

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Ústav pro životní prostředí

Studijní program: Environmentální vědy



Název

**Studium hlavních aspektů mykoremediace – vliv biodostupnosti,
biodegradace a toxicity organických polutantů**

Title

Study of main mycoremediation aspects – effect of bioavailability,
biodegradation and toxicity of organic pollutants

Disertační práce

Praha 2014

Mgr. Monika Čvančarová

Tato disertační práce byla hrazena z Centra kompetence *TE01020218* Technologické agentury ČR.

Disertační práce byla vypracována ve spolupráci s Mikrobiologickým ústavem
Akademie věd České Republiky, v.v.i.

Školitel: doc. RNDr. Tomáš Cajthaml, Ph.D.
Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze

Školitel-konzultant: Dr. Monika Möder
Helmholtz Centre for the Environmental Research,
Leipzig, Germany

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, březen 2014

Podpis

Disertační práce je založená na následujících publikacích, které jsou součástí přílohy:

1. publikace

Čvančarová, M., Cajthaml, T. (2013). Metody stanovení biopřístupné a biodostupné frakce hydrofobních organických polutantů. *Chemické listy* (odesláno ve formě manuscriptu).

2. publikace

Čvančarová, M., Křesinová, Z., Filipová, A., Covino, S., Cajthaml, T. (2012). Biodegradation of PCBs by ligninolytic fungi and characterization of the degradation products. *Chemosphere*, 88(11), 1317-1323.

3. publikace

Muzikář, M., Křesinová, Z., Svobodová, K., Filipová, A., Čvančarová, M., Cajthamlová, K., Cajthaml, T. (2011). Biodegradation of chlorobenzoic acids by ligninolytic fungi. *Journal of Hazardous Materials*, 196, 386-394.

4. publikace

Stella, T., Covino, S., Křesinová, Z., D'Annibale, A., Petruccioli, M., Čvančarová, M., Cajthaml, T. (2013). Chlorobenzoic acid degradation by *Lentinus (Panus) tigrinus*: *In vivo* and *in vitro* mechanistic study-evidence for P-450 involvement in the transformation. *Journal of Hazardous Materials*, 260, 975-983.

5. publikace

Čvančarová, M., Křesinová, Z., Cajthaml, T. (2013). Influence of the bioaccessible fraction of polycyclic aromatic hydrocarbons on the ecotoxicity of historically contaminated soils. *Journal of Hazardous Materials*, 254-255(1), 116-124.

6. publikace

Covino, S., Čvančarová, M., Muzikář, M., Svobodová, K., D'annibale, A., Petruccioli, M., Federici, F., Křesinová, Z., Cajthaml, T. (2010). An efficient PAH-degrading *Lentinus (Panus) tigrinus* strain: Effect of inoculum formulation and pollutant bioavailability in solid matrices. *Journal of Hazardous Materials*, 183(1-3), 669-676.

7. publikace

Čvančarová, M., Moeder, M., Filipová, A., Reemtsma, T., Cajthaml, T. (2013). Biotransformation of the antibiotic agent Flumequine by ligninolytic fungi and residual antibacterial activity of the transformation mixtures. *Environmental Science and Technology*, 47(24), 14128-14136.

8. publikace

Čvančarová, M., Moeder, M., Filipová, A., Cajthaml, T. (2014). Biotransformation of fluoroquinolone antibiotics by ligninolytic fungi - metabolites, enzymes and residual antibacterial activity. *Journal of Hazardous Materials* (odesláno ve formě manuscriptu).

Deklarace spolupráce na odborných publikacích:

Jménem dalších spoluautorů prohlašuji, že se Mgr. Monika Čvančarová významně podílela na vzniku publikace 1 (její podíl 75%). Její účast byla následující: příprava podkladů, vyhodnocení a příprava manuscriptu.

Jménem dalších spoluautorů prohlašuji, že se Mgr. Monika Čvančarová významně podílela na vzniku publikace 2 (její podíl 50%). Její účast byla následující: podíl na experimentální práci a přípravě manuscriptu.

Jménem dalších spoluautorů prohlašuji, že se Mgr. Monika Čvančarová významně podílela na vzniku publikace 3 (její podíl 15%). Její účast byla následující: podíl na experimentální práci.

Jménem dalších spoluautorů prohlašuji, že se Mgr. Monika Čvančarová významně podílela na vzniku publikace 4 (její podíl 10%). Její účast byla následující: podíl na experimentální práci.

Jménem dalších spoluautorů prohlašuji, že se Mgr. Monika Čvančarová významně podílela na vzniku publikace 5 (její podíl 70%). Její účast byla následující: podíl na experimentální práci, vyhodnocení dat a příprava manuscriptu.

Jménem dalších spoluautorů prohlašuji, že se Mgr. Monika Čvančarová významně podílela na vzniku publikace 6 (její podíl 25%). Její účast byla následující: podíl na experimentální práci a vyhodnocení části dat.

Jménem dalších spoluautorů prohlašuji, že se Mgr. Monika Čvančarová významně podílela na vzniku publikace 7 (její podíl 75%). Její účast byla následující: podíl na experimentální práci, vyhodnocení dat a příprava manuscriptu.

Jménem dalších spoluautorů prohlašuji, že se Mgr. Monika Čvančarová významně podílela na vzniku publikace 8 (její podíl 75%). Její účast byla následující: podíl na experimentální práci, vyhodnocení dat a příprava manuscriptu.

V Praze, březen 2014

doc. RNDr. Tomáš Cajthaml, Ph.D.

Abstrakt

Do životního prostředí se uvolňuje velké množství organických látek, které jsou pro živé organismy nebezpečné. Často se jedná o látky perzistentní a toxické. Některé mají karcinogenní nebo mutagenní účinky, rovněž mohou ovlivňovat endokrinní systém živočichů a některé mohou přispívat ke vzniku bakteriální rezistence. Přirozenými procesy se v životním prostředí jen velmi pomalu odbourávají, a proto se k dekontaminaci lokalit používají různé remediační techniky. Remediační a bioremediační techniky se významně liší a závisí na mnoha faktorech, které by měly být kriticky hodnoceny.

Tato disertační práce se zabývá vzájemnými vztahy mezi biodostupností, biodegradací a toxicitou organických polutantů. K tomuto účelu byly vybrány organické látky různého původu a charakteru – polychlorované bifenyly, polycyklické aromatické uhlovodíky a fluorochinolonová antibiotika, které byly degradovány ligninolytickými houbami. Práce je zaměřena na studium desorpčního chování polutantů pocházejících ze starých ekologických zátěží, degradačního potenciálu různých houbových kmenů, degradačních mechanismů, transformačních produktů a jejich ekotoxicity. Všechny tyto faktory významně přispívají ke zhodnocení environmentálních dopadů mykoremediace.

Výsledky ukázaly, že biopřístupná frakce organických polutantů stanovená sekvenční nadkritickou fluidní extrakcí umožňuje predikovat degradovatelné množství. Rovněž bylo prokázáno, že biopřístupná frakce polycyklických aromatických uhlovodíků vysoce koreluje s toxickými účinky a bioakumulací. Z degradačních experimentů vyplynulo, že jednotlivé ligninolytické houby mají různou degradační účinnost. Např. *Pleurotus ostreatus* efektivně rozkládal polychlorované bifenyly i chlorbenzoové kyseliny. Naopak fluorochinolonová antibiotika byla nejrychleji degradována houbami *Trametes versicolor* a *Irpex lacteus*. Podařilo se identifikovat velké množství do té doby neznámých metabolitů. Ekotoxikologická data ukázala, že degradace některými houbami nevede k poklesu toxických účinků nebo ke ztrátě reziduální antibakteriální aktivity. Biodegradace ligninolytickými houbami mají velký remediační potenciál, nicméně studium biodostupnosti, biodegradace a toxicity je stále potřeba, aby zvolená remediační technika byla efektivní a vedla ke snížení environmentálního rizika na kontaminovaných lokalitách.

Abstract

Many organic compounds are released to the environment and can be harmful to living organisms. These compounds are often persistent and toxic. Some are mutagens, carcinogens, endocrine disruptors or they can cause an increase in bacterial resistance. They tend to accumulate in nature and their transformation is a long-term process. Therefore, various remediation techniques are needed for decontamination. Remediation and bioremediation processes depend on many factors which should be critically evaluated.

This dissertation thesis studies the relationship between bioavailability, biodegradation and toxicity of polychlorinated biphenyls, polycyclic aromatic hydrocarbons and fluoroquinolone antibiotics. These compounds of different origin, character and properties were degraded by ligninolytic fungi. Desorption behaviour of pollutants from historically contaminated sites, degradation potential of ligninolytic fungi, ongoing degradation mechanisms, transformation products and their toxicity were studied as important factors for evaluation of mycoremediation and its environmental impact.

The results show that determination of bioaccessible fraction by sequential supercritical fluid extraction is very useful for precise prediction of biodegradability of pollutants. The evidence that ecotoxicity and bioaccumulation correlate with bioaccessibility of polycyclic aromatic hydrocarbons is also provided. Degradation experiments indicate that individual fungal strains have various degradation efficiencies. *Pleurotus ostreatus* was the most effective fungus in transformation of polychlorinated biphenyls and chlorobenzoic acids. On the contrary, fluoroquinolone antibiotics were rapidly degraded by *Trametes versicolor* and *Irpex lacteus*. In addition, many unknown transformation products were identified. The ecotoxicological data show that fungal transformation of pollutants did not always cause a decrease in toxicity or residual antibacterial activity. Biodegradation by ligninolytic fungi has important remediation potential. However, studies of bioavailability, biodegradation and toxicity are always necessary for suitable application of remediation techniques in order to decrease the environmental risk at contaminated sites.

Obsah

Seznam zkratk	9
1 Úvod.....	11
2 Osud perzistentních organických látek v životním prostředí.....	13
2.1 Polychlorované bifenylly	13
2.2 Polycyklické aromatické uhlovodíky.....	15
2.3 Fluorochinolonová antibiotika.....	16
3 Hlavní aspekty bioremediace.....	20
3.1 Remediacce půd a sedimentů kontaminovaných PCB	21
3.1.1 Remediační metody založené na fyzikálním nebo chemickém principu	21
3.1.2 Remediační metody založené na biologickém principu	23
3.1.3 Současný vývoj remediačních metod	29
3.2 Remediacce půd a sedimentů kontaminovaných PAU.....	30
3.2.1 Remediační metody založené na fyzikálním nebo chemickém principu	30
3.2.2 Remediační metody založené na biologickém principu	33
3.2.3 Současný vývoj remediačních metod	39
3.3 Remediacce půd a sedimentů kontaminovaných fluorochinolonovými antibiotiky	40
3.4 Biodostupná a biopřístupná frakce organických polutantů.....	42
3.5 Rizika organických polutantů	43
3.5.1 Rizika spojená s výskytem PCB a jejich metabolitů	43
3.5.2 Rizika spojená s výskytem PAU a jejich metabolitů.....	46
3.5.3 Rizika spojená s výskytem fluorochinolonových antibiotik a jejich metabolitů	50
4 Cíle disertační práce.....	53
5 Závěry	54
Literatura.....	57
Poděkování.....	72
Přílohy.....	73

Seznam zkratk

AChE	acetylcholinesterasa
ATP	adenosintrifosfát
CNS	centrální nervový systém
DDT	1,1,1-trichlor-2,2-bis(4-chlorfenyl)ethan
DNA	deoxyribonukleová kyselina
EC50	z angl. „half maximal Effective Concentration“ (Efektivní koncentrace, při které reaguje 50 % jedinců souboru.)
GC/MS	plynová chromatografie s hmotnostní detekcí
IARC	z angl. „International Agency for Research on Cancer“ (Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny)
IC50	z angl. „half maximal Inhibitory Concentration“ (Koncentrace, při které je inhibován růst u 50 % jedinců souboru.)
Kow	rozdělovací koeficient <i>n</i> -oktanol voda
LC50	z angl. „half maximal Lethal Concentration“ (Letální koncentrace, při níž uhynie 50 % sledovaných jedinců.)
LCA	z angl. „Life Cycle Assessment“ (posuzování životního cyklu)
NOEC	z angl. „No Observed Effect Concentration“ (koncentrace bez pozorovaného účinku)
PAU	polycyklické aromatické uhlovodíky
PCB	polychlorované bifenyly
PEC	z angl. „Predicted Environmental Concentration“ (předpokládaná koncentrace látky v životním prostředí)
pKa	záporný dekadický logaritmus disociační konstanty
PNEC	z angl. „Predicted No Effect Concentration“ (nejvyšší předpokládaná koncentrace látky bez škodlivých účinků)
POPs	z angl. „Persistent organic pollutants“ (perzistentní organické polutanty)
SFE	z angl. „Supercritical Fluid Extraction“ (nadkritická fluidní

	extrakce)
TCC50	z angl. „half maximal Toxic Cell Concentration“ (Koncentrace polutantu uvnitř buňky, která vyvolá toxický účinek u poloviny sledovaných organismů.)
TU	z angl. „Toxic Unit“ (toxické jednotky)
US EPA	z angl. „Environmental Protection Agency“ (Americká agentura pro životní prostředí)
UV	ultrafialová oblast světla

1 Úvod

Pro účely této disertační práce byly vybrány tři skupiny organických látek různého původu a charakteru, jejichž přítomnost je v životním prostředí nežádoucí.

Polychlorované bifenyly (PCB) reprezentují hydrofobní látky, které přirozeně nevznikají a byly průmyslově vyráběny. PCB našly široké uplatnění v různých průmyslových odvětvích. Vyráběly se řádově v tunových množstvích a velká část unikla do životního prostředí. V 70. letech 20. století byly prokázány první toxické účinky PCB a v 80. letech byla jejich výroba ve většině zemí zakázána. PCB jsou vysoce perzistentní. V současné době lze nalézt lokality, na kterých koncentrace PCB dosahují desítky až stovky $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Chronická expozice PCB způsobuje poruchy zejména imunitního, nervového a reprodukčního systému a je podezření i na jejich karcinogenitu.

Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAU) mohou vznikat přirozeně při lesních požárech nebo vulkanické činnosti. PAU nikdy nebyly průmyslově vyráběny. Jsou součástí některých ropných produktů a do životního prostředí se dostávají zejména antropogenní činností – automobilovou dopravou nebo spalováním fosilních paliv. Koncentrace PAU v životním prostředí mohou dosahovat až několik tisíc $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Jedná se o závažné kontaminanty s karcinogenními účinky, které jsou rovněž perzistentní a těžko odbouratelné.

Fluorochinolonová antibiotika jsou látky, které se v současné době stále vyrábějí a používají se k léčbě různých močových, kožních a dýchacích onemocnění lidí i zvířat. Do životního prostředí se dostávají močí nebo stolicí, jako odpad z farmaceutického průmyslu, nebo se ve formě krmiva přidávají do chovných rybníků. I stopové koncentrace antibiotik v půdách, vodách nebo sedimentech mohou vést ke vzniku bakteriální rezistence. Výskyt rezistentních patogenních bakterií představuje vysoké environmentální riziko, a proto je nutné antibiotika z životního prostředí účinně odstraňovat.

Odstranění PCB, PAU nebo antibiotik z prostředí je nesnadné a ne vždy proveditelné. Fyzikální a chemické metody jsou nákladné, mnohdy nevhodné a v některých případech technologicky neproveditelné. V poslední době se stále více používají metody bioremediační, které jsou většinou ekologicky šetrnější. Bioremediace jsou založeny převážně na principu stimulace nesespecifické půdní mikroflóry, která je

však vhodná pro méně rekalciřantní látky jako jsou např. ropné uhlovodíky. Pro degradaci vysoce perzistentních látek se často hledají specifické organismy.

Slibnou metodou, která je stále ve stádiu výzkumu, je mykoremediace pomocí dřevokazných ligninolytických hub. Tyto houby produkují extracelulární enzymy (lignin peroxidasu, mangan-dependentní peroxidasu a lakázu) s nízkou substrátovou specifitou, které se mohou podílet na degradaci perzistentních polutantů.

Tato práce se zabývá studiem mykoremediačních procesů. Snaží se o objasnění degradačních mechanismů, identifikaci transformačních produktů, predikci biodegradační účinnosti. Studuje biopřístupnou a biodostupnou frakci organických polutantů v dlouhodobě kontaminovaných zeminách. Hodnotí degradační potenciál různých ligninolytických hub. Rovněž se zabývá ekotoxicitou degradačních směsí, protože vzniklé metabolity mohou být v mnoha případech toxičtější než původní látky.

Problematika bioremediací je rozsáhlá, a proto je součástí disertační práce podrobná rešerše, která poskytuje přehled o různých remediačních technikách vhodných k dekontaminaci půd a sedimentů. Práce hodnotí jejich výhody, nevýhody a praktická omezení. V literární části jsou rovněž diskutována rizika spojená s výskytem organických polutantů a jejich degradačních produktů v životním prostředí.

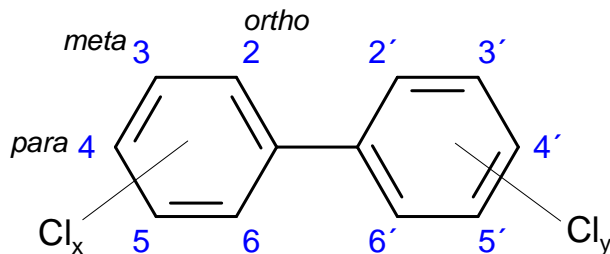
2 Osud perzistentních organických látek v životním prostředí

Polychlorované bifenyly a polycyklické aromatické uhlovodíky patří mezi perzistentní organické polutanty (POPs). Tyto látky se vyznačují především tím, že jsou těžko odbouratelné, mají toxické vlastnosti, bioakumulují se, mohou být ovzdušným transportovány na velké vzdálenosti, kde dochází k jejich depozici a mají škodlivý vliv na lidské zdraví a organismy v životním prostředí. POPs se vyskytují jako jediná chemická látka nebo jako směs chemických látek, které mají podobné vlastnosti, a dostávají se do životního prostředí společně. Česká Republika podepsala v roce 1998 Úmluvu o dálkovém znečišťování ovzduší přesahujícím hranice států a v roce 2001 Stockholmskou úmluvu o perzistentních organických polutantech, nicméně národní legislativa, která by omezila vstup POPs do životního prostředí, a která by definovala emisní a sanační limity, je v současné době stále nedostatečná (Holoubek et al. 2001).

2.1 Polychlorované bifenyly

Polychlorované bifenyly se vyráběly katalytickou chlorací bifenyly, při které vznikaly směsi mnoha isomerů. Teoreticky lze odvodit 209 sloučenin tzv. kongenerů s různým stupněm chlorace. Základní struktura PCB je uvedena na **obrázku 1**. Molekula může obsahovat 1 až 10 atomů chlóru. PCB byly poprvé syntetizovány v roce 1881 a komerčně se začaly vyrábět v roce 1929 pod obchodními názvy např. Delor, Aroclor, Fenclor, Kaneclor, Pyralene a Clophen. Jsou to bezbarvé, čiré nebo žlutě zabarvené, olejovité, netěkavé, nehořlavé kapaliny vyznačující se chemickou a fyzikální stabilitou. PCB jsou stálé i za teplot 300 °C a k jejich hoření dochází až při teplotách nad 1000 °C. PCB jsou vysoce hydrofobní. Jejich rozpustnost ve vodě je velmi nízká a klesá s rostoucím počtem atomů chlóru v molekule. Dobře se rozpouštějí v organických rozpouštědlech a v tucích. Díky svým výborným fyzikálně-chemickým vlastnostem našly PCB široké uplatnění především v elektrotechnice. Používaly se jako chladicí kapaliny v transformátorech, dielektrické kapaliny v kondenzátorech, ohnivzdorné a teplonosné antikoroziční hydraulické kapaliny ve vakuových pumpách. Přidávaly se jako plastifikátory do nátěrových a plastických hmot. Sloužily jako náhražka vosku při výrobě nábytku, přidávaly se do barev, lepidel, inkoustu,

kopírovacího papíru a některých pesticidů. Sloužily také jako aditiva do cementu, omítek a jako mazací kapaliny v místech se zvýšeným rizikem požárů (Holoubek et al. 1996).



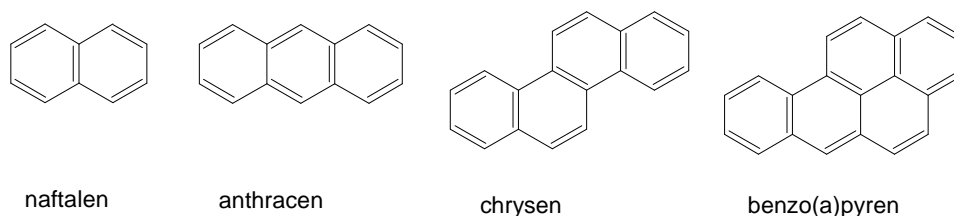
Obrázek 1: Obecný vzorec polychlorovaných bifenyliů.

PCB se rozšířily do životního prostředí zejména následkem jejich velmi širokého používání v průmyslu. Přírodní zdroj PCB nebyl dosud nalezen. PCB byly detekovány ve všech biotických i abiotických složkách ekosystému. Hlavním problémem je jejich toxicita, vysoká odolnost vůči rozkladu a vysoká akumulční schopnost. Osud a chování PCB v životním prostředí závisí na fyzikálně chemických vlastnostech, zejména na K_{ow} a Henryho konstantě. PCB jsou z atmosféry odstraňovány procesy suché a mokré depozice. V hydrosféře se mohou sorbovat na částice sedimentu nebo jiné organické fáze a následně sedimentují, čímž dochází k jejich imobilizaci. Sorpce je závislá na obsahu organického uhlíku a roste u kongenerů s vyšší lipofilitou (Vráblíková a Škrlant 1991). V anaerobních podmínkách dochází k dehalogenaci kongenerů s vyšším počtem atomů chlóru v molekule. Kongenery s nižším stupněm chlorace, které vznikly reduktivní dehalogenací, mohou být transformovány za podmínek aerobních (Fennell et al. 2011). V biologickém materiálu, v orgánech štiky a orla, byly PCB poprvé objeveny v roce 1966 (Jensen et al. 1969). Následně bylo zjištěno velmi závažné znečištění hydrosféry (Nondek 1988). PCB se ve fytoplanktonu významně akumulují, čímž vstupují do potravních řetězců. Obsah PCB v cévnatých rostlinách je většinou nepatrný, ale nálezy jsou četné (Véber a Kredl 1991). PCB se v přírodě částečně odbourávají. Ve vodách podléhají především nepřímé fotolýze. Hydrolýza a oxidace k transformaci významně nepřispívají. Poločas rozpadu se u mono- až tetra- chlorovaných bifenyliů pohybuje od 17 do 310 dnů a roste se stupněm chlorace (Véber a Kredl 1991). PCB podléhají mikrobiální degradaci, která může být velmi pomalá v půdách s vysokým obsahem organického uhlíku (Vasilyeva a Strijakova 2007). Další možný způsob likvidace PCB je spalování při teplotách nad 1000 °C. Při teplotách nižších mohou

vznikat polychlorované dibenzofurany a polychlorované dibenzodioxiny, z nichž některé jsou vysoce toxické (Holoubek et al. 1996).

2.2 Polycyklické aromatické uhlovodíky

Pod pojmem polycyklické aromatické uhlovodíky se rozumí okolo 100 organických uhlovodíkových sloučenin. Organizace US EPA zařadila 16 PAU do seznamu nejzávažnějších kontaminantů životního prostředí. PAU jsou tvořeny dvěma nebo více kondenzovanými benzenovými jádry (**Obrázek 2**). Jsou to za normálních podmínek tuhé látky, většinou bezbarvé, bílé nebo žluté. Fyzikálně-chemické vlastnosti závisejí na molekulové hmotnosti. S rostoucí velikostí molekuly roste bod tání, bod varu, K_{ow} , klesá rozpustnost ve vodě a tenze par. Reaktivita molekul PAU je závislá na počtu a uspořádání kondenzovaných jader. Stabilita jednotlivých struktur roste od lineárního po angulární uspořádání. Z chemických vlastností jsou pro PAU typické elektrofilní substituce, někdy mohou vstupovat do reakcí s radikálovým mechanismem. Na reaktivitu v prostředí mají vliv zejména teplota, světlo, kyslík, ozon a charakter částic, na kterých mohou být PAU sorbovány. PAU mají vzhledem k dokonalé konjugaci významná absorpční spektra zejména v UV oblasti a vykazují také schopnost fluorescence (Pecka 1995).



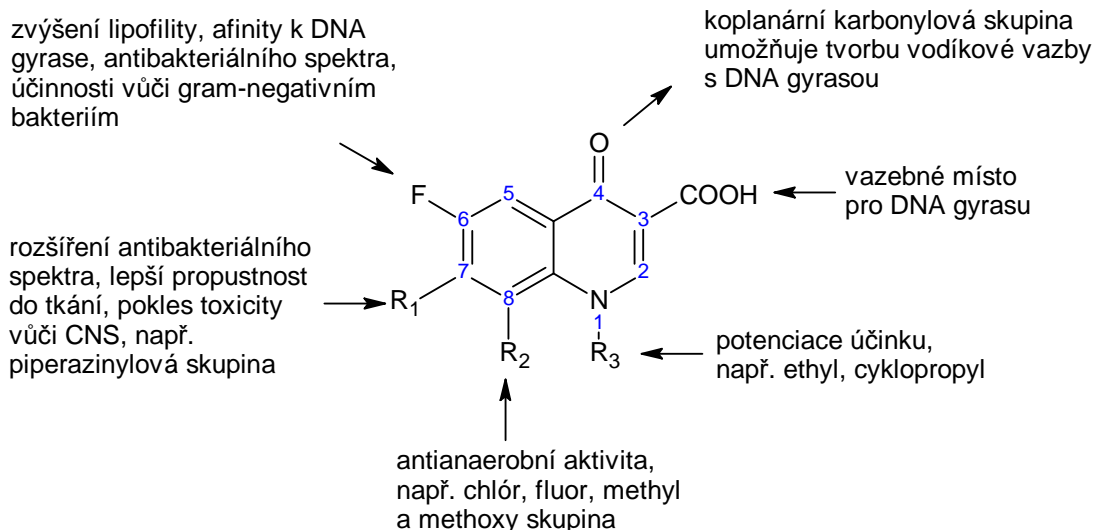
Obrázek 2: Chemické struktury vybraných aromatických uhlovodíků.

