

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

Studijní program: Ochrana životního prostředí



**Justýna Václavková**

Metody detekce mikroplastů v environmentálních vzorcích  
Methods for the detection of microplastics in environmental samples

Bakalářská práce

Vedoucí práce: **prof. RNDr. Tomáš Cajthaml, Ph.D.**

Praha, 2024

**Prohlášení:**

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

V Praze, 30. 07. 2024

Justýna Václavková

podpis studenta

**Poděkování:** Ráda bych poděkovala především vedoucímu mé práce prof. RNDr. Tomáši Cajthamlovi, Ph.D. za odborné vedení a laskavý přístup. Dále bych ráda poděkovala také mé rodině a přátelům za velkou podporu.

## **Abstrakt:**

Míra znečištění životního prostředí plasty neustále roste. Drobné plastové částice tzv. mikroplasty jsou všudypřítomné v životním prostředí a představují hrozbu nejen pro něj, ale i lidské zdraví. Pro monitoring a pochopení chování mikroplastů byly vyvinuty metody jejich detekce. Práce se zabývá mikroplasty včetně jejich zdrojů, transportu v životním prostředí a jejich toxicity. Popisuje nejčastěji používané metody odběru vzorků, separace mikroplastů z nich a v neposlední řadě analytické metody sloužící k jejich identifikaci a kvantifikaci. Hlavním cílem je sumarizace a kritické hodnocení možností metod detekce mikroplastů, mezi které patří zobrazovací, spektroskopické či termoanalytické metody. Všechny mají své specifické výhody a omezení, jež jsou uvedeny a diskutovány. Pro komplexní analýzu mikroplastů a pochopení jejich osudu v životním prostředí je klíčové získat informace o fyzikálních vlastnostech, chemické povaze a o počtu částic různých velikostí. S klesající velikostí částic se to stává obtížnějším, až nemožným. Proto je nezbytná technologická inovace, která by tuto problematiku řešila. Získání všech typů informací není možné jedinou metodou, a proto se zdá vhodné využívat multimetodické přístupy. Práce dále poukazuje na nedostatky studií zabývajících se stanovením mikroplastů jako například absence standardizované metodiky, používání nesjednocené klasifikace rozměrů mikro a nano plastů či využívání nedostatečného počtu reprezentativních vzorků. Práce mimo jiné finálně zdůrazňuje potřebu technologické inovace a vytvoření jednotného postupu, které by pomohly zkvalitnit přesnost a spolehlivost stanovení mikroplastů.

**Klíčová slova:** mikroplasty, metody detekce, životní prostředí, toxicita

**Abstract:**

The level of plastic pollution in the environment is steadily increasing. Tiny plastic particles called microplastics are ubiquitous in the environment and pose a threat not only to the environment but also to human health. To monitor and understand the behaviour of microplastics, methods for their detection have been developed. This thesis deals with microplastics including their sources, transport in the environment and their toxicity. It describes the most commonly used methods of sampling, separation of microplastics from them and finally the analytical methods used to identify and quantify them. The main objective is to summarise and critically evaluate the possibilities of methods for the detection of microplastics, which include imaging, spectroscopic or thermoanalytical methods. All have their specific advantages and limitations, which are presented and discussed. To comprehensively analyse microplastics and understand their fate in the environment, it is crucial to obtain information on the physical properties, chemical nature and number of particles of different sizes. This becomes more difficult, even impossible, as particle size decreases. Technological innovation is therefore needed to address this issue. Obtaining all types of information is not possible by a single method and therefore multimethod approaches seem appropriate. The paper also highlights the shortcomings of studies dealing with the determination of microplastics, such as the lack of a standardised methodology, the use of non-uniform classification of micro and nano-plastic dimensions or the use of insufficient numbers of representative samples. Among other things, the paper finally highlights the need for technological innovation and the development of a unified procedure to help improve the accuracy and reliability of microplastic determination.

**KEY WORDS:** microplastics, methods for detection, environment, toxicity

## Použité zkratky:

AFM	Atomic Force Microscopy (=mikroskopie atomových sil)
ATR	Attenuated Total Reflectance (=režimu zeslabené celkové odrazivosti)
BFR	Brominated Flame Retardants (=bromované zpomalovače hoření)
BPA	Bisfenol A
EDX	Energy Dispersive X-ray (=energeticky disperzní rentgen)
FPA	Focal Plane Array (=pole detektorů v ohniskové rovině)
(μ)FTIR	(micro) Fourier Transform Infrared Spectroscopy (= mikro infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací)
ICES	International Council for the Exploration of the Sea (=Mezinárodní rada pro výzkum moře)
IR	Infrared (=infračervený)
MALDI-TOF	Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization (=hmotnostní spektrometrie s maticovou laserovou desorpčí/ionizací)
MP	mikroplasty
NČ	nilská červeň
NMR	Nuclear Magnetic Resonance (=nukleární magnetická rezonanční spektroskopie)
NOAA	National Oceanic and Atmospheric Administration (=Národní ústav pro oceán a atmosféru)
O-PTIR	Optical Photothermal Infrared (=optická fototermální infračervená spektroskopie)
PAU	Polyaromatic Hydrocarbons (=polycyklické aromatické uhlovodíky)
PCB	Polychlorinated Biphenyls (=polychlorované bifenyly)
PE-HD/-MD	High Density Polyethylene/ Medium Density Polyethylene (=polyethylen s vysokou/střední hustotou)
PE-LD/-LLD	Low Density Polyethylene /Linear Low Density Polyethylene (=polyethylen s nízkou hustotou/lineární nízkohustotní polyethylen)
PET	polyethylentereftalát
POP	Persistent Organic Pollutants (=perzistentní organické polutanty)
PP	polypropylen
PVC	polyvinylchlorid
Pyr-GC-MS	Pyrolysis Gas Chromatography/Mass Spectrometry (=pyrolýzní plynová chromatografie-hmotnostní spektrometrie)
QCL	Quantum Cascade Laser (=kvantový kaskádový laser)
S.D.	standard deviation (=standardní odchylka)
SEM	Scanning Electronic Microscopy (=skenovací elektronová mikroskopie)
SNR	Signal to noise ratio (=poměr signálu a šumu)
TED-GC-MS	Thermal Extraction and Desorption combined with Gas Chromatography-Mass Spectrometry (=tepelná extrakce a desorpční plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií)
TGA	Thermo Gravimetric Analysis (=termogravimetrická analýza)
UV	ultra violet (=ultra fialové)
ŽP	životní prostředí

## Obsah

1	Úvod .....	9
2	Mikroplasty.....	11
2.1	Primární a sekundární mikroplasty .....	12
2.2	Mikroplasty v životním prostředí.....	13
2.3	Dopady na organismy v životním prostředí a na lidské zdraví.....	15
2.3.1	Toxicita na základě fyzikálního působení.....	15
2.3.2	Chemická toxicita .....	17
2.3.3	Toxicita patogenů.....	18
3	Stanovení mikroplastů .....	19
3.1	Odběr vzorků ze životního prostředí.....	19
3.1.1	Vodní prostředí .....	20
3.1.2	Půda a sedimenty .....	21
3.1.3	Atmosféra.....	22
3.1.4	Biota.....	22
3.2	Separace mikroplastových částic z environmentálních vzorků .....	23
3.2.1	Vizuální třídění .....	23
3.2.2	Filtrace .....	24
3.2.3	Prosívání .....	24
3.2.4	Separace na základě rozdílných hustot .....	24
3.2.5	Elutriace .....	25
3.2.6	Pěnová flotace.....	25
3.2.7	Chemická a enzymatická degradace .....	25
3.3	Identifikační a kvantifikační metody .....	26
3.3.1	Zobrazovací metody.....	28
3.3.2	Spektroskopické metody.....	32
3.3.3	Termoanalytické metody .....	35

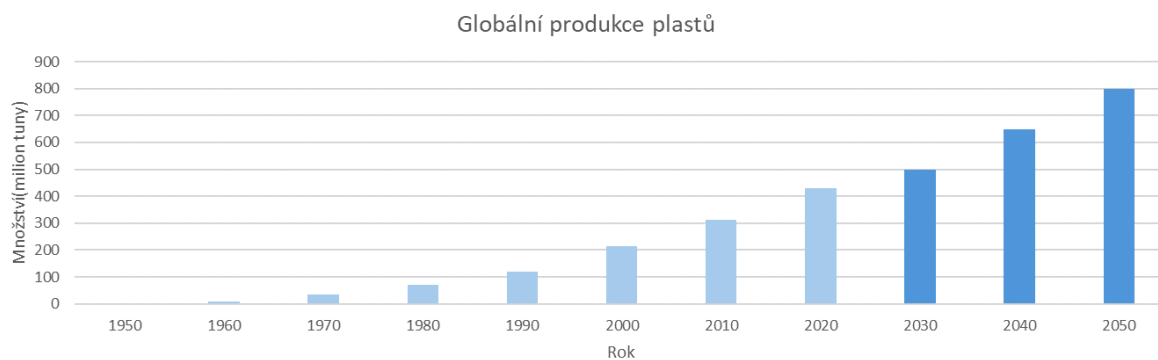
3.3.4	Potenciální metody.....	37
3.4	Aspekty limitací detekce mikroplastů.....	39
4	Závěr.....	42
5	Zdroje.....	44



# 1 Úvod

Rozvoj lidské civilizace začal zvyšovat poptávku po zboží a také po technologickém rozvoji včetně chemického průmyslu. Toto odvětví pomohlo zlepšit lidský blahobyt vývojem nových léků, navýšením zemědělských výnosů pomocí pesticidů a hnojiv a vynálezem nových materiálů používaných k různým účelům (Moldan, 2015). Mezi tyto materiály patří i plast, který byl poprvé pod názvem bakelit vyroben v roce 1907 (Boháčková & Cajthaml, 2022). Plasty jsou syntetické organické polymery, které jsou tvořeny celou řadou materiálů s rozdílnými vlastnostmi. Větší rozmach jejich výroby a užívání přišel až po druhé světové válce, kdy byly uvedeny na trh i další druhy plastové hmoty. Na popularitě začaly nabírat díky jejich výhodným specifickým vlastnostem, kterými jsou například nízká hmotnost, finanční a technologická nenáročnost výroby a vysoká odolnost (Andrady & Neal, 2009).

Od 40.let 20.století výroba plastů začala markantně narůstat, a zatímco v roce 1950 byly po celém světě vyrobeny pouze 2 tuny plastového materiálu, v roce 2022 to bylo 400,3 milionu tun (Plastics Europe, 2023). Podle některých odhadů bude v roce 2050 světová produkce dosahovat až 800 milionů tun (Graf č. 1).



Graf č. 1: Globální produkce plastů od roku 1950-2020, tmavě modrou barvou je vyznačena predikce globální produkce plastů do roku 2050 (upraveno dle: *Global Plastic Production* | Statista, 2024; Rouch, 2023)

Přibližně 50 % vyrobených plastových výrobků je navrženo pouze na jedno použití (například jednorázové obaly na potraviny) a kvůli nedostatečnému systému skládkování, recyklace či dokonce nedbalému odhazování není divu, že končí v přírodě (Hopewell et al., 2009).

Všudypřítomnost plastového odpadu má na životní prostředí obrovský vliv. Vzhledem k tomu, že současnou lidskou epochu přezdívanou jako antropocén charakterizuje vliv antropogenní

činnosti na globální ekosystém, byl počátek výroby plastového materiálu zároveň navržen jako indikátor počátku antropocénu (Porta, 2021).

I přesto, že dříve byly středem pozornosti plastové výrobky znečišťující životní prostředí, nyní je pozornost přeměřovaná majoritně na malé plastové částice neboli mikroplasty (Duis & Coors, 2016). O mikroplasty je v poslední dekádě obrovský zájem, protože se projevují jako nepřehlédnutelný ekologický problém kvůli jejich globálnímu rozšíření, perzistenci v životním prostředí a toxicitě pro organismy, včetně člověka. Pro pochopení distribuce a negativních dopadů na životní prostředí jsou potřeba metody, které jsou schopné mikroplasty detekovat a kvantifikovat. Za tímto účelem bylo vyvinuto několik metod, ale všechny mají své výhody a limitace a žádná z nich zatím není dostačující pro naše potřeby.

Cílem této práce bylo uvést problematiku do širšího kontextu, nejprve tedy představit mikroplasty jako takové a nastínit jejich nebezpečí pro životní prostředí a lidské zdraví. Dále popsat jednotlivé způsoby odběru vzorků z životního prostředí, extrakce mikroplastů a také identifikačních a kvantifikačních metod. V neposlední řadě bylo cílem práce poukázat na výhody a limitace jednotlivých metod a vyzdvihnout dosavadní nedostatky, se kterými se tato vědní oblast potýká.

## 2 Mikroplasty

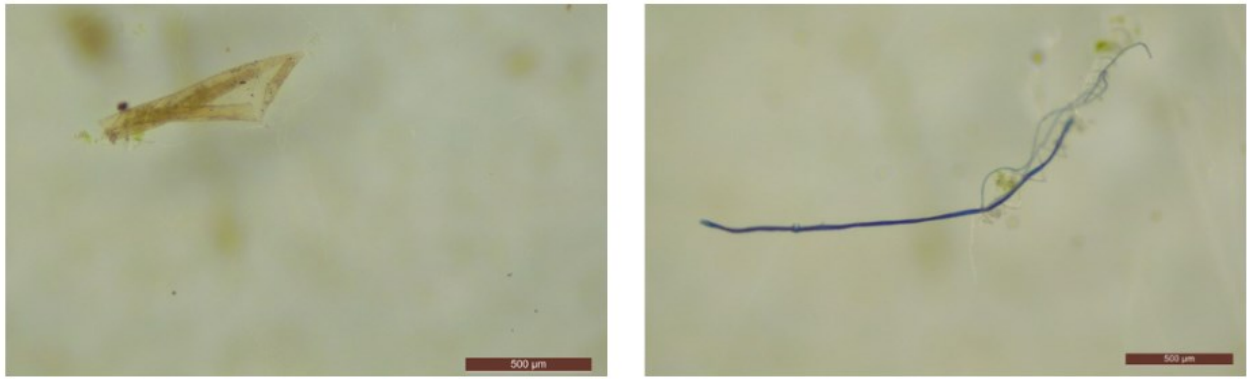
Třebaže zmínky o vyskytujících se malých plastových částicích pochází již ze 70.let 20.století, poprvé byl pojem „mikroplast“ použit profesorem Richardem Thompsonem a jeho týmem ve studii vydané v roce 2004, ve které tak označili částice menší než 20  $\mu\text{m}$  v průměru. Od té doby je tento termín běžně používán pro vědecké i populárně naučné účely (Thompson, 2015). V roce 2008 byly mikroplasty definovány Národním úřadem pro oceán a atmosféru (NOAA, z ang. National Oceanic and Atmospheric Administration) jako plastové částice menší než 5 mm (Chae et al., 2023) a tato definice bývá dodnes používána nejčastěji. Je dobré zmínit, že většina mikroplastů má nepravidelný tvar a definice se tedy vztahuje k jejich největší délce (Boháčková & Cajthaml, 2022).

Postupným objevováním menších a menších částic došlo i k inovaci terminologie a v literatuře se začaly objevovat další termíny, jako například makroplasty, mesoplasty či nanoplasty. Navzdory tomu, že se tyto termíny běžně používají napříč studii, kategorie mikroplastů a jejich rozměry se liší a bohužel stále chybí konsensus v definici rozměrů u jednotlivých pojmů. Tento fakt přispívá k tomu, že dochází k nejasnostem, které mohou omezit pokrok ve výzkumu v této oblasti a nápravných opatřeních (Hartmann et al., 2019).

V nové normě ISO 24187, která byla vydaná v roce 2023, jsou mikroplasty rozděleny na velké mikroplasty, jež mají rozpětí od 1 mm až po 5 mm, a na mikroplasty v rozmezí velikosti 1  $\mu\text{m}$  až 1000  $\mu\text{m}$  (1 mm) (Rajala, 2024). K dnešnímu datu bylo zjištěno, že plasty mohou degradovat až na velikosti nanočástic, ale zatím nebyla určena spodní hranice velikosti, kterou mohou částice dosáhnout (Boháčková & Cajthaml, 2022), určení této hranice je silně omezeno stávajícími technologiemi. Nyní jsou běžně za nanoplasty v literatuře považovány částice o velikosti 1–100 nm (0,001–0,1  $\mu\text{m}$ ) (Hartmann et al., 2019).

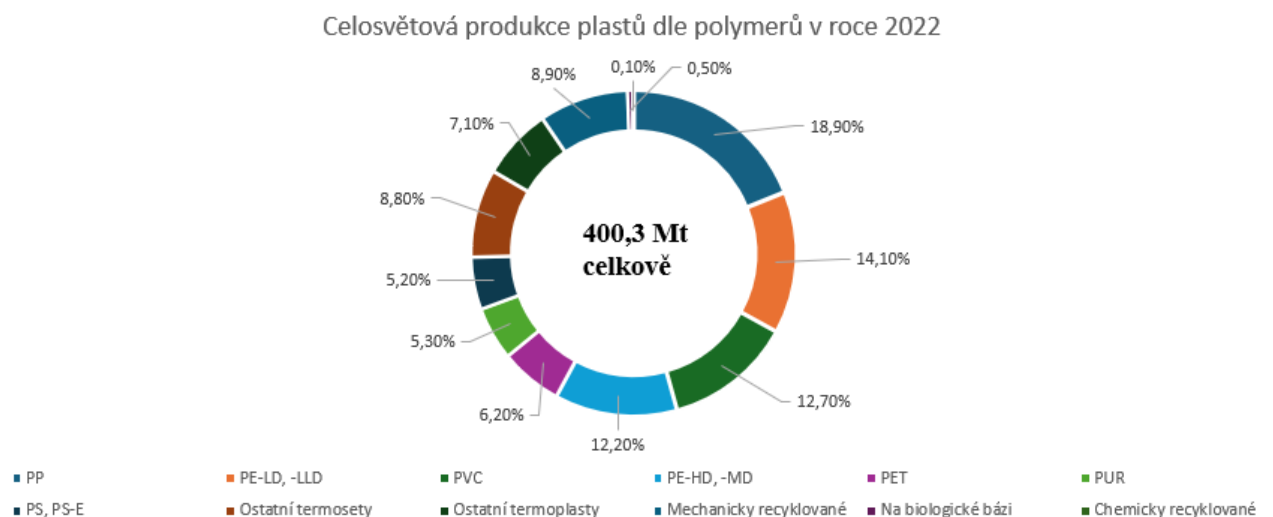
Kromě velikosti se při popisu mikroplastů určuje také jejich tvar, barva a polymery, ze kterých jsou částice vyrobené.

