bernal, B. Moli, M. Pena, R. Balbin, A. Castellon, J. Miquel & E. Massuri. 2012. Vertical distribution, diversity and assemblages of mesopelagic fishes in the western Mediterranean. *Deep Sea Research Part I*, 62: 53-69.

Pereira, J. M., Rodríguez, Y., Blasco-Monleon, S., Porter, A., Lewis, C., & Pham, C. K. (2020). Microplastic in the stomachs of open-ocean and deep-sea fishes of the North-East Atlantic. *Environmental Pollution*, 265, 115060. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115060>

PlasticsEurope, 2016. *Plastics – the Facts 2016*

PlasticsEurope, 2023. *Plastics - the Facts 2023*

PlasticsEurope, 2024, *The Circular Economy for Plastics, A European Analysis*

Pramanik, D. D., Kay, P., & Goycoolea, F. M. (2024). A rapid and portable fluorescence spectroscopy staining method for the detection of plastic microfibers in water. *Science of The Total Environment*, 908, 168144. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.168144>

Priede, I. G. (2017). *Deep-Sea Fishes: Biology, Diversity, Ecology and Fisheries* (1. vyd.). Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/9781316018330>

Prokopová Irena: *Makromolekulární chemie*, Praha VŠCHT, 2007 ISBN 978-80-7080-662-3 (str.53)

Ramirez-Llodra, E. (2020). Deep-Sea Ecosystems: Biodiversity and Anthropogenic Impacts. In C. Banet (Ed.), *The Law of the Seabed* (s. 36–60). Brill | Nijhoff. https://doi.org/10.1163/9789004391567_004

Reisser, J., Slat, B., Noble, K., Du Plessis, K., Epp, M., Proietti, M., De Sonnevile, J., Becker, T., & Pattiaratchi, C. (2015). The vertical distribution of buoyant plastics at sea: An observational study in the North Atlantic Gyre. *Biogeosciences*, 12(4), 1249–1256. <https://doi.org/10.5194/bg-12-1249-2015>

Rogers, A. D., Alvheim, O., Bemanaja, E., Benivary, D., Boersch-Supan, P., Bornman, T. G., Cedras, R., Du Plessis, N., Gotheil, S., Høines, A., Kemp, K., Kristiansen, J., Letessier, T., Mangar, V., Mazungula, N., Mørk, T., Pinet, P., Pollard, R., Read, J., & Sonnekus, T. (2017). Pelagic communities of the South West Indian Ocean seamounts: R/V Dr Fridtjof Nansen Cruise 2009-410. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 136, 5–35. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2016.12.010>

Rocha-Santos, T., Costa, M. F., & Mouneyrac, C. (Ed.). (2022). *Handbook of microplastics in the environment*. Springer.

Romeo T., Cristina Pedal , Maria Cristina Fossi , Franco Andaloro and Pietro Battaglia. (2016) First record of plastic debris in the stomach of Mediterranean lanternfishes. ISSN: 0001-5113 AADRAY, ACTAADRIAT., 57(1): 115 - 124,

Sathish, M. N., Jeyasanta, I., & Patterson, J. (2020). Occurrence of microplastics in epipelagic and mesopelagic fishes from Tuticorin, Southeast coast of India. *Science of The Total Environment*, 720, 137614. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137614>

Sättler D., Andrea. Tiny plastic particles, big discussion [online]. 2018 [cit. 2020 04-20]. Dostupné z: <https://www.henkel.co.uk/spotlight/2018-10-25-why-are-microplastics-a-problem-and-what-s-the-solution-885956>

Sébastien, J. (2016). IOTA cruise, Antea R/V. <https://doi.org/10.17600/16004600>

Shim, W. J., Hong, S. H., & Eo, S. E. (2017). Identification methods in microplastic analysis: A review. *Analytical Methods*, 9(9), 1384–1391. <https://doi.org/10.1039/C6AY02558G>

Shruti, V. C., Pérez-Guevara, F., Roy, P. D., & Kutralam-Muniasamy, G. (2022). Analyzing microplastics with Nile Red: Emerging trends, challenges, and prospects. *Journal of Hazardous Materials*, 423, 127171. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127171>

Song, Y. K., Hong, S. H., Jang, M., Han, G. M., Rani, M., Lee, J., & Shim, W. J. (2015). A comparison of microscopic and spectroscopic identification methods for analysis of microplastics in environmental samples. *Marine Pollution Bulletin*, 93(1–2), 202–209. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.01.015>

Sutton, T. T. (2013). Vertical ecology of the pelagic ocean: Classical patterns and new perspectives. *Journal of Fish Biology*, 83(6), 1508–1527. <https://doi.org/10.1111/jfb.12263>

Thompson, R. C., Swan, S. H., Moore, C. J., & Vom Saal, F. S. (2009). Our plastic age. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1526), 1973–1976. <https://doi.org/10.1098/rstb.2009.0054>

UNEP, 2016. Tackling plastic pollution should begin at the source. *Microplastics*.