PAU byly detekovány prakticky ve všech biotických i abiotických složkách životního prostředí. K významným přírodním zdrojům patří lesní a stepní požáry a vulkanická činnost. PAU vznikají také metabolismem některých bakterií, hub i vyšších rostlin. Dominantní jsou však zdroje antropogenní. Jde především o spalování fosilních paliv při nedostatku kyslíku. Během spalování dochází nejprve v pyrolýze, kdy jsou organické molekuly štěpeny na menší nestabilní produkty. Následuje pyrosyntéza, kdy vzniklé reaktivní fragmenty rekombinují při vysokých teplotách za tvorby poměrně stabilních aromatických uhlovodíků (Holoubek 1996). Transport a distribuce PAU

v prostředí jsou určeny řadou fyzikálně-chemických vlastností. Adsorpce na pevných nebo aerosolových částicích je nepřímo úměrná parciálnímu tlaku par, který se snižuje s rostoucí molekulovou hmotností. PAU s vyšší molekulovou hmotností jsou obecně méně pohyblivé vzhledem k extrémně nízké těkavosti a rozpustnosti ve vodě (Kužílek a Koubek 1994). PAU, které jsou během spalování emitovány do atmosféry, se přednostně sorbují na malé polévaté částice a mohou být transportovány na velké vzdálenosti. Ve volné atmosféře podléhají fotooxidaci nebo interagují s jinými látkami. Tak vznikají především hydroxyderiváty, chinony, sulfokyseliny a nitroderiváty. Z atmosféry jsou odstraňovány suchou a mokrou depozicí, čímž se dostávají do vody a půdy (Holoubek 1995). Na distribuci PAU v hydrosféře má vliv především jejich rozpustnost ve vodě, která závisí na teplotě a přítomnosti dalších rozpuštěných látek. Vzhledem k tomu, že je nízká, jsou PAU hlavně adsorbovány na malé částice, které mohou sedimentovat. Mezi důležité degradační děje patří fotooxidace, chemická oxidace a biologické transformace bakteriemi a vyššími organismy (Holoubek 1996). Fyzikálně-chemický rozklad PAU v sedimentech je pomalejší vzhledem k nedostatku slunečního záření a kyslíku, což může vést k jejich postupné kumulaci. Jejich osud závisí zejména na rychlosti mikrobiální degradace. V tekoucích vodách je sedimentace vyrovnávána resuspendací částic, čímž se biologická dostupnost PAU zvyšuje (Marek 1995). V přírodě existuje mnoho živočichů, kteří PAU v těle kumulují. Ke studiu bioakumulace jsou využívány např. ústřice, žížaly a různé druhy červů (Sericano et al. 1996, Matscheko et al. 2002). Rostliny přijímají PAU z prostředí především atmosférickou depozicí. Vysoké kumulační schopnosti vykazují hlavně rostliny, resp. části rostlin s vysokým obsahem lipidické složky (Bacci et al. 1990).

2.3 Fluorochinolonová antibiotika

Antibiotika představují další širokou skupinu organických látek, které se ve velkém množství dostávají do životního prostředí, kde mohou negativně ovlivňovat živé organismy. Znalosti o osudu a chování antibiotik v životním prostředí jsou stále nedostatečné. Chronické účinky, účinky prahových koncentrací a případné endokrinní účinky nebyly dosud spolehlivě popsány. Degradační produkty a jejich toxicita jsou také z velké části neznámé. Hlavním problémem antibiotik v životním prostředí je, že i stopové koncentrace mohou vést ke vzniku bakteriální rezistence. Rezistence



Obrázek 3: Základní struktura chinolonového jádra a vlastnosti jednotlivých substituentů (upraveno z Sukul a Spiteller 2007).

u patogenních bakterií představuje velké riziko nejenom pro člověka, ale i ostatní živé organismy (Martinez 2009, Ruiz et al. 2012).

Fluorochinolonová antibiotika působí proti širokému spektru gram pozitivních i gram negativních bakterií. Používají se k léčbě různých močových, kožních a dýchacích onemocnění. Široké uplatnění našly i ve veterinární medicíně. Jsou také součástí potravy, která se aplikuje přímo do vody a slouží k léčbě infekčních onemocnění ryb. Nejvíce používaným fluorochinolonovým antibiotikem na světě je ciprofloxacin, následuje ofloxacin, levofloxacin, lomefloxacin, norfloxacin a sparfloxacin (Sukul a Spiteller 2007). Fluorochinolonová antibiotika byla objevena v 70. letech 19. století. Následoval prudký vzrůst jejich produkce, např. ve Švýcarsku bylo v roce 1997 vyrobeno 4,8 tuny (Boxall et al. 2003) a v Německu bylo v roce 1998 vyrobeno 412 tun fluorochinolonových antibiotik, především ciprofloxacinu a norfloxacinu (Kümmerer 2003).

Struktura základního chinolonového jádra a vlastnosti jednotlivých substituentů jsou uvedeny na **obrázku 3**. Fluorochinolonová antibiotika se vyznačují přítomností atomu fluoru na pozici C-6. Obecně je lze rozdělit na antibiotika první, druhé a třetí generace. Antibiotika první generace mají piperazinylovou skupinu vázanou na pozici C-7. Druhá generace je rozšířena o cyklopropyl na pozici N-1 a třetí generace má na pozici C-7 místo piperazinylu azabicyklický substituent. Baktericidní účinky

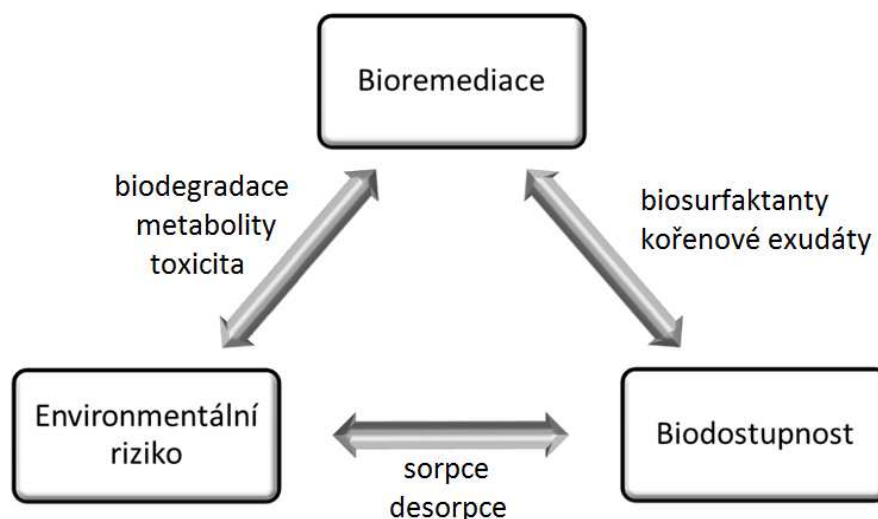
fluorochinolonových antibiotik jsou zejména dány karboxylovou skupinou na pozici C-3, která se váže na bakteriální DNA gyrasu a topoizomerasu IV. Tyto enzymy zajišťují správný průběh replikace a transkripce bakteriální DNA. Vodíková vazba s DNA vzniká na koplanární karboxylové skupině na pozici C-2. Fluor na pozici C-6 zvyšuje lipofilitu molekuly, což usnadňuje průnik molekuly přes biomembrány do buňky, čímž dochází k výraznému zesílení antimikrobiálních účinků. Substituent na pozici C-7 rozšiřuje antimikrobiální spektrum a snižuje toxicitu vůči centrálnímu nervovému systému (CNS). Účinky antibiotika vůči anaerobním bakteriím rostou se substituentem na pozici C-8 a farmakokinetika je ovlivněna substituentem na pozici N-1 (Sukul a Spitteller 2007). Acidobazické chování molekuly ovlivňují dvě ionizovatelné funkční skupiny, karboxylová na pozici C-3 a dusík na pozici 4 v piperazinovém kruhu. Hodnoty pK_a karboxylové skupiny se pohybují v rozsahu 5,7–6,3 a u amino skupiny dosahují 7,6–8,3 (Prat et al. 2004). Relativně dobrou rozpustnost fluorochinolonových antibiotik ve vodě způsobují polární skupiny vázané na lipofilní jádře.

Fluorochinolonová antibiotika vstupují do životního prostředí zejména prostřednictvím lidských a živočišných exkrementů a odpadní vody z farmaceutického průmyslu (Sarmah et al. 2006). Z čistírenského kalu, živočišného hnoje a povrchových vod se mohou dostávat do půdy, kde dochází k jejich adsorpci a kumulaci (Picó a Andreu 2007). Fluorochinolonová antibiotika jsou v organismu metabolizována s poločasem 1,5–16 hod, z čehož vyplývá, že více jak 25 % antibiotik se po perorálním podání vylučuje do životního prostředí v nezměněné podobě (Kümmerer 2009A). Přítomnost antibiotik v různých biologických a environmentálních matricích vedla k rozvoji nových a citlivých analytických metod vhodných ke stopovým analýzám (Montesdeoca-Esponda et al. 2012, Ruiz-Viceo et al. 2012). Koncentrace antibiotik v povrchových a odpadních vodách se pohybují v jednotkách $ng.L^{-1}$ – $μg.L^{-1}$. V půdách a sedimentech dosahují $μg.kg^{-1}$ – $mg.kg^{-1}$ (Kümmerer 2009B). Fluorochinolonová antibiotika mohou vytvářet stabilní komplexy s dvojmocnými nebo trojmocnými ionty kovů, např. s hořčíkem, vápníkem, hliníkem, železem nebo zinkem (Sukul a Spitteller 2007). Většina fluorochinolonových antibiotik je stabilní vůči hydrolýze a vysokým teplotám. Z povrchových vod jsou odstraňovány především fotolýzou, avšak persistence a toxicita fototransformačních produktů není dosud spolehlivě prostudována (Cardoza et al. 2005). Významná je adsorpce fluorochinolonových antibiotik na různé typy pevných matric, např. na exkrementy, půdu, aktivovaný kal a sedimenty, při které se mohou uplatňovat hydrofobní a elektrostatické interakce a vodíková vazba. Adsorpce v půdách

a sedimentech závisí především na množství organického uhlíku, na podílu jílové frakce, iontově-výměnné kapacitě a pH (Tolls 2001). Vysoká stabilita a silná sorpce jsou vlastnosti, které významně přispívají k perzistenci fluorochinolonových antibiotik v životním prostředí, což vede ke snížení jejich transportu, biodostupnosti a schopnosti přirozené biotransformace (Girardi et al. 2011). Např. Díaz-Cruz et al. (2003) studovali degradaci flumequinu v kontaminovaném sedimentu. Po 3 měsících nebyla degradace pozorována a v sedimentu byly stále detekovány antibakteriální účinky. Další důkaz o perzistenci fluorochinolonových antibiotik poskytli Tamtam et al. (2011), kteří našli antibiotika v sedimentu starém více jak 50 let.

3 Hlavní aspekty bioremediace

Bioremediace nelze vyhodnotit pouze na základě počáteční a koncové koncentrace polutantů na sanovaných lokalitách. Jedná se o komplikovaný proces, který závisí na mnoha faktorech, které by měly být kriticky hodnoceny před, během i po remediačním zásahu (**Obrázek 4**).



Obrázek 4: Obecné faktory, které ovlivňují vztahy mezi bioremediací, biodostupností a environmentálním rizikem (upraveno z Ortega-Calvo et al. 2013).

Pro úspěšnou dekontaminaci je zásadní vhodný výběr remediační techniky. Bioremediace jsou většinou ekologicky šetrnější a levnější oproti fyzikálně-chemickým metodám. Nicméně bývají časově náročnější, mají rozdílnou účinnost a určité druhy polutantů nejsou schopné odstranit (Borja et al. 2005). Účinnost bioremediačního zásahu lze odhadnout z biodostupného/biopřístupného množství polutantů, které se nejčastěji stanovuje pomocí mírných analytických extrakčních metod (Cui et al. 2013, Riding et al. 2013). Biodostupné množství je zároveň důležitý parametr, který slouží ke zhodnocení environmentálního rizika na kontaminovaných lokalitách (Latawiec et al. 2011).

Bioremediace, biodostupnost a environmentální riziko jsou vzájemně úzce propojeny. Bioremediační metody jsou většinou založeny na biodegradaci polutantů. Aerobní biodegradace často vede ke vzniku polárnějších metabolitů, které se v životním prostředí snadněji šíří, jsou pro organismy více biodostupné a v některých případech i více toxické (Steliga et al. 2012). Naopak imobilizace hydrofobních polutantů silnou

sorpcí na půdní matrici vede k významnému snížení biodostupné frakce a environmentálního rizika (Alexander 2000). Biodostupnost polutantů může být rovněž ovlivněna bioremediačním procesem, při kterém může docházet k tvorbě biosurfaktantů nebo různých kořenových exudátů. Tyto látky biodostupné množství polutantů přirozeně zvyšují, což může přispět ke zvýšení bioremediační účinnosti (Mohan et al. 2006). Správná a efektivní aplikace remediačních metod a následné zhodnocení environmentálního dopadu vyžadují komplexní přístup a žádné faktory by neměly být opomíjeny.

3.1 Remediace půd a sedimentů kontaminovaných PCB

PCB se nacházejí ve všech složkách životního prostředí. Nejvýznamnější je jejich akumulace v půdách a sedimentech. Přirozená degradace PCB v životním prostředí probíhá velmi pomalu v důsledku jejich perzistence. V současné době je dostupná řada remediačních technik, které lze využít k dekontaminaci, nicméně mnohé z nich jsou stále ve stádiu vývoje. Neexistuje jedna univerzální metoda, která by problém kontaminace PCB spolehlivě vyřešila. Úspěšnost remediace závisí na mnoha faktorech, a proto se stále více využívají kombinace různých technik, které přinášejí slibné výsledky. Remediační metody jsou založeny na biologickém, chemickém nebo fyzikálním principu a lze je aplikovat *in situ* nebo *ex situ* (Gomes et al. 2013). Jednotlivé metody jsou různě časově náročné, dále se liší v ceně, tvorbě degradačních produktů a konečném environmentálním dopadu. Následuje stručný přehled nejpoužívanějších remediačních technik, který je doplněn o nejnovější poznatky.

3.1.1 Remediační metody založené na fyzikálním nebo chemickém principu

Capping. K fyzikálním metodám patří tzv. capping. Při této metodě je kontaminovaný sediment uzavřen do vrstvy inertního materiálu, nejčastěji písku, jílu, asfaltu nebo jemně drceného štěrku. Povrchová vrstva izoluje kontaminanty od okolí, brání v jejich resuspendaci a transportu ve vodním prostředí (Agarwal et al. 2007). V poslední době se začalo používat aktivní uhlí, které zvyšuje imobilizaci PCB sorpcí (Fairey et al. 2010). Další výhodou aktivního uhlí spočívá v tom, že na jeho povrchu mohou růst různé mikroorganismy, které mohou významně přispívat k degradaci

sorbovaných PCB (Mercier et al. 2013). Relativně nedávno vyšly dva souborné články, které se zabývají remediací *in situ* s využitím aktivního uhlí (Hilber a Bucheli 2010, Rakowska et al. 2012). Hlavní nevýhodou této metody je, že po určité době může docházet k erozi izolační vrstvy a následnému uvolnění kontaminantů (Choi et al. 2009).

Mikrovlnné záření. Rozkladem PCB v půdách pomocí mikrovlnného záření se zabývali Abramovitch et al. (1999). Mikrovlnná energie je adsorbována především pórovou vodou a molekulami kontaminantů. Následně může docházet k termální desorpci, rozkladu nebo vitrifikaci (Wu 2008). Nejnovější práce ukázaly, že při použití mikrovlnného záření v kombinaci s oxidem manganičitým, je možné dosáhnout vysoké degradační účinnosti, která u di- až hexa- chlorovaných kongenerů převyšuje 50 % (Huang et al. 2011).

Termální desorpce. Při termální desorpci je kontaminovaný materiál zahříván obvykle na teplotu 300 až 450 °C, čímž dochází k uvolnění kontaminantů z pevné matrice. Desorbované plyny jsou následně spalovány při teplotách 900 až 1200 °C (Kašánek a Kašánek 2005). Termální desorpce je relativně účinná metoda, pomocí které se podařilo odstranit více než 80 % PAU a PCB z kontaminovaných zemin a sedimentů (Baker et al. 2006), nicméně může vést k tvorbě vysoce toxických polychlorovaných dibenzodioxinů a polychlorovaných dibenzofuranů (Sato et al. 2010).

Reduktivní dechlorace. Při reduktivní dechloraci dochází k postupnému odstraňování molekul chlóru z PCB, čímž vznikají kongenery s nižším stupněm chlorace a následně bifenyl. Reakce je nejčastěji katalyzována kovy, např. nulamocným železem, niklem, zinkem, olovem nebo mědí (Kubátová et al. 2003). Reduktivní dechlorací se podrobně zabývá práce autorů Wu et al. (2012). Nejnovější studie naznačují, že remediace pomocí těchto metod stále není spolehlivě vyřešena. Autoři se stále snaží dechloraci optimalizovat nejčastěji pomocí kombinace více technik (Chen et al. 2013, Zahran et al. 2013).

Oxidace pomocí ozonu. K oxidaci PCB v kontaminovaných půdách a sedimentech lze využít ozon. Degradaci 2,2'-dichlorbifenyly a 2,3,4,2',3',4'-hexachlorbifenyly studovali Cassidy et al. (2002). Výsledky ukázaly, že při ozonizaci

může dojít ke štěpení aromatického kruhu a k nahrazení atomů chlóru hydroxylovými skupinami. Během degradace byly detekovány 2-hydroxybenzoová kyselina a 2,3,4-trihydroxybenzoová kyselina. Tato technika je relativně účinná, nicméně v sedimentech, které obsahují směs různých kontaminantů, vede ke vzniku velkého množství produktů rozkladu (Andy et al. 2008). Následné hodnocení rizika remediovaného sedimentu může být velice obtížné, protože informace o perzistenci a toxicitě vzniklých produktů jsou většinou nedostupné.

Oxidace pomocí peroxidu vodíku. Oxidace PCB pomocí peroxidu vodíku, resp. hydroxylového radikálu, představuje další možnost jejich transformace (Manzano et al. 2004). Autorům Ahmad et al. (2011) se podařilo odstranit z kontaminovaných zemín 48 a 94 % přítomných PCB. GC/MS analýza degradačních produktů ukázala, že reakce s peroxidem vodíku vedla k dechloraci a tvorbě hydroxylovaných derivátů. Žádné chlorované produkty rozkladu nebyly po degradaci detekovány.

Organická rozpouštědla. PCB lze z kontaminovaných zemín extrahovat pomocí organických rozpouštědel (Majid et al. 2002, Murena a Gioia 2009). Při aplikacích *in situ* je oproti *ex situ* zvýšené riziko úniku rozpouštědel nebo vyextrahovaných polutantů do okolního prostředí. Chemické metody jsou relativně rychlé a umožňují odstranit vysoké koncentrace kontaminantů, nicméně hlavní nevýhodou je jejich finanční náročnost. Vysoké teploty a organická rozpouštědla mohou zároveň přispívat k rozkladu struktury remediovaných půd.

3.1.2 Remediační metody založené na biologickém principu

Biologické metody zahrnují především fytoremediace, mykoremediace a bioremediace pomocí různých druhů mikroorganismů. K biologickým metodám lze částečně zařadit i přirozenou atenuaci. Tyto techniky jsou ve srovnání s chemickými metodami většinou dlouhodobé, nicméně levnější, společensky přijatelnější a mají menší environmentální dopad na životní prostředí (Busset et al. 2012).

Přirozená atenuace. Během přirozeného snižování kontaminace, přirozené atenuace, jsou polutanty odstraňovány bez lidského zásahu biologickými, chemickými a fyzikálními procesy vyskytujícími se v životním prostředí. Tyto procesy zahrnují

zejména degradace, disperze, ředění, těkání, sorpce a chemické nebo biochemické stabilizace. Přirozená atenuace je časově náročná a vyžaduje dlouhodobý monitoring (Morgan a Sinke 2005). Kombinace přirozené atenuace s aktivním zásahem, může vést ke zvýšení účinnosti a k významnému zkrácení sanační doby (Secher et al. 2013).

Fytoremediace. Při fytoremediaci se mohou uplatňovat různé mechanismy. Nejčastěji dochází k fytoextrakci a akumulaci PCB v kořenech nebo listech rostlin (Whitfield Åslund et al. 2007). Fytodegradace PCB v rostlinných buňkách probíhá relativně pomalu a může vést k uvolňování toxických metabolitů do životního prostředí (van Aken et al. 2010). Na transformaci se podílejí zejména cytochromy P-450 a peroxidasy (Macková et al. 1997). Současné studie jsou zaměřeny především na rhizoremediace, při kterých dochází k mikrobiální degradaci PCB v rhizosféře. Kořenové exudáty, např. cukry, amino kyseliny, organické kyseliny, flavonoidy nebo terpeny mohou působit jako růstové faktory, což vede ke zvýšení mikrobiální aktivity a následně degradace (Toussaint et al. 2012). Ke zvýšení účinnosti fytoremediace se začaly používat transgenní rostliny, do kterých je vnesen bakteriální gen kódující např. bifenyl dioxygenasu (Nováková et al. 2009). Další možností je genetická úprava bakterií, což může vést ke vzniku stabilních rhizosferních kolonií (Sylvestre 2013).

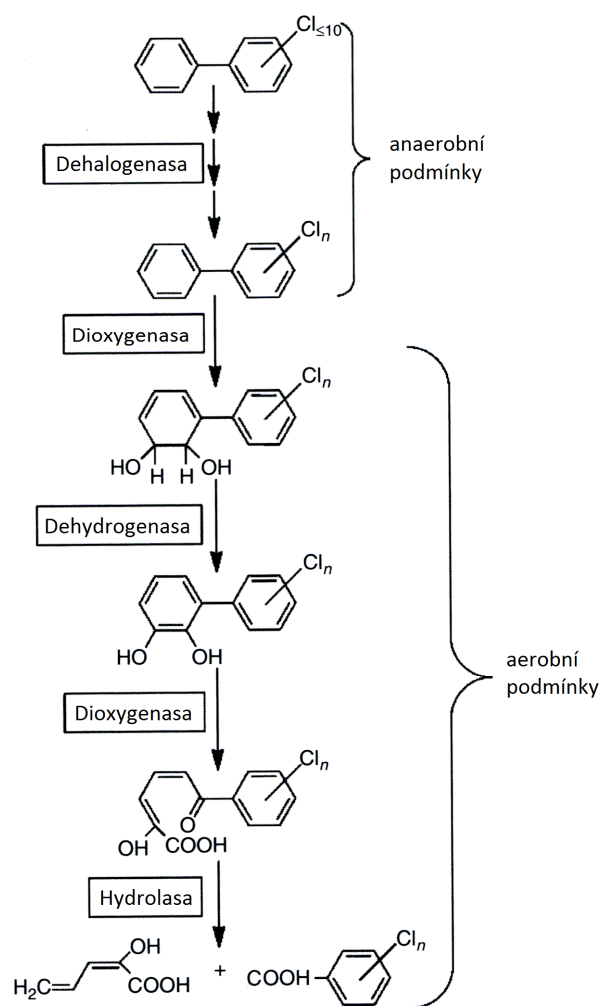
Bioremediace pomocí mikroorganismů. Jedná se o metody založené na degradaci PCB zejména pomocí specifických bakterií nebo nesespecifické půdní mikroflóry. Kompostování je technika, která se běžně používá k degradaci ropných uhlovodíků nebo PAU a její princip je vysvětlen v kapitole 3.2.2. Několik autorů použilo tuto techniku i k remediaci půd kontaminovaných PCB.

Michel et al. (2001) zjistili, že během kompostování dochází k přednostní degradaci kongenerů s 1–3 atomy chlóru a k efektivní remediaci je potřeba kombinace s dalšími metodami. Brändli et al. (2007) zaznamenali během kompostování 10% pokles vysoce chlorovaných PCB. Ty byly transformovány za vzniku kongenerů s nižším stupněm chlorace, jejichž koncentrace vzrostla o 30 %. Relativně slibné výsledky získali Zhang et al. (2013), kteří degradovali perzistentní PCB anaerobním kompostováním. Dechlorace byla závislá na koncentraci PCB a živin v kontaminovaných zeminách. Při koncentraci 1 mg.kg⁻¹ PCB byly kongenery s 5 a více atomy chlóru degrádovány přibližně ze 40 %.

Bakteriální degradace může probíhat v anaerobních i aerobních podmínkách. V anaerobním prostředí dochází k dechloraci kongenerů s vysokým počtem atomů chlóru v molekule a vznikají kongenery s nižším stupněm chlorace, které mohou být metabolizovány za podmínek aerobních (Obrázek 5).

Při anaerobní dechloraci jsou atomy chlóru nahrazeny atomy vodíku. Tuto výměnu mohou usnadňovat substráty, které slouží jako zdroj elektronů. Např. Nies a Vogel (1990) testovali vliv glukosy, acetonu, methanolu a acetátu. Výsledky ukázaly, že dechloraci PCB nejvíce stimuloval methanol. Rychlost a rozsah dechlorace závisí především na složení mikrobiální komunity a pozicích atomů chlóru na bifenylovém kruhu. V sedimentech se nacházejí různé druhy anaerobních bakterií, které mohou jednotlivé

kongenery degradovat různými mechanismy (Alder et al. 1993). Nicméně bylo zjištěno, že atomy chlóru v *meta* a *para* pozicích se odštěpují snadněji než chlory v pozicích *ortho* (Quensen et al. 1990). Např. degradace tetrachlorbifenylyů pak vede k tvorbě *ortho* substituovaných mono nebo dichlorbifenylyů (Wiegel a Wu 2000). Mezi anaerobní bakterie, které se podařilo izolovat ze sedimentů, patří např. *Desulfitobacterium*, *Dehalobacter restrictus*, *Dehalospirillum multivorans*, *Desulforomonas chloroethenica* a *Dehalococcoides ethenogenes* (Holliger et al. 1998). Toxicita, karcinogenita a perzistence PCB roste se stupněm chlorace. Kongenery, které mají atomy chlóru v *meta* a *para* pozicích se chovají jako vysoce toxické dioxiny (Safe 1993). Anaerobní dechlorace tudíž vede k významnému snížení environmentálního rizika.



Obrázek 5: Základní schéma bakteriální degradace PCB v anaerobních i aerobních podmínkách (upraveno z Lyon a Vogel 2011).