Forma, ve které se mikroplasty nejčastěji objevují, jsou fragmenty, vlákna, granule, pelety a pěny (Obr. č. 1, str. 12). Tyto formy jsou majoritně předurčeny jejich původem, například vlákna jsou uvolňována při mechanickém praní z textilií a fragmenty jsou důsledkem degradace větších plastových částí.



Obrázek č. 1: Mikroplastový fragment (nalevo) a vlákno (napravo) (Foto:autor)

Typy polymerů jsou závislé na složení původního výrobku. Mezi nejpoužívanější polymery v globálním měřítku patří polypropylen (PP) (18,9 %), polyethylen s nízkou hustotou/lineární polyethylen s nízkou hustotou (PE-LD/-LLD) (14,1 %), polyvinylchlorid (PVC) (12,7 %), polyethylen s vysokou hustotou/středně hustotní polyethylen (PE-HD/-MD) (12,2 %) a polyethyltereftalát PET (6,2 %) (Plastics Europe, 2023), jak ukazuje graf č. 2.



Graf č. 2: Zastoupení typů polymerů v celosvětové produkci plastů v roce 2022 (upraveno dle: Plastics Europe, 2023)

## 2.1 Primární a sekundární mikroplasty

Podle způsobu, kterým mikroplastové částice vznikly, se dělí na primární a sekundární. Je vhodné zmínit, že stejnými mechanismy vznikají i nanoplasty, ale rozdíl je v tom, že nanoplasty dosahují menších rozměrů.

Za primární mikroplasty jsou považovány ty, které byly úmyslně vyrobené v malém měřítku jak pro komerční, tak i osobní účely. V průmyslové zóně se jedná například o surové plastové pelety, což jsou plastové kuličky s obvyklou velikostí 2–5 mm, určené k následné výrobě

plastových výrobků. V produktech pro osobní péči jde o částice používané v čistících prostředcích či kosmetice. Exfoliační přípravky, zubní pasty, sprchové gely, peelings či dekorativní kosmetika jsou nejčastějšími produkty obsahující primární mikroplasty, ve kterých mohou tvořit dokonce 5–10 % obsahu (Boháčková & Cajthaml, 2022; Lassen et al., 2015).

Zatímco primární mikroplasty mají většinou definovaný, pravidelný tvar a velikost, sekundární mikroplasty jsou nepravidelně tvarované, často s narušeným povrchem a ostrými hranami (Kefer et al., 2021). Vznikají postupným rozpadem různých větších výrobků, jako třeba igelitových tašek, PET lahví, rybářských sítí či pneumatik (Crawford & Quinn, 2017). K jejich degradaci může dojít chemickými a fyzikálními ději, jako například abrazí, působením větru či ultrafialovým (UV, z ang. ultraviolet) zářením ze slunečního světla (Hwang et al., 2019; Rogers, 2024). V přírodě sice dochází i k biodegradaci, ale tento proces je tak pomalý, že v porovnání s předchozími nedosahuje takového významu (Andrady, 2011).

## 2.2 Mikroplasty v životním prostředí

Přítomnost mikroplastů je prokázána ve všech částech naší planety a bohužel i v těch nejodlehlejších jako například na Antarktidě (Aves et al., 2022) či na dně Mariánského příkopu (Peng et al., 2018). Byly nalezeny ve všech složkách životního prostředí, a to ve vzduchu, půdě, sedimentech, sněhu, sladké i slané vodě a organismech včetně člověka. To, jakým způsobem se dostanou mikroplasty do životního prostředí, souvisí s tím, zda se jedná o primární či sekundární mikroplasty. Ať už se však jedná o jednu nebo druhou skupinu, obě unikají do životního prostředí a představují velkou hrozbu.

Například pelety (jakožto zdroj primárních mikroplastů) mohou uniknout do životního prostředí následkem neopatrného zacházení již při výrobě, transportu, či následném zpracování. Mikroplasty z produktů osobní péče se dostávají do životního prostředí převážně po použití spláchnutím do odpadních vod. V čistírnách odpadních vod se i přes použití nejmodernějších technologií nepodaří zachytit všechny částice, obzvláště nanočástice. Voda z čistíren obsahující i nezachycené částice se dále vypouští do životního prostředí, hlavně do vodních toků či do oceánů. Významným zdrojem (u kterého bývá v literatuře neshoda, zda se jedná o primární či sekundární mikroplasty) je oblečení ze syntetického materiálu, jež degraduje nejen samotným nošením, ale hlavně praním v pračce. De Falco et al. (2019) ukázali, že během průměrného pracovního cyklu se kvůli zvýšené teplotě a mechanickému oděru uvolní

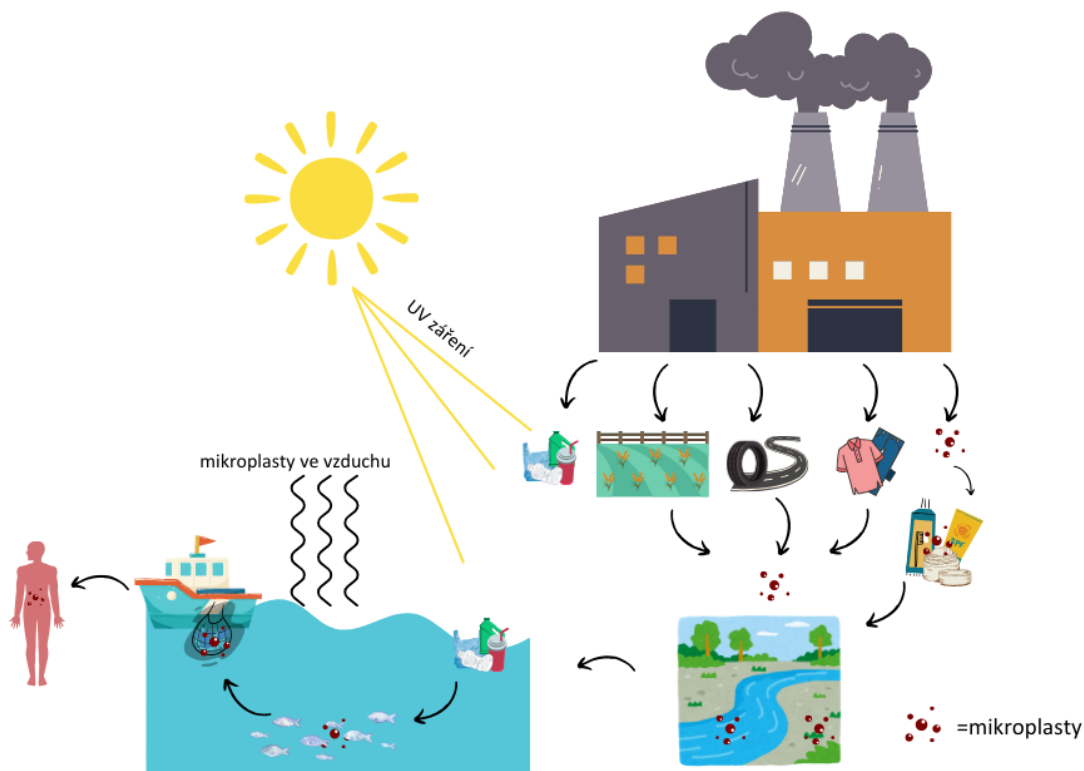
mezi 124 a 308 mg vláken z jednoho kg prané tkaniny. Uvolněná vlákna jsou dále spláchnuta do čistíren odpadních vod, odkud se do životního prostředí dostávají stejně jako výše zmíněné mikroplasty v produktech osobní péče. Čistírny odpadních vod jsou tak považovány za velký zdroj mikroplastového znečištění (Ziani et al., 2023).

Co se týče sekundárních mikroplastů, ty většinou v životním prostředí teprve vzniknou procesy popsanými výše. Je to následkem toho, že do životního prostředí se dostávají stovky tun plastové odpadu (Hwang et al., 2019), jak úmyslným odhazováním, špatným skládkováním, únikem během sběru či kvůli přírodním katastrofám (Duis & Coors, 2016). Odhaduje se, že 70–81 % mikroplastů v životním prostředí je zastoupeno sekundárními mikroplasty (Mariano, et al., 2021), ale toto procentuální zastoupení se liší v závislosti na geografickém umístění. Jedním z důvodů je rozdíl v kvalitě nakládání s odpady v různých regionech světa. Zatímco v Evropě a Severní Americe je poměr primárních a sekundárních mikroplastů téměř 1:1, v Africe a Asii dosahuje poměr až 1:7 (Boucher & Friot, 2017).

Podstatným zdrojem znečištění půdy je rovněž zemědělství, ve kterém jsou na polích používány například plastové fólie k ochraně plodin, zamezení plevelu a zadržování závlahové vody. U těchto folií dochází k degradaci a mikroplastové částice se tak dostávají do půdy (Duis & Coors, 2016). V půdě mohou zůstat desítky let díky tomu, že je zde málo slunečního svitu a kyslíku (Lamichhane et al., 2022). Následkem toho mohou mikroplasty interagovat s edafonem, měnit strukturu půdy a ovlivnit vlhkost, zadržování vody nebo mobilitu živin (Sajjad et al., 2022).

Nemalý podíl na znečištění oceánů má i rybářský průmysl, kvůli kterému se do oceánů a moří dostávají například rybářské sítě, lana či bójky vyrobené z polymerů plastů. Navíc i samotné lodě s ochranným nátěrem vyrobeným ze syntetických polymerů uvolňují mikroplasty přímo do vody (Boucher & Friot, 2017). Odhaduje se, že 10–25 % plastového odpadu v oceánech pochází přímo ze zdrojů nacházejících se v oceánech a 75–90 % pochází z pevniny (Duis & Coors, 2016).

Dalším zdrojem mikroplastů v životním prostředí se ukazují být i pneumatiky, které se mechanickým stresem narušují a narušují i nátěry na silnicích. Uvolněné částice jsou následně spláchnuty do životního prostředí deštěm či roznášeny větrem (Duis & Coors, 2016). Způsoby transportu mikroplastů v životním prostředí jsou znázorněny na obrázku č. 2., str. 15.



Obrázek č. 2: Schéma transportu mikroplastů v životním prostředí (Grafika: autor)

## 2.3 Dopady na organismy v životním prostředí a na lidské zdraví

Vzhledem k tomu, že mikroplasty jsou v životním prostředí všudypřítomné, není překvapující, že dochází k interakci s organismy a samozřejmě vyvstává otázka, jaký vliv na ně a na člověka mikroplasty mají. Podle mechanismu působení je možné rozdělit toxicitu mikroplastů do tří kategorií. Jsou jimi mechanická toxicita částic, chemická toxicita a dále také toxicita a patogenita látek zachytávajících se na povrchu částic (Hwang et al., 2019).

### 2.3.1 Toxicita na základě fyzikálního působení

#### 2.3.1.1 Organismy v životním prostředí

Samotná přítomnost plastových výrobků v životním prostředí představuje pro organismy smrtelné nebezpečí. V oceánech nejčastěji dochází k zaplétání mořských živočichů do rybářských sítí nebo požití plastových výrobků, které svým vzhledem připomínají jejich potravu. Mikroplasty (a i nanoplasty) pak mohou být zaměněny za potravu organismy, které se

živí planktonem, neboť jejich velikost je stejná (Andrady, 2011). Následkem toho může docházet k dysfunkci střev, jater nebo reprodukční a vylučovací soustavy (Zolotova et al., 2022). Při dlouhodobé konzumaci mikroplastů organismy dochází k malnutrici organismů (Crawford & Quinn, 2017) a potenciálně i k jejich smrti (Ziani et al., 2023).

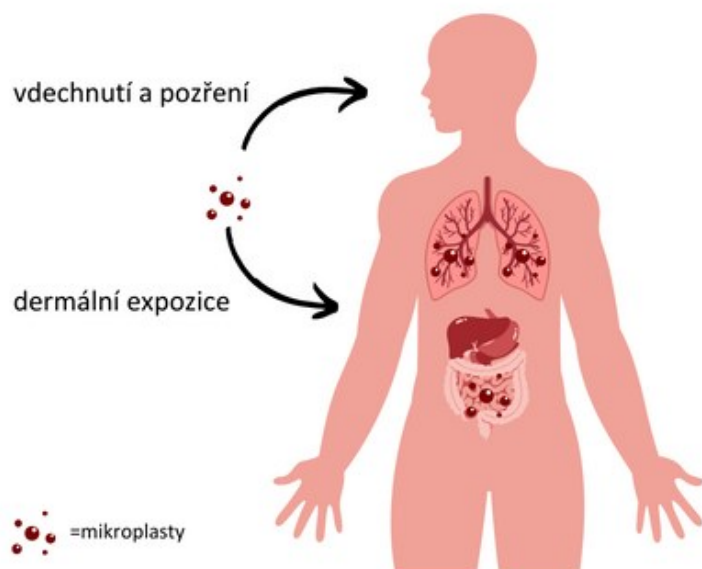
### 2.3.1.2 Lidské zdraví

V dnešní době se s mikroplasty setkáváme neustále, i když si toho mnohdy nejsme ani vědomi. Běžné činnosti jako je pití vody z kohoutku nebo PET láhve, konzumace potravin, používání kosmetických výrobků, nošení syntetického oblečení, a dokonce i dýchání vzduchu, představují zdroje mikroplastů, kterým je lidský organismus exponován. I když je výzkum vlivu mikroplastů na naše zdraví teprve v začátcích, již máme ponětí o negativních dopadech. Dříve se předpokládalo, že lidské tělo je schopné mikroplasty vyloučit (Y. Li et al., 2023), ale ukázalo se, že po požití mohou být transportovány krevním oběhem a konsekvencí toho se akumulovat v lidských tkáních, například v zažívacím traktu a dalších orgánech. Přítomnost byla již prokázána v lidské krvi, játrech, ledvinách, plicích, a dokonce v placentě, smolce a mateřském mléce (Kutralam-Muniasamy et al., 2023). Do lidského těla mohou mikroplasty vstoupit několika způsoby, a to vdechnutím, dermální expozicí či požitím (Obrázek č. 3, str. 17) a tyto způsoby často působí současně (Y. Li et al., 2023).

Ke vdechnutí jsou náchylnější lidé, kteří pracují v průmyslu zabývající se výrobou či jinou manipulací plastů, ale vzhledem k tomu, že mikroplasty jsou přítomny i ve vzduchu, tak se tato možnost týká každého z nás. Skrze pokožku pak mohou vstoupit mikroplasty, které jsou součástí kosmetiky, například peelingů. K požití, které má největší podíl, dochází kvůli přítomnosti mikroplastů v potravinách (obzvláště v mořských rybách a plodech, ve kterých jsou akumulovány kvůli potravnímu řetězci), v obalech, ve kterých jsou pokrmy a nápoje uchovávány, a hlavně v pitné vodě, jak kohoutkové, tak i balené (Hwang et al., 2019).

Studie ukázaly, že následkem inhalace mikroplastů může dojít k narušení dýchacích cest a rozvinutí respiračních onemocnění (například chronické obstrukční onemocnění či astma). Požití mikroplastů způsobuje narušení stěny střev, potenciálně vedoucí k zánětům, oxidačnímu stresu a narušení střevní mikroflóry. To může zapříčinit až autoimunitní onemocnění, rakovinu či neurodegenerativní onemocnění (Y. Li et al., 2023).





Obrázek č. 3: Způsoby vstupu mikroplastů do lidského těla (Grafika: autor)

### 2.3.2 Chemická toxicita

Součástí mikroplastů jsou i různé nízkomolekulární látky, například reziduální monomery, aditiva a sorbované látky z prostředí. Tyto látky podporují perzistenci v životním prostředí a při uvolňování představují hrozbu pro organismy, navíc dochází k bioakumulaci v potravním řetězci a také k biomagnifikaci (Boháčková & Cajthaml, 2022). U některých plastů bylo prokázáno uvolňování jejich monomerů, které zapříčiňují infertilitu a vývoj rakoviny (Andrady, 2017).

Během výrobního procesu jsou přidávána aditiva pro zlepšení vlastností plastů. Protože ale nejsou chemicky vázané, mohou se z plastů uvolňovat. Mezi nejčastěji přidávané látky patří antioxidanty, ftaláty, bisfenol A (BPA), nonylfenoly a bromované zpomalovače hoření (BFR). Řada těchto látek je prokázána jako endokrinní disruptory, navíc někdy i s karcinogenními účinky (Hermabessière et al., 2017).

Jelikož mají mikroplastové částice často hydrofobní povahu, jsou schopné z životního prostředí sorbovat látky různého charakteru. Mezi ně patří i polutanty, jako jsou perzistentní organické polutanty (POP), polycyklické aromatické uhlovodíky (PAU) nebo polychlorované bifenoly (PCB). Tyto látky jsou nechvalně známé tím, že jsou endokrinními disruptory, karcinogeny a kromě toho narušují reprodukční systém. Bylo dokázáno, že tyto polutanty jsou díky adsorpci z prostředí schopné transportu do tkání organismů a následné akumulace skrz potravní řetězec (Browne et al, 2013).