V. Švorčík, *Struktura a vlastnosti polymerů*, skripta, VŠCHT Praha, 2002, skripta

Van Cauwenberghe, L., Vanreusel, A., Mees, J., & Janssen, C. R. (2013). Microplastic pollution in deep-sea sediments. *Environmental Pollution*, 182, 495–499. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.08.013>

Van Sebille, E., Wilcox, C., Lebreton, L., Maximenko, N., Hardesty, B. D., Van Franeker, J. A., Eriksen, M., Siegel, D., Galgani, F., & Law, K. L. (2015). A global inventory of small floating plastic debris. *Environmental Research Letters*, 10(12), 124006. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/10/12/124006>

Vianello, A., Boldrin, A., Guerriero, P., Moschino, V., Rella, R., Sturaro, A., & Da Ros, L. (2013). Microplastic particles in sediments of Lagoon of Venice, Italy: First observations on occurrence, spatial patterns and identification. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 130, 54–61. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2013.03.022>

Woodall, L. C., Sanchez-Vidal, A., Canals, M., Paterson, G. L. J., Coppock, R., Sleight, V., Calafat, A., Rogers, A. D., Narayanaswamy, B. E., & Thompson, R. C. (2014). The deep sea is a major sink for microplastic debris. *Royal Society Open Science*, 1(4), 140317. <https://doi.org/10.1098/rsos.140317>

Wu, P., Huang, J., Zheng, Y., Yang, Y., Zhang, Y., He, F., Chen, H., Quan, G., Yan, J., Li, T., & Gao, B. (2019). Environmental occurrences, fate, and impacts of microplastics. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 184, 109612. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109612>

www.fishbase.org, (02/2024)

Yu, X., Ladewig, S., Bao, S., Toline, C. A., Whitmire, S., & Chow, A. T. (2018). Occurrence and distribution of microplastics at selected coastal sites along the southeastern United States. *Science of The Total Environment*, 613–614, 298–305. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.09.100>

Yu, X., Peng, J., Wang, J., Wang, K., & Bao, S. (2016). Occurrence of microplastics in the beach sand of the Chinese inner sea: The Bohai Sea. *Environmental Pollution*, 214, 722–730. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.04.080>

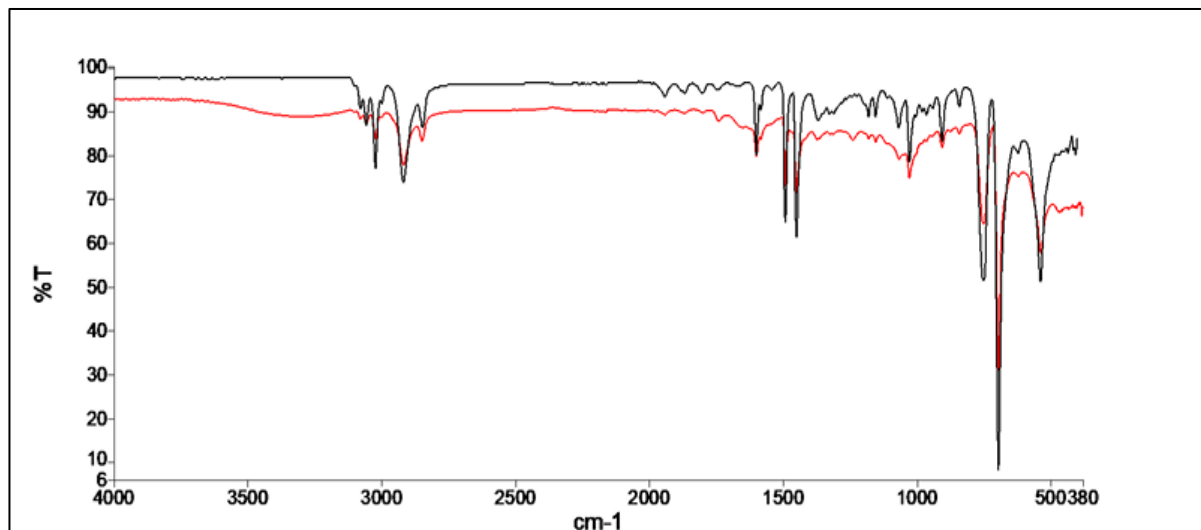
Zobkov, M. B., & Esiukova, E. E. (2018). Microplastics in a Marine Environment: Review of Methods for Sampling, Processing, and Analyzing Microplastics in Water, Bottom Sediments, and Coastal Deposits. *Oceanology*, 58(1), 137–143. <https://doi.org/10.1134/S0001437017060169>

Zhang, T., Jiang, B., Xing, Y., Ya, H., Lv, M., & Wang, X. (2022). Current status of microplastics pollution in the aquatic environment, interaction with other pollutants, and effects on aquatic organisms. *Environmental Science and Pollution Research*, 1–30. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s11356-022-18504-8>

Zhu, L., Wang, H., Chen, B., Sun, X., Qu, K., & Xia, B. (2019). Microplastic ingestion in deep-sea fish from the South China Sea. *Science of The Total Environment*, 677, 493–501. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.380>

11. Přílohy

Tabulka I-1. Spektrum analyzovaného polystyrenu z ATR-FTIR, Spektrofotometr Perkin Elmer Frontier pomocí softwaru Spectrum IR (v. 10.7.2.1630).