Při degradaci většiny PCB se uplatňuje tzv. kometabolismus, při kterém PCB vstupují do metabolické dráhy přirozeného substrátu. Při aerobní degradaci jsou PCB transformovány v metabolické dráze bifenyly (Komancová et al. 2003). Do molekuly PCB je nejprve vnesen kyslík pomocí bifenyl 2,3-dioxygenasy za vzniku cis-hydrodiolů. Činností dehydrogenasy pak vznikají dihydroxybifenyly. Další dioxygenasa způsobuje štěpení kruhu a po následné hydrolýze dochází ke vzniku chlorbenzoových kyselin (**Obrázek 5**) Lyon a Vogel 2011.

Chlorbenzoové kyseliny inhibují transformaci dalších PCB a mají vyšší toxicitu než mateřské molekuly (Sondossi et al. 1992). Chlorbenzoové kyseliny se mohou v životním prostředí akumulovat, a aby docházelo k jejich degradaci, je většinou nutná přítomnost dalších mikroorganismů např. bakterií *Pseudomonas aeruginosa* a *Pseudomonas putida* (Borja et al. 2005).

Degradaci PCB lze podpořit přidávkem bifenyly, protože indukuje tvorbu degradačních enzymů (Yagi a Sudo 1980). Některé monochlorbifenyly mohou sloužit jako zdroj uhlíku a energie a jsou zcela metabolizovány. Např. bakterie rodu *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Pseudomonas* a *Micrococcus* jsou schopné metabolizovat 4-chlorbifenyl (Furukawa et al. 1978, van Aken a Bhalla 2011). *Ortho* substituované kongenery jsou více rezistentní vůči mikrobiální degradaci pravděpodobně kvůli sterickým zábranám atomů chlóru. Ty brání přístupu molekuly do aktivního místa bifenyl 2,3-dioxygenasy. Nicméně se podařilo izolovat aerobní bakterie např. *Burkholderia xenovorans* LB400, *Burkholderia cepacia* a *Ralstonia eutropha* H850 (Gibson et al. 1993, Goris et al. 2004, Field a Sierra-Alvarez 2008), které mají bifenyl 3,4-dioxygenasu umožňující transformaci perzistentních *ortho* substituovaných kongenerů.

Mezi aerobní bakterie degradující PCB lze zařadit rody *Achromobacter*, *Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Sphingomonas*, *Rhodococcus*, *Comamonas*, *Norcardia*, *Arthrobacter*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Streptomyces*, *Paenibacillus* a *Corynebacterium* (Pieper 2005).

Podrobný přehled publikací, které se zabývají anaerobní i aerobní degradací PCB, je uveden v práci autorů Gomes et al. (2013). Mnoho z nich studuje degradaci v laboratorních podmínkách v uměle kontaminovaných půdách a sedimentech. Získané výsledky většinou nelze přímo přenést do reálných podmínek, kde může být degradace limitována v důsledku silné sorpce PCB na organickou matici, což vede ke snížení biodostupného množství (Liu et al. 2007).

Mykoremediace pomocí ligninolytických hub. Houby bílé hniloby jsou dřevokazné houby, které pomocí extracelulárních enzymů rozkládají především ligninovou složku dřeva. Houby bílé hniloby patří mezi basidiomycety a hlavními zástupci jsou rody *Bjerkandera*, *Dichomitus*, *Phanerochaete*, *Pleurotus*, *Trametes* (Pointing 2001). Mezi ligninolytické enzymy hub bílé hniloby jsou řazeny lignin peroxidasa (EC 1.11.1.14), mangan-dependentní peroxidasa (EC 1.11.1.13), versatilní peroxidasa (EC 1.11.1.16) a lakáza (EC 1.10.3.2) Šušla a Svobodová 2006. Vysoký degradační potenciál enzymů, který je dán především jejich nízkou substrátovou specifitou, lze využít k rozkladu různých organických polutantů, např. PAU (Bhatt et al. 2002), syntetických barviv (Baldrian 2004) nebo chlorfenolů (Valli a Gold 1991). Transformace PCB pomocí ligninolytických hub je oproti PAU relativně málo prostudována. V roce 1985 byla publikována první práce, která byla zaměřena na degradaci PCB pomocí ligninolytické houby *Phanerochaete chrysosporium* (Eaton 1985). Později bylo zjištěno, že houby bílé hniloby jsou schopné degradovat jak samostatné kongenery (Dietrich et al. 1995), tak i vyráběné komerční směsi (Yadav et al. 1995). Ligninolytické houby snadněji degradují kongenery substituované v polohách *ortho*. Kongenery substituované v pozicích *meta* a *para* mají vyšší perzistenci (Kubátová et al. 2001). Degradace PCB pomocí ligninolytických hub jsou často spojeny se studiem extracelulárních nebo intracelulárních enzymů a jejich aktivit (Plačková et al. 2012, Ichinose 2013).

Moeder et al. (2005) se zabývali biodegradací PCB v komerční směsi Delor 103 pomocí houby *Pleurotus ostreatus*. Z výsledků vyplynulo, že účinnost degradace jednotlivých kongenerů klesá s počtem atomů chlóru v molekule PCB. Autoři současně zjistili, že nedochází k významné akumulaci PCB v houbovém myceliu.

Kamei et al. (2006A) popsali transformaci 4,4'-dichlorbifenyly houbou *Phanerochaete chrysosporium*. Hlavní metabolity byly identifikovány jako 2-hydroxy- a 3-hydroxy-4,4'-dichlorbifenyly. Hydroxylované deriváty byly následně metabolizovány na 4-chlorbenzoovou kyselinu, 4-chlorbenzaldehyd a 4-chlorbenzylalkohol. 2-hydroxy-4,4'-dichlorbifenylyl byl současně methoxylován (**Obrázek 6**). Hydroxylace a methoxylace byla také pozorována u tetra a penta chlorovaných kongenerů (Kamei et al. 2006B).

Degradační účinnost PCB se pokusili zvýšit Federici et al. (2012) pomocí dvou remediačních technik. Autoři použili imobilizované mycelium houby *Lentinus tigrinus* a bioaugmentaci k odstranění Arochloru 1260 pocházejícího z dlouhodobě

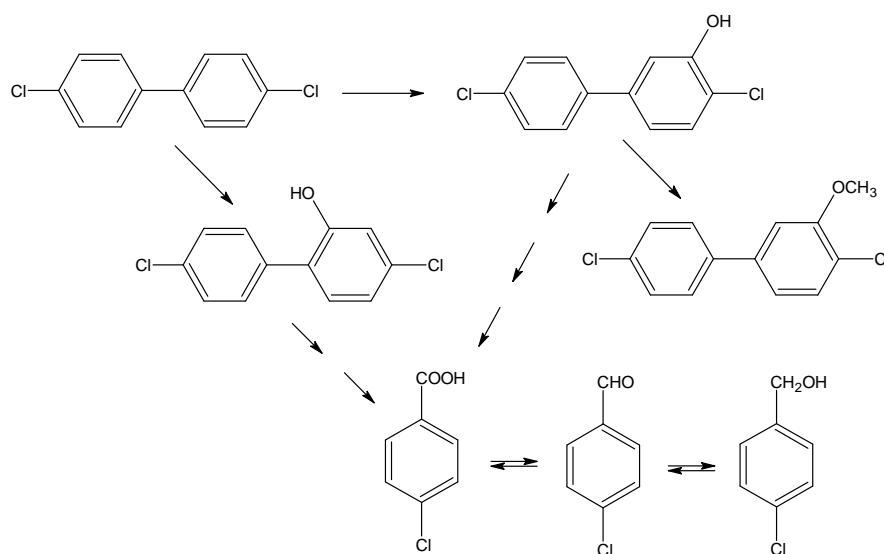
kontaminované zeminy, což přineslo relativně slibné výsledky. Z půdy bylo odstraněno 34 % PCB po 60 dnech kultivace. Ačkoli mají některé ligninolytické houby schopnost PCB rozkládat, stále nejsou dostupné komerční aplikace vhodné k remediaci půd a sedimentů.

K objasnění transformačních mechanismů přispívají nejenom experimenty *in vivo*, které využívají k degradaci celé houbové kultury, ale i experimenty *in vitro*, při kterých jsou PCB degradovány purifikovanými extracelulárními ligninolytickými enzymy (Linhartová 2010). Pozitivní výsledek *in vitro* pokusu přinesly degradace hydroxylovaných PCB pomocí lakázy izolované z kmene *Trametes versicolor* a *Pleurotus ostreatus* (Keum a Li 2004, Fujihiro et al. 2009).

V současné době jsou publikovány práce, které studují degradační mechanismy na molekulární úrovni. Např. Nakamura et al. (2012) identifikovali tři geny cytochrom P450 monooxygenasy izolované z druhu *Phlebia brevispora*. Expresí genů kódující lakázu v přítomnosti PCB nebo jejich transformačních produktů (chlorbenzoových kyselin) se zabývali Gayosso-Canales et al. (2012) a Plačková et al. (2012).

Chlorbenzoové kyseliny vznikají především mikrobiální aerobní degradací PCB. Bakterie degradující PCB ale nemají schopnost degradovat chlorbenzoové kyseliny, čímž dochází k jejich kumulaci v prostředí a následné inhibici další bakteriální degradace PCB (Pieper a Seeger 2008).

Publikací, které se zabývají bakteriální degradací chlorbenzoových kyselin je relativně málo. Byly objeveny některé bakterie rodu *Pseudomonas*, *Burkholderia*



Obrázek 6: Degradace 4,4'-dichlorbifenyly pomocí ligninolytické houby *Phanerochaete chrysosporium* (upraveno z Kamei et al. 2006A).

a *Alcaligenes*, které jsou schopny využívat chlorbenzoové kyseliny jako zdroj uhlíku a energie (Hagglom 1992). Ogawa et al. (2003) a Pieper (2005) popsali bakteriální rozklad mono a dichlorbenzoových kyselin, který nejčastěji vede k tvorbě katecholu nebo chlorokatecholů.

Transformace chlorbenzoových kyselin pomocí ligninolytických hub nebyla dosud studována. Pouze Ning et al. (2010) zaznamenali významnou indukci cytochromu P450 houby *Phanerochaete chrysosporium* v přítomnosti *meta* a *para* chlorbenzoových kyselin a kyseliny benzoové.

3.1.3 Současný vývoj remediačních metod

V současné době pokračuje snaha o izolaci účinných bakteriálních kmenů schopných degradovat komplexní směsi kongenerů a chlorbenzoových kyselin. Nejnovější práce se také zabývají degradačními enzymy a mechanismy na molekulární úrovni. Tyto poznatky mohou být následně použity k přípravě geneticky modifikovaných bakterií, které se při biodegradacích PCB stále více používají (Liu et al. 2010, Saavedra et al. 2010).

Chang et al. (2013) izolovali bakterie *Rhodococcus* sp. SK-1, SK-3, SK-4 a *Aquamicrobium* sp. SK-2 z odpadního kalu. Bakterie v přítomnosti bifenyly degradovaly široké spektrum aromatických sloučenin včetně PCB. Nejúčinnější byl kmen SK-2, který rozkládal mono až hexachlorované kongenery. Všechny izolované druhy byly také schopny využívat 4-chlorbifenyl a 4-chlorbenzoovou kyselinu jako zdroj uhlíku a energie.

Cao et al. (2011) studovali katalytickou aktivitu vazebného místa bifenyly 2,3-dioxygenasy pocházející z bakterie *Enterobacter* sp. LY402. Výsledky této práce by měly přispět k rozvoji nových metod zaměřených na cílenou modifikaci aktivního místa enzymu, což může významně zvýšit účinnost degradace jednotlivých kongenerů.

Ganesh-Kumar et al. (2013) popsali nový bakteriální kmen *Stenotrophomonas* sp. JSG1, který byl schopný degradovat Aroclor 1254 a 4-chlorbenzoovou kyselinu. Autorům se současně podařilo amplifikovat a naklonovat gen *bphC* kódující dioxygenasu štěpící aromatický kruh bifenyly.

Vlivem různých kongenerů na složení bakteriální komunity a na exprese genů kódující bifenyly dioxygenasy se zabývali autoři Correa et al. (2010). Působení kongenerů s vysokým stupněm chlorace a Arocloru 1242 vedlo k pomnožení především

β -proteobakterií a acidobakterií a současně došlo k expresy dvou ze čtyř testovaných genů, *bph* D.1.B a *bph* D.2.A/B.

Liu et al. (2010) a Power et al. (2011) pracovali se solemi kyseliny alginové, které použili jako nosiče pro geneticky upravené bakterie *Pseudomonas fluorescens*. Tato technika umožnila snažší aplikaci bakterií do kontaminovaných půd a následnou detekci biodostupného množství a biodegradace PCB a chlorbenzoových kyselin.

Jedna metoda, pomocí které by bylo možné odstranit všechny kongenery PCB i všechny toxické metabolity z kontaminovaných půd a sedimentů, neexistuje, nicméně se objevují nové kombinace remediačních technik, které přinášejí slibné výsledky. Účinnost bakteriální degradace PCB zvýšili např. Fagervold et al. (2011) a Payne et al. (2013) bioaugmentací, Chun et al. (2013) elektrickou stimulací nebo Vasilyeva et al. (2010) přidavkem aktivního uhlí.

3.2 Remediacce půd a sedimentů kontaminovaných PAU

Půda kontaminovaná PAU podléhá vyhlášce Ministerstva životního prostředí o podrobnostech nakládání s odpady 383/2001 Sb., která byla naposledy novelizována 28.2.2014. Přesáhnou-li koncentrace PAU stanovené sanační limity, musí dojít k remediaci kontaminovaného prostředí. Cílem remediačních metod je úplné odstranění PAU z prostředí nebo jejich převedení na méně toxické látky. Používané remediační techniky jsou založeny na fyzikálním, chemickém nebo biologickém principu. Remediační metody aplikované *in situ* jsou většinou levnější ve srovnání s metodami *ex situ*, nicméně jejich hlavní nevýhoda spočívá v obtížné kontrole sanačního procesu. Remediační techniky pro půdy kontaminované PAU jsou v současné literatuře podrobně popsány (Samanta et al. 2002, Gan et al. 2009). Následuje stručný přehled nejpoužívanějších metod, který je doplněn o nejnovější poznatky.

3.2.1 Remediační metody založené na fyzikálním nebo chemickém principu

Extrakce pomocí rozpouštědel. Při této metodě se PAU z kontaminované zeminy uvolňují a přecházejí do roztoku. Extrakčním činidlem je nejčastěji voda s přidavkem organického rozpouštědla (Rababah a Matsuzawa 2002). Extrakční účinnost vodného roztoku ethanolu, 2-propanolu, acetonu a 1-pentanolu testovali

Khodadoust et al. (2000). Autorům se podařila připravit taková směs rozpouštědel, pomocí které odstranili z dlouhodobě kontaminované zeminy 95 % přítomných PAU. Účinnost metody je závislá nejenom na typu použitého extrakčního činidla, ale i na poměru půdy a rozpouštědla v extrakční cele (Silva et al. 2005). Tyto metody se v současné době používají jen omezeně, protože jsou nákladné a při aplikaci *in situ* hrozí kontaminace okolního prostředí.

Extrakce pomocí surfaktantů. Surfaktanty jsou látky s bipolární chemickou strukturou, která se skládá z hydrofilní části a hydrofobního konce. Surfaktanty vytvářejí ve vodném prostředí micely, které zvyšují rozpustnost PAU. Ahn et al. (2008) extrahovali fenanthren z uměle kontaminované zeminy pomocí surfaktantů Tween 40, Tween 80, Brij 30 a Brij 35. Výsledky ukázaly, že použití surfaktantu Brij 35 mělo nejvyšší účinnost a z půdy bylo odstraněno 84 % přítomného fenanthrenu. Peng et al. (2011) se zabývali dalšími parametry, které ovlivňují výtěžnost extrakce. Autoři zjistili, že extrakce významně závisí na koncentraci surfaktantu, poměru kapalné a pevné fáze a extrakčním čase, a naopak nezávisí na teplotě. Některé nedávné práce upozornily na problémy spojené s aplikací surfaktantů. Bylo zjištěno, že se surfaktanty mohou pevně sorbovat na půdní matrici, což může významně zvyšovat i sorpci PAU (Zhou a Zhu 2007, Ahn et al. 2008).

Extrakce pomocí cyklodextrinů. K extrakci PAU z kontaminovaných zemin lze použít i cyklodextriny, což jsou látky s hydrofobní dutinou, ve které se mohou nepolární polutanty absorbovat. Cyklodextriny představují netoxickou alternativu k surfaktantům a organickým rozpouštědlům. Viglianti et al. (2006) porovnávali extrakční účinnost β -cyklodextrinu, methyl- β -cyklodextrinu a hydroxypropyl- β -cyklodextrinu. Z výsledků vyplynulo, že se účinnost v uvedeném pořadí cyklodextrinů významně zvyšuje. Slibné výsledky přinesla práce autorů Petitgirard et al. (2009), kteří snížili spotřebu methyl- β -cyklodextrinu tím, že ho během remediačního procesu opakovaně regenerovali. Na dlouhodobě kontaminovaných zeminách testovali cyklodextriny Sánchez-Trujillo et al. (2013). Nejvyšší extrakční účinnosti bylo dosaženo u lehkých PAU. S rostoucím počtem aromatických kruhů v molekule PAU účinnost extrakce klesala, což souvisí s tvarem a velikostí nepolární dutiny cyklodextrinů. Relativně nízké výtěžky u PAU s 5–6 aromatickými kruhy mohly také souviset s velikostí biodostupné frakce, kterou autoři článku nestanovili. V současné

době se extrakce s cyklodextriny používají nejenom samostatně, ale také jako pomocné metody vedoucí ke zvýšení rozpustnosti a dostupnosti polutantů pro jiné remediační techniky (Sun et al. 2012A).

Chemická oxidace. K remediaci půd kontaminovaných PAU se nejčastěji používá Fentonova reakce nebo oxidace ozonem. Základem Fentonova činidla je peroxid vodíku, který se v přítomnosti železnatých iontů rozkládá za vzniku nestabilního hydroxylového radikálu a ten následně reaguje s molekulami polutantů (Rivas 2006). Degradace je závislá především na vlastnostech půdy. Hydrofobní PAU se mohou snadno sorbovat na půdní organickou hmotu, což významně snižuje remediační účinnost metody (Jonsson et al. 2007). Při degradaci mohou vznikat vysoce toxické produkty rozkladu (Flotron et al. 2005). Slibné výsledky přinesla práce autorů Ferrarese et al. (2008), kteří odstranili 95 % PAU z kontaminovaného sedimentu pomocí Fentonova činidla, které modifikovali přísadkou katecholu. V současné době bylo publikováno několik dalších prací, které jsou zaměřeny na studium různých druhů modifikátorů, které zvyšují účinnost Fentonovy reakce (Laurent et al. 2012, Usman et al. 2012). Spolehlivých výsledků degradace PAU lze dosáhnout i s použitím ozonu (Rivas et al. 2009), ačkoli bylo prokázáno, že Fentonova oxidace je oproti ozonu účinnější (Jonsson et al. 2006).

Fotokatalytická oxidace. Při fotokatalytické oxidaci vynikají působením UV záření za současné katalýzy nejčastěji oxidem titaničitým hydroxylové radikály, které iniciují degradaci různých polutantů. Tato metoda našla uplatnění zejména při remediaci odpadních vod (Ahmed et al. 2010, Sin et al. 2012). Nedávné práce ukázaly, že lze metodu použít i k odstranění PAU z povrchu kontaminovaných zemín (Zhang et al. 2008, Dong et al. 2010). Fotokatalytickou oxidaci podrobně studovali také Woo et al. (2009). Autoři popsali degradační produkty naftalenu, acenaftylenu, fenanthrenu, anthracenu a benzo(a)anthracenu. Ke zhodnocení ekotoxicity PAU a meziproductů v průběhu remediace použili autoři test Microtox.

Elektroosmotická remediace. Elektroosmotická remediace je metoda, kterou lze aplikovat *in situ*. Na elektrody, které jsou instalovány do kontaminované zeminy, je vloženo napětí, čímž dochází k migraci a postupnému odstranění těžkých kovů nebo organických polutantů majících náboj (Kim et al. 2012). Neutrální molekuly se mohou

pohybovat elektroosmotickým tokem. Tohoto jevu lze využít k odstranění PAU, nicméně je nutné zvýšit jejich rozpustnost přidávkem surfaktantů nebo cyklodextrinů. Sorpce PAU na povrchu půdních částic významně snižuje účinnost metody (Pazos et al. 2010). Ačkoli se touto technikou zabývala řada autorů (Gómez et al. 2009, Alcántara et al. 2010), proces stále není optimalizován pro směsi PAU v dlouhodobě kontaminovaných zeminách a pro experimenty v poloprovozním a provozním měřítku.

Termální metody. Do této skupiny lze zařadit termální desorpci, při které dochází k těkání organických polutantů z pevné matrice. Plynné polutanty jsou zachytávány na sorbentech nebo spalovány. Během desorpce může teplota dosahovat až 450 °C (Gan et al. 2009). Další možností je spalování zeminy při teplotách 870–1200 °C, kdy dochází k úplnému rozkladu aromatických uhlovodíků (Acharya a Ives 1994).

3.2.2 Remediační metody založené na biologickém principu

Fytoremediace. Je metoda, která našla uplatnění především *in situ*. Bylo zjištěno, že různé druhy rostlin jsou schopny přijímat organické polutanty kořenovým systémem a následně je degradovat (Newman a Reynolds 2004). Fytoremediací dlouhodobě kontaminovaných zemin se zabývali Rezek et al. (2008). Pomocí trávy *Lolium perenne* bylo ze zeminy během 18 měsíců odstraněno přibližně 50 % PAU s výjimkou aromatů s 5–6 kruhy. Slibné výsledky přinesla kombinace fyto- a bioremediačních technik. Huang et al. (2004) odstranili z kontaminované zeminy během 12 měsíců přibližně 78 % PAU. Dokonce i těžké PAU jako indeno(1,2,3-c,d)pyren, dibenzo(a,h)pyren, benzo(g,h,i)perylene a benzo(a)pyren byly degradovány z 32–58 %. Degradaci účinnost těžkých PAU úspěšně zvýšili také Parrish et al. (2005), kteří před fytoremediací použili metodu kompostování nebo land farming. Současné práce jsou často zaměřeny na studium interakcí mezi rostlinou a mikrobiální komunitou v rhizosféře, která má velký degradační potenciál (Gerhard et al. 2009, Tejada-Agredano et al. 2013). Další zlepšení fytoremediačních technik je spojeno s používáním transgenních rostlin (Abhilash et al. 2009).

Bioremediace pomocí mikroorganismů. Jedná se o metody založené na biodegradaci PAU pomocí specifických bakterií, hub, řas nebo nespecifické půdní mikroflóry. Tyto techniky jsou relativně levné, jednoduché, nevyžadují složitou

instrumentaci, jsou ekologicky šetrné a lze je aplikovat *in situ*. Účinnost remediačních metod může být limitována nízkou biodostupností polutantů a jejich vysokou toxicitou. Rychlost biodegradace rovněž závisí na vlastnostech mikrobiální populace a na vlastnostech kontaminované lokality, kde se nejčastěji monitorují pH, teplota, vlhkost, redoxní potenciál, dostupnost kyslíku a živin. Bioremediační metody mají různá uspořádání a nejčastěji se používá:

- **Bioventing**, který je založen na aktivním provzdušňování kontaminované zeminy, což usnadňuje aerobní mikrobiální degradaci *in situ* (Spain 1994). Bioventing je úspěšný při dostatečném průtoku vzduchu, který zajišťuje aerobní podmínky v půdě, kde se současně musí nacházet mikroorganismy degradující PAU (Matějů 2006).
- **Biostimulace** je metoda, při které se do kontaminované půdy vpravují živiny, např. kyslík, dusík, nitráty, fosfáty a uhlík, což stimuluje růst autochtonních mikroorganismů a urychluje biologický rozklad polutantů (Mohan et al. 2006).
- Principem **bioaugmentace** je cílené vnesení mikrobiální populace v podobě inokula do kontaminované zeminy. Inokulum je připraveno tak, aby obsahovalo mikroorganismy, které jsou schopné degradovat vybrané polutanty (Lyon a Vogel 2011).
- Při metodě **Land farming** dochází k aerobnímu mikrobiálnímu rozkladu polutantů v tenkých vrstvách (10–35 cm). Vytěžená zemina se naveze a rozprostře na plochu obvykle poblíž kontaminované lokality, kde je obohacována živinami a provzdušňována oráním nebo kypřením. Protože se kontaminovaná zemina zpracovává v blízkosti svého vytěžení, nejedná se o metodu *in situ*, ale o techniku on site (Gan et al. 2009). Bylo prokázáno, že pomocí metody lze úspěšně odstranit především nižší deriváty PAU (Straube et al. 2003). Pro více perzistentní polutanty, jako jsou PCB, kreozot nebo pentachlorfenol je tato technika nevhodná (Wang et al. 1990, Mueller et al. 1991). Hlavním limitujícím faktorem je tloušťka vrstvy kontaminované zeminy. Účinná biodegradace probíhá pouze do hloubky 30–40 cm. Rychlost mikrobiálního rozkladu je také významně ovlivněna povětrnostními podmínkami (Picado et al. 2001).
- **Bio pile** je další technika on site, při které se vytěžená zemina naveze na hromady o výšce 2–3 m. Růst přirozené mikroflóry, která se účastní degradace

polutantů, je podpořen přidavkem živin a provzdušňováním (Mohn et al. 2001). Tato metoda stejně jako land farming je vhodná k remediaci lokalit kontaminovaných nižšími deriváty PAU nebo ropnými uhlovodíky, které jsou snadněji odbouratelné (Iturbe et al. 2004).