### 2.3.3 Toxicita patogenů

Díky své hydrofobní povaze mohou mikroplasty fungovat i jako mechanická podpora pro vývoj mikroorganismů a biofilmu. Důsledkem vzniku tohoto biofilmu mohou mikroplasty degradovat méně, protože jsou chráněny před UV zářením, které na ně má velký destruktivní účinek. Velké znepokojení vyvolala detekce lidských patogenů, jako jsou *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* nebo *Stenotrophomonas maltophilia* na mikroplastových částicích, protože ty se mohou v přírodě transportovat na velké vzdálenosti a stávají se z nich přenašeči nemocí (Meulen et al., 2014).

V posledních letech se začíná ukazovat, že nanoplasty představují větší hrozbu než mikroplasty. Nedostatečné technologie nám bohužel brání prozkoumat komplexně jejich nebezpečnost, ale i tak je z dosavadních poznatků jasné, že se jedná o skutečný problém. V literatuře jsou sice nanoplasty ve většině případů diskutované společně s mikroplasty, ale odlišují se svojí toxicitou, mobilitou a jsou i reaktivnější (V. Sharma et al., 2022). V porovnání s mikroplasty mají nanoplasty větší poměr plochy povrchu k objemu a díky tomu mají větší afinitu ke znečišťujícím látkám. Jejich rozměr jim navíc umožňuje dostat se do vzdálenějších míst (V. Sharma et al., 2022). Endocytózou jsou schopné projít buněčnými membránami (Ali et al., 2024), tím mohou ovlivňovat fungování samotných buněk (včetně krvinek a buněk fotosyntetizujících organismů) (Bergmann et al., 2015) a být i cytotoxické (Joksimović et al., 2022). Výsledky studie Wana et al. (2024) ukázaly, že nanoplastické částice polystyrenu se mohou vyskytovat ve vilózních tkáních placenty žen a na základě pokusu s těhotnými samicemi myši ukázaly, že přítomnost nanoplastických částic v těchto tkáních vyvolává potrat.

### 3 Stanovení mikroplastů

Monitoring mikroplastů v životním prostředí je klíčový pro hodnocení jeho znečištění, a proto byly vytvořeny různé metody pro detekci mikroplastů. Vzhledem k tomu, že toto odvětví je poměrně nové a nároky na technologie jsou čím dál tím vyšší, metody se stále vyvíjí. Je k dispozici široký výběr, ale nízká úroveň standardizace bohužel vede k používání různých metod napříč studiemi, a to má za příčinu obtížné porovnávání výsledků mezi nimi. Při stanovení mikroplastů je cílem zjistit velikost, tvar, barvu, hmotnost, počet či chemické složení částic. Podle požadované výstupní informace se odvíjí výběr metody. Většinou metod nelze detekovat mikroplasty jako chemickou látku, jako je tomu například v analytické chemii. Nejprve je nutné částice ze vzorku izolovat a následně podrobit analýzám, které určí, zda se jedná skutečně o částici mikroplastu.

Analýza mikroplastů z životního prostředí se skládá ze tří kroků, jež zahrnují odběr vzorku, extrakci mikroplastových částic ze vzorku a následně jejich kvantifikaci a identifikaci (Tornero et al., 2023). Je nutné podotknout, že celý proces detekce je komplikovaný a zahrnuje mnoho mezikroků. Během kteréhokoliv z nich je šance, že dojde ke ztrátě částic nebo naopak k neúmyslné kontaminaci vzorku mikroplasty například vzduchem z okolí či použitím nevhodného pracovního materiálu. S účelem vyhnout se kontaminaci je pro celý proces doporučeno nepoužívat pomůcky vyrobené z plastu, ale používat ty z nerezů či skla, dále je vhodné mít oblečení pouze z čisté bavlny a vyhnout se použití gumových rukavic (Crawford & Quinn, 2017). Plastový materiál může degradovat a uvolňovat mikroplasty sám o sobě, podobně může oblečení obsahující přísady polymerů, které jsou v dnešní době hojně využívané, degradovat na mikroplastová vlákna. I přes to, že metod pro odběr, extrakci, identifikaci a kvantifikaci existuje celá řada, každá z nich má své limitace a žádná z nich není doposud standardizovaná.

#### 3.1 Odběr vzorků ze životního prostředí

Pro studie mikroplastů v životním prostředí je prvním krokem odběr vzorků z cílové oblasti. K tomu, abychom dosáhli přesných výsledků, je klíčové získat data reprezentující skutečnou přítomnost a množství v životním prostředí (P. Sharma et al., 2024). Ačkoli tato část bývá ve vědeckých studiích popisována stroze či je úplně opomíjená, dle Crawforda & Quinna

(2017) ovlivní výběr vhodné techniky konečné výsledky a měla by se jí tak věnovat větší pozornost. Postup odběru není stále standardizován i přes to, že všechny dosud použité metody mají jisté mezery a mohou zásadně ovlivnit výstupy nadcházejících detekčních metod. Nesjednocená metodika vedla k rozmanitosti analytických přístupů, což může být i komplikací pro nové výzkumné skupiny, které tápou, jakou metodu zvolit (Prata et al., 2019). Při vzorkování je nutné brát v potaz několik faktorů jako roční období, zda odběr probíhá během přílivu nebo odlivu a v neposlední řadě i kvalitu vlastního vzorkování.

K odběru vzorků z životního prostředí existuje několik metod, ale výběr metody se odvíjí podle předmětu zájmu studie, tedy podle toho, na jak velké částice je výzkum zaměřen, a hlavně na typu prostředí, ze kterého je vzorek odebrán. Hidalgo-Ruz et al. (2012) navrhli tři hlavní typy kolekce vzorků zejména pro akvatického prostředí, ale běžně se aplikují i pro další. Jsou jimi selektivní odběr, odběr vzorků s redukováným objemem a hromadný odběr vzorků. Při selektivním odběru jsou odebírány částice pozorovatelné pouhým okem (1–5 mm) například z vodní hladiny, z tkání organismů či z povrchu sedimentů. Při hromadném odběru se odebere vzorek bez toho, aniž by se redukoval objem. To může být přínosné, protože jsou odebrány částice bez ohledu na jejich morfologii a barvu a navíc velmi pravděpodobně nedojde ke ztrátě potenciálních částic již během vzorkování. Při odběru vzorků s redukováným odběrem dochází k redukci pouze na část, která je středem zájmu pro analýzu. Nevýhodou však je, že může dojít k nezáměrné ztrátě potenciálních mikroplastů (Crawford & Quinn, 2017; Silva et al., 2018).

### 3.1.1 Vodní prostředí

Z vodního prostředí mohou být vzorky odebrány z hladiny či z vodního sloupce v určené hloubce (W. Wang & J. Wang, 2018). Stejně metody jsou aplikovány jak na sladkou, tak i na mořskou vodu (Crawford & Quinn, 2017) a z velké většiny se jedná o redukováný odběr (W. Wang & J. Wang, 2018). Vzhledem k tomu, že mikroplasty mají nižší hustotu než má voda, můžou se vznášet na hladině (Yadav et al., 2023). Pokud se vzorky odebírají z vodní hladiny, používají se většinou vlečné či tzv. neustonovy sítě zapřáhnuté za loď (Pasquier et al., 2022). Původně byly navrženy pro odběr planktonu, protože je za jejich pomoci možný odběr z velkých ploch. Tyto sítě zachytávají částice v hloubce 15–25 cm pod hladinou a mají rozměr ok 333 nebo 335  $\mu\text{m}$ . Velikost ok ovlivňuje, jak velké částice jsou zachyceny a které budou poté analyzovány (Barrows et al., 2017). Bývá však opomíjeno, že sítě jsou nejčastěji vyráběné

z nylonu a některé části z polyvinylchloridu, a tudíž mohou být součástí zachyceného materiálu i degradované mikroplastové částice ze sběrných sítí (Pasquier et al., 2022).

Pro odběr z vodního sloupce bývají využívány sítě na plankton či tzv. bongo sítě (Campanale et al., 2020), které mají výhodu, že se současně sbírají stejné vzorky ve dvou bodech (Tornero et al., 2023). Odběr může probíhat dvěma způsoby, a to vertikálně nebo horizontálně. Při vertikálním odběru se sítě spustí do požadované hloubky a poté se vytáhnou zpět nahoru, čímž poskytnou vzorek celého vodního sloupce. Při horizontálním se spustí sítě obvykle nad dno, v této hloubce jsou vlečeny danou dobu při konstantní rychlosti a následně jsou vytaženy zpět. Horizontální odběr se většinou provádí v několika rozdílných hloubkách, aby se porovnálo, v jaké hloubce je koncentrace mikroplastů největší (Crawford & Quinn, 2017).

Alternativními způsoby může být i použití vodních pump či nabrání vody kýblem a následná filtrace k redukci objemu, ale tato alternativa nebývá tak frekventovaně užívána (Prata et al., 2019).

### 3.1.2 Půda a sedimenty

Podobně jako u odběru vzorků z vodního prostředí je možné odebírat vzorky sedimentů a půdy na povrchu nebo z půdního horizontu. Samotný odběr není technicky komplikovaný, ale problém tkví v navržení strategie odběru (Adomat et al., 2022).

Vzorky sedimentů je možné odebírat selektivně, jak již bylo popsáno výše, například pinzetou či lopatkou přímo z povrchu. Často se využívají nerezové rámy ve tvaru čtverce s rozměry 50 x 50 cm, které se položí na povrch a selektivně se odeberou částice zájmu. Další možností je do sedimentů vložit nerezové síto či lopatku pod povrch a získat tak vzorek z hloubky 5–10 cm (Tornero et al., 2023).

Pro odběr z půdy se používá takzvaný jádrový vzorkovač půdy (nebo také jádrový vrták). Jedná se o nerezovou trubku, která se zatlačí do země a následně utěsní uzávěrem. Výsledkem je souvislý válcový vzorek půdy, který reprezentuje vertikální rozložení (Tiwari et al., 2023). Délka a šířka vzorku závisí na rozměru vzorkovače. Ve valné většině studií byly vzorky půdy odebírány v maximální hloubce 0–20 cm (Chia et al., 2023) a doposud se jen pár studií pokusilo zaměřit i na hlubší vzorky, kdy maximum bylo 2000 cm (Weber & Opp, 2020).

### 3.1.3 Atmosféra

Přestože je atmosféra nedílnou součástí životního prostředí, výzkumů zabývajících se přítomností mikroplastů v ovzduší je minimum oproti těm, které se zaměřují na abundanci v akvatickém (Chandrakanthan et al., 2023). Atmosférické znečištění mikroplasty by však zasloužilo větší pozornost, protože částice jsou díky své malé velikosti a hustotě lehké, mohou být snadno transportovány větrem a kontaminovat tak další oblasti životního prostředí, jako například půdu či vodní plochy (Rani et al., 2023).

Ve studiích se nejčastěji používá aktivní a pasivní odběr. Pro aktivní se používají velkoobjemové vzorkovače vzduchu, které za pomoci čerpadla nasávají velký objem vzduchu a díky filtrům z křemenných vláken zachytávají mikroplastové částice (Chen et al., 2020). Tuto metodu lze využít jak v exteriérech, tak i v interiérech, například k odhadu vdechnutých částic lidmi v uzavřené místnosti (Vianello et al., 2019). Vyžaduje ale stálý přísun elektřiny a je tím pádem finančně nákladná. Druhým způsobem je pasivní odběr, během kterého se shromažďují atmosférické srážky nálevkou do lahví, jež jsou vyrobené z nerezů či skla a umístěné na místě, které není ničím zakryté jako například na střeše budovy. Protože pasivní odběr nevyžaduje elektrickou energii, využívá se při dlouhodobém kontinuálním sběru dat nebo také v oblastech, kde je elektřina nedostupná. Díky této metodě je možné určit množství částic dopadající na povrch v závislosti na čase (Chen et al., 2020).

### 3.1.4 Biota

Středem zájmu studií na analýzy mikroplastů v organismech jsou akvatické organismy a převážně ty mořské. Nejčastěji se jedná o měkkýše, plankton nebo větší živočichy, například ryby, želvy, mořské savce či ptáky. Ve větších živočiších se analýze podrobuje trávicí soustava vzhledem k tomu, že tyto živočichové mikroplasty požívají (Ugwu et al., 2021). Metodika odběru je podobná jako ta pro vzorky z vodního prostředí, tedy sběr za pomoci sítí. Co se týče rostlin, odebírají se hlavně kořeny, které mohou mikroplasty absorbovat (L. Li et al., 2020).

## 3.2 Separace mikroplastových částic z environmentálních vzorků

Při analýze mikroplastů v environmentálních vzorcích je důležité si uvědomit, že vzorky často obsahují sedimenty, organické, anorganické a biogenní materiály. Ve snaze o co nejpřesnější identifikaci a kvantifikaci je klíčové veškerý přebytečný materiál odstranit, protože přítomnost těchto materiálů komplikuje následující analýzu a může také zapříčinit falešně pozitivní či negativní výsledky (Crawford & Quinn, 2017). Ačkoli zájem o výzkum mikroplastů narůstá a v rozličných studiích se používají různé metody separace mikroplastů z komplexního vzorku (Nabi et al., 2022), zatím se bohužel nestanovil žádný standardizovaný postup, i přesto, že některé organizace, jako například NOAA, o to mají snahu již několik let (Crawford & Quinn, 2017).

Nyní patří mezi nejčastěji používané metody: vizuální třídění, filtrace, síťování, hustotní separace, elutriace, flotace a chemická degradace (Crawford & Quinn, 2017), ale objevují se i další, například extrakce olejem se zamražením, extrakce kapalinami se zvýšeným tlakem, elektrostatická extrakce či magnetická separace (Rani et al., 2023).

Výběr vhodné metody je potřeba zvolit podle typu vzorku a jeho skupenství (Obrázek č. 4, str. 26). Například separace z půdy je mnohem složitější než separace ze vzorků vody kvůli různému složení půdních typů. Pokud by se ale aplikovala pouze jedna metoda na všechny typy vzorků, nebude stejně účinná (Rani et al., 2023). Dosažení nejlepších výsledků tak často vyžaduje kombinaci dvou či více metod. Například pro oddělení mikroplastů z biogenního materiálu je vhodný enzymatický rozklad a následné prosívání (Tornero et al., 2023). Během procesu je nutná velká pečlivost, neboť je většinou potřeba průběžné mytí (například ze síta), při kterém může dojít ke ztrátám částic či kontaminaci (Rani et al., 2023).

### 3.2.1 Vizuální třídění

Vizuální třídění se většinou používá pro oddělení větších mikroplastů tj. 1–5 mm (Song et al., 2015) ze vzorku obsahující jemné sedimenty, například bahno (Duis & Coors, 2016). Může být provedeno pouhým okem nebo za použití mikroskopu. Částice, u kterých je podezření, že se jedná o mikroplasty, se separují pomocí pinzety a poté jsou podrobeny další analýze. Tuto metodu lze také využít k vyjmutí mikroplastových částic z biologického materiálu, kterým většinou bývají tkáně mořských či sladkovodních organismů (Crawford & Quinn, 2017).

### 3.2.2 Filtrace

Při filtraci dochází k oddělení pevných částic od kapalné části vzorku za pomoci filtru, který umožní průchod pouze tekuté látky (filtrátu) a zachytí pevné části. Velikost filtračních pórů ovlivní, které částice budou zachyceny filtrem a které jím projdou. Většinou se používají filtry s velikostí pórů 0,7; 0,22; 5; 10 a 11  $\mu\text{m}$  (Tirkey & Upadhyay, 2021). Výhoda filtrace je, že ji lze zařadit v několika fázích při procesu separace. Je možné ji použít hned na začátku či při dalších metodách, jako například po hustotní separaci (Lusher et al., 2020, citováno dle Rani et al., 2023). Nejčastěji používaným způsobem bývá vakuová či membránová filtrace. Během filtrace dochází k redukci objemu vzorku, tato metoda je vhodná na oddělení mikroplastových částic ze vzorků vody (Crawford & Quinn, 2017).

### 3.2.3 Prosívání

Prosívání je další vhodnou metodou k oddělení mikroplastů z kapalných vzorků či vzorků sedimentů. Používají se nerezová síta s velikostí ok od 3,8  $\mu\text{m}$  do 4,75 mm a běžně se vzorek prosévá několikrát přes síta postupně s menší a menší velikostí ok. Zachycené částice se následně podrobí vizuálnímu třídění a dalším analýzám (Crawford & Quinn, 2017).

### 3.2.4 Separace na základě rozdílných hustot

Hustotní separace je nejběžněji využívaná metoda na extrakci mikroplastových částic, obzvláště ze vzorků sedimentů (Debraj & Lavanya, 2023). Využívá se rozdílů hustoty sedimentů, extrakčního činidla a mikroplastových částic. Ke vzorku sedimentu se přidá extrakční činidlo a vzorek se protřepe (Crawford & Quinn, 2017). Vzhledem k tomu, že sedimenty mají hustota v průměru 2,65  $\text{g}/\text{cm}^3$ , tak po chvíli začnou klesat ke dnu, zatímco mikroplastové částice (jejichž hustota se pohybuje od 0,8–1,4  $\text{g}/\text{cm}^3$ ) spolu s lehkým organickým materiálem zůstanou u hladiny, odkud se mohou odebrat a připravit k dalším analýzám (Bergmann et al., 2015; Debraj & Lavanya, 2023). Nejpoužívanějším a činidlem bývá solný roztok (například NaCl, NaI, či  $\text{ZnCl}_2$ ) (Duong et al., 2022). Při výběru činidla je potřeba dbát na jeho správnou hustotu, aby nedošlo k usazení i těžších mikroplastových částic, což by vedlo k nepřesnosti výsledků.



### 3.2.5 Elutriace

Elutriace je metoda, při které jsou lehčí částice oddělovány od těch těžších plyným či kapalným proudem, který působí proti směru sedimentace (Crawford & Quinn, 2017). Claessens et al. (2013) doporučují elutriaci zařadit před hustotní separací, protože dokáže zredukovat objem a během hustotní separace není potřeba použít tolik extrakčního činidla. Elutriační systém je schopný elutriovat až několik set gramů sedimentů najednou, což může být výhodou, pokud je potřeba elutriovat objemné vzorky. Elutriace byla původně vyvinuta pouze separaci písčitých sedimentů, ale při použití na jemné sedimenty naneštěstí ztrácí svoji účinnost (Rani et al., 2023).