Tabulka I-2. Schéma analyzovaných mikroplastových částic a jejich polymery identifikované u každé z čeledí.

Rod	Celkový počet analyzovaných částic pomocí FTIR		Jednotlivé zjištěné polymery
	Negativní MP	Pozitivní MP	
<i>Gonostoma elongatum</i>	10	4	PS, PA, PET, PES
<i>Argyropelecus hemigymnus</i>	10	4	PS, PA, PES
<i>Chauliodus sloani</i>	10	7	PS, PA, PET, PP, PES,

Tabulka I-3. Schéma jednotlivých tříd a konkrétních druhů hlubomořských ryb, použitý k jejich identifikaci.

TŘÍDA	DRUH		
MYCTOPHIDAE	<i>Benthoosema fibulatum</i>	<i>Diaphus perspicillatus</i>	<i>Lampanyctus turneri</i>
	<i>Benthoosema suborbitale</i>	<i>Diaphus richardsoni</i>	<i>Lampichthys procerus</i>
	<i>Bolinichthys photothorax</i>	<i>Diaphus splendidus</i>	<i>Lobianchia dofleini</i>
	<i>Bolinichthys supralateralis</i>	<i>Diaphus suborbitalis</i>	<i>Lobianchia gemellarii</i>
	<i>Ceratoscopelus warmingii</i>	<i>Diaphus thiollieri</i>	<i>Myctophidae splendidus</i>
	<i>Diaphus bertelseni</i>	<i>Hygophum hygomii</i>	<i>Myctophum fissunovi</i>
	<i>Diaphus brachycephalus</i>	<i>Hygophum proximum</i>	<i>Myctophum nitidulum</i>
	<i>Diaphus diadematus</i>	<i>Lampadena luminosa</i>	<i>Myctophum phengodes</i>
	<i>Diaphus effulgens</i>	<i>Lampadena speculigera</i>	<i>Myctophum selenops</i>
	<i>Diaphus fragilis</i>	<i>Lampanyctus alatus</i>	<i>Nannobranchium atrum</i>
	<i>Diaphus garmani</i>	<i>Lampanyctus australis</i>	<i>Nannobranchium splendidus</i>
	<i>Diaphus knappi</i>	<i>Lampanyctus festivus</i>	<i>Notolychnus valdiviae</i>
	<i>Diaphus lucidus</i>	<i>Lampanyctus lepidolychnus</i>	<i>Notoscopelus caudispinosus</i>
	<i>Diaphus metopoclampus</i>	<i>Lampanyctus nobilis</i>	<i>Notoscopelus resplendens</i>
	<i>Diaphus mollis</i>	<i>Lampanyctus pusillus</i>	<i>Scopelopsis multipunctatus</i>
	<i>Diaphus parri</i>	<i>Lampanyctus splendidus</i>	<i>Symbolophorus evermanni</i>
		<i>Symbolophorus rufinus</i>	
MELANOSTOMIIDAE	<i>Bathophilus sp.</i>	<i>Echiostoma barbatum</i>	<i>Eustomias sp.</i>
	<i>Melanostomias niger</i>	<i>Melanostomias splendidus</i>	<i>Opostomias micripnus</i>
	<i>Melanostomiidae sp.</i>		

STOMIIDAE	<i>Argyripnus hulleyi</i>	<i>Sternoptyx diaphana</i>	<i>Valenciennellus tripunctulatus</i>
	<i>Stomias longibarbatu</i>		
STERNOPTYCHIDAE	<i>Argyrolepecus aculeatus</i>	<i>Argyrolepecus affinis</i>	<i>Argyrolepecus hemigymnus</i>
	<i>Argyrolepecus sladeni</i>	<i>Sternoptyx diaphana</i>	<i>Valenciennellus tripunctulatus</i>
GONOSTOMATIDAE	<i>Diplophos taenia</i>	<i>Gonostoma atlanticum</i>	<i>Gonostoma elongatum</i>
	<i>Diplophos rebainsi</i>	<i>Cyclothone</i>	<i>Margrethia obtusirostra</i>
PHOTICHTHYIDAE	<i>Photichthys argenteus</i>	<i>Vinciguerria nimbaria</i>	<i>Ichthyococcus ovatus</i>
PARALEPIDIDAE	<i>Lestidium atlanticum</i>	<i>Lestrolepis japonica</i>	<i>Lestidiops jayakari</i>
EVERMANELLIDAE	<i>Coccorella atrata</i>	<i>Evermanella indica</i>	<i>Evermanella balbo</i>
	<i>Odontostomops normalops</i>		
CHAULIODONTHIDAE	<i>Chauliodus sloani</i>		