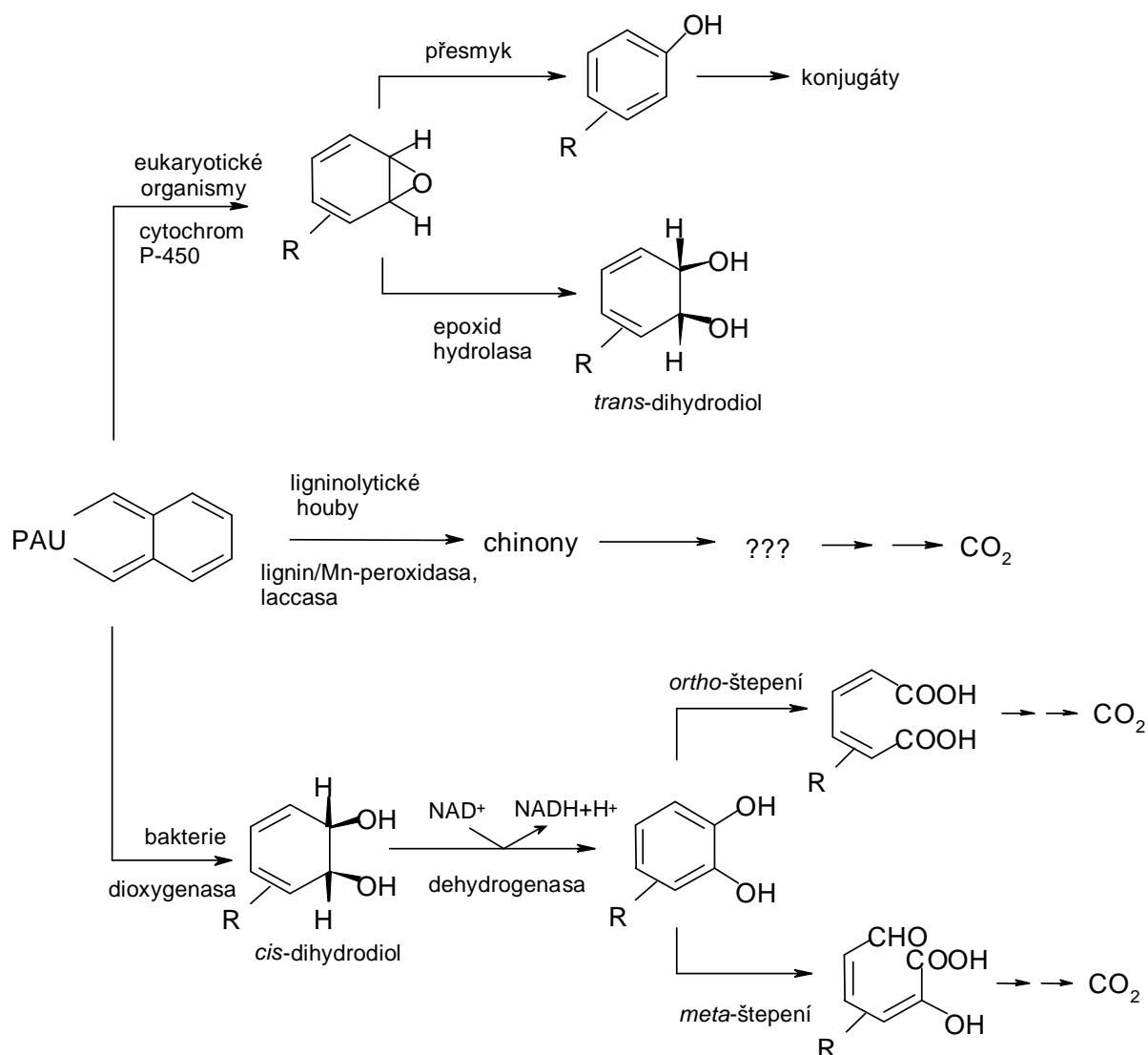
- **Kompostování** je řízený biologický proces *ex situ*, při kterém se vytěžená kontaminovaná zemina smíchá s kompostovacím substrátem, jako jsou např. hobliny, sláma, chlévská mrva nebo zelený odpad. Vhodným výběrem substrátu je zajištěna správná porosita kompostu a vyváženost obsahu uhlíku a dusíku. Tyto parametry jsou spolu s teplotou a vlhkostí důležité pro podporu termofilních mikroorganismů. Kompostovací proces obvykle prochází několika teplotními fázemi, během kterých se přirozeně mění přítomná mikroflóra (Fogarty a Tuovinen 1991). Kompost musí být dostatečně provzdušňován, čímž je podpořen aerobní biologický rozklad polutantů. Kompostováním lze úspěšně odbourávat některé výbušniny (Brunns-Nagel et al. 1998), alifatické uhlovodíky (Vallini et al. 2002) a dokonce i PAU (Cajthaml a Šašek 2005).

Všechny tyto bioremediační metody jsou založeny na mikrobiálním rozkladu polutantů. PAU většinou slouží jako zdroj uhlíku a energie (Wilson a Jones 1993). Obecné schéma aerobní biodegradace PAU je uvedeno na **obrázku 7** (Cerniglia 1992).

Některé eukaryotické organismy oxidují PAU pomocí cytochromu P450. Vzniklý arenoxid je následně hydrolyzován epoxid hydrolasou za vzniku *trans*-dihydrodiolů (Sutherland 1992) nebo dochází k přesmyku za vzniku hydroxy derivátů, které mohou vytvářet konjugáty s dalšími sloučeninami (Wunder et al. 1994). Tento proces nevede k získání energie nebo zdroje uhlíku a jedná se o děj detoxifikační.

Houby bílé hniloby produkují extracelulární ligninolytické enzymy, které radikálovým mechanismem iniciují oxidaci PAU, při které dochází k tvorbě chinonů (Sutherland et al. 1991). Následná degradační cesta chinonů není dosud spolehlivě popsána, nicméně může vést k částečné mineralizaci a produkci oxidu uhličitého (Wolter et al. 1997).

Bakterie v aerobním prostředí oxidují PAU dioxygenasou za vzniku *cis*-dihydrodiolů. Činností *cis*-dihydrodiol dehydrogenasy následně vzniká katechol, který podléhá *ortho* nebo *meta* štěpení, na kterém se podílejí specifické intradiol- nebo extradiol- dioxygenasy (Smith 1990). Princip této degradační dráhy platí obecně a je



Obrázek 7: Obecné schéma aerobní biodegradace PAU (upraveno z Cerniglia 1992).

využíván bakteriemi k transformaci různých aromatických sloučenin (Peng et al. 2008, Seo et al. 2009).

Bakterie degradující PAU byly převážně izolovány z kontaminovaných půd a sedimentů. K nejčastěji studovaným zástupcům patří bakterie rodu *Pseudomonas* spp., *Mycobacterium* spp., *Haemophilus* spp., *Rhodococcus* spp. a *Paenibacillus* spp. (Haritash a Kaushik 2009).

Pokud není v prostředí dostatek kyslíku, může biodegradace PAU probíhat anaerobně. Anaerobní mikroorganismy využívají jiné dostupné sloučeniny např. nitrát, sulfát nebo železo, které slouží jako akceptory elektronů (Widdel a Rabus 2001). Dosud bylo izolováno pouze několik nitrát (Mcnally et al. 1998) nebo sulfát redukujících bakterií (Galushko et al. 1999), které anaerobně transformují PAU. Metabolické dráhy

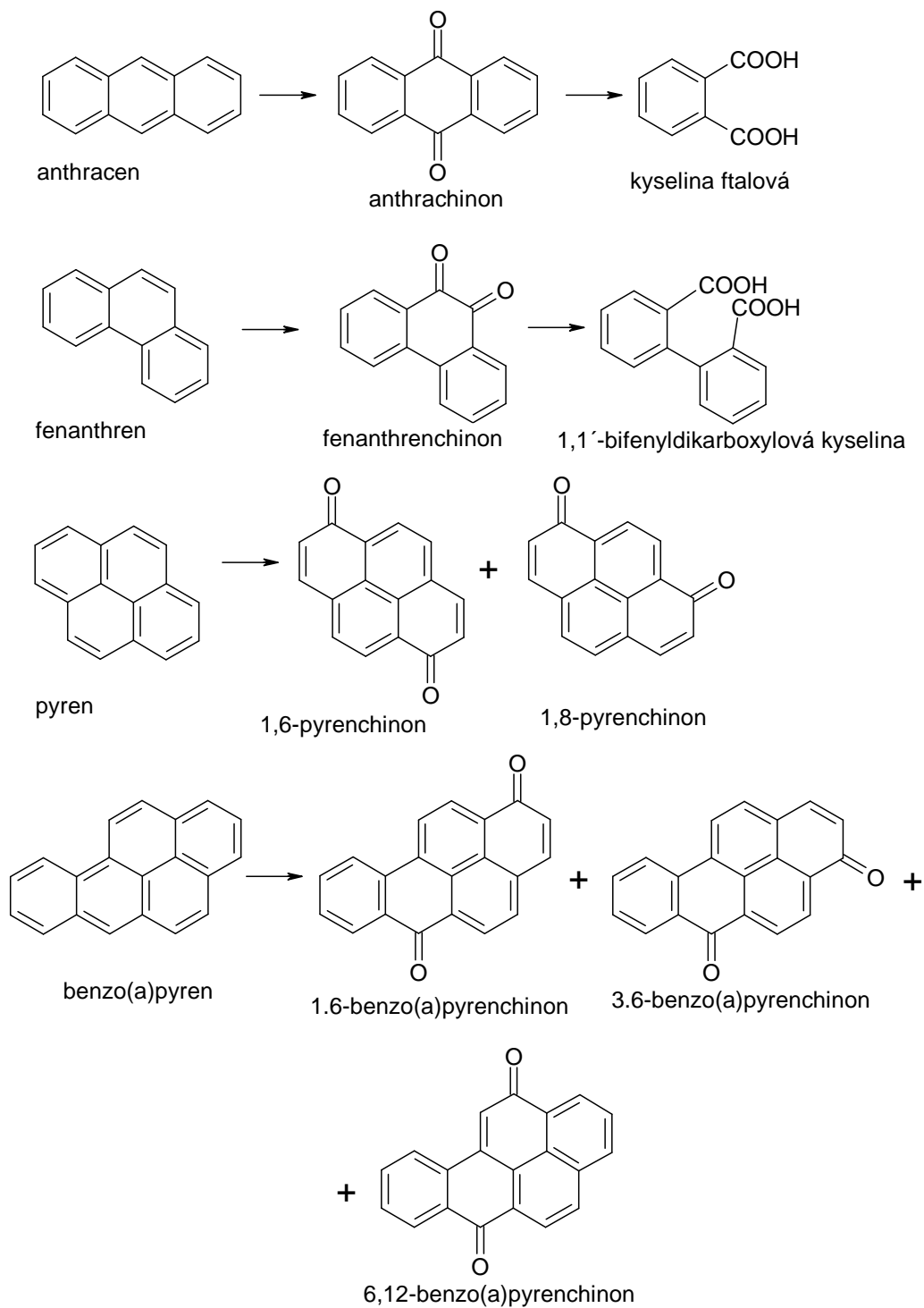
byly popsány pouze u některých PAU se dvěma nebo třemi aromatickými kruhy. Např. fenanthren je pomocí sulfát redukujících bakterií přeměněn na p-kresol, který je oxidován přes p-hydroxybenzyl alkohol a aldehyd na p-hydroxybenzoát. Po následné dekarboxylaci vzniká fenol, který se dále metabolizuje za vzniku kyseliny octové (Tsai et al. 2009). Anaerobní transformace vyšších derivátů PAU stále není dostatečně prostudována. Bioremediace za anaerobních podmínek může nalézt uplatnění při dekontaminaci sedimentů, saturované zóny, lokalit s vysokou mírou kontaminace nebo zemin, u kterých není možné zajistit dostatečné provzdušňování (Foght 2008).

Mykoremediace pomocí ligninolytických hub. Jak již bylo uvedeno, ligninolytické houby produkují extracelulární enzymy s nízkou substrátovou specifitou, které se mohou podílet na degradaci různých aromatických polutantů (Maciel et al. 2010).

Předpokládá se, že ligninolytické enzymy produkují kation-radikály, které difundují do prostředí a fungují jako mediátor mezi enzymem a substrátem (Sack et al. 1997). Nejvíce prostudovanou houbou je *Phanerochaete chrysosporium* (Bogan et al. 1996, Masaphy et al. 1996, Mohammadi a Nasernejad 2009). Na **obrázku 8** jsou uvedeny degradační produkty anthracenu, fenanthrenu, pyrenu a benzo(a)pyrenu. Radikálovým mechanismem nejprve vznikají chinony. U PAU se třemi aromatickými kruhy následně dochází ke štěpení jednoho cyklu a tvorbě dikarboxylových kyselin. U této houby byly rovněž nalezeny *trans*-dihydrofenanthrendioly, což jsou typické produkty oxidace PAU cytochromem P-450 (Syed a Yadav 2012). Bylo prokázáno, že i houby *Irpex lacteus* (Cajthaml et al. 2002), *Trametes versicolor* (Song 1999) a *Pleurotus ostreatus* (Schützendübel et al. 1999) jsou schopné účinně rozkládat PAU.

V současné době stále není dostatek informací o principu biodegradace PAU pomocí ligninolytických hub. U většiny PAU dosud nebyly identifikovány štěpné produkty chinonů a stále není jasné, zda a jakým způsobem se na transformaci podílejí další enzymy. Rovněž nebyla prokázána přímá korelace mezi degradací PAU a aktivitou ligninolytických enzymů. K objasnění degradačních mechanismů přispívají různé *in vivo* a *in vitro* experimenty s purifikovanými enzymy (Baborová et al. 2006, Covino et al. 2010). Bhattacharya et al. (2013) studovali vliv cytochromu P450 a ligninolytických enzymů na degradaci benzo(a)pyrenu. Autoři zjistili, že pokud byla houba *Phanerochaete chrysosporium* kultivována pouze v dusíkem limitovaném médiu, které podporuje tvorbu ligninolytických enzymů, tak byl benzo(a)pyren transformován

pouze z 67,4 %. Pokud byla houba nejprve kultivována v médiu obohaceném živinami, což vedlo k expresi specifických genů *pc2* a *pah4* cytochromu P450, a poté následovala kultivace v dusíkem limitovaném médiu, tak došlo ke zvýšení degradační účinnosti na 91,6 %. Výsledky této práce dokumentují provázanost intra a extracelulárních enzymů



Obrázek 8: Produkty degradace některých PAU ligninolytickou houbou *Phanerochaete chrysosporium* (opraveno z Sutherland 1992, Muncnerova a Augustin 1994)

při degradačním procesu.

Degradační potenciál ligninolytických hub lze využít k remediačním účelům. Kontaminovaná zemina ale není jejich přirozeným prostředím. Aby houbové mycelium zeminou prorůstalo, musí se smíchat s vhodným lignino-celulosovým substrátem. Výsledky prvních polních studií byly publikovány již v roce 1989. Zemina, která průměrně obsahovala 20 mg.kg⁻¹ PAU, byla smíchána se slámou porostlou myceliem houby *Pleurotus ostreatus*. Po 16 týdenní inkubaci v zemině zůstalo pouze 20 % počátečního množství PAU (Huttermann et al. 1989). Rama et al. (2001) použili houby *Trametes versicolor* a *Cunninghamella elegans* k dekontaminaci zeminy, která obsahovala 2800 mg.kg⁻¹ PAU. Během 20 týdnů klesla kontaminace na 62 %. K remediačním účelům lze využít odpadní mycelium z komerčních pěstíren hlívy ústříčné - *P. ostreatus* (Eggen a Sveum 1999), které je relativně dostupné a levné.

Další aplikace ligninolytických hub je spojena s používáním bioreaktorů. Ty převážně slouží k čištění odpadních vod nebo kalů (Zheng a Obbard 2002, Trably a Patureau 2006), nicméně někteří autoři bioreaktory modifikovali, aby byly použitelné i k remediaci kontaminovaných zemin. V bioreaktorech následně inkubovali různé druhy ligninolytických hub a testovali degradační účinnost systému (Richnow et al. 1995, Valentín et al. 2007). Např. pomocí houby *Phanerochaete chrysosporium* bylo v zemině, která pocházela ze staré zátěže, transformováno po 36 dnech inkubace 45 % počátečního množství PAU (May et al. 1997).

3.2.3 Současný vývoj remediačních metod

Neexistuje jedna metoda, pomocí které by bylo možné odstranit všechny PAU z kontaminovaných půd a sedimentů. Každá remediační technika má určité výhody, ale i omezení. Aby bylo dosaženo lepší degradační účinnosti, především u vyšších derivátů PAU, tak jsou stále častěji testovány různé kombinace fyzikálních, chemických a biologických metod. Např. Gómez et al. (2010) promývali kontaminovanou zeminu 1% roztokem hydroxypropyl- β -cyklodextrinu, čímž odstranily téměř 70 % fenanthrenu po 6 dnech. Pokud po promývání následovala elektrochemická remediace, tak byl fenanthren zcela degradován během jednoho dne. Ačkoli tato kombinace metod přinesla pozitivní výsledky a mohla by vést k významnému snížení remediačních nákladů, stále je nutné techniku ověřit na dlouhodobě kontaminovaných zeminách. Lima et al. (2012) dosáhli vyšší degradační účinnosti kombinací elektroosmózy a elektrodialýzy. Slibné výsledky

přinesla i práce autorů Wang et al. (2009), kteří fotodegradovali PAU pomocí oxidů železa.

Rovněž byly publikovány práce, které zvyšují biodegradaci PAU některými fyzikálně-chemickými metodami, např. Fentonovým činidlem (Venny et al. 2012), ozonizací (Russo et al. 2012) nebo elektrochemickou remediací (Chandrasekhar a Venkata Mohan 2012).

K remediačním účelům se stále častěji využívají organismy s určitými vlastnostmi. Např. bakterie produkující surfaktanty (Sun et al. 2012B) nebo bakterie degradující PAU při relativně nízkých teplotách 5–15°C (Simarro et al. 2013) by mohly být přínosem zejména při aplikacích *in situ*.

V současné době se při bioremediacích stále častěji používají molekulární metody, pomocí kterých lze sledovat a identifikovat mikroorganismy degradující PAU (Singleton et al. 2013). Molekulární metody se rovněž uplatňují při studiu enzymů, což přispívá k objasnění biodegradačních mechanismů (Martin et al. 2013).

3.3 Remediacce půd a sedimentů kontaminovaných fluorochinolonovými antibiotiky

Remediační metody byly vyvinuty převážně pro kontaminované vody, ze kterých je možné fluorochinolonová antibiotika účinně odstranit ozonizací (Liu et al. 2012), UV zářením (Prabhakaran et al. 2009) nebo fotokatalýzou (Sturini et al. 2012A). Vasconcelos et al. (2009) testovali degradaci ciprofloxacinu pocházejícího z odpadních vod nemocničního zařízení. Antibiotikum bylo zcela rozloženo ozonizací po 30 min a fotokatalýzou po 60 min. Výsledky dokumentují, že obě použité remediační techniky mají vysokou účinnost a jsou schopné odstranit ciprofloxacin i ve složité matrici. Rovněž bylo prokázáno, že fototransformace ciprofloxacinu vede k významnému snížení reziduální antibakteriální aktivity (Paul et al. 2010). Nedávno bylo publikováno, že nanočástice kovů mohou degradovat (Fink et al. 2012) nebo silně sorbovat (Rakshit et al. 2013) fluorochinolonová antibiotika ve vodním prostředí, což by v budoucnu mohlo také nalézt remediační využití.

Z metod založených na biologickém principu našly uplatnění rostlinné čističky odpadních vod (Xu et al. 2007, Jia et al. 2012). Rovněž byl popsán případ, kdy docházelo k významnému poklesu veterinárních antibiotik ve vodním prostředí v přítomnosti rákosu obecného *Phragmites australis* – tzv. rákosové lože. V kořenech

rákosu nebyly nalezeny vysoké koncentrace antibiotik. Autoři předpokládají, že dochází především k jejich fytoextrakci a fytodegradaci, a proto by mohl *P. australis* sloužit k fytoimediačním účelům (Carvalho et al. 2012).

Aplikace fyzikálně chemických metod k remediaci půd a sedimentů kontaminovaných fluorochinolonovými antibiotiky nebyly dosud popsány, ačkoli bylo prokázáno, že se antibiotika v těchto materiálech významně kumulují (Aristilde a Sposito 2010). Pouze Sturini et al. (2012B) studovali fotodegradaci fluorochinolonových antibiotik v povrchové vrstvě zemědělské půdy působením slunečního záření.

Zároveň existuje pouze několik publikací, ve kterých byly použity metody biologické. Selvam et al. (2012) kompostovali zeminu uměle kontaminovanou sulfadiazinem, chlortetracyklinem a ciprofloxacinem. Výsledky ukázaly, že první dvě výše jmenovaná antibiotika byla zcela transformována již během 3 a 21 dnů. Naopak ciprofloxacin byl vůči degradaci perzistentní a v kompostovací jednotce bylo i po 60 dnech kultivace detekováno 17–31 % počátečního množství. Kompostováním lze relativně rychle odstranit některá antibiotika, nicméně v případě fluorochinolonových antibiotik nebyl proces dostatečně účinný a je nutná jeho další optimalizace.

Slibné výsledky byly získány fytoimediací kontaminovaných sedimentů. Rostliny *Acrostichum aureum* L. a *Rhizophora apiculata* Blume do svých kořenů akumulovaly po 10 dnech přibližně 50 % přítomného norfloxacinu a ciprofloxacinu (Hoang et al. 2012).

Existuje relativně mnoho organismů, které jsou schopné fluorochinolonová antibiotika rozkládat, nicméně zatím pro ně nebyly nalezeny remediační aplikace. Marengo et al. (1997) studovali aerobní mikrobiální degradaci ¹⁴C-sarafloxacinu v různých půdách a zjistili, že dochází k jeho částečné mineralizaci. Adjei et al. (2006) se zaměřili na transformaci norfloxacinu pomocí *Mycobacterium gilvum*. Hlavními degradačními produkty byly *N*-acetylnorfloxacin a *N*-nitrosonorfloxacin. *N*-nitrosonorfloxacin má sice slabší antibakteriální účinky, nicméně nitrosoaminy jsou potenciální karcinogeny. K degradaci norfloxacinu bylo také použito inokulum *Microbacteria* sp., které Kim et al. (2011) izolovali z čistírny odpadních vod.

Nejvíce prostudované jsou biodegradace fluorochinolonových antibiotik pomocí některých druhů hub. Např. Williams et al. (2007) se zabývali biotransformací flumequinu houbou *Cunninghamella elegans*. Flumequin byl transformován na 7-oxoflumequin a dva diastereomery 7-hydroxyflumequinu, které by měly mít oproti

původní látce nižší antibakteriální aktivitu. Toto tvrzení však autoři nepotvrdili žádným antibakteriálním testem. Wetzstein et al. (1999) a Karl et al. (2006) degradovali ciprofloxacin a enrofloxacin houbou *Gloeophyllum striatum*. Autorům se následně podařilo nalézt a identifikovat velké množství degradačních produktů. Kultivace ciprofloxacinu (Parshikov et al. 1999) a enrofloxacinu (Parshikov et al. 2000) s houbou *Mucor ramannianus* vedla ke vzniku pouze jednoho dominantního metabolitu, kterým byl *N*-acetylderivát příslušného antibiotika. Mikrobiální transformace dalších fluorochinolonových antibiotik je podrobně popsána v práci autorů Parshikov a Sutherland (2012).

Mykoremediace pomocí ligninolytických hub. Transformace fluorochinolonových antibiotik ligninolytickými houbami stále není dostatečně prostudována, o čemž svědčí pouze jedna dosud publikovaná práce. Prieto et al. (2011) se zabývali houbou *Trametes versicolor* a její schopností metabolizovat norfloxacin a ciprofloxacin. Degradace fluorochinolonových antibiotik jinými ligninolytickými houbami nebyla prozatím testována. Před zavedením komerčních aplikací, které by byly vhodné k remediaci kontaminovaných půd a sedimentů je nutné degradační proces lépe objasnit. Stále chybí informace o transformačních mechanismech a hlavních degradačních produktech. Rovněž nejsou dostupná data o reziduální antibakteriální aktivitě degradovaných antibiotik.

3.4 Biodostupná a biopřístupná frakce organických polutantů

Tato kapitola je podrobně zpracovaná v publikaci 1, která je součástí přílohy. V publikaci je vysvětlen rozdíl mezi biodostupnou a biopřístupnou frakcí organických polutantů. V publikaci jsou rovněž popsány metody, které se ke stanovení těchto frakcí používají.

3.5 Rizika organických polutantů

Environmentální rizika organických polutantů v kontaminovaných půdách nebo sedimentech se většinou hodnotí pomocí série ekotoxikologických testů. K odhadu rizik se používají různé parametry (von der Ohe et al. 2011, Schäfer et al. 2013), jako jsou např. EC50 (efektivní koncentrace, při které reaguje 50 % jedinců souboru), LC50 (letální koncentrace, při níž uhynie 50 % sledovaných jedinců), IC50 (koncentrace, při které je inhibován růst u 50 % jedinců souboru), TU (toxické jednotky), NOEC (koncentrace bez pozorovaného účinku), PEC (předpokládaná koncentrace látky v životním prostředí) a PNEC (nejvyšší předpokládaná koncentrace látky bez škodlivých účinků). Riziko způsobené přítomností látky v životním prostředí je nízké, pokud $PEC/PNEC < 1,0$.

3.5.1 Rizika spojená s výskytem PCB a jejich metabolitů

3.5.1.1 Rizika pro člověka

I přesto, že byla výroba PCB ve většině zemí v 80. letech 20. století zakázána, PCB stále patří mezi závažné perzistentní kontaminanty, u kterých byly prokázány karcinogenní účinky (Faroon et al. 2001, Knerr a Schrenk 2006). Akutní toxicita PCB je pro člověka relativně nízká, nicméně chronická expozice může vyvolat závažné neurologické, imunologické a reprodukční poruchy. PCB jsou zdraví škodlivé a také patří mezi potenciální endokrinní disruptory (Brouwer et al. 1999, Crinnion 2011). PCB mohou do organismu vstupovat zažívacím traktem a inhalací. Vstřebávají se rovněž neporušenou pokožkou a pronikají lymfatickým a krevním oběhem až do mízních uzlin a sleziny. Mění metabolismus jiných cizorodých látek a způsobují snížení imunity organismu. PCB poškozují játra, mohou vyvolat únavu, bolesti hlavy, zvracení, kožní onemocnění, sekreci z očí. Dále způsobují záněty spojivek a poruchy krevního oběhu (Kimbrough a Krouskas 2003, Carpenter 2006).

Toxicita jednotlivých kongenerů závisí nejenom na počtu atomů chlóru v molekule, ale i na jejich vzájemné poloze. Vyšší toxicitu mají zejména kongenery s atomy chlóru v *para* a *meta* pozicích. Analogy, které mohou zaujmout planární uspořádání, se chovají podobně jako vysoce toxické chlorované dibenzodioxiny a dibenzofurany (Safe 1993). PCB se v organismu rovněž ukládají do různých tkání,

kde jsou inertní vůči metabolickým přeměnám. Nejvyšší akumulaci vykazují molekuly s 5–7 atomy chlóru (Park et al. 2005).