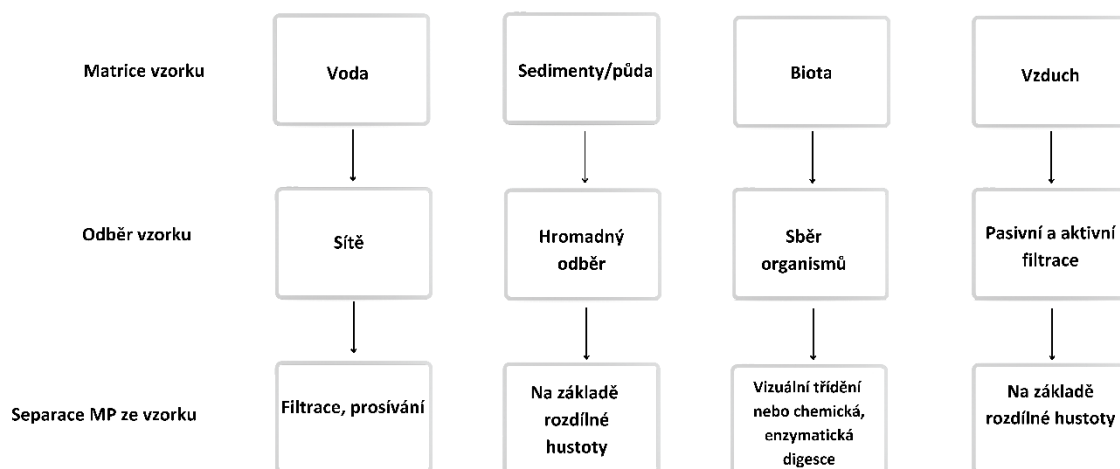
### 3.2.6 Pěnová flotace

Tato metoda odděluje jednotlivé částice z kapalného prostředí prostřednictvím bublin, které vážou na povrch částic v závislosti na jejich hydrofobnosti. Zatímco hydrofilní částice zůstávají v kapalném prostředí, hydrofobní částice jsou zachyceny bublinami a vyplouvají ke hladině, kde se vytváří pěna, kterou lze následně izolovat. Vzhledem k tomu, že plasty jsou často převážně hydrofobního charakteru, je možné je tímto způsobem oddělit (Crawford & Quinn, 2017). Jiang et al. (2022) však zastávají názor, že je nezbytné metodu vylepšit, protože v přírodě, v prostředí sedimentů může hydrofilizovat povrch mikroplastů, které nebudou zachyceny bublinami a výsledky tak nebudou akurátní.

### 3.2.7 Chemická a enzymatická degradace

Při snaze oddělit mikroplasty z biogenního materiálu nemusí být vizuální třídění, které bylo popsáno výše, dostačující. Pokud je vzorek příliš hustý či obsahuje velmi malé organismy jako například zooplankton, může dojít k přehlédnutí některých částic. Z tohoto důvodu se začala ve studiích objevovat chemická a enzymatická degradace. Pro chemickou degradaci se používají kyseliny, zásady a další činidla, jako například HCl, NaOH, KOH či H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a pro enzymatickou degradaci proteinázy, lipázy, celulózy či chitinázy (Crawford & Quinn, 2017). International Council for the Exploration of the Sea (ICES) (2015) ve svém protokolu pro monitoring mikroplastů v zažívacím traktu ryb a měkkýšů doporučují použití HNO<sub>3</sub>:HClO<sub>4</sub> (4:1) protože tvrdí, že rozloží organický materiál a zbude pouze oxid křemičitý a plastové částice. Naopak v některých studiích, jako například od Lushera et al. (2017) se ukázalo, že společně s organickým materiálem se při použití těchto kyselin poškozují, a dokonce rozkládají

různé typy polymerů, jako například nylonová vlákna, o kterých je známo, že jsou citlivá na kyseliny a zásady. Účinnost extrakce se navíc v závislosti na koncentraci kyseliny může dokonce pohybovat mezi 0–98 % (Claessens et al., 2013). Kvůli tomuto problému se začalo experimentovat také s enzymatickou degradací. Například Courtene-Jones et al. (2017) na základě své studie (týkající se enzymatické digesce mikroplastů ze *Mytilus edulis* neboli slávek jedlých) tvrdí, že enzym trypsin má nadějnou budoucnost, protože má schopnost trávit biologický materiál s účinností 88 % ( $\pm 2,52$  % S.D.) a souběžně s tím nijak závažně nepoškozuje mikroplasty. Již Cole et al. (2014) došli k podobným výsledkům, a dokonce došli k závěru, že enzymatická degradace je více účinná než degradace chemická. Při použití proteinázy-K byla totiž účinnost  $>97$  %, zatímco při použití ve studiích často využívaného hydroxidu sodného byla pouze  $91,3 \text{ \%} \pm 0,4 \text{ \%}$ .



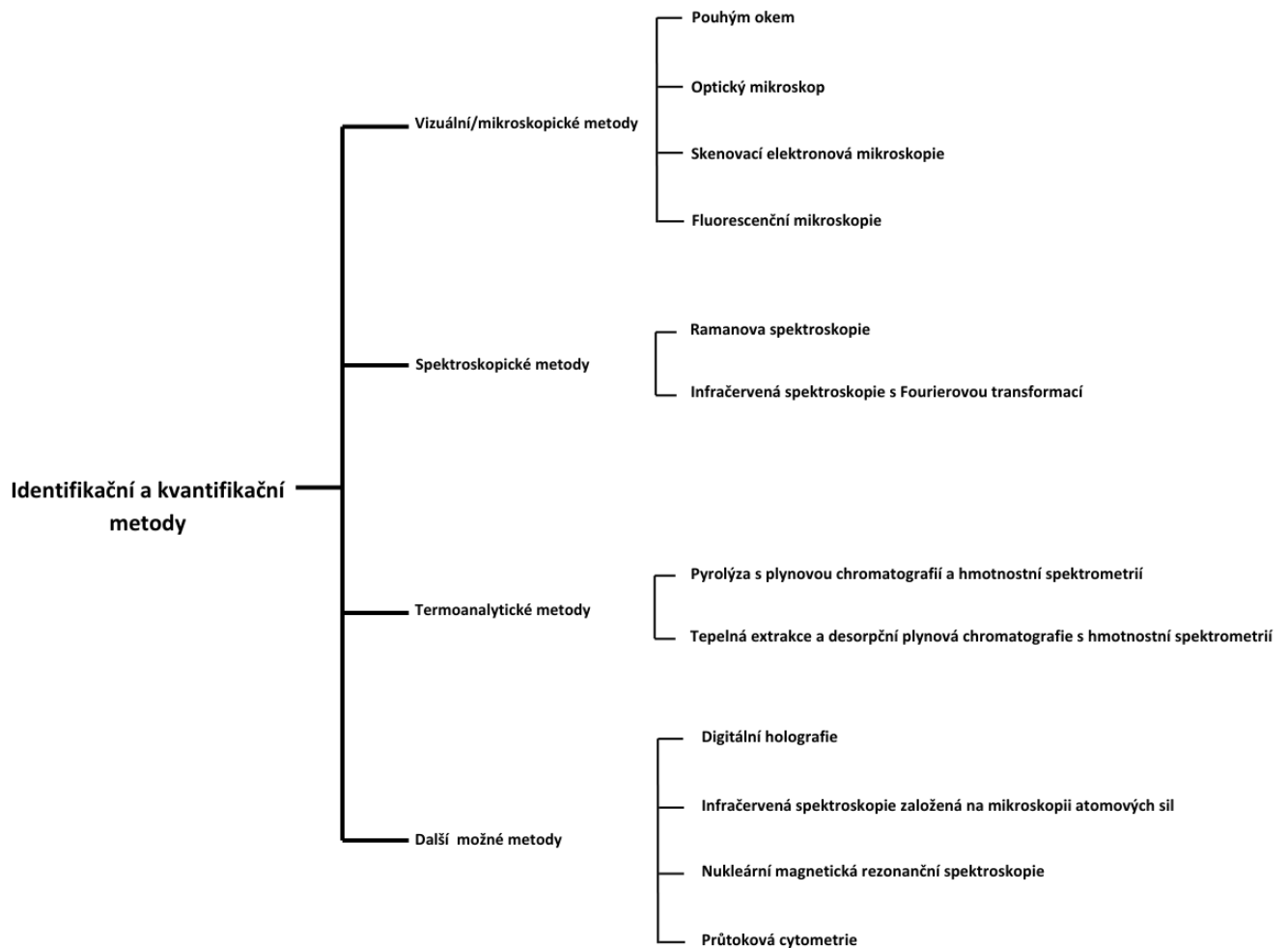
Obrázek č. 4: Přehled možného odběru vzorku a separace mikroplastů ze vzorku z různých matic (Upraveno dle: Prepilkova et al., 2022)

### 3.3 Identifikační a kvantifikační metody

K finálnímu kroku detekce mikroplastů, kterým je identifikace a kvantifikace, se používají různé detekční metody, jejichž výběr záleží na informaci, kterou chceme získat. Úkolem těchto metod je analyzovat fyzikální a chemické vlastnosti částic. Jednotlivé metody

se liší jak svým principem, tak i získanými informacemi a zároveň i svými výhodami a limitacemi (Woo et al., 2021). K dnešnímu dni bylo popsáno mnoho metod a každým rokem se objevují další inovace. Přesto, že stále neexistuje jedna obecně uznávaná metoda, několik se jich objevuje v literatuře nejčastěji. Patří mezi ně zobrazovací metody, spektroskopie či tepelné analýzy (Huang et al., 2022) a následující kapitola se jimi zabývá.

Schématický přehled identifikačních a kvantifikačních metod je znázorněn na obrázku č. 5.



Obrázek č. 5: Přehled identifikačních a kvantifikačních metod (Upraveno dle: Thaiba et al., 2023)

### 3.3.1 Zobrazovací metody

Tyto metody patří mezi první metody využívané k detekci mikroplastů, které bývají využívány již od 70.let 20.století, přestože v této době ještě nebyl pojem „mikroplast“ zaveden (Napper & Thompson, 2020). Mohou být provedeny pouhým okem nebo za pomoci optického mikroskopu (Shim et al., 2017). Protože je díky těmto metodám možné pozorovat částice, včetně jejich struktury a barvy, slouží hlavně ke kvantifikaci, k určení, zda se jedná o vlákno či fragment mikroplastu (Hanvey et al., 2017). Pouhým okem lze však identifikovat mikroplasty o rozměru pouze 1–5 mm (Shim et al., 2017), a proto je častější metodou použití optického mikroskopu, se kterým je možné identifikovat částice velké 100  $\mu\text{m}$  –100 nm (Kye et al., 2023) nebo lupy, která umožňuje vidět i částice do velikosti 1  $\mu\text{m}$ , ale identifikace je velmi obtížná, pokud má částice >100  $\mu\text{m}$  a je průhledná (Mariano et al., 2021).

Pro úspěšnou optickou detekci je klíčové vzorek nejprve zbavit organického materiálu, který by mohl zakrývat přítomné mikroplasty a způsobit tak chybné výsledky. Následně je prosíván přes nerezové síto a zbylý materiál umístěn na skleněnou desku, která je zkoumána pod mikroskopem. Částice identifikované jako mikroplasty jsou poté separovány pinzetou.

Výhodou optické mikroskopie je rychlost a také cenová dostupnost. Metoda je navíc nedestruktivní a je tedy možné vzorky podrobit další analýze, kterou bývá obecně doporučena Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací (FTIR, z ang. Fourier Transform Infrared) nebo Ramanova spektroskopie. Nevýhodou představuje nepřesnost v počítání způsobenou lidským faktorem, protože je pravděpodobné, že dojde k podhodnocení či nadhodnocení výsledků (Hanvey et al., 2017). Studie Songa et al. (2015) ukázala, že ve stejném vzorku byl metodou FTIR potvrzen 7,9krát vyšší počet bílých a průhledných fragmentů, než byl nalezen stereomikroskopem. Pravděpodobná je také nesprávná identifikace částice. Dle Eriksena et al. (2013) částice, které byly vizuálně identifikovány jako mikroplasty, byly následně identifikovány skenovací elektronovou mikroskopií spojenou s energeticky disperzní rentgenem (SEM-EDX, z ang. Scanning Electron Microscopy-Energy Dispersive X-ray) jako křemičitan hlinitý z uhelného popela.

S cílem dosáhnout kvalitnější optické identifikace lze použít například test horkou jehlou, který se zakládá na dotyku částice horkou jehlou a následném pozorování, zda částice byla horkem deformována. Tato metoda je ve většině případů destruktivní a Collard et al. (2019) ji doporučují použít výjimečně pouze jako doplnění ke spektroskopickým metodám. Další nevýhodou pouhé vizuální kontroly je absence možnosti určit druh polymeru, k čemuž je zapotřebí použití jiných technik jako například Ramanovy spektroskopie.

### 3.3.1.1 Skenovací elektronová mikroskopie

Skenovací elektronová mikroskopie nebo také rastrovací elektronová mikroskopie je nepřímá zobrazovací metoda, sloužící převážně ke zkoumání struktur materiálů. Využívá skenovací elektronový mikroskop (Bradbury et al., 2009), který umožňuje identifikovat morfologii a velikost mikroplastu ve vzorku. V porovnání s klasickým mikroskopem se v SEM pro vytvoření obrazu nevyužívá světlo, ale tenký svazek elektronů, který ve vakuu postupně dopadá v rastrovacím vzoru na vzorek. Elektrony interagují s atomy ve vzorku, vytvářejí různé signály, které jsou zachycovány detektory a převáděny na vizuální obraz v reálném čase.

SEM poskytuje oproti optické mikroskopii obraz s vysokým rozlišením, které se pohybuje mezi 0,5-20 nm (Nanoscience Instruments, b.d.). Dle Shima et al. (2017) toto umožňuje rozlišit organické částice od mikroplastových ve vzorku. Neumožňuje však rozlišit barvy mikroplastů, protože získaný obraz je černobílý a samotnou metodou SEM nelze určit ani typ polymeru (Crawford & Quinn, 2017). Pro potvrzení domněnky, že se skutečně jedná o mikroplast, je za potřebí následně analyzovat vzorek jinou metodou schopnou určit chemické složení.

Pokud se ale SEM zkombinuje s EDX můžeme získat i informace o prvkovém složení vzorku díky tomu, že při styku elektronů se vzorkem je vyzařováno rentgenové záření, jehož energie je charakteristická pro každý prvek detekovaný právě energiově disperzním spektrometrem (Cais, 2015). Díky této kombinaci má metoda pozitivní výsledky v odlišení malých mikroplastů (<1 mm–1 μm), od dalšího přítomného materiálu (A. Singh, 2016).

Vzorek je nutné před analýzou upravit, povrch totiž musí vykazovat vodivost, ale většina mikroplastů vodivá není (Huang et al., 2022). Zároveň musí být vzorek elektricky uzemněn, aby se předešlo akumulaci elektrostatického náboje. S tímto cílem je nutné vzorky pokrýt vodivou vrstvou, která bývá obvykle ze zlata nebo jiného prvku s vysokým atomovým číslem. Velkou nevýhodou SEM je finanční a časová náročnost. Mikroskop je navíc velký přístroj a musí být umístěn v prostředí nenarušovaném elektromagnetickým a vibračním rozhraním (Crawford & Quinn, 2017).

SEM (EDX) se nyní používá pouze k analýze specifických mikroplastů. Huang et. al (2022) proto tvrdí, že je potřeba překonat limitace této techniky, aby bylo možné ji aplikovat i na environmentální vzorky.

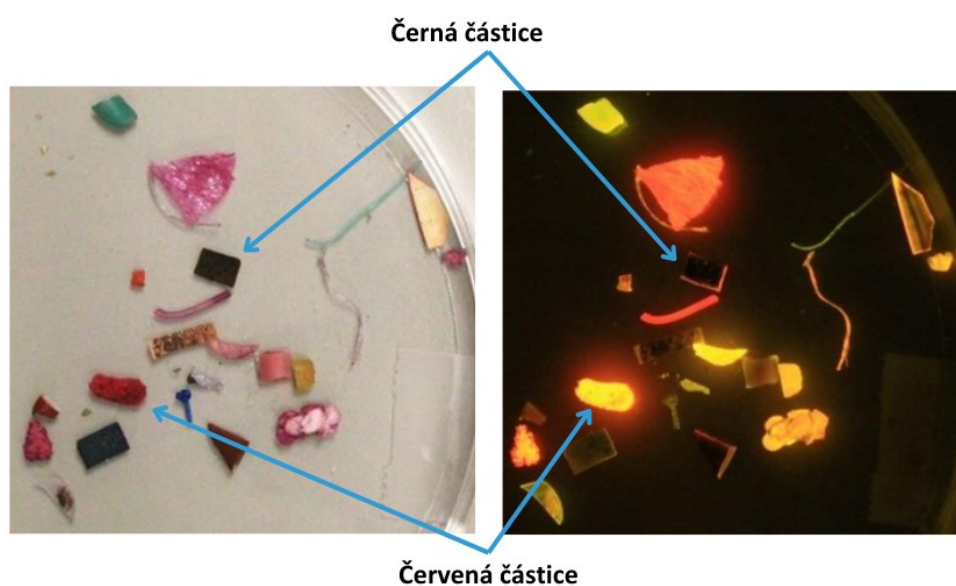
### 3.3.1.2 Fluorescenční mikroskopie

Fluorescenční mikroskopie se hojně využívá v buněčné biologii k vizualizaci buněčných struktur či jednotlivých organel buňky a v posledních letech se začala používat i jako jedna z metod pro detekci mikroplastů. Metoda je nedestruktivní a zobrazuje tvar částice, což nám umožňuje případně změřit i její velikost. Pomáhá usnadnit kvantifikaci počtu či koncentrace v různých environmentálních matricích (S. Liu et al., 2021). Neumožňuje však určit druh polymeru a v zájmu kompletní analýzy je nutné ji doplnit metodou umožňující určit chemické složení (Erni-Cassola et al., 2017). Vzhledem k tomu, že fluorescenční spektra narušují Ramanova spektra, doporučuje se po fluorescenci zařadit FTIR spektroskopii (Alonso-Vázquez et al., 2023), jež není fluorescencí nijak ovlivněna (Liza et al., 2024).

Fluorescenční mikroskopie je založena na principu fluorescence. K uskutečnění tohoto jevu se nejprve vzorek ozáří světlem o určené vlnové délce. Vzorek absorbuje tuto světelnou energii a jeho elektrony jsou fotony excitovány ze základního stavu na vyšší energetickou hladinu. O několik nanosekund později dojde k relaxaci, kdy elektrony klesnou na nejnižší hladinu a následně dojde k emisi světla. Protože při procesu dochází ke ztrátě energie a emitovaný foton má menší energii než absorbovaný, je vlnová délka emitovaného záření delší než ta, kterou byl vzorek původně ozářen (Sanderson et al., 2014). Takto vzniká charakteristické fluorescenční záření, které může být detekováno a analyzováno.

Samotné mikroplasty nefluoreskují, a proto je pro jejich detekci nutné použít barviva, která fluorescenci umožní. Nabarvení může být provedeno dvěma způsoby, a to suspenzí nebo ponořením. V průměru probíhá barvení 30–60 min, i když v některých případech probíhalo barvení velmi krátce (5 min) i velmi dlouho, po dobu 48 h (Ho et al., 2024). K barvení se využívá celá řada barviv, jako například iDye, laktofenolová modř, akridinová oranž, ale nejčastěji využívané barvivo je v současnosti tzv. nilská červeň (NČ) (9-diethylamino-5H-benzo[a]fenoxazin-5-on) (Ho et al., 2024), která byla již v roce 2010 navržena Andradym pro analýzu vzorků vodných matric (Parashar & Hait, 2023). Tato cenově dostupná látka je hydrofobní, metachromatická, fotochemicky stabilní a váže se přednostně na polymerní látky. Je nutné poznamenat, že na některé polymery se ale váže více než na jiné. Pro optimalizaci analýzy Ribeiro et al. (2024) doporučují použít NČ společně s jiným barvivem. Před samotným barvením je nutné barvivo rozpustit v organickém rozpouštědle, protože se špatně rozpouští ve vodě. Rozpouštědlem nejčastěji bývá aceton, ethanol, hexan, chloroform nebo methanol. Ukázalo se, že tato rozpouštědla zároveň mohou částečně degradovat mikroplasty, a proto Konde et al. (2020) doporučili směs acetonu a ethanolu ve stejném poměru. Pokud je

koncentrace NČ příliš vysoká, zintenzivní se sice fluorescenční záření, ale i pozadí (Maes et al., 2017). Aby se tomuto zabránilo, doporučuje se koncentrace NČ mezi 0,1 a 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (Ho et al., 2024). NČ se dobře váže na průhledné i barevné částice, ale limitace přichází, pokud se ve vzorku nachází mikroplasty černé barvy, protože se na ně barvivo špatně váže a tím pádem nefluoreskují tak silně jako částice jiných, světlejších barev. U černých částic často fluoreskují pouze okraje částic (Obr. č. 6), a tak může snadno dojít k chybě při kalkulaci. Pokud se při úpravě vzorku nepovede odstranit kompletně všechen přebytečný organický a biogenní materiál, je velmi pravděpodobné, že se při aplikaci barviva obarví také přírodní polymery, jako například lignin či chitin, které při ozáření mohou taktéž fluoreskovat a může tak dojít k falešně pozitivním výsledkům (Erni-Cassola et al., 2017).



Obrázek č. 6: Černé a barevné částice před a po fluorescenci (s laskavým svolením autora prof. Andrewa Mayse)

Při aplikaci na vzorek se barvivo váže na povrchy mikroplastů jakožto polymerních látek a následně je vzorek ozářen světlem s ideální vlnovou délkou 450–480 nm (Myles, 2021). Světlo se od vzorku emituje a přes emisní filtr prochází do okuláru mikroskopu či detektoru a obraz je následně zachycen fotoaparátém (Ho et al., 2024).

Zásadním faktorem k úspěchu je získání výrazného kontrastu mezi obarveným materiálem a pozadím. Vzhledem k tomu, že fluorescenční mikroskopy jsou velmi citlivé, mohou fluoreskovat i neplastové částice a pozadí (filtr, na kterém jsou umístěny částice) může odrážet

světlo tak, že znemožňuje segmentaci částic (Maes et al., 2017). Tomu se lze vyhnout například snížením intenzity excitace nebo použitím vhodného filtru tak, aby pouze nejkонтрастnější částice byly vidět (Ho et al., 2024).

I přesto, že je fluorescenční mikroskopie rychlejší a levnější v porovnání se spektroskopickými metodami, vzhledem k detekci mikroplastů má stále několik nedokonalostí, na které je potřeba se zaměřit, aby tato metoda mohla být považována za spolehlivou.

### 3.3.2 Spektroskopické metody

Do této skupiny detekčních metod patří Ramanova spektroskopie a FTIR spektroskopie. Ke dnešnímu datu uvádí přibližně 60 % vědeckých článků zabývajících se detekcí mikroplastů ve vodě a sedimentech jejich využití (Prata et al., 2019). V nedávno vydané normě ISO 24187 byly dokonce doporučeny pro detekci mikroplastů v životním prostředí. (ISO 24187 Environmental Microplastics, b.d.). Obě metody jsou založeny na principu měření interakce látky s elektromagnetickým zářením v infračervené oblasti a spojuje je i několik dalších charakteristik, například to, že obě slouží k identifikaci chemických sloučenin a jsou nedestruktivní. Zároveň má každá z nich i svoje limity, které jsou popsány níže.

#### 3.3.2.1 Ramanova spektroskopie

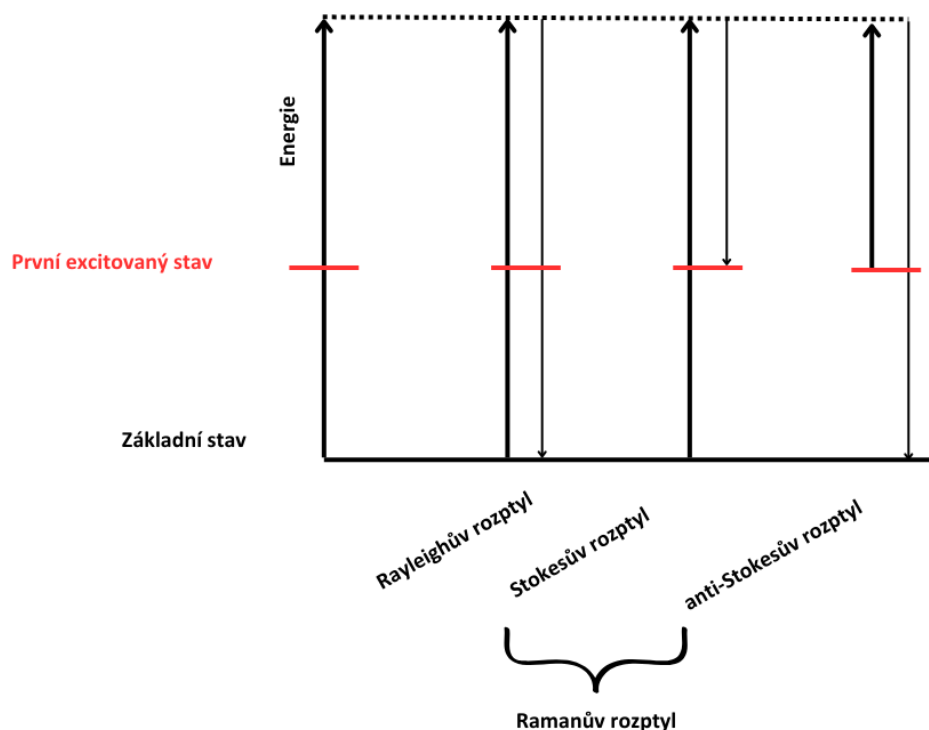
Ramanova spektroskopie patří mezi spektroskopické metody, sloužící ke kvalitativní i kvantitativní analýze (McCreery, 2000). Jde o nedestruktivní techniku, která má široké využití, protože je schopna analyzovat organické i anorganické látky, a to všech skupenství. Uplatnění má například v potravinářském průmyslu ke kontrole potravin, ve farmacii k vývoji nových léčivých látek, v geologii k identifikaci minerálů či v biologii k analýze buněk (Moravec, 2022). Vzhledem k tomu, že je Ramanova spektroskopie citlivá na nepolární molekuly, je vhodná také k detekci mikroplastů v environmentálních vzorcích.

Metoda Ramanovy spektroskopie je založena na principu Ramanova jevu (značen také jako Ramanův rozptyl). Nejprve je vzorek ozářen monochromatickým světlem vycházejícím z laseru. Fotony světla tak interagují s molekulami vzorku, jsou absorbovány a následně excitovány elasticky či neelasticky. Pokud mají vyzářené fotony stejnou vlnovou délku jako měly fotony dopadající na vzorek, rozptyl je elastický a jedná se tedy o Rayleighův rozptyl. Pokud však mají odlišnou vlnovou délku, jde o Ramanův rozptyl. Pakliže je vlnová délka



excitovaných fotonů kratší, značíme tento posun jako Stokesův, a pokud je delší, značíme ho jako anti-Stokesův posun (Obr. č. 7) (Moravec, 2022).

Neelastický Ramanův posun je méně pravděpodobný než posun elastický, pouze 1 ze 30 milionů fotonů je rozptýlen neelasticky (Crawford & Quinn, 2017).



Obrázek č. 7: Schéma Ramanova rozptylu (upraveno dle: Moravec, 2022)

Rozdíly mezi vlnovými délkami dopadajícího a rozptýleného záření jsou specifické pro různé typy vazeb, na které záření působí. Tato spektra pak lze porovnat s Ramanovými referenčními spektry a identifikovat tak složení vzorku (Crawford & Quinn, 2017).

Výhodou této metody je, že je nedestruktivní a vzorek nepotřebuje mnoho úprav. Je možné analyzovat plynné i pevné látky, a dokonce i vodné roztoky, protože voda poskytuje velmi slabý signál (Moravec, 2022).

Běžná Ramanova spektroskopie je vhodná k detekci částic větších než 10  $\mu\text{m}$ , ale při kombinaci Ramanovy spektroskopie a mikroskopie ( $\mu$ -Raman) je možné detekovat částice větší než 1  $\mu\text{m}$  (Mariano et al., 2017). Další pozitivní aspekt spočívá v možnosti identifikovat specifický typ polymeru (Boyden et al., 2022). Nevýhodou je, že pokud byl vzorek delší dobu vystaven UV záření, může degradovat. To může zapříčinit nepřesnost měření, protože degradace způsobí snížení intenzity vrcholů Ramanova spektra (Silva et al., 2018).

Další komplikací může být také fluorescence, která může interferovat. Fluorescence se vyskytuje na stejné vlnové délce jako Ramanův signál, ale může být intenzivnější a tím pádem ztížit interpretaci výsledků (De Luca et al., 2009). Této překážce lze zamezit například použitím laseru s vlnovou délkou blízkou infračervenému záření (Wei et al., 2015). Za účelem prevence fluorescence a přesnější identifikace polymerů doporučují Löder & Gerdts (2015) také vzorek předem řádně purifikovat.

Některé látky nejsou ramanovsky aktivní, a proto je k Ramanově spektroskopii považována jako vhodná komplementární FTIR spektroskopie, protože může doplnit výsledky o informace z infračerveného spektra (Löder & Gerdts, 2015), jež nebyly zobrazeny v Ramanově rozptylu.

### 3.3.2.2 Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací

FTIR spektroskopie je další spektroskopickou metodou a zároveň nejvíce používanou metodou IR analýzy (B. Singh & Kumar, 2024). Jak již bylo zmíněno výše, tato technika je nedestruktivní a slouží ke kvalitativní analýze. Umožňuje nám získat informace o specifických chemických vazbách částic. Jelikož se touto metodou snadno detekují polymery na bázi uhlíku a jednotlivé typy vazeb vytvářejí charakteristická spektra, je také možné ve vzorku rozlišit plasty od ostatních organických a anorganických částic (Shim et al., 2017).

FTIR spektroskopie je založena na principu ozařování vzorku infračerveným zářením, jehož fotony interagují s molekulami vzorku. Ty mohou fotony absorbovat či vyzářit. Pokud je foton absorbován molekulou, změní se jeho vibrační stav ze základního do excitovaného vibračního (Mariano et al., 2017). Detektor následně měří absorpci infračerveného záření o různých vlnových délkách. Po identifikaci IR spekter je lze porovnat s elektronickou databází spekter a určit tak například druh plastu (Crawford & Quinn, 2017).

Analýze vzorku musí nejprve předcházet úprava, která sama o sobě může být velmi časově i technicky náročná (Guide to FTIR Spectroscopy, b. d.). Vzhledem k tomu, že voda silně pohlcuje IR záření, vzorek musí být kompletně vysušen a kvůli tomuto faktu nelze analyzovat vzorky všech skupenství, což bývá obecně považováno za největší limitaci této techniky (Ivleva, 2021).

Kvůli vysoké absorpci IR záření černými částicemi je také nutné je purifikovat, aby bylo možné dosáhnout správné identifikace polymeru ve vzorku (Löder & Gerdts, 2015). Dále je nutné, aby byl vzorek dostatečně průhledný, aby jím IR záření mohlo projít (Crawford & Quinn, 2017).

V rámci FTIR analýzy mikroplastů jsou dostupné různé režimy, které se většinou volí na základě velikosti měřené částice (Y. Liu et al., 2024), včetně transmisního, odrazového

a režimu zeslabené celkové odrazivosti (ATR, z ang. Attenuated Total Reflection) (Shim et al., 2017). Při využití ATR režimu je možné analyzovat neprůhledné vzorky či vzorky s velkou tloušťkou, a to poskytuje značnou výhodu. Na druhou stranu je ale možné analyzovat pouze vzorky větší, než 500  $\mu\text{m}$  (Huppertsberg, & Knepper, 2018) a vzorky navíc vyžadují předběžné vytrídění předpokládaných mikroplastových částic a každá částice je analyzována jednotlivě, což je zdlouhavý proces (Y. Liu et al., 2024).

Pro analýzu menších částic (<300  $\mu\text{m}$ ) lze využít kombinaci mikroskopie a FTIR neboli mikro FTIR ( $\mu\text{FTIR}$ ). Touto kombinací lze určit částice až o velikosti 10  $\mu\text{m}$  (Y. Liu et al., 2024), ale nevýhodu znovu představuje časová náročnost analýzy (Shim et al., 2017). U běžně používaných FTIR mikroskopů je zdrojem klasický infračervený zdroj neboli globar. Záření je detekováno detektory pro infračervenou oblast záření, ale tyto detektory mají pouze jeden detektorový element, schopný měřit jen jeden bod (tedy pouze jeden pixel) a měření je tak velmi pomalé. S řešením tohoto problému přišla před pár lety nová metoda, která k detekci využívá FPA (z ang. Focal Plane Array) detektor, jež se skládá ze čtvercově uspořádaných infračervených detektorů (často  $64 \times 64$  či  $128 \times 128$  detektorů). Využití tohoto detektoru umožňuje sběr dat z více bodů a díky tomu rychlejší zobrazování (Xie et al., 2024). Samotná analýza se i přesto ukazuje být časově náročnou, například filtr o průměru 11 mm se analyzuje skoro 12 hodin (Löder et al., 2015).

Pokročilejší technologií je metoda kombinující FTIR a kvantový kaskádový laser (QCL, z ang. Quantum-Cascade Laser). QCL umožňuje emitovat silné infračervené světlo s vyšší intenzitou při vlnové délce, kterou si uživatel může sám zvolit. Vysoká intenzita QCL záření vylepšuje poměr signálu k šumu (SNR, z ang. Signal to noise ratio) (Xie et al., 2024) a navíc i je možné využít plošný bolometr FPA, který je schopný měřit s rozlišením 0,2  $\mu\text{m}$  až 90.000 spekter najednou a umožňuje tak daleko rychlejší analýzu (HYPERION II FTIR and QCL Microscope, b.d.).

### 3.3.3 Termoanalytické metody

Termoanalytické metody používané pro detekci mikroplastů zahrnují majoritně pyrolýzu s plynovou chromatografií a hmotnostní spektrometrií (Pyr-GC-MS) či tepelnou extrakci a desorpční plynovou chromatografií s hmotnostní spektrometrií (TED-GC-MS) (Primpke et al., 2020). Obě zmíněné techniky se zakládají na stejném principu: specializované

jednotky (pyrolyzér a termogravimetrický systém) tepelně rozkládají vzorek v inertní atmosféře a vzniklé produkty jsou následovně analyzovány plynovou chromatografií s hmotnostní spektrometrií (GC-MS). Každý polymer produkuje během tepelného rozkladu charakteristické produkty a ionty (Mariano et al., 2021), které je možné porovnat s referenčními mapami známých čistých polymerů, na základě kterých je možné vyhodnocení (Fischer & Scholz-Böttcher, 2017). Díky spojení s hmotnostní spektrometrií a plynovou chromatografií slouží jak ke kvalitativní, tak i hmotnostně kvantitativní analýze, neboť umožňují identifikovat druhy polymerů i jejich aditiv a zároveň určují i celkovou hmotnost (Kumar et al., 2024). Určení celkové hmotnosti však může být nevýhodou, pokud chceme zjistit počet částic. Oproti výše popsaným metodám, které analyzovaly u jednotlivých částic pouze povrch (Hermabessière et al., 2018), termoanalytické metody analyzují celkovou hmotu a poskytují komplexní charakteristiku. Spolu s polymery je zároveň ve stejný čas možné analyzovat i přítomná aditiva (L. Liu et al., 2019) a značnou výhodou je nepotřeba složité úpravy vzorku. Největší limitací je však destruktivnost, kvůli které není následně možné analyzovat vzorek jinými metodami (Crawford & Quinn, 2017), a proto se doporučuje, aby termoanalytickým metodám předcházela některá ze spektroskopických (Chen et al., 2020).