3.5.1.2 Rizika pro životní prostředí

Dle odhadů bylo vyrobeno po celém světě 1,5 milionů tun PCB, z nichž se velké množství uvolnilo do životního prostředí. V 60. letech bylo zjištěno, že PCB nejsou tak neškodné, jak se původně předpokládalo. Byla prokázána významná bioakumulace PCB v živých organismech a v potravním řetězci (Maruya a Lee 1998, Chiu et al. 2000).

Ekotoxicita PCB není v literatuře dostatečně popsána. Laboratorní ekotoxikologické testy s vybranými kongenery aplikovalo jen několik autorů a toxicita komerčních směsí dosud studována nebyla. Mayer et al. (1998) použili ^{14}C značené kongenery a sledovali jejich účinky na zelené řasy *Selenastrum capricornutum*. Hodnoty EC_{50} bylo dosaženo, pokud se ve vodném roztoku s řasami nacházelo 14–241 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ PCB. Autoři rovněž stanovili TCC_{50} , což jsou koncentrace PCB uvnitř buňky, které vyvolaly toxický účinek u poloviny sledovaných organismů. Tyto hodnoty byly řádově vyšší a pohybovaly se v rozsahu 6,7–14,3 $\text{mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ suché hmotnosti.

Existují rovněž práce, které hodnotí celkovou toxicitu dlouhodobě kontaminovaných sedimentů, které obsahují různé těžké kovy a organopolutaty včetně PCB (Gómez-Gutiérrez et al. 2007, Wetzel et al. 2013).

V současné době pokračuje snaha o nalezení různých bioindikátorů nebo biomarkerů, pomocí kterých by bylo možné zhodnotit stav ekosystémů. Blahová et al. (2010) se zabývali znečištěním řek Svitavy a Svatky. Autoři u kaprovitých ryb *Leuciscus cephalus* L. sledovali hladiny cytochromu P450, ethoxyresorufin-O-deethylasy, glutathion S-transferasy, tripeptid glutathionu, vitellogeninu a 11-ketotestosteronu. Výsledky korelovali s množstvím organopolutantů (hexachlorcyklohexan, hexachlorbenzen, DDT, PCB, PAU), které detekovali v říčním sedimentu, ve svalové tkáni ryb, nebo které se zachytilo v sorpčním zařízení s polopropustnou membránou. Ačkoli bylo nalezeno několik pozitivních korelací, použití biochemických markerů je stále nutné ověřit na sérii environmentálních vzorků.

Whitfield Åslund et al. (2011) studovali metabolismus žížal *Eisenia fetida*, které byly vystaveny 2 dny účinkům Arochloru 1254 (0,5–25 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) v uměle kontaminované zemině. Autoři sledovali změny v koncentraci vybravých cukrů, aminokyselin, organických kyselin, betainu a ATP a zjistili, že v přítomnosti PCB došlo

k významnému zvýšení pouze ATP. Slibné výsledky byly získány o rok později, kdy Whitfield Åslund et al. (2012) použili stejné experimentální uspořádání, ale žížaly exponovali v dlouhodobě kontaminované zemině, která obsahovala směs Arochloru 1254 a 1260 o koncentraci 91–280 mg.kg⁻¹. Autoři pozorovali specifické metabolické změny, které byly závislé na množství organického uhlíku v půdě a na biodostupném množství PCB. Tuto techniku je rovněž nutné ověřit na větším počtu vzorků. Metoda by mohla být používána k rychlému zhodnocení subletální toxicity PCB. Standardní ekotoxikologické testy se žížalami *Eisenia fetida* jsou časově náročné a obvykle trvají 14–56 dní.

Důležité je sledovat i toxicitu metabolitů, které vznikají přirozenou degradací nebo při remediacích. Ve většině publikací autoři stanovují koncentraci PCB pouze na počátku a na konci remediačního procesu a o toxicitu meziproductů se nezajímají. Vzniklé metabolity však mohou být mobilnější a toxičtější než jejich mateřské molekuly, což může představovat zvýšené riziko např. u lokalit s podzemní vodou.

Dosud byla publikována pouze jedna práce, která se podrobněji zabývá chováním a toxicitou hydroxylovaných PCB v životním prostředí (Tehrani a van Aken 2013). Hydroxylované PCB vznikají nejenom metabolickou transformací v živých organismech, ale i abiotickou reakcí s hydroxylovými radikály. Oproti PCB jsou hydroxylované deriváty polárnější, čímž se zvyšuje jejich biodostupnost a v životním prostředí se mohou snaději šířit. Rovněž bylo prokázáno, že mají mnoho toxických účinků, které nebyly u mateřských molekul PCB pozorovány. Hydroxylované PCB mohou inhibovat respiraci mitochondrií tím, že přeruší oxidativní fosforylaci nebo inhibují ATPasovou aktivitu (Narasimhan et al. 1991). Některé dihydroxylované PCB a chinonové deriváty PCB produkují reaktivní formy kyslíku (hydroxylové a superoxidové radikály), které mohou poškodit DNA (Srinivasan et al. 2001). Hydroxylované PCB významně ovlivňují endokrinní systém. Inhibují činnost štítné žlázy (Sinjari a Darnerud 1998) a rovněž mají estrogenní účinky (Arulmozhiraja et al. 2005).

Toxické účinky byly pozorovány nejenom u vyšších organismů, ale i u bakterií, u kterých dochází působením hydroxylovaných PCB ke změnám membránové struktury, inhibici protonové pumpy, redukci buněčného obsahu DNA, oxidačnímu poškození DNA a inaktivaci cytochromu *c* oxidasy, což vede k celkovému narušení metabolických funkcí buňky (Cámara et al. 2004). Přítomnost hydroxylovaných PCB v půdách a sedimentech tedy může významně snižovat biodegradační účinnost PCB.

Vlastnosti, chování a toxicita jiných metabolitů PCB v životním prostředí nebyly dosud spolehlivě popsány. Pouze několik autorů testovalo ekotoxicitu vybraných chlorbenzoových kyselin. Zhao et al. (1998) použili luminiscenční bakterie *Vibrio fischeri*. Hodnoty EC50 se pro 2-, 3- a 4-chlorbenzoové kyseliny pohybovaly v rozsahu 10,60–6,38 mg.L⁻¹. Autoři současně sledovali účinky těchto kyselin na dafnie. Změřené hodnoty IC50 byly významně vyšší a dosahovaly 122–150 mg.L⁻¹. Lee a Chen (2009) studovali růst řas *Pseudokirchneriella subcapitata* v přítomnosti různých derivátů benzoových kyselin. Mezi testovanými látkami byly i 2-, 3- a 4-chlorbenzoové kyseliny, u kterých se stanovené hodnoty EC50 pohybovaly v rozsahu 16,15–81,33 mg.L⁻¹. Akutní a chronická toxicita vybraných mono-, di- a trichlorbenzoových kyselin byla rovněž zhodnocena pomocí testu s řasnatými prvoky *Tetrahymena pyriformis*. Sledovanými parametry byly úmrtnost (LC50 6,04–17,78 mg.L⁻¹) a inhibice růstu prvoků (IC50 0,03–0,18 mg.L⁻¹) Muccini et al. 1999. Výše uvedené práce hodnotí riziko pouze pro vodní organismy. Toxicita chlorbenzoových kyselin v půdách nebyla dosud popsána. Pouze Gichner et al. (2008) použili uměle kontaminovanou zeminu, ve které vystavili sazenice tabáku účinkům chlorbenzoových kyselin. Autoři zjistili, že dochází k poškození DNA a toxicita roste při stejné koncentraci se stupněm chlorace benzoových kyselin.

Environmentální dopady spojené s remediací lokalit kontaminovaných PCB se pokusili odhadnout Hu et al. (2011) a Busset et al. (2012) také pomocí LCA studie (Life Cycle Assessment).

3.5.2 Rizika spojená s výskytem PAU a jejich metabolitů

3.5.2.1 Rizika pro člověka

Řada polyaromátů jsou látky mutagenní a karcinogenní (Harvey 1996). Do organismu vstupují zažívacím traktem, inhalací nebo dermálním kontaktem. Typická je chronická expozice, k akutním otravám dochází jen ve výjimečných případech. Díky jejich lipofilnímu charakteru snadno pronikají buněčnými membránami a mohou se ukládat do tukové tkáně. Z organismu jsou vylučovány zejména žlučí, stolicí, močí, ale i mateřským mlékem (Menzie et al. 1992, van de Wiel et al. 1993).

Mutagenita a karcinogenita jsou závislé především na chemické struktuře. Nejvíce nebezpečné jsou aromáty s pěti aromatickými kruhy (Hocman 1986). Od roku

2012 se benzo(a)pyren řadí podle Mezinárodní agentury pro výzkum rakoviny (IARC) mezi karcinogeny I. třídy (dostupné online). PAU s vyšším počtem jader jsou méně toxické, což je zřejmě způsobeno velkým rozměrem molekuly, který snižuje intercelulární pohyblivost. PAU jsou metabolizovány především v játrech, což vede k jejich postupné detoxikaci. V některých případech však dochází prostřednictvím cytochromu P450 monooxygenasy a epoxid hydrolasy k jejich aktivaci za vzniku trans-dihydrodiolů, epoxidů, případně volných radikálů (Williams a Phillips 2000). Epoxidy a volné radikály jsou vysoce reaktivní, mohou vytvářet kovalentní adukty s životně důležitými makromolekulami, jako jsou celulární proteiny a DNA. Takto vzniklé kovalentní adukty jsou zodpovědné za mutagenní a karcinogenní aktivitu molekuly (Geacintov et al. 1997)

Metabolismus PAU ovlivňují substituční skupiny přítomné na aromatickém kruhu. Nitroderiváty nevyžadují metabolickou aktivaci, působí jako přímé karcinogeny a řada z nich má mutagenní účinky (Moller et al. 1993).

PAU mají rovněž nepříznivé účinky na kůži a krvetvorbu, poškozují také dýchací, imunitní a reprodukční systém (Šafanda 1995).

3.5.2.2 Rizika pro životní prostředí

PAU patří mezi závažné kontaminanty životního prostředí. Bylo prokázáno, že se v živých organismech významně kumulují. Ke studiu bioakumulace a toxikokinetiky se nejčastěji používají kroužkovci, protože obsahují velké množství tuku, ve kterém se PAU snadno ukládají (Matscheko et al. 2002).

Nedávno byla publikována práce, ve které jsou popsány účinky PAU na různé živé organismy (Ball a Truskewycz 2013). U savců, ryb a ptáků byly pozorovány poruchy nervového, reprodukčního, dýchacího a imunitního systému. Mutagenní a karcinogenní účinky PAU byly testovány zejména u hlodavců. Vodní plazi, kteří byli vystaveni účinkům PAU, měli problémy s regulací tělesné teploty, dýcháním, plaváním a reprodukcí. U obojživelníků se také objevily dýchací problémy a v některých případech došlo ke smrti. Pro bezobratlé je typická inhibice reprodukce a při vyšších dávkách smrt. U rostlin dochází k omezení transpirace, fotosyntézy a příjmu živin.

Rizika PAU byla hodnocena různými ekotoxikologickými testy. Sverdrup et al. (2001) vystavil účinkům PAU chvostoskoky *Folsomia fimetaria* L. a sledoval jejich úmrtnost a reprodukci. Pro fluoranthen, fluoren, pyren a fenanthren se hodnoty LC50

pohybovaly v rozsahu 39–81 mg.kg⁻¹ a EC50 dosahovaly 14–51 mg.kg⁻¹ suché hmotnosti. O rok později použili Sverdrup et al. (2002) stejný experiment, ale místo chvostoskoků exponovali roupice *Enchytraeus crypticus*. Úmrtnost se projevila až při vysokých koncentracích PAU (LC50 > 2 g.kg⁻¹). Citlivějším parametrem byla inhibice reprodukce s hodnotami EC50 42–87 mg.kg⁻¹ suché hmotnosti. Chronickou toxicitu vybraných zástupců PAU se 2–5 aromatickými kruhy zhodnotili pomocí chvostoskoků *Folsomia candida* a roupice *Enchytraeus crypticus* rovněž Droge et al. (2006). Loibner et al. (2004) použili test s luminiscenčními bakteriemi *Vibrio fischeri* a studovali akutní toxicitu 16 PAU, které US EPA zařadila do seznamu závažných kontaminantů životního prostředí. Inhibice bioluminiscence byla měřena v nasycených roztocích. Limitujícím faktorem tohoto testu byla rozpustnost PAU ve vodě. Toxicita byla zaznamenána pouze u naftalenu, acenaftylenu, acenaftenu, fluorenu a fenanthrenu, které vykazují vyšší rozpustnost. U aromátů se 4–5 aromatickými kruhy pozorována nebyla.

Eom et al. (2007) se zabývali ekotoxicitou zeminy, která pocházela ze staré zátěže. Zemina obsahovala 2634 mg.kg⁻¹ sumy 16 PAU. Akutní toxicitu ve vodě rozpustných polutantů zhodnotili pomocí bakterií *Vibrio fischeri* a dafnií *Daphnia magna*. Chronické testy s řasami *Pseudokirchneriella subcapitata* a dafniemi *Ceriodaphnia dubia* byly významně citlivější. Inhibice růstu řas (EC50) byla zaznamenána v médiu, které obsahovalo pouze 2,4 % vodného výluhu zeminy a k inhibici reprodukce dafnií (EC50) došlo ve 4,3% vodném výluhu. Mutagenní účinky výluhů byly rovněž prokázány Amesovým testem a testem Mutatox. Pro půdní vzorky autoři použili reprodukční testy se žížalami *Eisenia fetida* a chvostoskoky *Folsomia candida*, a testy klíčivosti se salátem *Lactuca sativa* L. a čínským zelím *Brassica chinensis* J. Půdní vzorky byly ředěny standardní netoxickou zeminou. Nejcitlivějším parametrem byla inhibice reprodukce chvostoskoků (EC50 = 5,8 %), po které následovala inhibice reprodukce žížal (EC50 = 8,0 %). U rostlin byla pozorována pouze inhibice růstu (EC50 = 26 %), klíčivost nebyla kontaminanty ovlivněna. Z výsledků této obsáhlé studie vyplývá, že celkové hodnocení nebezpečnosti kontaminovaných půd je časově náročné a vyžaduje mnoho ekotoxikologických testů.

Podobná práce byla také publikována o rok později, kdy Manzo et al. (2008) použili kontaminované zeminy, jejich vodné výluhy a organické extrakty a studovali toxické účinky PAU pro různé druhy organismů.

PAU jsou velmi rozšířené polutanty, a proto lze nalézt mnoho publikací, které se zabývají ekotoxicitou a riziky PAU přítomných v různých environmentálních vzorcích,

např. v industriálních zeminách (Charrois et al. 2001), mořských sedimentech (Froehner et al. 2010), čistírenských kalech (Oleszczuk 2008) nebo prachových částicích a aerosolech (Reche et al. 2012).

V současné době roste zájem o studium bioindikátorů a biomarkerů, pomocí kterých by bylo možné rychle a efektivně zhodnotit kontaminované lokality. Vieira et al. (2008) vystavili ryby *Pomatoschistus microps* účinkům anthracenu, benzo(a)pyrenu a topného oleje a sledovali aktivity acetylcholinesterasy (AChE), laktát dehydrogenasy a glutathion S-transferasy. Výsledky ukázaly významnou inhibici AChE, což svědčí o neurotoxickém účinku polutantů. Autoři našli vhodný biomarker pro vodní ekosystém kontaminovaný petrochemickými produkty.

Wessel et al. (2010) studovali biotransformaci a genotoxicitu benzo(a)pyrenu, fluoranthenu a pyrenu u mořských ryb *Solea solea*. Sledovaným biomarkerem 1. fáze biotransformace byla 7-ethoxyresorufin-O-deethylasa, jejíž aktivita byla měřena v játrech. Autoři našli pozitivní korelaci mezi množstvím hydroxylovaných metabolitů a genotoxicitou, kterou stanovili metodou kometové analýzy.

Rodrigues et al. (2013) sledovali akumulaci a metabolické změny v krabech *Carcinus maenas*, které způsobil fluoranthen o koncentraci 2,56–100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Oxidativní stres zhodnotili pomocí aktivity glutathion S-transferasy, glutathion reduktasy a lipidových peroxidů. Neurotoxicitu zhodnotili pomocí aktivity acetylcholinesterasy. Aktivita isocitrát dehydrogenasy a laktát dehydrogenasy, celkové množství proteinů, glykogenu a lipidů indikovaly energetické změny metabolismu. Poškození buněk bylo vyhodnoceno na základě stability lysozomů.

Velmi podobnou studii publikovali ve stejném roce Silva et al. (2013). Autoři sledovali chování a vybrané biochemické markery u garnátů *Palaemon serratus*, kteří byli exponováni benzo(a)pyrenem o koncentraci 16–4096 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$.

Práce autorů Fasulo et al. (2010) se od výše uvedených liší tím, že testované organismy nebyly účinkům PAU vystaveny v laboratorních podmínkách, ale pocházely z přirozených dlouhodobě kontaminovaných lokalit. Environmentální riziko bylo zhodnoceno pomocí ryb *Coris julis*, u kterých autoři stanovili aktivity různých enzymů. Výsledky ukázaly statisticky významně odlišné hodnoty biomarkerů u ryb z jednotlivých lokalit. Ryby *C. julis* by mohly být využívány při biomonitoringu vodního ekosystému kontaminovaného perzistentními polutanty.

Kyslíkaté deriváty PAU (hydroxidy, chinony) nebo nitro deriváty PAU patří k nejvýznamnějším látkám, které vznikají reakcemi v atmosféře (Walgraeve et al.

2010), v půdě (Musa Bandowe et al. 2011) nebo metabolickou transformací (Wilcke et al. 2014). Deriváty PAU mají většinou vyšší toxicitu než jejich mateřské molekuly. Mnoho z nich patří mezi potenciální mutageny a karcinogeny, a oproti PAU často nepotřebují metabolickou aktivaci (Sen a Field 2013). Některé deriváty mají estrogenní nebo anti-estrogenní aktivitu (Sidhu et al. 2005) nebo jsou cytotoxické (Kubátová et al. 2004). Chinony a hydrochinony snadno produkují reaktivní formy kyslíku, které mohou poškodit celulární lipidy, proteiny nebo DNA (Taguchi et al. 2007). Rovněž byly nalezeny deriváty PAU (např. 9-hydroxyl benzo(a)pyren), které se zdají být netoxické (Levin et al. 1982).

Fallahtafti et al. (2012) studovali embryotoxicitu 1-methylfenanthrenu a jeho hydroxyderivátů u sladkovodních ryb *Oryzias latipes*. Výsledky ukázaly, že hydroxylace alifatického řetězce, způsobila slabou potenciaci nežádoucích účinků. Vysoké riziko je však spojeno s výskytem metabolitů, které měly hydroxylovaný aromatický kruh. U těchto látek byla pozorována až 4 krát vyšší toxicita ve srovnání s 1-methylfenanthrenem. Fernandes a Porte (2013) použili pohlavní žlázy kaprů *Cyprinus carpio* a zjistili, že hydroxylované deriváty PAU rovněž inhibují syntézu estrogenů a androgenů.

K objasnění mechanismů toxického účinku různých kyslíkatých derivátů PAU přispěly zejména práce následujících autorů. Bekki et al. (2009) studovali vliv těchto látek na metabolismus a endokrinní systém. Vazbu kyslíkatých derivátů na aryl hydrokarbonové receptory, β receptory štítné žlázy a protein transthyretin zhodnotili pomocí tří *in vitro* testů. Z výsledků vyplynulo, že řada látek ovlivňuje aktivitu receptorů, což může vést ke vzniku metabolických poruch. Knecht et al. (2013) sledovali malformace, expresi genetické informace a mitochondriální funkce u rybích embryí.

3.5.3 Rizika spojená s výskytem fluorochinolonových antibiotik a jejich metabolitů

3.5.3.1 Rizika pro člověka

Fluorochinolonová antibiotika se používají k léčbě různých onemocnění. Aplikují se perorálně nebo intravenózně. Perorální terapeutická dávka ciprofloxacinu se pohybuje v rozsahu 100–750 mg. Toto množství může být užíváno až dvakrát denně.

Nežádoucí účinky jako jsou nevolnost, průjem a vyrážka byly pozorovány pouze u 5 až 14 % pacientů. Předávkování je málo pravděpodobné a toxické účinky fluorochinolonových antibiotik se považují za nízké. K příznakům předávkování patří závratě, třes, bolesti hlavy, únava, křeče, halucinace, zmatenost, gastrointestinální poruchy, abnormality jaterních a ledvinových funkcí, krystalurie, hematurie (Lüllmann 2009).

Používání fluorochinolonových antibiotik může vést ke vzniku bakteriální rezistence. Vysoké riziko je spojeno s rezistencí především patogenních kmenů. U lidí byl zaznamenán výskyt resistantní bakterie *Campylobacter* po konzumaci drůbeže, které byla léčena fluorochinolonovými antibiotiky (Kassenborg et al. 2004) a na Tchajwanu byla objevena resistantní bakterie *Salmonella choleraesuis* (Chiu et al. 2002). Hlavní mechanismus vzniku rezistence je dán chromosomální mutací genů kódujících DNA gyrasu a topoisomerasu IV, což vede k poklesu afinity antibiotika k vazebnému místu na enzymu (Sukul a Spitteller 2007).

3.5.3.2 Rizika pro životní prostředí

Fluorochinolonová antibiotika zůstávají v životním prostředí aktivní po dlouhou dobu. Mohou tak působit na bakterie, které žijí především v odpadních vodách, čistírenském kalu, půdách a sedimentech, kde se mohou postupně vyvinout resistantní kmeny (Boxall 2004). Na prasečí farmě v Dánsku a v kravíně ve Velké Británii byla zaznamenána rezistence bakterie *Salmonella typhimurium* DT 104 vůči kyselině nalidixové a ciprofloxacinu (Mølbak et al. 1999, Walker et al. 2000).

Ke zhodnocení toxicity fluorochinolonových antibiotik použili Robinson et al. (2005) pět různých vodních organismů, sinice *Microcystis aeruginosa*, okřehek *Lemna minor*, zelenou řasu *Pseudokirchneriella subcapitata*, perloočky *Daphnia magna* a ryby *Pimephales promelas*. Autoři stanovili pro jednotlivé látky hodnoty EC50 a zjistili, že na přítomnost antibiotik ve vodním prostředí jsou nejvíce citlivé sinice a nejméně zelené řasy. Fytotoxické účinky flumequinu s využitím byliny *Lythrum salicaria* a okřešku *Lemna minor* sledovali Migliore et al. (2000) a Cascone et al. (2004). Výsledky testů s bioluminiscenční bakterií *Vibrio fischeri* ukázaly, že fluorochinolonová antibiotika jsou vůči této bakterii vysoce toxická. Hodnoty EC50 se pohybovaly v rozsahu 0,019–0,200 mg.L⁻¹ (Backhaus et al. 2000, Hernando et al. 2007). Delépée et al. (2004) zjistili, že mechorost *Fontinalis antipyretica* má vysokou schopnost

akumulovat flumequin, čehož lze potenciálně využít k dekontaminaci povrchových vod. Fluorochinolonová antibiotika mohou být rovněž transportována z půdy do kořenů rostlin (Boxall et al. 2006). Další ekotoxikologické studie na různých půdních a vodních organismech jsou porovnány v pracích Picó a Andreu (2007) a van der Grinten et al. (2010). Ačkoli je akutní toxicita fluorochinolonových antibiotik vůči vodním organismům relativně nízká, nedávné práce prokázaly genotoxické a karcinogenní účinky flumequinu (Kuroiwa et al. 2007, Ma et al. 2012, Zounková et al. 2011). Tyto vlastnosti nejsou dosud spolehlivě prostudovány u většiny antibiotik, a proto může jejich užívání představovat přímé riziko i pro lidský organismus.

Dosud bylo identifikováno relativně velké množství transformačních produktů, které vznikají biodegradací fluorochinolonových antibiotik. Toxické nebo antibakteriální účinky metabolitů však stále nebyly spolehlivě popsány. Pouze Wetzstein et al. (1999) studovali reziduální antibakteriální aktivitu ciprofloxacinu, který byl degradován 13 týdnů houbami hnědé hniloby. Výsledky testu s bakteriemi *Escherichia coli* ATCC 8739 ukázaly, že degradace ciprofloxacinu způsobila významnou ztrátu antibakteriální aktivity, která dosahovala 67–100 %.

4 Cíle disertační práce

Tato disertační práce zohledňuje všechny důležité aspekty mykoremediace. Snaží se o objasnění degradačních mechanismů, identifikaci transformačních produktů, predikci biodegradační účinnosti. Studuje biopřístupnou a biodostupnou frakci organických polutantů v dlouhodobě kontaminovaných zeminách. Hodnotí degradační potenciál různých ligninolytických hub. Rovněž se zabývá ekotoxicitou degradačních směsí v průběhu remediace. Ke studiu byly vybrány PCB, chlorbenzoové kyseliny, PAU a fluorochinolonová antibiotika, které byly degradovány ligninolytickými houbami. Pro biodegradační experimenty byly použity uměle kontaminované zeminy, uměle kontaminovaná tekutá média nebo industriální zeminy pocházející ze starých ekologických zátěží.

Dílčí cíle byly následující:

1. Současný přehled metod vhodných ke stanovení biopřístupné nebo biodostupné frakce organických polutantů (publikace 1).
2. Degradace PCB v tekutých médiích pomocí ligninolytických hub, identifikace transformačních produktů, zhodnocení ekotoxicity (publikace 2).
3. Degradace chlorbenzoových kyselin v tekutých médiích i v uměle kontaminované zemině pomocí ligninolytických hub, identifikace transformačních produktů, zhodnocení ekotoxicity (publikace 3).
4. Studium degradačních mechanismů ligninolytické houby *Lentinus tigrinus* při *in vivo* a *in vitro* transformaci chlorbenzoových kyselin, identifikace transformačních produktů, zhodnocení ekotoxicity (publikace 4).
5. Vztah mezi biopřístupnou frakcí a ekotoxicitou PAU (publikace 5).
6. Degradace PAU v industriální půdě nebo v dřevě impregnovaném kreosotovým olejem pomocí ligninolytických hub, predikce biodegradační účinnosti stanovením biopřístupné frakce PAU, zhodnocení ekotoxicity (publikace 6).
7. Degradace flumequinu v tekutém médiu pomocí ligninolytických hub, identifikace metabolitů, objasnění transformačních drah, zhodnocení reziduální antibakteriální aktivity (publikace 7).
8. Degradace norfloxacinu, ofloxacinu a ciprofloxacinu pomocí ligninolytických hub, identifikace metabolitů, zhodnocení reziduální antibakteriální aktivity (publikace 8).