### 3.3.3.1 Pyrolýza s plynovou chromatografií a hmotnostní spektrometrií

Při pyrolýze je vzorek vložen do vzorkovací komory s inertní atmosférou, ve které je rychle ohřát na teplotu 200–600 °C. Díky vysoké teplotě dochází k rozkladu velkých molekul s vysokou molekulovou hmotností na menší molekuly s menší molekulovou hmotností. Produkty pyrolýzy se dělí plynovou chromatografií a složení vzorků se následně analyzuje za pomoci hmotnostní spektrometrie (Havličková, 2022). Je zaznamenán chromatogram, kde jsou jednotlivé produkty rozkladu, které jsou následně porovnány s databází hmotnostních spekter (Crawford & Quinn, 2017).

Metoda je považována za velmi spolehlivou (Kumar et al., 2024), ve studii Matsueda et al. (2021) byla prokázána odchylka maximálně 10 %. Limitací je hmotnost vzorku, který může vážit pouze 0,1 až 0,5 mg (Dümichen et al., 2017) a navíc analýza jednoho vzorku trvá 30–100 minut (W. Wang & J. Wang, 2018). Další nevýhodou je, že při pyrolýze polymerů vznikají degradační produkty, které kvůli své vyšší molekulové hmotnosti ( $>400 \text{ g mol}^{-1}$ ) kondenzují a blokují kapiláry systému, což vyžaduje velmi náročnou údržbu (Dümichen et al., 2017).

Za účelem minimalizace těchto limitací byla technika postupně vylepšována a byla vyvinuta například tepelná extrakce a desorpční plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií (TED-GC-MS).

### 3.3.3.2 Tepelná extrakce a desorpční plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií

Tato metoda kombinuje termogravimetrickou analýzu pevného skupenství (TGA) s tepelnou desorpční plynovou chromatografií a hmotnostní spektrometrií (TD-GC-MS) a je rozdělena do dvou fází. Během první fáze je vzorek rozkládán při teplotě dosahující 600 °C a degradační produkty jsou zachytávány na adsorbérech pevné fáze (Dümichen et al., 2017). Ve druhé fázi jsou adsorbéry analyzovány desorpční plynovou chromatografií a hmotnostní spektrometrií.

Ve srovnání s Pyr-GC-MS tuto metodu zvyhodňuje schopnost analyzovat vzorky až o 200krát větší hmotnosti (Dümichen et al., 2015), tedy až 20 mg (Dümichen et al., 2017) a díky tomu je rychlejší než samotná Pyr-GC-MS (Havlíčková, 2022). Nepřehlédnutelnou výhodou oproti Pyr-GC-MS je možnost zachytit těžší sloučeniny, které mohou ucpávat kolony GC systému (Sorolla-Rosario et al., 2023). Díky zachycení zůstává systém čistý a údržba není nákladná (Dümichen et al., 2017).

### 3.3.4 Potenciální metody

Kromě výše uvedených metod, které jsou nejfrekventovaněji používané, bylo a stále je experimentováno s dalšími technikami za účelem překonat limitace výše uvedených. Recentně se začaly objevovat metody jako například infračervená spektroskopie založená na mikroskopii atomových sil (AFM-IR), optická fototermální infračervená spektroskopie (O-PTIR), digitální holografie kombinovaná s umělou inteligencí, průtoková cytometrie, hmotnostní spektrometrie s maticovou laserovou desorpčí/ionizací (MALDI-TOF) či nukleární magnetická rezonanční spektroskopie (NMR). U těchto metod se zdá, že by mohly uplatnění v detekci mikro a nanoplastů. Protože však byly zatím použity v minimu studiích, nelze toto tvrdit s jistotou. Přehled běžně používaných i potenciálních metod je uveden v tabulce č.1., str. 38, 39.

Tabulka č.1: Přehled identifikačních a kvantifikačních metod a jejich výhod a limitací (upraveno dle Mariano et al., 2021; doplněno o další zdroje viz tabulka)

METODA	ZÍSKANÉ INFORMACE	VÝHODY	LIMITACE	ZDROJE
Pouhým okem	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Tvar částic</li> <li>○ Počet částic</li> <li>○ Velikost částic</li> <li>○ Barva částic</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Cenově nenákladná</li> <li>○ Rychlá analýza</li> <li>○ Snadno přístupná</li> <li>○ Nedestruktivní</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Možné identifikovat částice pouze o rozměru 1-5 mm</li> <li>○ Pravděpodobnost lidské chyby při kvantifikaci</li> <li>○ Nelze určit typ polymeru</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Shim et al., 2017</li> <li>○ Hanvey et al., 2017</li> </ul>
<b>ZOBRAZOVACÍ METODY</b>				
Optický mikroskop	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Tvar částic</li> <li>○ Počet částic</li> <li>○ Velikost částic</li> <li>○ Barva částic</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Cenově nenákladná</li> <li>○ Rychlá analýza</li> <li>○ Snadno dostupná</li> <li>○ Nedestruktivní</li> <li>○ Částice o velikosti 100 μm –100 nm</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Nelze určit typ polymeru</li> <li>○ Pravděpodobnost zaměnění přírodního materiálu za syntetický</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Hanvey et al., 2017</li> <li>○ Eriksen et al., 2013</li> </ul>
SEM-EDX	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Tvar částic</li> <li>○ Počet částic</li> <li>○ Velikost částic</li> <li>○ Černobílý obraz částic a jejich povrchu</li> <li>○ Elementární složení</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Vysoké rozlišení obrazu</li> <li>○ Vhodné pro zkoumání degradace MP</li> <li>○ Velikost částic až do nanorozměrů</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Složitá úprava vzorku</li> <li>○ Přístroj je prostorově rozměrný a potřebuje speciální podmínky</li> <li>○ Nelze určit typ polymeru, barvu</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ A. Singh, 2016</li> <li>○ Crawford &amp; Quinn, 2017</li> <li>○ Huang et al., 2022</li> </ul>
Fluorescenční mikroskopie	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Tvar částic</li> <li>○ Počet částic</li> <li>○ Velikost částic</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Cenově nenákladná</li> <li>○ Snadno dostupná</li> <li>○ Nedestruktivní</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Nelze určit typ polymeru</li> <li>○ Nespolehlivé barvení</li> <li>○ Nelze kombinovat s Ramanovou spektroskopií</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ S. Liu et al., 2021</li> <li>○ Erni-Cassola et al., 2017</li> </ul>
<b>SPEKTROSKOPICKÉ METODY</b>				
μ-Raman	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Tvar částic</li> <li>○ Počet částic</li> <li>○ Velikost částic</li> <li>○ Barva částic</li> <li>○ Typ polymeru</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Nedestruktivní</li> <li>○ Analýzu částic až do minimální velikosti 1 μm s vysokým rozlišením</li> <li>○ Analýza vzorků všech skupenství</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Časová náročnost analýzy</li> <li>○ Nutné chladit přístroj tekutým dusíkem</li> <li>○ Je více efektivní na čisté vzorky, než na vzorky z ŽP</li> <li>○ Fluorescenční záření může interferovat</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Boyden et al., 2022</li> <li>○ Silva et al., 2018</li> <li>○ De Luca et al., 2009</li> </ul>
μFTIR	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Tvar částic</li> <li>○ Počet částic</li> <li>○ Velikost částic</li> <li>○ Barva částic</li> <li>○ Typ polymeru</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Nedestruktivní</li> <li>○ Analýza částic až do minimální velikosti 10 μm</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Časová náročnost analýzy</li> <li>○ Nutné chladit přístroj tekutým dusíkem</li> <li>○ Limitovaný počet částic během 1 analýzy</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Y. Liu et al., 2024</li> <li>○ Shim et al., 2017</li> </ul>
FPA FTIR	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Tvar částic</li> <li>○ Počet částic</li> <li>○ Velikost částic</li> <li>○ Barva částic</li> <li>○ Typ polymeru</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Nedestruktivní</li> <li>○ Rychlejší zobrazování než jiné FTIR analýzy</li> <li>○ Analýza částic &gt; 20 μm</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Finančně náročná</li> <li>○ Nutné chladit přístroj tekutým dusíkem</li> <li>○ Časová náročnost analýzy</li> <li>○ Velké množství získaných dat</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Xie et al., 2024</li> <li>○ Löder et al., 2015</li> </ul>

FTIR-QCL	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Tvar částic</li> <li>○ Počet částic</li> <li>○ Velikost částic</li> <li>○ Barva částic</li> <li>○ Typ polymeru</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Není nutné chladit přístroj tekutým dusíkem</li> <li>○ Rychlejší oproti jiným FTIR metodám</li> <li>○ Vysoké rozlišení obrazu (0,2 μm)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Finančně náročná</li> <li>○ Časově náročná</li> <li>○ Silný zdroj může poškodit vzorek</li> <li>○ Dopusud nedostatečně ověřena na vzorcích z ŽP</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Xie et al., 2024</li> <li>○ HYPERION II FTIR and QCL Microscope. (b.d.)</li> </ul>
<b>TERMOANALYTICKÉ METODY</b>				
Pyr-GC-MS	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Typ polymeru</li> <li>○ Celková hmotnost</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Minimální potřeba úprav vzorku</li> <li>○ Současně analýza aditiv</li> <li>○ Spolehlivá metoda</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Destruktivní</li> <li>○ Možná pouze analýza malého množství vzorku (0,1–0,5 mg)</li> <li>○ Nutné jednotlivé a manuální vložení vzorku do jednotky</li> <li>○ Analýza pouze omezených typů polymerů</li> <li>○ Nákladné udržování systému</li> <li>○ Nezískáme počet, velikost, tvar ani barvu částic</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Kumar et al., 2024</li> <li>○ Matsueda et al., 2021</li> <li>○ Dümichen et al., 2017</li> <li>○ W. Wang &amp; J. Wang, 2018</li> </ul>
TED-GC-MS	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Typ polymeru</li> <li>○ Celková hmotnost</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Minimální potřeba úprav vzorku</li> <li>○ Současně analýza aditiv</li> <li>○ Spolehlivá metoda</li> <li>○ Možnost analýzy vzorků o hmotnosti až 20 mg</li> <li>○ Oproti Pyr-GC-MS nedochází k ucpávání systému</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Destruktivní</li> <li>○ Nezískáme počet, velikost, tvar ani barvu částic</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ Dümichen et al., 2015</li> <li>○ Dümichen et al., 2017</li> <li>○ Sorolla-Rosario et al., 2023</li> </ul>

### 3.4 Aspekty limitací detekce mikroplastů

Stanovení mikroplastů je složitým procesem a může docházet k různým chybám. Přestože v předchozích kapitolách již byly naznačeny některé aspekty, tato kapitola nastíní ty, které nemusí být na první pohled tak očividné, ale které mohou velmi ovlivňovat celkové hodnocení problematiky.

Částice, které by se podobaly těm z životního prostředí, jsou těžko dostupné a ve většině studií se tak využívají za tímto účelem vyrobené primární mikroplasty. Ty jsou ale zhotoveny ve stejné velikosti, pravidelném tvaru a jsou čisté. Svými vlastnostmi se tak liší od mikroplastů, které vznikly mechanickou abrazí nebo foto oxidačními procesy v životním prostředí, kvůli čemuž jsou polydisperzní, mají nepravidelný tvar a také změněný povrch. Ten je méně hydrofobní, tedy má odlišnou smáčivost a částice jsou kvůli tomu náchylnější například k sorpci jiných kontaminantů a jsou více toxické (Kefer et al., 2021).

Různá velikost a tvar částic navíc ovlivňuje i to, jak působí na organismy. Jak již bylo naznačeno, nanoplasty se ukazují být větším nebezpečím. Výzkumy, které se zabývají dopady mikroplastů na organismy a využívají pouze primární mikroplasty tedy jen naznačují nebezpečnost mikroplastů. V laboratorních podmínkách je navíc čas expozice kratší než v realitě a výsledky tak nepopisují skutečnost exaktně.

Další nevýhodou používání záměrně vyrobených mikroplastů je i to, že detekční metody nemusí být stejně efektivní na částice původem z životního prostředí. Různé nečistoty, aditiva či pigmenty mohou interferovat například při použití Ramanovy spektroskopie a komplikovat určení polymeru, protože vytvořené spektrum nebude odpovídat žádnému v databázi Ramanových interferenčních spekter. Z tohoto důvodu je snaha o rozšíření této databáze i o spektra různých vzorků, jež nejsou pouze čisté polymery (Munno et al., 2020).

Nesjednocená klasifikace velikosti mikro a nanoplastů může vést k nejednotným výsledkům. Například ve studii Qiana et al. (2024) uvádí, že v lahvích balené vody bylo úspěšně detekováno řádově více mikro-nano částic (uvádí  $2.4 \pm 1.3 \times 10^5$  částic/litr), než se povedlo v předchozích studiích. Také ale uvádí, že 90 % těchto částic bylo tvořeno nanoplasty a zbylých 10 % byly mikroplasty s majoritní velikostí  $<2 \mu\text{m}$ . V předchozích studiích, se kterými své výsledky srovnávají, ale detekcí těchto rozměrů nedosáhli (většina poukazuje na částice pouze o velikosti v rozsahu od 5–20  $\mu\text{m}$ ). Studie počtem detekovaných částic tedy nelze srovnávat, protože byly zaměřeny na jinak velké částice. V této studii poukázali na fakt, že balená voda pravděpodobně obsahuje více částic, než bylo známo doposud, ale na druhou stranu je zde uvedena i relativně vysoká nejistota měření, která je přibližně 50 %.

Nesrovnalostí je i používání různých měrných jednotek při odběru vzorků z životního prostředí. V případě kapalných vzorků lze použít poměr hmotnosti/koncentrace částic na plochu/objem vody a v případě sedimentů lze navíc odlišit hmotnost vzorku v mokřém či suchém stavu. Tento faktor může velmi zkomplikovat či znemožnit srovnání. Je tedy doporučeno, aby byly ve studiích uváděny obě možnosti či dostatečná data umožňující konverzi (Crawford & Quinn, 2017).

Všechny metody mají limitace v podobě malého množství analyzovaného vzorku a časové náročnosti. Například u metody TED-GC-MS, která umožňuje určit celkovou hmotnost složek ve vzorku, je zatím možné analyzovat vzorek o hmotnosti 20 mg. Při představě analyzovat vzorky půdy z rozsáhlé oblasti je využití této metody nereálné kvůli časové náročnosti. Z tohoto důvodu se využívá k analýze pouze několik reprezentativních vzorků a míra spolehlivosti je velmi diskutabilní. Ve studii Quiana et al. (2024), ve které detekovali mikro a nano plasty v balené vodě, použili celkově pouze šest lahví (dvě lahve od tří různých



firem) navíc o neznámém objemu. Takový počet vzorků je podle mého názoru velmi sporný a nedostatečný.

Pro detekci mikroplastů metodou FTIR se používají filtry, které na sobě mají částice za cílem analýzy. Protože analýza jednoho filtru může trvat 10 hodin a více, v běžné praxi se analyzuje pouze část filtru a podle získaných výsledků z té části se následně dopočítá množství celého filtru. Například Mintenig et al. (2017) ve své studii analyzovali pouze 25 % filtru (o průměru 11 mm), na základě kterého byla celková hodnota vypočítána. I přestože je snaha o to, aby byl vzorek na filtru rovnoměrně rozložen, nemusí se to podařit a je tím zvýšena pravděpodobnost chybných výsledků.

V neposlední řadě je nutné podotknout, že informace uvedené ve studiích nejsou vzhledem k nejednotné metodice vždy zcela správné. Mohou se však stát zdrojem pro novinové články, a tím pádem může docházet k dezinformovanosti čtenářů. Například Senathirajah & Palanisami (2019) při zveřejnění předběžných výsledků své studie uvedli, že člověk může potenciálně za jeden týden požít 5 g mikroplastů. Již ve stejném roce uvedl Světový fond na ochranu přírody (WWF, z ang. World Wildlife Fund) zprávu, že člověk by za týden mohl požít stejné množství mikroplastů jako je v kreditní kartě (*Could You Be Eating a Credit Card a Week*, 2019) a následně se začaly publikovat i v důvěryhodných zpravodajských organizacích články uvádějící tento údaj. Toto tvrzení bylo silně zkritizováno, protože se ukázalo, že autoři chybovali ve výpočtech převážně kvůli převzatým údajům z dalších studií, ve kterých se používaly různé jednotky. Tato kritika se bohužel víc nerozšířila a dodnes se šíří dále informace, že za týden „zkonzumujeme platební kartu“.

## 4 Závěr

Důsledkem antropogenní činnosti se míra znečištění životního prostředí plasty neustále navyšuje. Podstatným zdrojem jsou předměty, které se po transportu do životního prostředí nerozkládají kompletně, ale rozpadají na postupně menší a menší částice neboli mikroplasty. Ke dnešnímu dni byla jejich přítomnost potvrzena ve všech částech naší planety, včetně všech složek životního prostředí. Následkem toho začal vzrůstat zájem o výzkum jejich účinků na organismy společně s člověkem. Tento výzkum je sice teprve na začátku, ale již dosavadní studie ukazují, že mikroplasty představují značné nebezpečí a navíc poukazují, že nanoplasty mají i dalekosáhlejší účinky. Pro řádný monitoring životního prostředí a pochopení distribuce a chování bylo vyvinuto široké spektrum metod, ale žádná z nich se neprokázala jako optimální. Metody jsou limitovány například dlouhou dobou analýzy, schopností analyzovat pouze malé množství vzorku či velikostí částic, kterou je možné spolehlivě analyzovat. Majorita vědeckých studií nevyužívá reálné vzorky mikroplastů z životního prostředí a získané informace tak mohou být zkreslené. Doposud navíc chybí standardizace metodiky. Přestože počet studií zabývajících se touto problematikou stoupá a díky tomu se daří prohlubovat i naše znalosti, tato vědní oblast má značné nedostatky, které je klíčové minimalizovat.