5 Závěry

Disertační práce komplexním způsobem přistupuje k hodnocení mykoremediace a zohledňuje všechny důležité parametry.

Degradační potenciál ligninolytických hub byl testován na organických polutantech různého původu a charakteru. Nejvyšší biodegradační účinnost měly ve většině případů druhy *Pleurotus ostreatus*, *Irpex lacteus* a *Trametes versicolor*.

Sekvenční nadkritická fluidní extrakce (SFE) umožnila rychlé stanovení biopřístupné frakce polutantů, které pocházely ze starých ekologických zátěží. Výsledky následně ukázaly, že pomocí biopřístupné frakce lze predikovat biodegradační účinnost s relativně vysokou přesností.

Podářilo se identifikovat velké množství neznámých metabolitů, což přispělo k objasnění degradačních mechanismů.

Ekotoxikologické testy ukázaly, že biodegradace v některých případech nevedla k detoxikaci. Ekotoxikologické studie významně přispěly ke zhodnocení environmentálního dopadu mykoremediačního procesu.

V rámci práce byla provedena řada kultivačních experimentů, byla studována degradace při *in vivo* a *in vitro* podmínkách a rovněž byla vypracována řada extrakčních a analytických metod umožňujících selektivní a citlivou kvantifikaci organických polutantů a detekci jejich metabolitů. Následuje stručný souhrn nejdůležitějších výsledků.

- **Predikce biopřístupné frakce a ekotoxicita**

Byl vytvořen souborný článek, ve kterém jsou vysvětleny pojmy biodostupné a biopřístupné frakce organických polutantů. Publikace rovněž poskytuje přehled nejpoužívanějších technik, které se k predikci biodostupné nebo biopřístupné frakce používají. U každé metody je vysvětlen extrakční princip a současně jsou diskutovány hlavní výhody a nevýhody (publikace 1).

Pomocí vhodně navržených kontrolních vzorků a série ekotoxikologických testů bylo poprvé prokázáno, že existuje přímá souvislost mezi velikostí biopřístupné frakce PAU a jejich toxickými účinky (publikace 5).

- **Fungální degradace PCB**

Ligninolytické houby byly schopné degradovat kongenery PCB s různým stupněm chlorace, které pocházely z Deloru 103. Z osmi testovaných houbových druhů byl

nejúčinnější *Pleurotus ostreatus*. Tento druh byl rovněž schopný snížit akutní toxicitu degradační směsi. Hlavními transformačními produkty byly hydroxy a methoxy deriváty PCB nebo chlorbenzoové kyseliny (publikace 2).

- **Fungální degradace chlorbenzoových kyselin**

Chlorbenzoové kyseliny jsou konečnými produkty bakteriální degradace PCB, které jsou perzistentní, v životním prostředí se kumulují a inhibují další bakteriální degradaci PCB. Výsledky, které jsou součástí této disertační práce ukázaly, že ligninolytické houby byly schopné chlorbenzoové kyseliny rozkládat. Degradace houbou *Irpex lacteus* byla v uměle kontaminované zemině nejrychlejší a současně vedla k významnému poklesu akutní toxicity. Degradací vznikaly hydroxy a methoxy deriváty. Chlorbenzoové kyseliny byly rovněž esterifikovány nebo redukovány na aldehydy a alkoholy (publikace 3).

In vivo a *in vitro* experimenty s izolovanými extra a intracelulárními enzymy ukázaly, že na počáteční oxidaci chlorbenzoových kyselin se nepodílela lakáza ani mangan dependentní peroxidasa, ale cytochrom P450 monooxygenasa (publikace 4).

- **Fungální degradace PAU**

Biopřístupné množství PAU, které bylo stanoveno metodou SFE významně korelovalo s množstvím PAU, které bylo degradováno houbami *Lentinus tigrinus* a *Irpex lacteus*. Korelační koeficient byl pro většinu PAU vyšší než 0,80. Degradace PAU houbou *Lentinus tigrinus* současně vedla k poklesu fytotoxických účinků (publikace 6).

- **Fungální degradace fluorochinolonových antibiotik**

Bylo testováno pět druhů ligninolytických hub a všechny byly schopné flumequin během 14 dnů rozložit. Nejúčinnější houbou byl *Trametes versicolor*, který degradoval více než 90 % flumequinu během 3 dnů. Bylo identifikováno 8 hlavních metabolitů a navržena degradační dráha. Transformace flumequinu houbami *Trametes versicolor* a *Irpex lacteus* vedla k poklesu antibakteriální aktivity. Pouze redukční dráhou houby *Dichomitus squalens* vznikal metabolit s významnými antibakteriálními účinky (publikace 7).

Antibiotika norfloxacin, ofloxacin a ciprofloxacin byla více perzistentní a k jejich degradaci houbami *Trametes versicolor* a *Irpex lacteus* byla potřeba 10–14 denní kultivace. Úplná ztráta reziduální antibakteriální aktivity byla pozorována pouze ve vzorcích, které obsahovaly norfloxacin nebo ofloxacin a byly degradovány houbou *Irpex lacteus*. Rovněž *Trametes versicolor* antibiotika zcela degradoval, ale ve

vzorcih zůstala vysoká antibakteriální aktivita, což svědčí o odlišném degradačním mechanismu (publikace 8).

Literatura

- Abhilash, P. C., Jamil, S., & Singh, N. (2009). Transgenic plants for enhanced biodegradation and phytoremediation of organic xenobiotics. *Biotechnology Advances*, 27(4), 474-488.
- Abramovitch, R. A., Bangzhou, H., Abramovitch, D. A., & Jiangao, S. (1999). In situ decomposition of PCBs in soil using microwave energy. *Chemosphere*, 38(10), 2227-2236.
- Adjei, M. D., Heinze, T. M., Deck, J., Freeman, J. P., Williams, A. J., & Sutherland, J. B. (2006). Transformation of the antibacterial agent norfloxacin by environmental mycobacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(9), 5790-5793.
- Agarwal, S., Al-Abed, S. R., & Dionysiou, D. D. (2007). In situ technologies for reclamation of PCB-contaminated sediments: Current challenges and research thrust areas. *Journal of Environmental Engineering*, 133(12), 1075-1078.
- Ahmad, M., Simon, M. A., Sherrin, A., Tuccillo, M. E., Ullman, J. L., Teel, A. L., & Watts, R. J. (2011). Treatment of polychlorinated biphenyls in two surface soils using catalyzed H₂O₂ propagations. *Chemosphere*, 84(7), 855-862.
- Ahmed, S., Rasul, M. G., Martens, W. N., Brown, R., & Hashib, M. A. (2010). Heterogeneous photocatalytic degradation of phenols in wastewater: A review on current status and developments. *Desalination*, 261(1-2), 3-18.
- Ahn, C. K., Kim, Y. M., Woo, S. H., & Park, J. M. (2008). Soil washing using various nonionic surfactants and their recovery by selective adsorption with activated carbon. *Journal of Hazardous Materials*, 154(1-3), 153-160.
- Acharya, P., & Ives, P. (1994). Incineration at bayou bounfouca remediation project. *Waste Management*, 14(1), 13-26.
- Alcántara, M. T., Gómez, J., Pazos, M., & Sanromán, M. A. (2010). Electrokinetic remediation of PAH mixtures from kaolin. *Journal of Hazardous Materials*, 179(1-3), 1156-1160.
- Alder, A. C., Häggblom, M. M., Oppenheimer, S. R., & Young, L. Y. (1993). Reductive dechlorination of polychlorinated biphenyls in anaerobic sediments. *Environmental Science and Technology*, 27(3), 530-538.
- Alexander, M. (2000). Aging, bioavailability, and overestimation of risk from environmental pollutants. *Environmental Science and Technology*, 34(20), 4259-4265.
- Andy, H. P. K., Nakra, S., Jimmy Kao, C. M., & Hayes, D. F. (2008). Pressure-assisted ozonation of PCB and PAH contaminated sediments. *Chemosphere*, 72(11), 1757-1764.
- Aristilde, L., & Sposito, G. (2010). Binding of ciprofloxacin by humic substances: A molecular dynamics study. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29(1), 90-98.
- Arulmozhiraja, S., Shiraiishi, F., Okumura, T., Iida, M., Takigami, H., Edmonds, J. S., & Morita, M. (2005). Structural requirements for the interaction of 91 hydroxylated polychlorinated biphenyls with estrogen and thyroid hormone receptors. *Toxicological Sciences*, 84(1), 49-62.
- Baborová, P., Möder, M., Baldrian, P., Cajthamlová, K., & Cajthaml, T. (2006). Purification of a new manganese peroxidase of the white-rot fungus *irpex lacteus*, and degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by the enzyme. *Research in Microbiology*, 157(3), 248-253.
- Bacci, E., Cerejeira, M. J., Gaggi, C., Chemello, G., Calamari, D., & Vighi, M. (1990). Bioconcentration of organic chemical vapours in plant leaves: The Azalea model. *Chemosphere*, 21(4-5), 525-535.
- Backhaus, T., Scholze, M., & Grimme, L. H. (2000). The single substance and mixture toxicity of quinolones to the bioluminescent bacterium *Vibrio fischeri*. *Aquatic Toxicology*, 49(1-2), 49-61.
- Baker, R. S., LaChance, J., & Heron, G. (2006). In-pile thermal desorption of PAHs, PCBs and dioxins/furans in soil and sediment. *Land Contamination and Reclamation*, 14(2), 620-624.
- Baldrian, P. (2004). Purification and characterization of laccase from the white-rot fungus *Daedalea quercina* and decolorization of synthetic dyes by the enzyme. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 63(5), 560-563.
- Ball, A., & Truskewycz, A. (2013). Polyaromatic hydrocarbon exposure: An ecological impact ambiguity. *Environmental Science and Pollution Research*, 20(7), 4311-4326.
- Bekki, K., Takigami, H., Suzuki, G., Tang, N., & Hayakawaa, K. (2009). Evaluation of toxic activities of polycyclic aromatic hydrocarbon derivatives using in vitro bioassays. *Journal of Health Science*, 55(4), 601-610.
- Bhatt, M., Cajthaml, T., & Šašek, V. (2002). Mycoremediation of PAH-contaminated soil. *Folia Microbiologica*, 47(3), 255-258.
- Bhattacharya, S. S., Syed, K., Shann, J., & Yadav, J. S. (2013). A novel P450-initiated biphasic process for sustainable biodegradation of benzo[a]pyrene in soil under nutrient-sufficient conditions by

- the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Journal of Hazardous Materials*, 261, 675-683.
- Blahová, J., Havelková, M., Kružíková, K., Hilscherová, K., Halouzka, R., Modrá, H., . . . Svobodová, Z. (2010). Assessment of contamination of the Svitava and Svatka rivers in the Czech republic using selected biochemical markers. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29(3), 541-549.
- Bogan, B. W., Lamar, R. T., & Hammel, K. E. (1996). Fluorene oxidation in vivo by *Phanerochaete chrysosporium* and in vitro during manganese peroxidase-dependent lipid peroxidation. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(5), 1788-1792.
- Borja, J., Taleon, D. M., Auresenia, J., & Gallardo, S. (2005). Polychlorinated biphenyls and their biodegradation. *Process Biochemistry*, 40(6), 1999-2013.
- Boxall, A. B. A. (2004). The environmental side effects of medication. *EMBO Reports*, 5(12), 1110-1116.
- Boxall, A. B. A., Johnson, P., Smith, E. J., Sinclair, C. J., Stutt, E., & Levy, L. S. (2006). Uptake of veterinary medicines from soils into plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(6), 2288-2297.
- Boxall, A. B. A., Kolpin, D. W., Halling-Sørensen, B., & Tolls, J. (2003). Are veterinary medicines causing environmental risks? *Environmental Science and Technology*, 37(15), 286A-294A.
- Brändli, R. C., Bucheli, T. D., Kupper, T., Mayer, J., Stadelmann, F. X., & Tarradellas, J. (2007). Fate of PCBs, PAHs and their source characteristic ratios during composting and digestion of source-separated organic waste in full-scale plants. *Environmental Pollution*, 148(2), 520-528.
- Brouwer, A., Longnecker, M. P., Birnbaum, L. S., Cogliano, J., Kostyniak, P., Moore, J., . . . Winneke, G. (1999). Characterization of potential endocrine-related health effects at low-dose levels of exposure to PCBs. *Environmental Health Perspectives*, 107(SUPPL. 4), 639-649.
- Bruns-Nagel, D., Drzyzga, O., Steinbach, K., Schmidt, T. C., Von Löw, E., Gorontzy, T., . . . Gemsa, D. (1998). Anaerobic/aerobic composting of 2,4,6-trinitrotoluene-contaminated soil in a reactor system. *Environmental Science and Technology*, 32(11), 1676-1679.
- Busset, G., Sangely, M., Montrejaud-Vignoles, M., Thannberger, L., & Sablayrolles, C. (2012). Life cycle assessment of polychlorinated biphenyl contaminated soil remediation processes. *International Journal of Life Cycle Assessment*, 17(3), 325-336.
- Cajthaml, T., & Šašek, V. (2005). Application of supercritical fluid extraction (SFE) to predict bioremediation efficacy of long-term composting of PAH-contaminated soil. *Environmental Science and Technology*, 39(21), 8448-8452.
- Cajthaml, T., Möder, M., Kačer, P., Šašek, V., & Popp, P. (2002). Study of fungal degradation products of polycyclic aromatic hydrocarbons using gas chromatography with ion trap mass spectrometry detection. *Journal of Chromatography A*, 974(1-2), 213-222.
- Cámara, B., Herrera, C., Gonzalez, M., Couve, E., Hofer, B., & Seeger, M. (2004). From PCBs to highly toxic metabolites by the biphenyl pathway. *Environmental Microbiology*, 6(8), 842-850.
- Cao, Y.-M., Xu, L., & Jia, L.-Y. (2011). Analysis of PCBs degradation abilities of biphenyl dioxygenase derived from *Enterobacter* sp. LY402 by molecular simulation. *New Biotechnology*, 29(1), 90-98.
- Cardoza, L. A., Knapp, C. W., Larive, C. K., Belden, J. B., Lydy, M., & Graham, D. W. (2005). Factors affecting the fate of ciprofloxacin in aquatic field systems. *Water, Air, and Soil Pollution*, 161(1-4), 383-398.
- Carpenter, D. O. (2006). Polychlorinated biphenyls (PCBs): Routes of exposure and effects on human health. *Reviews on Environmental Health*, 21(1), 1-23.
- Carvalho, P. N., Basto, M. C. P., & Almeida, C. M. R. (2012). Potential of *Phragmites australis* for the removal of veterinary pharmaceuticals from aquatic media. *Bioresource Technology*, 116, 497-501.
- Cascone, A., Forni, C., & Migliore, L. (2004). Flumequine uptake and the aquatic duckweed, *Lemna minor* L. *Water, Air, and Soil Pollution*, 156(1-4), 241-249.
- Cassidy, D., Hampton, D., & Kohler, S. (2002). Combined chemical (ozone) and biological treatment of polychlorinated biphenyls (PCBs) adsorbed to sediments. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 77(6), 663-670.
- Cerniglia, C. E. (1992). Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Biodegradation*, 3(2-3), 351-368.
- Correa, P. A., Lin, L., Just, C. L., Hu, D., Hornbuckle, K. C., Schnoor, J. L., & Van Aken, B. (2010). The effects of individual PCB congeners on the soil bacterial community structure and the abundance of biphenyl dioxygenase genes. *Environment International*, 36(8), 901-906.
- Covino, S., Svobodová, K., Křesinová, Z., Petruccioli, M., Federici, F., D'Annibale, A., . . . Cajthaml, T. (2010). In vivo and in vitro polycyclic aromatic hydrocarbons degradation by *Lentinus* (*Panus*) *tigrinus* CBS 577.79. *Bioresource Technology*, 101(9), 3004-3012.

- Crinnion, W. J. (2011). Polychlorinated biphenyls: Persistent pollutants with immunological, neurological, and endocrinological consequences. *Alternative Medicine Review*, 16(1), 5-13.
- Cui, X., Mayer, P., & Gan, J. (2013). Methods to assess bioavailability of hydrophobic organic contaminants: Principles, operations, and limitations. *Environmental Pollution*, 172, 223-234.
- Delépée, R., Pouliquen, H., & Le Bris, H. (2004). The Bryophyte fontinalis antipyretica hedw. bioaccumulates oxytetracycline, flumequine and oxolinic acid in the freshwater environment. *Science of the Total Environment*, 322(1-3), 243-253.
- Díaz-Cruz, M. S., López De Alda, M. J., & Barceló, D. (2003). Environmental behavior and analysis of veterinary and human drugs in soils, sediments and sludge. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 22(6), 340-351.
- Dietrich, D., Hickey, W. J., & Lamar, R. (1995). Degradation of 4,4'-dichlorobiphenyl, 3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl, and 2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(11), 3904-3909.
- Dong, D., Li, P., Li, X., Zhao, Q., Zhang, Y., Jia, C., & Li, P. (2010). Investigation on the photocatalytic degradation of pyrene on soil surfaces using nanometer anatase TiO₂ under UV irradiation. *Journal of Hazardous Materials*, 174(1-3), 859-863.
- Dostupné online z: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/index.php> [cit. 2014-03-05]
- Droge, S. T. J., Paumen, M. L., Bleeker, E. A. J., Kraak, M. H. S., & Van Gestel, C. A. M. (2006). Chronic toxicity of polycyclic aromatic compounds to the springtail *Folsomia candida* and the enchytraeid *Enchytraeus crypticus*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25(9), 2423-2431.
- Eaton, D. C. (1985). Mineralization of polychlorinated biphenyls by *Phanerochaete chrysosporium*: A ligninolytic fungus. *Enzyme and Microbial Technology*, 7(5), 194-196.
- Eggen, T., & Sveum, P. (1999). Decontamination of aged creosote polluted soil: The influence of temperature, white rot fungus *Pleurotus ostreatus*, and pre-treatment. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 43(3), 125-133.
- Eom, I. C., Rast, C., Veber, A. M., & Vasseur, P. (2007). Ecotoxicity of a polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)-contaminated soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 67(2), 190-205.
- Fagerbold, S. K., Watts, J. E. M., May, H. D., & Sowers, K. R. (2011). Effects of bioaugmentation on indigenous PCB dechlorinating activity in sediment microcosms. *Water Research*, 45(13), 3899-3907.
- Fairey, J. L., Wahman, D. G., & Lowry, G. V. (2010). Effects of natural organic matter on PCB-activated carbon sorption kinetics: Implications for sediment capping applications. *Journal of Environmental Quality*, 39(4), 1359-1368.
- Fallahtafti, S., Rantanen, T., Brown, R. S., Snieckus, V., & Hodson, P. V. (2012). Toxicity of hydroxylated alkyl-phenanthrenes to the early life stages of Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Aquatic Toxicology*, 106-107, 56-64.
- Faroon, O. M., Keith, S., Jones, D., & De Rosa, C. (2001). Carcinogenic effects of polychlorinated biphenyls. *Toxicology and Industrial Health*, 17(2), 41-62.
- Fasulo, S., Marino, S., Mauceri, A., Maisano, M., Giannetto, A., D'Agata, A., . . . De Domenico, E. (2010). A multibiomarker approach in *Coris julis* living in a natural environment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73(7), 1565-1573.
- Federici, E., Giubilei, M., Santi, G., Zanzaroli, G., Negroni, A., Fava, F., . . . D'Annibale, A. (2012). Bioaugmentation of a historically contaminated soil by polychlorinated biphenyls with *Lentinus tigrinus*. *Microbial Cell Factories*, 11, 1-14.
- Fennell, D. E., Du, S., Liu, F., Liu, H., & Häggblom M. M., 6.13 - Dehalogenation of Polychlorinated Dibenzo-p-Dioxins and Dibenzofurans, Polychlorinated Biphenyls, and Brominated Flame Retardants, and Potential as a Bioremediation Strategy. *In: Comprehensive Biotechnology (Second Edition)*. Murray Moo-Young (ed.), Burlington, Academic Press 2011, p. 135-149.
- Fernandes, D., & Porte, C. (2013). Hydroxylated PAHs alter the synthesis of androgens and estrogens in subcellular fractions of carp gonads. *Science of the Total Environment*, 447, 152-159.
- Ferrarese, E., Andreottola, G., & Oprea, I. A. (2008). Remediation of PAH-contaminated sediments by chemical oxidation. *Journal of Hazardous Materials*, 152(1), 128-139.
- Field, J. A., & Sierra-Alvarez, R. (2008). Microbial transformation and degradation of polychlorinated biphenyls. *Environmental Pollution*, 155(1), 1-12.
- Fink, L., Dror, I., & Berkowitz, B. (2012). Enrofloxacin oxidative degradation facilitated by metal oxide nanoparticles. *Chemosphere*, 86(2), 144-149.
- Flotron, V., Delteil, C., Padellec, Y., & Camel, V. (2005). Removal of sorbed polycyclic aromatic hydrocarbons from soil, sludge and sediment samples using the fenton's reagent process. *Chemosphere*, 59(10), 1427-1437.

- Fogarty, A. M., & Tuovinen, O. H. (1991). Microbiological degradation of pesticides in yard waste composting. *Microbiological Reviews*, 55(2), 225-233.
- Foght, J. (2008). Anaerobic biodegradation of aromatic hydrocarbons: Pathways and prospects. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 15(2-3), 93-120.
- Froehner, S., MacEano, M., Da Luz, E. C., Souza, D. B., & MacHado, K. S. (2010). Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in marine sediments and their potential toxic effects. *Environmental Monitoring and Assessment*, 168(1-4), 205-213.
- Fujihiro, S., Higuchi, R., Hisamatsu, S., & Sonoki, S. (2009). Metabolism of hydroxylated PCB congeners by cloned laccase isoforms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 82(5), 853-860.
- Furukawa, K., Tonomura, K., & Kamibayashi, A. (1978). Effect of chlorine substitution on the biodegradability of polychlorinated biphenyls. *Applied and Environmental Microbiology*, 35(2), 223-227.
- Galushko, A., Minz, D., Schink, B., & Widdel, F. (1999). Anaerobic degradation of naphthalene by a pure culture of a novel type of marine sulphate-reducing bacterium. *Environmental Microbiology*, 1(5), 415-420.
- Gan, S., Lau, E. V., & Ng, H. K. (2009). Remediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Journal of Hazardous Materials*, 172(2-3), 532-549.
- Ganesh-Kumar, S., Kalimuthu, K., & Jebakumar, S. R. (2013). A novel bacterium that degrades aroclor-1254 and its bphc gene encodes an extradiol aromatic ring cleavage dioxygenase (EARCD). *Water, Air, and Soil Pollution*, 224(6).
- Gayosso-Canales, M., Rodríguez-Vázquez, R., Esparza-García, F. J., & Bermúdez-Cruz, R. M. (2012). PCBs stimulate laccase production and activity in *Pleurotus ostreatus* thus promoting their removal. *Folia Microbiologica*, 57(2), 149-158.
- Geacintov, N. E., Cosman, M., Hingerty, B. E., Amin, S., Broyde, S., & Patel, D. J. (1997). NMR solution structures of stereoisomeric covalent polycyclic aromatic carcinogen-DNA adducts: Principles, patterns, and diversity. *Chemical Research in Toxicology*, 10(2), 111-146.
- Gerhardt, K. E., Huang, X.-D., Glick, B. R., & Greenberg, B. M. (2009). Phytoremediation and rhizoremediation of organic soil contaminants: Potential and challenges. *Plant Science*, 176(1), 20-30.
- Gibson, D. T., Cruden, D. L., Haddock, J. D., Zylstra, G. J., & Brand, J. M. (1993). Oxidation of polychlorinated biphenyls by *Pseudomonas* sp. strain LB400 and *Pseudomonas pseudoalcaligenes* KF707. *Journal of Bacteriology*, 175(14), 4561-4564.
- Gichner, T., Lovecka, P., & Vrchotova, B. (2008). Genomic damage induced in tobacco plants by chlorobenzoic acids-metabolic products of polychlorinated biphenyls. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 657(2), 140-145.
- Girardi, C., Greve, J., Lamshöft, M., Fetzer, I., Miltner, A., Schäffer, A., & Kästner, M. (2011). Biodegradation of ciprofloxacin in water and soil and its effects on the microbial communities. *Journal of Hazardous Materials*, 198, 22-30.
- Gomes, H. I., Dias-Ferreira, C., & Ribeiro, A. B. (2013). Overview of in situ and ex situ remediation technologies for PCB-contaminated soils and sediments and obstacles for full-scale application. *Science of the Total Environment*, 445-446, 237-260.
- Gómez, J., Alcántara, M. T., Pazos, M., & Sanromán, M. A. (2009). A two-stage process using electrokinetic remediation and electrochemical degradation for treating benzo[a]pyrene spiked kaolin. *Chemosphere*, 74(11), 1516-1521.
- Gómez, J., Alcántara, M. T., Pazos, M., & Sanromán, M. A. (2010). Soil washing using cyclodextrins and their recovery by application of electrochemical technology. *Chemical Engineering Journal*, 159(1-3), 53-57.
- Gómez-Gutiérrez, A., Garnacho, E., Bayona, J. M., & Albaigés, J. (2007). Screening ecological risk assessment of persistent organic pollutants in mediterranean sea sediments. *Environment International*, 33(7), 867-876.
- Goris, J., De Vos, P., Caballero-Mellado, J., Park, J., Falsen, E., Quensen III, J. F., . . . Vandamme, P. (2004). Classification of the biphenyl- and polychlorinated biphenyl-degrading strain LB400T and relatives as *Burkholderia xenovorans* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54(5), 1677-1681.
- Hagblom, M. M. (1992). Microbial breakdown of halogenated aromatic pesticides and related compounds. *FEMS Microbiology Reviews*, 103(1), 29-71.
- Haritash, A. K., & Kaushik, C. P. (2009). Biodegradation aspects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): A review. *Journal of Hazardous Materials*, 169(1-3), 1-15.
- Harvey, R. G. (1996). Mechanisms of carcinogenesis of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 9(1-4), 1-23.

- Hernando, M. D., De Vettori, S., Martínez Bueno, M. J., & Fernández-Alba, A. R. (2007). Toxicity evaluation with *Vibrio fischeri* test of organic chemicals used in aquaculture. *Chemosphere*, 68(4), 724-730.
- Hilber, I., & Bucheli, T. D. (2010). Activated carbon amendment to remediate contaminated sediments and soils: A review. *Global Nest Journal*, 12(3), 305-317.
- Hoang, T. T. T., Tu, L. T. C., Le, N. P., & Dao, Q. P. (2012). A preliminary study on the phytoremediation of antibiotic contaminated sediment. *International Journal of Phytoremediation*, 15(1), 65-76.
- Hocman, G., *Chémia a karcinogenita*. Bratislava, Alfa 1986.
- Holliger, C., Wohlfarth, G., & Diekert, G. (1998). Reductive dechlorination in the energy metabolism of anaerobic bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 22(5), 383-398.
- Holoubek, I., Kočan, A., Holoubková, I., & Kohoutek, J. (2001). Persistentní organické polutanty POPs. *Planeta*, 9(2), ISSN 1213-3396.
- Holoubek, I., Osud polycyklických aromatických uhlovodíků v prostředí. In: Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAU), sborník referátů ze semináře. Čížek, Z. (ed.), Praha, BIJO TC 1995, p. 23-66.
- Holoubek, I., Petrik, J., Kohoutek, J., Velek, K., & Ansorgová, A., Polychlorované bifenyly (PCBs) a další typy halogenovaných polutantů v prostředí. In: Polutanty v ekosystému II, sborník referátů ze semináře. Čížek, Z. (ed.), Praha, BIJO TC 1996, p. 9-38.
- Holoubek, I., Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAHs) v prostředí. Praha, Český ekologický ústav 1996, ISBN 8085087448.
- Hu, X., Zhu, J., & Ding, Q. (2011). Environmental life-cycle comparisons of two polychlorinated biphenyl remediation technologies: Incineration and base catalyzed decomposition. *Journal of Hazardous Materials*, 191(1-3), 258-268.
- Huang, G.-Y., Zhao, L., Dong, Y.-H., & Zhang, Q. (2011). Remediation of soils contaminated with polychlorinated biphenyls by microwave-irradiated manganese dioxide. *Journal of Hazardous Materials*, 186(1), 128-132.
- Huang, X.-D., El-Alawi, Y., Penrose, D. M., Glick, B. R., & Greenberg, B. M. (2004). A multi-process phytoremediation system for removal of polycyclic aromatic hydrocarbons from contaminated soils. *Environmental Pollution*, 130(3), 465-476.
- Huttermann, A., Loske, D., Majcherczyk, A., Zadrazil, F., Waldinger, P., & Lorson, H., Reclamation of PAH-contaminated soils with active fungus-straw-substrata. In: Recycling International 3, Thome-Kozmiensky, K. J. (ed.), Berlin 1989, p. 2191-2199.
- Chandrasekhar, K., & Venkata Mohan, S. (2012). Bio-electrochemical remediation of real field petroleum sludge as an electron donor with simultaneous power generation facilitates biotransformation of PAH: Effect of substrate concentration. *Bioresource Technology*, 110, 517-525.
- Chang, Y.-C., Takada, K., Choi, D., Toyama, T., Sawada, K., & Kikuchi, S. (2013). Isolation of biphenyl and polychlorinated biphenyl-degrading bacteria and their degradation pathway. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 170(2), 381-398.
- Charrois, J. W. A., McGill, W. B., & Froese, K. L. (2001). Acute ecotoxicity of creosote-contaminated soils to *Eisenia fetida*: A survival-based approach. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20(11), 2594-2603.
- Chen, J. R., Kim, D., Park, J.-S., Gil, K.-I., & Yen, T. F. (2013). Reductive dechlorination of polychlorinated biphenyls (PCBs) by ultrasound-assisted chemical process (UACP). *Environmental Earth Sciences*, 69(3), 1025-1032.
- Chiu, A., Chiu, N., Beaubier, N. T., Beaubier, J., Nalesnik, R., Singh, D., . . . Riebow, J. (2000). Effects and mechanisms of PCB ecotoxicity in food chains: Algae → fish → seal → polar bear. *Journal of Environmental Science and Health - Part C Environmental Carcinogenesis and Ecotoxicology Reviews*, 18(2), 127-152.
- Chiu, C.-H., Wu, T.-L., Su, L.-H., Chu, C., Chia, J.-H., Kuo, A.-J., . . . Lin, T.-Y. (2002). The emergence in taiwan of fluoroquinolone resistance in *Salmonella enterica* serotype Choleraesuis. *New England Journal of Medicine*, 346(6), 413-419.
- Choi, H., Al-Abed, S. R., & Agarwal, S. (2009). Catalytic role of palladium and relative reactivity of substituted chlorines during adsorption and treatment of PCBs on reactive activated carbon. *Environmental Science and Technology*, 43(19), 7510-7515.
- Chun, C. L., Payne, R. B., Sowers, K. R., & May, H. D. (2013). Electrical stimulation of microbial PCB degradation in sediment. *Water Research*, 47(1), 141-152.
- Ichinose, H. (2013). Cytochrome P450 of wood-rotting basidiomycetes and biotechnological applications. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 60(1), 71-81.

- Iturbe, R., Flores, C., Chavez, C., Bautista, G., & Torres, L. G. (2004). Remediation of contaminated soil using soil washing and biopile methodologies at a field level. *Journal of Soils and Sediments*, 4(2), 115-122.
- Jensen, S., Johnels, A. G., Olsson, M., & Otterlind, G. (1969). DDT and PCB in marine animals from swedish waters. *Nature*, 224(5216), 247-250.
- Jia, A., Wan, Y., Xiao, Y., & Hu, J. (2012). Occurrence and fate of quinolone and fluoroquinolone antibiotics in a municipal sewage treatment plant. *Water Research*, 46(2), 387-394.
- Jonsson, S., Persson, Y., Frankki, S., Lundstedt, S., van Bavel, B., Haglund, P., & Tysklind, M. (2006). Comparison of fenton's reagent and ozone oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbons in aged contaminated soils. *Journal of Soils and Sediments*, 6(4), 208-214.
- Jonsson, S., Persson, Y., Frankki, S., van Bavel, B., Lundstedt, S., Haglund, P., & Tysklind, M. (2007). Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in contaminated soils by fenton's reagent: A multivariate evaluation of the importance of soil characteristics and PAH properties. *Journal of Hazardous Materials*, 149(1), 86-96.
- Kamei, I., Kogura, R., & Kondo, R. (2006A). Metabolism of 4,4'-dichlorobiphenyl by white-rot fungi *Phanerochaete chrysosporium* and *Phanerochaete* sp. MZ142. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 72(3), 566-575.
- Kamei, I., Sonoki, S., Haraguchi, K., & Kondo, R. (2006B). Fungal bioconversion of toxic polychlorinated biphenyls by white-rot fungus, *Phlebia brevispora*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 73(4), 932-940.
- Karl, W., Schneider, J., & Wetzstein, H.-G. (2006). Outlines of an "exploding" network of metabolites generated from the fluoroquinolone enrofloxacin by the brown rot fungus *Gloeophyllum striatum*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 71(1), 101-113.
- Kassenborg, H. D., Smith, K. E., Vugia, D. J., Rabatsky-Ehr, T., Bates, M. R., Carter, M. A., . . . Angulo, F. J. (2004). Fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* infections: Eating poultry outside of the home and foreign travel are risk factors. *Clinical Infectious Diseases*, 38(SUPPL. 3), S279-S284.
- Kaštanek, F., & Kaštanek, P. (2005). Combined decontamination processes for wastes containing PCBs. *Journal of Hazardous Materials*, 117(2-3), 185-205.
- Keum, Y. S., & Li, Q. X. (2004). Fungal laccase-catalyzed degradation of hydroxy polychlorinated biphenyls. *Chemosphere*, 56(1), 23-30.
- Khodadoust, A. P., Bagchi, R., Suidan, M. T., Brenner, R. C., & Sellers, N. G. (2000). Removal of PAHs from highly contaminated soils found at prior manufactured gas operations. *Journal of Hazardous Materials*, 80(1-3), 159-174.
- Kim, D.-W., Heinze, T. M., Kim, B.-S., Schnackenberg, L. K., Woodling, K. A., & Sutherland, J. B. (2011). Modification of norfloxacin by a *Microbacterium* sp. strain isolated from a wastewater treatment plant. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(17), 6100-6108.
- Kim, W.-S., Park, G.-Y., Kim, D.-H., Jung, H.-B., Ko, S.-H., & Baek, K. (2012). In situ field scale electrokinetic remediation of multi-metals contaminated paddy soil: Influence of electrode configuration. *Electrochimica Acta*, 86, 89-95.
- Kimbrough, R. D., & Krouskas, C. A. (2003). Human exposure to polychlorinated biphenyls and health effects: A critical synopsis. *Toxicological Reviews*, 22(4), 217-233.
- Knecht, A. L., Goodale, B. C., Truong, L., Simonich, M. T., Swanson, A. J., Matzke, M. M., . . . Tanguay, R. L. (2013). Comparative developmental toxicity of environmentally relevant oxygenated PAHs. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 271(2), 266-275.
- Knerr, S., & Schrenk, D. (2006). Carcinogenicity of "non-dioxinlike" polychlorinated biphenyls. *Critical Reviews in Toxicology*, 36(9), 663-694.
- Komancová, M., Jurčová, I., Kochánková, L., & Burkhard, J. (2003). Metabolic pathways of polychlorinated biphenyls degradation by *Pseudomonas* sp. 2. *Chemosphere*, 50(4), 537-543.
- Kubátová, A., Erbanová, P., Eichlerová, I., Homolka, L., Nerud, F., & Šásek, V. (2001). PCB congener selective biodegradation by the white rot fungus *Pleurotus ostreatus* in contaminated soil. *Chemosphere*, 43(2), 207-215.
- Kubátová, A., Herman, J., Steckler, T. S., De Veij, M., Miller, D. J., Klunder, E. B., . . . Hawthorne, S. B. (2003). Subcritical (Hot/Liquid) water dechlorination of PCBs (aroclor 1254) with metal additives and in waste paint. *Environmental Science and Technology*, 37(24), 5757-5762.
- Kubátová, A., Steckler, T. S., Gallagher, J. R., Hawthorne, S. B., & Picklo Sr., M. J. (2004). Toxicity of wide-range polarity fractions from wood smoke and diesel exhaust particulate obtained using hot pressurized water. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23(9), 2243-2250.
- Kümmerer, K. (2003). Promoting resistance by the emission of antibiotics from hospitals and households into effluent. *Clinical Microbiology and Infection*, 9(12), 1203-1214.

- Kümmerer, K. (2009A). Antibiotics in the aquatic environment - A review - part I. *Chemosphere*, 75(4), 417-434.
- Kümmerer, K. (2009B). Antibiotics in the aquatic environment – A review – part II. *Chemosphere*, 75(4), 435-441.
- Kuroiwa, Y., Umemura, T., Nishikawa, A., Kanki, K., Ishii, Y., Kodama, Y., . . . Hirose, M. (2007). Lack of in vivo mutagenicity and oxidative DNA damage by flumequine in the livers of gpt delta mice. *Archives of Toxicology*, 81(1), 63-69.
- Kužílek, V. & Koubek, P., Polycyklické aromatické uhlovodíky v hydrosféře. Praha, Výzkumný ústav vodohospodářský T. G. Masaryka 1994, ISBN 809011816X.
- Latawiec, A. E., Swindell, A. L., Simmons, P., & Reid, B. J. (2011). Bringing bioavailability into contaminated land decision making: The way forward? *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 41(1), 52-77.
- Laurent, F., Cébron, A., Schwartz, C., & Leyval, C. (2012). Oxidation of a PAH polluted soil using modified fenton reaction in unsaturated condition affects biological and physico-chemical properties. *Chemosphere*, 86(6), 659-664.
- Lee, P. Y., & Chen, C. Y. (2009). Toxicity and quantitative structure-activity relationships of benzoic acids to *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Journal of Hazardous Materials*, 165(1-3), 156-161.
- Levin, W., Wood, A., Chang, R., Ryan, D., Thomas, P., Yagi, H., . . . Jerina, D. (1982). Oxidative metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons to ultimate carcinogens. *Drug Metabolism Reviews*, 13(4), 555-580.
- Lima, A. T., Ottosen, L. M., Heister, K., & Loch, J. P. G. (2012). Assessing PAH removal from clayey soil by means of electro-osmosis and electro dialysis. *Science of the Total Environment*, 435-436, 1-6.
- Linhartová, L., Biodegradace polychlorovaných bifenyľů pomocí ligninolytických hub a jejich enzymů. Diplomová práce 2010, Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta.
- Liu, C., Nanaboina, V., Korshin, G. V., & Jiang, W. (2012). Spectroscopic study of degradation products of ciprofloxacin, norfloxacin and lomefloxacin formed in ozonated wastewater. *Water Research*, 46(16), 5235-5246.
- Liu, L., Tindall, J. A., & Friedel, M. J. (2007). Biodegradation of PAHs and PCBs in soils and sludges. *Water, Air, and Soil Pollution*, 181(1-4), 281-296.
- Liu, X., Germaine, K. J., Ryan, D., & Dowling, D. N. (2010). Genetically modified *Pseudomonas* biosensing biodegraders to detect PCB and chlorobenzoate bioavailability and biodegradation in contaminated soils. *Bioengineered Bugs*, 1(3), 198-206.
- Loibner, A. P., Szolar, O. H. J., Braun, R., & Hirmann, D. (2004). Toxicity testing of 16 priority polycyclic aromatic hydrocarbons using Lumistox®. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23(3), 557-564.
- Lüllmann, H., Mohr, K., & Wehling, M., Farmakologie a toxikologie. Praha, Grada 2009, ISBN 8024708361.
- Lyon D. Y., & Vogel, T. M., 6.08 - Bioaugmentation as a Strategy for the Treatment of Persistent Pollutants. In: *Comprehensive Biotechnology (Second Edition)*. Murray Moo-Young (ed.), Burlington, Academic Press 2011, p. 69-81.
- Ma, F., Yuan, G., Meng, L., Oda, Y., & Hu, J. (2012). Contributions of flumequine and nitroarenes to the genotoxicity of river and ground waters. *Chemosphere*, 88(4), 476-483.
- Maciel, M. J. M., Castro e Silva, A., & Ribeiro, H. C. T. (2010). Industrial and biotechnological applications of ligninolytic enzymes of the basidiomycota: A review. *Electronic Journal of Biotechnology*, 13(6).
- Macková, M., Macek, T., Ocenaskova, J., Burkhard, J., Demnerova, K., & Pazlarova, J. (1997). Biodegradation of polychlorinated biphenyls by plant cells. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 39(4), 317-325.
- Majid, A., Argue, S., & Sparks, B. D. (2002). Removal of aroclor 1016 from contaminated soil by solvent extraction soil agglomeration process. *Journal of Environmental Engineering and Science*, 1(1), 59-64.
- Manzano, M. A., Perales, J. A., Sales, D., & Quiroga, J. M. (2004). Catalyzed hydrogen peroxide treatment of polychlorinated biphenyl contaminated sandy soils. *Water, Air, and Soil Pollution*, 154(1-4), 57-69.
- Manzo, S., De Nicola, F., De Luca Picione, F., Maisto, G., & Alfani, A. (2008). Assessment of the effects of soil PAH accumulation by a battery of ecotoxicological tests. *Chemosphere*, 71(10), 1937-1944.

- Marek, M., Biodegradace polycyklických aromatických uhlovodíků. In: Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAU), sborník referátů ze semináře. Čížek, Z. (ed.), Praha, BIJO TC 1995, p. 111-118.
- Marengo, J. R., Kok, R. A., O'Brien, K., Velagaleti, R. R., & Stamm, J. M. (1997). Aerobic biodegradation of (¹⁴C)-sarafloxacin hydrochloride in soil. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 16(3), 462-471.
- Martin, F., Malagnoux, L., Violet, F., Jakoncic, J., & Jouanneau, Y. (2013). Diversity and catalytic potential of PAH-specific ring-hydroxylating dioxygenases from a hydrocarbon-contaminated soil. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(11), 5125-5135.
- Martinez, J. L. (2009). Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants. *Environmental Pollution*, 157(11), 2893-2902.
- Maruya, K. A., & Lee, R. F. (1998). Biota-sediment accumulation and trophic transfer factors for extremely hydrophobic polychlorinated biphenyls. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17(12), 2463-2469.
- Masaphy, S., Levanon, D., Henis, Y., Venkateswarlu, K., & Kelly, S. L. (1996). Evidence for cytochrome P-450 and P-450-mediated benzo(a) pyrene hydroxylation in the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *FEMS Microbiology Letters*, 135(1), 51-55.
- Matějů, V. (ed.), Kompendium sanačnických technologií, Chrudim, Havlíček Brain Team 2006, ISBN 8086832155.
- Matscheko, N., Lundstedt, S., Svensson, L., Harju, M., & Tysklind, M. (2002). Accumulation and elimination of 16 polycyclic aromatic compounds in the earthworm (*Eisenia fetida*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21(8), 1724-1729.
- May, R., Schröder, P., & Sandermann Jr., H. (1997). Ex-situ process for treating PAH-contaminated soil with *Phanerochaete chrysosporium*. *Environmental Science and Technology*, 31(9), 2626-2633.
- Mayer, P., Halling-Sørensen, B., Sijm, D. T. H. M., & Nyholm, N. (1998). Toxic cell concentrations of three polychlorinated biphenyl congeners in the green alga *Selenastrum capricornutum*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 17(9), 1848-1851.
- Mcnelly, D. L., Mihelcic, J. R., & Lueking, D. R. (1998). Biodegradation of three- and four-ring polycyclic aromatic hydrocarbons under aerobic and denitrifying conditions. *Environmental Science and Technology*, 32(17), 2633-2639.
- Menzie, C. A., Potocki, B. B., & Santodonato, J. (1992). Ambient concentrations and exposure to carcinogenic PAHs in the environment. *Environmental Science and Technology*, 26(7), 1278-1284.
- Mercier, A., Wille, G., Michel, C., Harris-Hellal, J., Amalric, L., Morlay, C., & Battaglia-Brunet, F. (2013). Biofilm formation vs. PCB adsorption on granular activated carbon in PCB-contaminated aquatic sediment. *Journal of Soils and Sediments*, 13(4), 793-800.
- Migliore, L., Cozzolino, S., & Fiori, M. (2000). Phytotoxicity to and uptake of flumequine used in intensive aquaculture on the aquatic weed, *Lythrum salicaria* L. *Chemosphere*, 40(7), 741-750.
- Michel, F. C. J., Quensen, J., & Reddy, C. A. (2001). Bioremediation of a PCB-contaminated soil via composting. *Compost Science and Utilization*, 9(4), 274-284.
- Moeder, M., Cajthaml, T., Koeller, G., Erbanová, P., & Šašek, V. (2005). Structure selectivity in degradation and translocation of polychlorinated biphenyls (delor 103) with a *Pleurotus ostreatus* (oyster mushroom) culture. *Chemosphere*, 61(9), 1370-1378.
- Mohammadi, A., & Nasernejad, B. (2009). Enzymatic degradation of anthracene by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* immobilized on sugarcane bagasse. *Journal of Hazardous Materials*, 161(1), 534-537.
- Mohan, S. V., Kisa, T., Ohkuma, T., Kanaly, R. A., & Shimizu, Y. (2006). Bioremediation technologies for treatment of PAH-contaminated soil and strategies to enhance process efficiency. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 5(4), 347-374.
- Mohn, W. W., Radziminski, C. Z., Fortin, M.-C., & Reimer, K. J. (2001). On site bioremediation of hydrocarbon-contaminated arctic tundra soils in inoculated biopiles. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 57(1-2), 242-247.
- Mølbak, K., Baggesen, D. L., Aarestrup, F. M., Ebbesen, J. M., Engberg, J., Frydendahl, K., . . . Wegener, H. C. (1999). An outbreak of multidrug-resistant, quinolone-resistant *Salmonella enterica* serotype Typhimurium DT104. *New England Journal of Medicine*, 341(19), 1420-1425.
- Moller, L., Lax, I., Torndal, U.-B., & Eriksson, L. C. (1993). Risk assessment of nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons. *Risk Analysis*, 13(3), 291-300.
- Montesdeoca-Esponda, S., Sosa-Ferrera, Z., & Santana-Rodríguez, J. J. (2012). Comparison of solid phase extraction using micellar desorption combined with LC-FD and LC-MS/MS in the determination

- of antibiotics fluoroquinolone residues in sewage samples. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, 35(14), 2081-2096.
- Morgan, P., & Sinke, A. J. C. (2005). Monitored natural attenuation. *Land Contamination and Reclamation*, 13(3), 247-265.
- Muccini, M., Layton, A. C., Saylor, G. S., & Schultz, T. W. (1999). Aquatic toxicities of halogenated benzoic acids to *Tetrahymena pyriformis*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 62(5), 616-622.
- Mueller, J. G., Lantz, S. E., Blattmann, B. O., & Chapman, P. J. (1991). Bench-scale evaluation of alternative biological treatment processes for the remediation of pentachlorophenol- and creosote-contaminated materials: Slurry-phase bioremediation. *Environmental Science and Technology*, 25(6), 1055-1061.
- Muncnerova, D., & Augustin, J. (1994). Fungal metabolism and detoxification of polycyclic aromatic hydrocarbons: A review. *Bioresource Technology*, 48(2), 97-106.
- Murena, F., & Gioia, F. (2009). Solvent extraction of chlorinated compounds from soils and hydrodechlorination of the extract phase. *Journal of Hazardous Materials*, 162(2-3), 661-667.
- Musa Bandowe, B. A., Sobocka, J., & Wilcke, W. (2011). Oxygen-containing polycyclic aromatic hydrocarbons (OPAHs) in urban soils of Bratislava, Slovakia: Patterns, relation to PAHs and vertical distribution. *Environmental Pollution*, 159(2), 539-549.
- Nakamura, R., Kondo, R., Shen, M., Ochiai, H., Hisamatsu, S., & Sonoki, S. (2012). Identification of cytochrome P450 monooxygenase genes from the white-rot fungus *Phlebia brevispora*. *AMB Express*, 2(1), 1-10.
- Narasimhan, T. R., Kim, H. L., & Safe, S. H. (1991). Effects of hydroxylated polychlorinated biphenyls on mouse liver mitochondrial oxidative phosphorylation. *Journal of Biochemical Toxicology*, 6(3), 229-236.
- Newman, L. A., & Reynolds, C. M. (2004). Phytodegradation of organic compounds. *Current Opinion in Biotechnology*, 15(3), 225-230.
- Nies, L., & Vogel, T. M. (1990). Effects of organic substrates on dechlorination of aroclor 1242 in anaerobic sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 56(9), 2612-2617.
- Ning, D., Wang, H., & Zhuang, Y. (2010). Induction of functional cytochrome P450 and its involvement in degradation of benzoic acid by *Phanerochaete chrysosporium*. *Biodegradation*, 21(2), 297-308.
- Nondek, L., *Kontaminace vod netěkavými halogenovanými uhlovodíky*. Praha, Státní zemědělské nakladatelství 1988.
- Nováková, M., Mackova, M., Chrastilova, Z., Viktorova, J., Szekeres, M., Demnerova, K., & Macek, T. (2009). Cloning the bacterial bphC gene into *Nicotiana tabacum* to improve the efficiency of PCB phytoremediation. *Biotechnology and Bioengineering*, 102(1), 29-37.
- Ogawa, N., Miyashita, K., & Chakrabarty, A. M. (2003). Microbial genes and enzymes in the degradation of chlorinated compounds. *Chemical Record*, 3(3), 158-171.
- Oleszczuk, P. (2008). Forms of polycyclic aromatic hydrocarbon in the formation of sewage sludge toxicity to *Heterocypris incongruens*. *Science of the Total Environment*, 404(1), 94-102.
- Ortega-Calvo, J. J., Tejada-Agredano, M. C., Jimenez-Sanchez, C., Congiu, E., Sungthong, R., Niqui-Arroyo, J. L., & Cantos, M. (2013). Is it possible to increase bioavailability but not environmental risk of PAHs in bioremediation? *Journal of Hazardous Materials*, 261, 733-745.
- Park, M.-J., Lee, S.-K., Yang, J.-Y., Kim, K.-W., Lee, S.-Y., Lee, W.-T., . . . Yoo, Y.-C. (2005). Distribution of organochlorines and PCB congeners in Korean human tissues. *Archives of Pharmacal Research*, 28(7), 829-838.
- Parrish, Z. D., Banks, M. K., & Schwab, A. P. (2005). Assessment of contaminant lability during phytoremediation of polycyclic aromatic hydrocarbon impacted soil. *Environmental Pollution*, 137(2), 187-197.
- Parshikov, I. A., & Sutherland, J. B. (2012). Microbial transformations of antimicrobial quinolones and related drugs. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 39(12), 1731-1740.
- Parshikov, I. A., Freeman, J. P., Lay Jr., J. O., Beger, R. D., Williams, A. J., & Sutherland, J. B. (2000). Microbiological transformation of enrofloxacin by the fungus *Mucor ramannianus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(6), 2664-2667.
- Parshikov, I. A., Freeman, J. P., Lay Jr., J. O., Beger, R. D., Williams, A. J., & Sutherland, J. B. (1999). Regioselective transformation of ciprofloxacin to N-acetylciprofloxacin by the fungus *Mucor ramannianus*. *FEMS Microbiology Letters*, 177(1), 131-135.
- Paul, T., Dodd, M. C., & Strathmann, T. J. (2010). Photolytic and photocatalytic decomposition of aqueous ciprofloxacin: Transformation products and residual antibacterial activity. *Water Research*, 44(10), 3121-3132.