Primární nutností je vytvoření oficiální definice velikostí mikro a nano plastů tak, aby byla obecně uznávaná a autoři budoucích publikací nemuseli tápat, jaké označení použít. Dále je potřeba sjednotit způsob vyjádření koncentrace částic ve studovaných subjektech. Nezbytností je také standardizace metodik odběru vzorků, extrakce mikroplastů ze vzorků i jejich následné identifikace a kvantifikace. Jednotná metodika a terminologie umožní kvalitnější srovnání výsledků napříč studiemi a přispěje k celkově lepšímu pochopení distribuce a chování mikro i nano plastů. Standardizace navíc umožní i vytvoření legislativy, která by mohla pomoci s kontrolou a omezením plastových výrobků a díky tomu pomohla i ke snížení výskytu mikroplastů v životním prostředí.

Pro exaktní studium negativních dopadů mikro a nano plastů na organismy včetně člověka by měly být vytvořené co nejrealnější podmínky. To znamená využívat částice odebrané z životního prostředí a simulovat reálnou dobu expozice.

V současnosti je velmi obtížné spolehlivě detekovat mikroplasty přímo v environmentálních vzorcích, hlavně pokud se jedná o vzorky se složitou maticí. Se zmenšující se velikostí částic se to stává až nemožné. Je tedy nutná technologická inovace, která by toto umožňovala.

Pro komplexní analýzu mikroplastů je klíčové získat informace o jejich fyzikálních (velikost, tvar, barva) a chemických (typ polymeru) vlastnostech. Zjistit oba typy informací není možné

jednou metodou, a tak se nabízí použití multimetodického přístupu. Některé metody spolu zkombinovat nelze, například fluorescenční mikroskopii a Ramanovu spektroskopii, protože fluorescence může překrýt signál Ramanova rozptylu. Vhodnou kombinací se jeví nejprve použití fluorescenční mikroskopie a následná aplikace FTIR-QCL. Fluorescenční mikroskopie umožní ve vzorku zobrazit potenciální plastové částice a následné použití FTIR-QCL dokáže mikroplastové částice potvrdit díky identifikaci přítomných polymerů.

Proces identifikace a kvantifikace je u všech metod prozatím velmi zdlouhavý, a tedy nevhodný k rutinní práci. Automatizace identifikace a kvantifikace či využití umělé inteligence se ukazuje jako možný krok k dosažení rychlejších výsledků při analýze.

Ideální by bylo vyvinout jednu metodu, která by byla schopna detekovat částice o velikosti nanorozměrů ve vzorcích bez složitých úprav tak, aby bylo možné zobrazit i jejich tvar a změřit jejich velikost. Dále by měla být schopná analyzovat typy přítomných polymerů, případně i jejich aditiva. Analýza touto metodou by neměla být časově náročná a v neposlední řadě by se mělo jednat o metodu dostupnou a rutinní.

## 5 Zdroje

Adomat, Y., Kahl, M., Musche, F., & Grischek, T. (2022). Evaluation of microplastics sediment sampling techniques—efficiency of common methods and new approaches. *Microplastics and Nanoplastics*, 2(1). <https://doi.org/10.1186/s43591-022-00047-x>

Ali, N., Katsouli, J., Marczylo, E. L., Gant, T. W., Wright, S., & De La Serna, J. B. (2024). The potential impacts of micro-and-nano plastics on various organ systems in humans. *EBioMedicine*, 99, 104901. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2023.104901>

Alonso-Vázquez, P., Luján-Facundo, M., Cuartas-Urbe, B., Bes-Piá, A., Alonso, J., & Mendoza-Roca, J. (2023). Advances in analysis of microplastics in drinking water treatment plants. Fluorescence techniques using iDye Pink. *Environmental Technology and Innovation*, 32, 103430. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2023.103430>

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>

Andrady, A. L., & Neal, M. A. (2009). Applications and societal benefits of plastics. *Philosophical Transactions - Royal Society. Biological Sciences*, 364(1526), 1977–1984. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0304>

Aves, A., Revell, L. E., Gaw, S., Ruffell, H., Schuddeboom, A., Wotherspoon, N. E., LaRue, M. A., & McDonald, A. (2022). First evidence of microplastics in Antarctic snow. *the Cryosphere (Print)*, 16(6), 2127–2145. <https://doi.org/10.5194/tc-16-2127-2022>

Barrows, A. P., Neumann, C. A., Berger, M. L., & Shaw, S. D. (2017). Grab vs. neuston tow net: a microplastic sampling performance comparison and possible advances in the field. *Analytical Methods*, 9(9), 1446–1453. <https://doi.org/10.1039/c6ay02387h>

Bergmann, M., Gutow, L., & Klages, M. (2015). Marine Anthropogenic litter. In *Springer eBooks*. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-16510-3>

Boháčková, J., & Cajthaml, T. (2022). Mikroplasty. In *Environmentální výzkum a hrozby 21. století* (pp. 38–54). Karolinum. <https://www.bookport.cz/kniha/environmentalni-vyzkum-a-hrozby-21-stoleti-10873/>

Boucher, J., & Friot, D. (2017). *Primary microplastics in the oceans: A global evaluation of sources*. <https://doi.org/10.2305/iucn.ch.2017.01.en>

Boyden, M. N., Kleist, E. M., Asztalos, C. K., & Korter, T. M. (2022). Determination of the polymer composition of mid-twentieth century purses by Raman spectroscopy. *Heritage Science*, 10(1). <https://doi.org/10.1186/s40494-022-00743-0>

Bradbury, S., Joy, D. C., & Ford, B. J. (2009, December 10). *Scanning electron microscope (SEM) | Definition, Images, Uses, Advantages, & Facts*. Encyclopedia Britannica. <https://www.britannica.com/technology/scanning-electron-microscope>

Browne, M. a. O., Niven, S. J., Galloway, T. S., Rowland, S., & Thompson, R. C. (2013). Microplastic moves pollutants and additives to worms, reducing functions linked to health and biodiversity. *CB/Current Biology*, 23(23), 2388–2392. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.10.012>

Cais, J. (2015). *Elektronová mikroskopie. Metalografie*. Centrum pro studium vysokého školství, v.v.i. [http://vyvoj.csvs.cz/projekty/2014\\_veda\\_pro\\_zivot/data/11\\_KA3\\_Jaromir\\_Cais\\_2\\_Elektronova\\_%20mikroskopie\\_a\\_%20EDS\\_%20analiza\\_metodicka\\_prirucka.pdf](http://vyvoj.csvs.cz/projekty/2014_veda_pro_zivot/data/11_KA3_Jaromir_Cais_2_Elektronova_%20mikroskopie_a_%20EDS_%20analiza_metodicka_prirucka.pdf)

Campanale, C., Savino, I., Pojar, I., Massarelli, C., & Uricchio, V. F. (2020). A practical overview of methodologies for sampling and analysis of microplastics in riverine environments. *Sustainability*, 12(17), 6755. <https://doi.org/10.3390/su12176755>

Chae, B., Oh, S., & Lee, D. G. (2023). Is 5 mm still a good upper size boundary for microplastics in aquatic environments? Perspectives on size distribution and toxicological effects. *Marine Pollution Bulletin*, 196, 115591. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2023.115591>

Chandrakanthan, K., Fraser, M. P., & Herckès, P. (2023). Airborne microplastics in a suburban location in the desert southwest: Occurrence and identification challenges. *Atmospheric Environment*, 298, 119617. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2023.119617>

Chen, G., Fu, Z., Yang, H., & Wang, J. (2020). An overview of analytical methods for detecting microplastics in the atmosphere. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 130, 115981. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.115981>

Chia, R. W., Lee, J. Y., Cha, J., & Rodríguez-Seijo, A. (2023). Methods of soil sampling for microplastic analysis: a review. *Environmental Chemistry Letters*. <https://doi.org/10.1007/s10311-023-01652-9>

Claessens, M., Van Cauwenberghe, L., Vandegehuchte, M., & Janssen, C. R. (2013). New techniques for the detection of microplastics in sediments and field collected organisms. *Marine Pollution Bulletin*, 70(1–2), 227–233. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.03.009>

Cole, M., Webb, H., Lindeque, P. K., Fileman, E. S., Halsband, C., & Galloway, T. S. (2014). Isolation of microplastics in biota-rich seawater samples and marine organisms. *Scientific Reports*, 4(1). <https://doi.org/10.1038/srep04528>

Collard, F., Gaspéri, J., Gabrielsen, G. W., & Tassin, B. (2019). Plastic particle ingestion by wild freshwater fish: A critical review. *Environmental Science & Technology*, 53(22), 12974–12988. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b03083>

Could you be eating a credit card a week? (2019, June 12). WWF. [https://www.panda.org/wwf\\_news/?348371/Could-you-be-eating-a-credit-card-a-week](https://www.panda.org/wwf_news/?348371/Could-you-be-eating-a-credit-card-a-week)

Courtene-Jones, W., Quinn, B., Murphy, F., Gary, S. F., & Narayanaswamy, B. (2017). Optimisation of enzymatic digestion and validation of specimen preservation methods for the analysis of ingested microplastics. *Analytical Methods*, 9(9), 1437–1445. <https://doi.org/10.1039/c6ay02343f>

Crawford, C. B., & Quinn, B. (2017). *Microplastic Pollutants*. Elsevier Science & Technology.  
[https://cuni.primo.exlibrisgroup.com/permalink/420CKIS\\_INST/1ustijj/alma9925245865506986](https://cuni.primo.exlibrisgroup.com/permalink/420CKIS_INST/1ustijj/alma9925245865506986)

De Falco, F., Di Pace, E., Cocca, M., & Avella, M. (2019). The contribution of washing processes of synthetic clothes to microplastic pollution. *Scientific Reports (Nature Publishing Group)*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43023-x>

De Luca, A. C., Mazilu, M., Riches, A., Herrington, C. S., & Dholakia, K. (2009). Online fluorescence suppression in modulated raman spectroscopy. *Analytical Chemistry*, 82(2), 738–745. <https://doi.org/10.1021/ac9026737>

Debraj, D., & Lavanya, M. (2023). Microplastics everywhere: A review on existing methods of extraction. *Science of the Total Environment*, 893, 164878. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.164878>

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). <https://doi.org/10.1186/s12302-015-0069-y>

Dümichen, E., Barthel, A., Braun, U., Bannick, C. G., Brand, K., Jekel, M., & Senz, R. (2015). Analysis of polyethylene microplastics in environmental samples, using a thermal decomposition method. *Water Research*, 85, 451–457. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.09.002>

Dümichen, E., Eisentraut, P., Bannick, C. G., Barthel, A., Senz, R., & Braun, U. (2017). Fast identification of microplastics in complex environmental samples by a thermal degradation method. *Chemosphere*, 174, 572–584. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.02.010>

Duong, T. T., Le, P. T., Nguyen, T. N. H., Hoang, T. Q., Ngo, H. M., Doan, T. O., Le, T. P. Q., Bui, H. T., Bui, H. M., Trinh, V. T., Nguyen, T. L., Le, N. D., Vu, T. M., Tran, T. K. C., Ho, T. C., Phuong, N. N., & Strady, E. (2022). Selection of a density separation solution to study microplastics in tropical riverine sediment. *Environmental Monitoring and Assessment*, 194(2). <https://doi.org/10.1007/s10661-021-09664-0>

Eriksen, M., Mason, S. A., Wilson, S., Box, C., Zellers, A., Edwards, W. J., Farley, H., & Amato, S. (2013). Microplastic pollution in the surface waters of the Laurentian Great Lakes. *Marine Pollution Bulletin*, 77(1–2), 177–182. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.10.007>

Erni-Cassola, G., Gibson, M. I., Thompson, R. C., & Christie-Oleza, J. A. (2017). Lost, but Found with Nile Red: A Novel Method for Detecting and Quantifying Small Microplastics (1 mm to 20  $\mu\text{m}$ ) in Environmental Samples. *Environmental Science & Technology*, 51(23), 13641–13648. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b04512>

Fischer, M., & Scholz-Böttcher, B. M. (2017). Simultaneous trace identification and quantification of common types of microplastics in environmental samples by Pyrolysis-Gas Chromatography–Mass spectrometry. *Environmental Science & Technology*, 51(9), 5052–5060. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b06362>

*Global plastic production* | Statista. (2024, January 30). Statista. <https://www.statista.com/statistics/282732/global-production-of-plastics-since-1950/>

*Guide to FTIR Spectroscopy*. (n.d.). Bruker, © 2024. Retrieved January 8, 2024, from <https://www.bruker.com/en/products-and-solutions/infrared-and-raman/FTIR-routine-spectrometer/what-is-FTIR-spectroscopy.html>

Hanvey, J. S., Lewis, P. J., Lavers, J. L., Crosbie, N. D., Pozo, K., & Clarke, B. O. (2017). A review of analytical techniques for quantifying microplastics in sediments. *Analytical Methods*, 9(9), 1369–1383. <https://doi.org/10.1039/c6ay02707e>

Hartmann, N. B., Hüffer, T., Thompson, R. C., Hassellöv, M., Verschoor, A., Daugaard, A. E., Rist, S., Karlsson, T., Brennholt, N., Cole, M., Herrling, M. P., Heß, M., Ivleva, N. P., Lusher, A., & Wagner, M. (2019). Are we speaking the same language? Recommendations for a definition and Categorization Framework for Plastic Debris. *Environmental Science & Technology*, 53(3), 1039–1047. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b05297>

Havlíčková, L. (2022). *Využití analytické pyrolýzy pro detekci plastů a mikroplastů v ŽP* [Diplomová práce, Univerzita Karlova]. <https://dspace.cuni.cz/handle/20.500.11956/171811>

Hermabessière, L., Dehaut, A., Paul-Pont, I., Lacroix, C., Jézéquel, R., Soudant, P., & Duflos, G. (2017). Occurrence and effects of plastic additives on marine environments and organisms: A review. *Chemosphere*, 182, 781–793. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.05.096>

Hermabessière, L., Himber, C., Boricaud, B., Kazour, M., Amara, R., Cassone, A., Laurentie, M., Paul-Pont, I., Soudant, P., Dehaut, A., & Duflos, G. (2018). Optimization, performance, and application of a pyrolysis-GC/MS method for the identification of microplastics. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 410(25), 6663–6676. <https://doi.org/10.1007/s00216-018-1279-0>

Hidalgo-Ruz, V., Gutow, L., Thompson, R. C., & Thiel, M. (2012). Microplastics in the Marine Environment: A review of the methods used for identification and quantification. *Environmental Science & Technology*, 46(6), 3060–3075. <https://doi.org/10.1021/es2031505>

Ho, D., Liu, S., Wei, H., & Karthikeyan, K. G. (2024). The glowing potential of Nile red for microplastics Identification: Science and mechanism of fluorescence staining. *Microchemical Journal*, 197, 109708. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2023.109708>

Hopewell, J., Dvorak, R. G., & Kosior, E. (2009). Plastics recycling: challenges and opportunities. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 364(1526), 2115–2126. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0311>

Huang, Z., Hu, B., & Wang, H. (2022). Analytical methods for microplastics in the environment: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 21(1), 383–401. <https://doi.org/10.1007/s10311-022-01525-7>

Huppertsberg, S., & Knepper, T. P. (2018). Instrumental analysis of microplastics—benefits and challenges. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 410(25), 6343–6352. <https://doi.org/10.1007/s00216-018-1210-8>

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>

*HYPERION II FTIR and QCL Microscope*. (n.d.). Bruker, © 2024. Retrieved April 16, 2024, from <https://www.bruker.com/en/products-and-solutions/infrared-and-raman/FTIR-microscopes/hyperion-ii-ftir-and-qcl-microscope.html>

*ISO 24187 Environmental Microplastics*. (n.d.). Bruker. <https://www.bruker.com/en/applications/detection-and-environmental/environmental/Microplastics-Analysis/iso-24187-environmental-microplastics.html>

Ivleva, N. P. (2021). Chemical analysis of microplastics and Nanoplastics: challenges, advanced methods, and perspectives. *Chemical Reviews*, 121(19), 11886–11936. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.1c00178>

Jiang, H., Zhang, Y., Bian, K., Wang, C., Xie, X., Wang, H., & Zhao, H. (2022). Is it possible to efficiently and sustainably remove microplastics from sediments using froth flotation? *Chemical Engineering Journal*, 448, 137692. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.137692>

Joksimović, N., Selaković, D., Jovičić, N., Janković, N., Pradeepkumar, P., Eftekhari, A., & Rosić, G. (2022). Nanoplastics as an invisible threat to humans and the environment. *Journal of Nanomaterials (Print)*, 2022, 1–15. <https://doi.org/10.1155/2022/6707819>

Kefer, S., Miesbauer, O., & Langowski, H. (2021). Environmental Microplastic Particles vs. Engineered Plastic Microparticles—A Comparative Review. *Polymers*, 13(17), 2881. <https://doi.org/10.3390/polym13172881>

Konde, S., Ornik, J., Prume, J., Taiber, J., & Koch, M. (2020). Exploring the potential of photoluminescence spectroscopy in combination with Nile Red staining for microplastic detection. *Marine Pollution Bulletin*, 159, 111475. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111475>

Kumar, V., Umesh, M., Chakraborty, P., Sharma, P., Sarojini, S., Thazeem, B., Kaur, K., Pasrija, R., & Barceló, D. (2024). Origin, ecotoxicity, and analytical methods for microplastic detection in aquatic systems. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 170, 117392. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2023.117392>

Kutralam-Muniasamy, G., Shruti, V., Pérez-Guevara, F., & Roy, P. D. (2023). Microplastic diagnostics in humans: “The 3Ps” Progress, problems, and prospects. *Science of the Total Environment*, 856, 159164. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159164>

Kye, H., Kim, J., Ju, S., Lee, J., Lim, C., & Yoon, Y. J. (2023). Microplastics in water systems: A review of their impacts on the environment and their potential hazards. *Heliyon*, 9(3), e14359. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14359>



L. McCreery, R. (2000). Raman Spectroscopy for Chemical Analysis. In *Chemical Analysis*. John Wiley and Sons.

Lamichhane, G., Acharya, A., Marahatha, R., Modi, B., Paudel, R., Adhikari, A., Raut, B. K., Aryal, S., & Parajuli, N. (2022). Microplastics in environment: global concern, challenges, and controlling measures. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 20(4), 4673–4694. <https://doi.org/10.1007/s13762-022-04261-1>

Lassen, C., Hansen, S. F., Magnusson, K., Hartmann, N. B., Jensen, P. R., Nielsen, T. G., & Brinch, A. (2015). *Microplastics: Occurrence, effects and sources of releases to the environment in Denmark*. Welcome to DTU Research Database. <https://orbit.dtu.dk/en/publications/microplastics-occurrence-effects-and-sources-of-releases-to-the-e>

Li, L., Luo, Y., Li, R., Zhou, Q., Peijnenburg, W. J., Yin, N., Yang, J., Tu, C., & Zhang, Y. (2020). Effective uptake of submicrometre plastics by crop plants via a crack-entry mode. *Nature Sustainability*, 3(11), 929–937. <https://doi.org/10.1038/s41893-020-0567-9>

Li, Y., Tao, L., Wang, Q., Wang, F., Li, G., & Song, M. (2023). Potential Health impact of Microplastics: A review of environmental distribution, human exposure, and toxic effects. *Environment & Health (Washington, D.C.)*, 1(4), 249–257. <https://doi.org/10.1021/envhealth.3c00052>

Liu, L., Yan, X., Feng, L., Jiang, S., Lu, Z., Xie, H., Sun, S., Chen, J., & Li, C. (2019). Challenge for the detection of microplastics in the environment. *Water Environment Research*, 93(1), 5–15. <https://doi.org/10.1002/wer.1281>

Liu, S., Shang, E., Liu, J., Wang, Y., Bolan, N., Kirkham, M., & Li, Y. (2021). What have we known so far for fluorescence staining and quantification of microplastics: A tutorial review. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 16(1). <https://doi.org/10.1007/s11783-021-1442-2>

Liu, Y., Lüttjohann, S., Vianello, A., Lorenz, C., Fan, L., & Vollertsen, J. (2024). Detecting small microplastics down to 1.3  $\mu\text{m}$  using large area ATR-FTIR. *Marine Pollution Bulletin*, 198, 115795. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2023.115795>

Liza, A. A., Ashrafy, A., Islam, M. N., Billah, M. M., Arafat, S. T., Rahman, M. M., Karim, M. R., Hasan, M. M., Promie, A. R., & Rahman, S. M. (2024). Microplastic pollution: a review of techniques to identify microplastics and their threats to the aquatic ecosystem. *Environmental Monitoring and Assessment*, 196(3). <https://doi.org/10.1007/s10661-024-12441-4>

Löder, M. G. J., & Gerdts, G. (2015). Methodology used for the Detection and Identification of Microplastics—A critical appraisal. In *Springer eBooks* (pp. 201–227). [https://doi.org/10.1007/978-3-319-16510-3\\_8](https://doi.org/10.1007/978-3-319-16510-3_8)

Löder, M. G. J., Imhof, H. K., Ladehoff, M., Löschel, L. A., Lorenz, C., Mintenig, S. M., Piehl, S., Primpke, S., Schrank, I., Laforsch, C., & Gerdts, G. (2017). Enzymatic purification of microplastics in environmental samples. *Environmental Science & Technology*, 51(24), 14283–14292. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b03055>

Löder, M. G. J., Kuczera, M., Mintenig, S. M., Lorenz, C., & Gerdts, G. (2015). Focal plane array detector-based micro-Fourier-transform infrared imaging for the analysis of microplastics in environmental samples. *Environmental Chemistry*, 12(5), 563. <https://doi.org/10.1071/en14205>

Lusher, A., Welden, N., Sobral, P., & Cole, M. (2017). Sampling, isolating and identifying microplastics ingested by fish and invertebrates. *Analytical Methods*, 9(9), 1346–1360. <https://doi.org/10.1039/c6ay02415g>

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). <https://doi.org/10.1038/srep44501>

Mariano, S., Tacconi, S., Fidaleo, M., Rossi, M., & Dini, L. (2021). Micro and Nanoplastics identification: classic methods and innovative detection techniques. *Frontiers in Toxicology*, 3. <https://doi.org/10.3389/ftox.2021.636640>

Matsueda, M., Mattonai, M., Iwai, I., Watanabe, A., Teramae, N., Robberson, W., Ohtani, H., Kim, Y., & Watanabe, C. (2021). Preparation and test of a reference mixture of eleven polymers with deactivated inorganic diluent for microplastics analysis by pyrolysis-GC–MS. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 154, 104993. <https://doi.org/10.1016/j.jaap.2020.104993>

Meulen, V. D., MD, L. D. V., Lee, J., Maes, T., Ja, V. D., Huvet, A., Soudant, P., Robbens, J., & Vethaak, A. (2014, January 1). *Socio-economic impact of microplastics in the 2 Seas, Channel and France Manche Region. An initial risk assessment*. <https://archimer.ifremer.fr/doc/00287/39834/>

Mintenig, S. M., Int-Veen, I., Löder, M. G. J., Primpke, S., & Gerdts, G. (2017). Identification of microplastic in effluents of waste water treatment plants using focal plane array-based micro-Fourier-transform infrared imaging. *Water Research (Oxford)*, 108, 365–372. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.11.015>

Moldan, B. (2015). *Podmaněná planeta*. Univerzita Karlova v Praze. [https://cuni.primo.exlibrisgroup.com/permalink/420CKIS\\_INST/5nfor5/alma9925191296806986](https://cuni.primo.exlibrisgroup.com/permalink/420CKIS_INST/5nfor5/alma9925191296806986)

Moravec, Z. (2022). *Ramanova spektroskopie*. Web O Chemii, Fyzice a Programování. Retrieved November 28, 2023, from [https://is.muni.cz/www/moravec/c5060\\_metody\\_chemickeho\\_vyzkumu/](https://is.muni.cz/www/moravec/c5060_metody_chemickeho_vyzkumu/)

Munno, K., De Frond, H., O'Donnell, B. A., & Rochman, C. M. (2020). Increasing the accessibility for characterizing microplastics: introducing new Application-Based and Spectral Libraries of Plastic Particles (SLOPP and SLOPP-E). *Analytical Chemistry*, 92(3), 2443–2451. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b03626>

Myles, A. (2021, June). *PAN microplast Club Talk 3: Dr Andrew Mayes "Nile red"*. [Video]. YouTube. Retrieved January 25, 2024, from <https://www.youtube.com/watch?v=rcdtGGAsmD0>

Nabi, I., Bacha, A., & Zhang, L. (2022). A review on microplastics separation techniques from environmental media. *Journal of Cleaner Production*, 337, 130458. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.130458>

Napper, I. E., & Thompson, R. C. (2020). Plastic debris in the marine environment: history and future challenges. *Global Challenges*, 4(6). <https://doi.org/10.1002/gch2.201900081>

Parashar, N., & Hait, S. (2023). Recent advances on microplastics pollution and removal from wastewater systems: A critical review. *Journal of Environmental Management*, 340, 118014. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.118014>

Pasquier, G., Doyen, P., Kazour, M., Dehaut, A., Diop, M., Duflos, G., & Amara, R. (2022). Manta Net: The golden method for sampling surface water microplastics in aquatic environments. *Frontiers in Environmental Science*, 10. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2022.811112>

Peng, X., Chen, M., Chen, S., Dasgupta, S., Xu, H., Ta, K., Du, M., Li, J., Guo, Z., & Bai, S. (2018). *Microplastics contaminate the deepest part of the world's ocean*. <https://www.semanticscholar.org/paper/Microplastics-contaminate-the-deepest-part-of-the-Peng-Chen/51f3c2df186fdd14f55081a1133b4e399e938c2a>

Plastics Europe. (2023, October 19). *Plastics – the fast Facts 2023*; *Plastics Europe*. <https://plasticseurope.org/knowledge-hub/plastics-the-fast-facts-2023/>

Porta, R. (2021). Anthropocene, the plastic age and future perspectives. *FEBS Open Bio*, 11(4), 948–953. <https://doi.org/10.1002/2211-5463.13122>

Prata, J. C., Da Costa, J. P., Duarte, A. C., & Rocha-Santos, T. (2019). Methods for sampling and detection of microplastics in water and sediment: A critical review. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 110, 150–159. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.10.029>

Prepilková, V., Poništ, J., Schwarz, M., & Bednárová, D. (2022). Selection of suitable methods for the detection of microplastics in the environment. *Journal of Analytical Chemistry*, 77(7), 830–843. <https://doi.org/10.1134/s1061934822070127>

Primpke, S., Fischer, M., Lorenz, C., Gerdts, G., & Scholz-Böttcher, B. M. (2020). Comparison of pyrolysis gas chromatography/mass spectrometry and hyperspectral FTIR imaging spectroscopy for the analysis of microplastics. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 412(30), 8283–8298. <https://doi.org/10.1007/s00216-020-02979-w>

Qian, N., Gao, X., Lang, X., Deng, H., Bratu, T. M., Chen, Q., Stapleton, P. A., Yan, B., & Min, W. (2024). Rapid single-particle chemical imaging of nanoplastics by SRS microscopy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 121(3). <https://doi.org/10.1073/pnas.2300582121>

Rajala, A. (2024, February 20). Overview of microplastic testing standard ISO 24187. *Measurlabs*. <https://measurlabs.com/blog/microplastic-testing-standard-iso-24187/>

Rani, M., Ducoli, S., Depero, L. E., Prica, M., Tubić, A., Ademović, Z., Morrison, L., & Federici, S. (2023). A Complete Guide to Extraction Methods of Microplastics from Complex Environmental Matrices. *Molecules*, 28(15), 5710. <https://doi.org/10.3390/molecules28155710>

Ribeiro, F., Duarte, A. C., & Da Costa, J. P. (2024). Staining methodologies for microplastics screening. *TrAC. Trends in Analytical Chemistry*, 172, 117555. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2024.117555>

Rogers, K. (2024, March 26). *Microplastics | Definition, Properties, & Plastic Pollution*. Encyclopedia Britannica. <https://www.britannica.com/technology/microplastic>

Rouch, D. A. (2023). Plastic future: How to reduce the increasing environmental footprint of plastic packaging. *ResearchGate*. [https://www.researchgate.net/publication/337506127\\_Plastic\\_future\\_How\\_to\\_reduce\\_the\\_increasing\\_environmental\\_footprint\\_of\\_plastic\\_packaging](https://www.researchgate.net/publication/337506127_Plastic_future_How_to_reduce_the_increasing_environmental_footprint_of_plastic_packaging)

Sajjad, M., Huang, Q., Khan, S., Khan, M. A., Yin, L., Wang, J., Lian, F., Wang, Q., & Guo, G. (2022). Microplastics in the soil environment: A critical review. *Environmental Technology & Innovation*, 27, 102408. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2022.102408>

Sanderson, M. J., Smith, I. F., Parker, I., & Bootman, M. D. (2014). Fluorescence microscopy. *CSH Protocols*, 2014(10), pdb.top071795. <https://doi.org/10.1101/pdb.top071795>

Understanding the difference between magnification and resolution in scanning electron microscopy | Nanoscience Instruments. (n.d.). Nanoscience Instruments, © 2024. <https://www.nanoscience.com/blogs/understanding-the-difference-between-magnification-and-resolution-in-scanning-electron-microscopy/>

Sharma, P., Sharma, P. K., & Kumar, A. (2024). Sampling, separation, and characterization methodology for quantification of microplastic from the environment. *Journal of Hazardous Materials Advances*, 100416. <https://doi.org/10.1016/j.hazadv.2024.100416>

Sharma, V. K., Ma, X., Lichtfouse, É., & Robert, D. (2022). Nanoplastics are potentially more dangerous than microplastics. *Environmental Chemistry Letters (Print)*, 21(4), 1933–1936. <https://doi.org/10.1007/s10311-022-01539-1>

Shim, W. J., Hong, S. H., & Eo, S. (2017). Identification methods in microplastic analysis: a review. *Analytical Methods*, 9(9), 1384–1391. <https://doi.org/10.1039/c6ay02558g>

Silva, A. B., Bastos, A. S., Justino, C. I., Da Costa, J. P., & Rocha-Santos, T. (2018). Microplastics in the environment: Challenges in analytical chemistry - A review. *Analytica Chimica Acta*, 1017, 1–19. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.02.043>

Singh, A. K. (2016). Experimental methodologies for the characterization of nanoparticles. In *Elsevier eBooks* (pp. 125–170). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-801406-6.00004-2>

Singh, B., & Kumar, A. (2024). Advances in microplastics detection: A comprehensive review of methodologies and their effectiveness. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 170, 117440. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2023.117440>

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>

Sorolla-Rosario, D., Llorca-Porcel, J., Pérez-Martínez, M., Lozano-Castelló, D., & Bueno-López, A. (2023). Microplastics' analysis in water: Easy handling of samples by a new Thermal Extraction Desorption-Gas Chromatography-Mass Spectrometry (TED-GC/MS) methodology. *Talanta*, 253, 123829. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2022.123829>

Thaiba, B. M., Sedai, T., Bastakoti, S., Karki, A., Kc, A., Khadka, G., Acharya, S., Kandel, B., Giri, B., & Neupane, B. B. (2023). A review on analytical performance of micro- and nanoplastics analysis methods. *Arabian Journal of Chemistry*, 16(5), 104686. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2023.104686>

Thompson, R. C. (2015). Microplastics in the marine environment: sources, consequences and solutions. In *Springer eBooks* (pp. 185–200). [https://doi.org/10.1007/978-3-319-16510-3\\_7](https://doi.org/10.1007/978-3-319-16510-3_7)

Tirkey, A., & Upadhyay, L. S. B. (2021). Microplastics: An overview on separation, identification and characterization of microplastics. *Marine Pollution Bulletin*, 170, 112604. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112604>

Tiwari, M. P., Sahu, S. K., Rathod, T., Bhangare, R., Ajmal, P., Pulhani, V., & Kumar, A. (2023). Comprehensive review on sampling, characterization and distribution of microplastics in beach sand and sediments. *Trends in Environmental Analytical Chemistry*, 40, e00221. <https://doi.org/10.1016/j.teac.2023.e00221>

Tornero, Q., Dzuila, M., Robert, D., Keller, N., Rodríguez-Chueca, J., & García-Muñoz, P. (2023). Methods of sampling and sample preparation for detection of microplastics and nanoplastics in the environment. In *Elsevier eBooks* (pp. 79–97). <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-99908-3.00004-x>

Ugwu, K., Herrera, A., & Gómez, M. (2021). Microplastics in marine biota: A review. *Marine Pollution Bulletin*, 169, 112540. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112540>

Vianello, A., Jensen, R. L., Liu, L., & Vollertsen, J. (2019). Simulating human exposure to indoor airborne microplastics using a Breathing Thermal Manikin. *Scientific Reports*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45054-w>

Wan, S., Wang, X., Chen, W., Wang, M., Zhao, J., Xu, Z., Wang, R., Mi, C., Zheng, Z., & Zhang, H. (2024). Exposure to high dose of polystyrene nanoplastics causes trophoblast cell apoptosis and induces miscarriage. *Particle and Fibre Toxicology*, 21(1). <https://doi.org/10.1186/s12989-024-00574-w>

Wang, W., & Wang, J. (2018). Investigation of microplastics in aquatic environments: An overview of the methods used, from field sampling to laboratory analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 108, 195–202. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.08.026>

Weber, C. J., & Opp, C. (2020). Spatial patterns of mesoplastics and coarse microplastics in floodplain soils as resulting from land use and fluvial processes. *Environmental Pollution*, 267, 115390. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115390>

Wei, D., Chen, S., & Liu, Q. (2015). Review of Fluorescence Suppression Techniques in Raman Spectroscopy. *Applied Spectroscopy Reviews*, 50(5), 387–406. <https://doi.org/10.1080/05704928.2014.999936>

Woo, H., Seo, K., Choi, Y., Kim, J., Tanaka, M., Lee, K., & Choi, J. (2021). Methods of analyzing microsized plastics in the environment. *Applied Sciences*, 11(22), 10640. <https://doi.org/10.3390/app112210640>

Xie, J., Gowen, A., Xu, W., & Xu, J. (2024). Analysing micro- and nanoplastics with cutting-edge infrared spectroscopy techniques: a critical review. *Analytical Methods*. <https://doi.org/10.1039/d3ay01808c>

Yadav, S., Saquib, S., Bhowmick, S., Gupta, A., Setiadi, T., & Singh, P. (2023). Microplastic sources, transport, exposure, analysis and removal. In *Environmental chemistry for a sustainable world* (Vol. 73, pp. 175–209). Springer Nature Switzerland AG. [https://doi.org/10.1007/978-3-031-36351-1\\_8](https://doi.org/10.1007/978-3-031-36351-1_8)

Ziani, K., Ioniță-Mîndrican, C., Mititelu, M., Neacșu, S. M., Negrei, C., Moroșan, E., Drăgănescu, D., & Preda, O. (2023). Microplastics: a real global threat for environment and food Safety: A State of the art review. *Nutrients*, 15(3), 617. <https://doi.org/10.3390/nu15030617>

Zolotova, N., Kosyreva, A., Dzhaliilova, D., Fokichev, N., & Makarova, O. (2022). Harmful effects of the microplastic pollution on animal health: a literature review. *PeerJ*, 10, e13503. <https://doi.org/10.7717/peerj.13503>