- Payne, R. B., Fagervold, S. K., May, H. D., & Sowers, K. R. (2013). Remediation of polychlorinated biphenyl impacted sediment by concurrent bioaugmentation with anaerobic halo-respiring and aerobic degrading bacteria. *Environmental Science and Technology*, 47(8), 3807-3815.
- Pazos, M., Rosales, E., Alcántara, T., Gómez, J., & Sanromán, M. A. (2010). Decontamination of soils containing PAHs by electroremediation: A review. *Journal of Hazardous Materials*, 177(1-3), 1-11.
- Pecka, K., Polycyklické aromatické uhlovodíky – vznik, složení, chování, vlastnosti. In: Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAU), sborník referátů ze semináře. Čížek, Z. (ed.), Praha, BIJO TC 1995, p. 11-22.
- Peng, R.-H., Xiong, A.-S., Xue, Y., Fu, X.-Y., Gao, F., Zhao, W., . . . Yao, Q.-H. (2008). Microbial biodegradation of polyaromatic hydrocarbons. *FEMS Microbiology Reviews*, 32(6), 927-955.
- Peng, S., Wu, W., & Chen, J. (2011). Removal of PAHs with surfactant-enhanced soil washing: Influencing factors and removal effectiveness. *Chemosphere*, 82(8), 1173-1177.
- Petitgirard, A., Djehiche, M., Persello, J., Fievet, P., & Fatin-Rouge, N. (2009). PAH contaminated soil remediation by reusing an aqueous solution of cyclodextrins. *Chemosphere*, 75(6), 714-718.
- Picado, A., Nogueira, A., Baeta-Hall, L., Mendonça, E., De Fátima Rodrigues, M., Do Céu Sãágua, M., . . . Anselmo, A. M. (2001). Landfarming in a PAH-contaminated soil. *Journal of Environmental Science and Health - Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, 36(9), 1579-1588.
- Picó, Y., & Andreu, V. (2007). Fluoroquinolones in soil-risks and challenges. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 387(4), 1287-1299.
- Pieper, D. H. (2005). Aerobic degradation of polychlorinated biphenyls. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 67(2), 170-191.
- Pieper, D. H., & Seeger, M. (2008). Bacterial metabolism of polychlorinated biphenyls. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 15(2-3), 121-138.
- Plačková, M., Svobodová, K., & Cajthaml, T. (2012). Laccase activity profiling and gene expression in PCB-degrading cultures of *trametes versicolor*. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 71, 22-28.
- Pointing, S. B. (2001). Feasibility of bioremediation by white-rot fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 57(1-2), 20-33.
- Power, B., Liu, X., Germaine, K. J., Ryan, D., Brazil, D., & Dowling, D. N. (2011). Alginate beads as a storage, delivery and containment system for genetically modified PCB degrader and PCB biosensor derivatives of *Pseudomonas fluorescens* F113. *Journal of Applied Microbiology*, 110(5), 1351-1358.
- Prabhakaran, D., Sukul, P., Lamshöft, M., Maheswari, M. A., Zühlke, S., & Spittler, M. (2009). Photolysis of difloxacin and sarafloxacin in aqueous systems. *Chemosphere*, 77(6), 739-746.
- Prat, M. D., Benito, J., Compañó, R., Hernández-Arteseros, J. A., & Granados, M. (2004). Determination of quinolones in water samples by solid-phase extraction and liquid chromatography with fluorimetric detection. *Journal of Chromatography A*, 1041(1-2), 27-33.
- Prieto, A., Möder, M., Rodil, R., Adrian, L., & Marco-Urrea, E. (2011). Degradation of the antibiotics norfloxacin and ciprofloxacin by a white-rot fungus and identification of degradation products. *Bioresource Technology*, 102(23), 10987-10995.
- Quensen III, J. F., Boyd, S. A., & Tiedje, J. M. (1990). Dechlorination of four commercial polychlorinated biphenyl mixtures (Aroclors) by anaerobic microorganisms from sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 56(8), 2360-2369.
- Rababah, A., & Matsuzawa, S. (2002). Treatment system for solid matrix contaminated with fluoranthene. I - modified extraction technique. *Chemosphere*, 46(1), 39-47.
- Rakowska, M. I., Kupryianchyk, D., Harmsen, J., Grotenhuis, T., & Koelmans, A. A. (2012). In situ remediation of contaminated sediments using carbonaceous materials. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31(4), 693-704.
- Rakshit, S., Sarkar, D., Elzinga, E. J., Punamiya, P., & Datta, R. (2013). Mechanisms of ciprofloxacin removal by nano-sized magnetite. *Journal of Hazardous Materials*, 246-247, 221-226.
- Rama, R., Sigoillot, J.-C., Chaplain, V., Asther, M., Jolival, C., & Mougín, C. (2001). Inoculation of filamentous fungi in manufactured gas plant site soils and PAH transformation. *Polycyclic Aromatic Compounds*, 18(4), 397-414.
- Reche, C., Moreno, T., Amato, F., Viana, M., van Drooge, B. L., Chuang, H.-C., . . . Querol, X. (2012). A multidisciplinary approach to characterise exposure risk and toxicological effects of PM 10 and PM 2.5 samples in urban environments. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 78, 327-335.

- Rezek, J., in der Wiesche, C., Mackova, M., Zadrazil, F., & Macek, T. (2008). The effect of ryegrass (*Lolium perenne*) on decrease of PAH content in long term contaminated soil. *Chemosphere*, 70(9), 1603-1608.
- Riding, M. J., Doick, K. J., Martin, F. L., Jones, K. C., & Semple, K. T. (2013). Chemical measures of bioavailability/bioaccessibility of PAHs in soil: Fundamentals to application. *Journal of Hazardous Materials*, 261, 687-700.
- Richnow, H. H., Seifert, R., Kästner, M., Mahro, B., Horsfield, B., Tiedgen, U., . . . Michaelis, W. (1995). Rapid screening of PAH-residues in bioremediated soils. *Chemosphere*, 31(8), 3991-3999.
- Rivas, F. J. (2006). Polycyclic aromatic hydrocarbons sorbed on soils: A short review of chemical oxidation based treatments. *Journal of Hazardous Materials*, 138(2), 234-251.
- Rivas, J., Gimeno, O., de la Calle, R. G., & Beltrán, F. J. (2009). Ozone treatment of PAH contaminated soils: Operating variables effect. *Journal of Hazardous Materials*, 169(1-3), 509-515.
- Robinson, A. A., Belden, J. B., & Lydy, M. J. (2005). Toxicity of fluoroquinolone antibiotics to aquatic organisms. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24(2), 423-430.
- Rodrigues, A. P., Lehtonen, K. K., Guilhermino, L., & Guimarães, L. (2013). Exposure of *Carcinus maenas* to waterborne fluoranthene: Accumulation and multibiomarker responses. *Science of the Total Environment*, 443, 454-463.
- Ruiz, J., Pons, M. J., & Gomes, C. (2012). Transferable mechanisms of quinolone resistance. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 40(3), 196-203.
- Ruiz-Viceo, J. A., Rosales-Conrado, N., Guillén-Casla, V., Pérez-Arribas, L. V., León-González, M. E., & Polo-Díez, L. M. (2012). Fluoroquinolone antibiotic determination in bovine milk using capillary liquid chromatography with diode array and mass spectrometry detection. *Journal of Food Composition and Analysis*, 28(2), 99-106.
- Russo, L., Rizzo, L., & Belgiorno, V. (2012). Ozone oxidation and aerobic biodegradation with spent mushroom compost for detoxification and benzo(a)pyrene removal from contaminated soil. *Chemosphere*, 87(6), 595-601.
- Saavedra, J. M., Acevedo, F., González, M., & Seeger, M. (2010). Mineralization of PCBs by the genetically modified strain *Cupriavidus necator* JMS34 and its application for bioremediation of PCBs in soil. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 87(4), 1543-1554.
- Sack, U., Hofrichter, M., & Fritsche, W. (1997). Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by manganese peroxidase of *Nematoloma frowardii*. *FEMS Microbiology Letters*, 152(2), 227-234.
- Safe, S. (1993). Toxicology, structure-function relationship, and human and environmental health impacts of polychlorinated biphenyls: Progress and problems. *Environmental Health Perspectives*, 100, 259-268.
- Samanta, S. K., Singh, O. V., & Jain, R. K. (2002). Polycyclic aromatic hydrocarbons: Environmental pollution and bioremediation. *Trends in Biotechnology*, 20(6), 243-248.
- Sánchez-Trujillo, M. A., Morillo, E., Villaverde, J., & Lacorte, S. (2013). Comparative effects of several cyclodextrins on the extraction of PAHs from an aged contaminated soil. *Environmental Pollution*, 178, 52-58.
- Sarmah, A. K., Meyer, M. T., & Boxall, A. B. A. (2006). A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment. *Chemosphere*, 65(5), 725-759.
- Sato, T., Todoroki, T., Shimoda, K., Terada, A., & Hosomi, M. (2010). Behavior of PCDDs/PCDFs in remediation of PCBs-contaminated sediments by thermal desorption. *Chemosphere*, 80(2), 184-189.
- Secher, C., Lollier, M., Jézéquel, K., Cornu, J. Y., Amalric, L., & Lebeau, T. (2013). Decontamination of a polychlorinated biphenyls-contaminated soil by phytoremediation-assisted bioaugmentation. *Biodegradation*, 24(4), 549-562.
- Selvam, A., Zhao, Z., & Wong, J. W. (2012). Composting of swine manure spiked with sulfadiazine, chlortetracycline and ciprofloxacin. *Bioresource Technology*, 126, 412-417.
- Sen, S., & Field, J. M. (2013). Genotoxicity of polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites: Radical cations and ketones. *Advances in Molecular Toxicology*, 7, 83-127.
- Seo, J.-S., Keum, Y.-S., & Li, Q. X. (2009). Bacterial degradation of aromatic compounds. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 6(1), 278-309.
- Sericano, J. L., Wade, T. L., & Brooks, J. M. (1996). Accumulation and depuration of organic contaminants by the american oyster (*Crassostrea virginica*). *Science of the Total Environment*, 179(1-3), 149-160.
- Schäfer, R. B., Gerner, N., Kefford, B. J., Rasmussen, J. J., Beketov, M. A., De Zwart, D., . . . von der Ohe, P. C. (2013). How to characterize chemical exposure to predict ecologic effects on aquatic communities? *Environmental Science and Technology*, 47(14), 7996-8004.

- Schützendübel, A., Majcherczyk, A., Johannes, C., & Hüttermann, A. (1999). Degradation of fluorene, anthracene, phenanthrene, fluoranthene, and pyrene lacks connection to the production of extracellular enzymes by *Pleurotus ostreatus* and *Bjerkandera adusta*. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 43(3), 93-100.
- Sidhu, S., Gullett, B., Striebich, R., Klosterman, J., Contreras, J., & DeVito, M. (2005). Endocrine disrupting chemical emissions from combustion sources: Diesel particulate emissions and domestic waste open burn emissions. *Atmospheric Environment*, 39(5), 801-811.
- Silva, A., Delerue-Matos, C., & Fiúza, A. (2005). Use of solvent extraction to remediate soils contaminated with hydrocarbons. *Journal of Hazardous Materials*, 124(1-3), 224-229.
- Silva, C., Oliveira, C., Gravato, C., & Almeida, J. R. (2013). Behaviour and biomarkers as tools to assess the acute toxicity of benzo(a)pyrene in the common prawn *Palaemon serratus*. *Marine Environmental Research*, 90, 39-46.
- Simarro, R., González, N., Bautista, L. F., & Molina, M. C. (2013). Biodegradation of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by a wood-degrading consortium at low temperatures. *FEMS Microbiology Ecology*, 83(2), 438-449.
- Sin, J.-C., Lam, S.-M., Mohamed, A. R., & Lee, K.-T. (2012). Degrading endocrine disrupting chemicals from wastewater by TiO₂ photocatalysis: A review. *International Journal of Photoenergy*, 2012, 1-23.
- Singleton, D. R., Jones, M. D., Richardson, S. D., & Aitken, M. D. (2013). Pyrosequence analyses of bacterial communities during simulated in situ bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated soil. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(18), 8381-8391.
- Sinjari, T., & Darnerud, P. O. (1998). Hydroxylated polychlorinated biphenyls: Placental transfer and effects on thyroxine in the foetal mouse. *Xenobiotica*, 28(1), 21-30.
- Smith, M. R. (1990). The biodegradation of aromatic hydrocarbons by bacteria. *Biodegradation*, 1(2-3), 191-206.
- Sondossi, M., Sylvestre, M., & Ahmad, D. (1992). Effects of chlorobenzoate transformation on the *Pseudomonas testosteroni* biphenyl and chlorobiphenyl degradation pathway. *Applied and Environmental Microbiology*, 58(2), 485-495.
- Song, H.-G. (1999). Comparison of pyrene biodegradation by white rot fungi. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 15(6), 669-672.
- Spain, J. C. (1994). Environmental biotechnology research: An overview. *Aviation Space and Environmental Medicine*, 65(5 II), A131-A137.
- Srinivasan, A., Lehmler, H.-J., Robertson, L. W., & Ludewig, G. (2001). Production of DNA strand breaks in vitro and reactive oxygen species in vitro and in HL-60 cells by PCB metabolites. *Toxicological Sciences*, 60(1), 92-102.
- Steliga, T., Jakubowicz, P., & Kapusta, P. (2012). Changes in toxicity during in situ bioremediation of weathered drill wastes contaminated with petroleum hydrocarbons. *Bioresource Technology*, 125, 1-10.
- Straube, W. L., Nestler, C. C., Hansen, L. D., Ringleberg, D., Pritchard, P. H., & Jones-Meehan, J. (2003). Remediation of polyaromatic hydrocarbons (PAHs) through landfarming with biostimulation and bioaugmentation. *Acta Biotechnologica*, 23(2-3), 179-196.
- Sturini, M., Speltini, A., Maraschi, F., Profumo, A., Pretali, L., Fasani, E., & Albin, A. (2012B). Sunlight-induced degradation of soil-adsorbed veterinary antimicrobials marbofloxacin and enrofloxacin. *Chemosphere*, 86(2), 130-137.
- Sturini, M., Speltini, A., Maraschi, F., Profumo, A., Pretali, L., Irastorza, E. A., . . . Albin, A. (2012A). Photolytic and photocatalytic degradation of fluoroquinolones in untreated river water under natural sunlight. *Applied Catalysis B: Environmental*, 119-120, 32-39.
- Sukul, P., & Spitteller, M. (2007). Fluoroquinolone antibiotics in the environment. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 191, 131-162.
- Sun, G.-D., Xu, Y., Jin, J.-H., Zhong, Z.-P., Liu, Y., Luo, M., & Liu, Z.-P. (2012B). Pilot scale ex-situ bioremediation of heavily PAHs-contaminated soil by indigenous microorganisms and bioaugmentation by a PAHs-degrading and bioemulsifier-producing strain. *Journal of Hazardous Materials*, 233-234, 72-78.
- Sun, M., Luo, Y., Christie, P., Jia, Z., Li, Z., & Teng, Y. (2012A). Methyl-β-cyclodextrin enhanced biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons and associated microbial activity in contaminated soil. *Journal of Environmental Sciences*, 24(5), 926-933.
- Sutherland, J. B. (1992). Detoxification of polycyclic aromatic hydrocarbons by fungi. *Journal of Industrial Microbiology*, 9(1), 53-62.

- Sutherland, J. B., Selby, A. L., Freeman, J. P., Evans, F. E., & Cerniglia, C. E. (1991). Metabolism of phenanthrene by *Phanerochaete chrysosporium*. *Applied and Environmental Microbiology*, 57(11), 3310-3316.
- Sverdrup, L. E., Jensen, J., Kelley, A. E., Krogh, P. H., & Stenersen, J. (2002). Effects of eight polycyclic aromatic compounds on the survival and reproduction of *Enchytraeus crypticus* (Oligochaeta, Clitellata). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21(1), 109-114
- Sverdrup, L. E., Kelley, A. E., Krogh, P. H., Nielsen, T., Jensen, J., Scott-Fordsmand, J. J., & Stenersen, J. (2001). Effects of eight polycyclic aromatic compounds on the survival and reproduction of the springtail *Folsomia fimetaria* L. (Collembola, Isotomidae). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20(6), 1332-1338.
- Syed, K., & Yadav, J. S. (2012). P450 monooxygenases (P450_{ome}) of the model white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Critical Reviews in Microbiology*, 38(4), 339-363.
- Sylvestre, M. (2013). Prospects for using combined engineered bacterial enzymes and plant systems to rhizoremediate polychlorinated biphenyls. *Environmental Microbiology*, 15(3), 907-915.
- Šafanda, J., Polycyklické aromatické uhlovodíky: Biochemická podstata iniciace karcinogenezy. In: Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAU), sborník referátů ze semináře. Čížek, Z. (ed.), Praha, BIJO TC 1995, p. 67–94.
- Šušla, M., & Svobodová, K. (2006). Ligninolytic enzymes as useful tools for biodegradation of recalcitrant organopollutants. *Chemické Listy*, 100(10), 889-895.
- Taguchi, K., Fujii, S., Yamano, S., Cho, A. K., Kamisuki, S., Nakai, Y., . . . Kumagai, Y. (2007). An approach to evaluate two-electron reduction of 9,10-phenanthraquinone and redox activity of the hydroquinone associated with oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine*, 43(5), 789-799.
- Tamtam, F., Le Bot, B., Dinh, T., Mompelat, S., Eurin, J., Chevreuil, M., . . . Ayrault, S. (2011). A 50-year record of quinolone and sulphonamide antimicrobial agents in Seine river sediments. *Journal of Soils and Sediments*, 11(5), 852-859.
- Tehrani, R., & van Aken, B. (2013). Hydroxylated polychlorinated biphenyls in the environment: Sources, fate, and toxicities. *Environmental Science and Pollution Research*, , 1-12.
- Tejeda-Agredano, M. C., Gallego, S., Vila, J., Grifoll, M., Ortega-Calvo, J. J., & Cantos, M. (2013). Influence of the sunflower rhizosphere on the biodegradation of PAHs in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 57, 830-840.
- Tolls, J. (2001). Sorption of veterinary pharmaceuticals in soils: A review. *Environmental Science and Technology*, 35(17), 3397-3406.
- Toussaint, J.-P., Pham, T. T. M., Barriault, D., & Sylvestre, M. (2012). Plant exudates promote PCB degradation by a rhodococcal rhizobacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 95(6), 1589-1603.
- Trably, E., & Patureau, D. (2006). Successful treatment of low PAH-contaminated sewage sludge in aerobic bioreactors. *Environmental Science and Pollution Research*, 13(3), 170-176.
- Tsai, J.-C., Kumar, M., & Lin, J.-G. (2009). Anaerobic biotransformation of fluorene and phenanthrene by sulfate-reducing bacteria and identification of biotransformation pathway. *Journal of Hazardous Materials*, 164(2-3), 847-855.
- Usman, M., Faure, P., Ruby, C., & Hanna, K. (2012). Remediation of PAH-contaminated soils by magnetite catalyzed fenton-like oxidation. *Applied Catalysis B: Environmental*, 117-118, 10-17.
- Valentín, L., Lu-Chau, T. A., López, C., Feijoo, G., Moreira, M. T., & Lema, J. M. (2007). Biodegradation of dibenzothiophene, fluoranthene, pyrene and chrysene in a soil slurry reactor by the white-rot fungus *bjerkandera* sp. BOS55. *Process Biochemistry*, 42(4), 641-648.
- Valli, K., & Gold, M. H. (1991). Degradation of 2,4-dichlorophenol by the lignin-degrading fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Journal of Bacteriology*, 173(1), 345-352.
- Vallini, G., Gregorio, S. D., Pera, A., & Cunha Queda, A. C. F. (2002). Exploitation of composting management for either reclamation of organic wastes or solid-phase treatment of contaminated environmental matrices. *Environmental Reviews*, 10(4), 195-207.
- van Aken, B., & Bhalla, R., 6.14 - Microbial Degradation of Polychlorinated Biphenyls. In: Comprehensive Biotechnology (Second Edition). Murray Moo-Young (ed.), Burlington, Academic Press 2011, p. 151-166.
- van Aken, B., Correa, P. A., & Schnoor, J. L. (2010). Phytoremediation of polychlorinated biphenyls: New trends and promises. *Environmental Science and Technology*, 44(8), 2767-2776.
- van de Wiel, J. A. G., Fijneman, P. H. S., Duijf, C. M. P., Anzion, R. B. M., Theuvs, J. L. G., & Bos, R. P. (1993). Excretion of benzo[a]pyrene and metabolites in urine and feces of rats: Influence of route of administration, sex and long-term treatment. *Toxicology*, 80(2-3), 103-115.

- van der Grinten, E., Pikkemaat, M. G., van den Brandhof, E.-J., Stroomberg, G. J., & Kraak, M. H. S. (2010). Comparing the sensitivity of algal, cyanobacterial and bacterial bioassays to different groups of antibiotics. *Chemosphere*, 80(1), 1-6.
- Vasconcelos, T. G., Kümmerer, K., Henriques, D. M., & Martins, A. F. (2009). Ciprofloxacin in hospital effluent: Degradation by ozone and photoprocesses. *Journal of Hazardous Materials*, 169(1-3), 1154-1158.
- Vasilyeva, G. K., & Strijakova, E. R. (2007). Bioremediation of soils and sediments contaminated by polychlorinated biphenyls. *Microbiology*, 76(6), 639-653.
- Vasilyeva, G. K., Strijakova, E. R., Nikolaeva, S. N., Lebedev, A. T., & Shea, P. J. (2010). Dynamics of PCB removal and detoxification in historically contaminated soils amended with activated carbon. *Environmental Pollution*, 158(3), 770-777.
- Véber, K., & Kredl, F., Polychlorované bifenyly v biosféře, zejména ve vodách a některých vodních organismech. Praha, Academia 1991, ISBN 8020003614.
- Venny, Gan, S., & Ng, H. K. (2012). Modified fenton oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)-contaminated soils and the potential of bioremediation as post-treatment. *Science of the Total Environment*, 419, 240-249.
- Vieira, L. R., Sousa, A., Frasco, M. F., Lima, I., Morgado, F., & Guilhermino, L. (2008). Acute effects of benzo[a]pyrene, anthracene and a fuel oil on biomarkers of the common goby *Pomatoschistus microps* (Teleostei, Gobiidae). *Science of the Total Environment*, 395(2-3), 87-100.
- Viglianti, C., Hanna, K., De Brauer, C., & Germain, P. (2006). Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons from aged-contaminated soil using cyclodextrins: Experimental study. *Environmental Pollution*, 140(3), 427-435.
- von der Ohe, P. C., Dulio, V., Slobodnik, J., De Deckere, E., Kühne, R., Ebert, R.-U., . . . Brack, W. (2011). A new risk assessment approach for the prioritization of 500 classical and emerging organic microcontaminants as potential river basin specific pollutants under the European water framework directive. *Science of the Total Environment*, 409(11), 2064-2077.
- Vráblíková, J., & Škrlant V., Problematika polychlorovaných bifenyly ve vztahu ke kontaminaci životního prostředí. Ústí nad Labem, Ústav pro životní prostředí 1991, ISBN 8085399210.
- Walgraeve, C., Demeestere, K., Dewulf, J., Zimmermann, R., & Van Langenhove, H. (2010). Oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons in atmospheric particulate matter: Molecular characterization and occurrence. *Atmospheric Environment*, 44(15), 1831-1846.
- Walker, R. A., Lawson, A. J., Lindsay, E. A., Ward, L. R., Wright, P. A., Bolton, F. J., . . . Threlfall, E. J. (2000). Decreased susceptibility to ciprofloxacin in outbreak-associated multiresistant *Salmonella typhimurium* DT104. *Veterinary Record*, 147(14), 395-396.
- Wang, X., Yu, X., & Bartha, R. (1990). Effect of bioremediation on polycyclic aromatic hydrocarbon residues in soil. *Environmental Science and Technology*, 24(7), 1086-1089.
- Wang, Y., Liu, C. S., Li, F. B., Liu, C. P., & Liang, J. B. (2009). Photodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbon pyrene by iron oxide in solid phase. *Journal of Hazardous Materials*, 162(2-3), 716-723.
- Wessel, N., Santos, R., Menard, D., Le Menach, K., Buchet, V., Lebayon, N., . . . Akcha, F. (2010). Relationship between PAH biotransformation as measured by biliary metabolites and EROD activity, and genotoxicity in juveniles of sole (*Solea solea*). *Marine Environmental Research*, 69(SUPPL. 1), S71-S73.
- Wetzel, M. A., Wahrenndorf, D.-S., & von der Ohe, P. C. (2013). Sediment pollution in the Elbe estuary and its potential toxicity at different trophic levels. *Science of the Total Environment*, 449, 199-207.
- Wetzstein, H.-G., Stadler, M., Tichy, H.-V., Dalhoff, A., & Karl, W. (1999). Degradation of ciprofloxacin by basidiomycetes and identification of metabolites generated by the brown rot fungus *Gloeophyllum striatum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(4), 1556-1563.
- Whitfield Åslund, M. L., Simpson, A. J., & Simpson, M. J. (2011). ¹H NMR metabolomics of earthworm responses to polychlorinated biphenyl (PCB) exposure in soil. *Ecotoxicology*, 20(4), 836-846.
- Whitfield Åslund, M. L., Simpson, M. J., Simpson, A. J., Zeeb, B. A., & Rutter, A. (2012). Earthworm metabolomic responses after exposure to aged PCB contaminated soils. *Ecotoxicology*, 21(7), 1947-1956.
- Whitfield Åslund, M. L., Zeeb, B. A., Rutter, A., & Reimer, K. J. (2007). In situ phytoextraction of polychlorinated biphenyl - (PCB)contaminated soil. *Science of the Total Environment*, 374(1), 1-12.
- Widdel, F., & Rabus, R. (2001). Anaerobic biodegradation of saturated and aromatic hydrocarbons. *Current Opinion in Biotechnology*, 12(3), 259-276.

- Wiegel, J., & Wu, Q. (2000). Microbial reductive dehalogenation of polychlorinated biphenyls. *FEMS Microbiology Ecology*, 32(1), 1-15.
- Wilcke, W., Kieseewetter, M., & Musa Bandowe, B. A. (2014). Microbial formation and degradation of oxygen-containing polycyclic aromatic hydrocarbons (OPAHs) in soil during short-term incubation. *Environmental Pollution*, 184, 385-390.
- Williams, A. J., Deck, J., Freeman, J. P., Paul Chiarelli, M., Adjei, M. D., Heinze, T. M., & Sutherland, J. B. (2007). Biotransformation of flumequine by the fungus *Cunninghamella elegans*. *Chemosphere*, 67(2), 240-243.
- Williams, J. A., & Phillips, D. H. (2000). Mammary expression of xenobiotic metabolizing enzymes and their potential role in breast cancer. *Cancer Research*, 60(17), 4667-4677.
- Wilson, S. C., & Jones, K. C. (1993). Bioremediation of soil contaminated with polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs): A review. *Environmental Pollution*, 81(3), 229-249.
- Wolter, M., Zadrazil, F., Martens, R., & Bahadir, M. (1997). Degradation of eight highly condensed polycyclic aromatic hydrocarbons by *Pleurotus* sp. florida in solid wheat straw substrate. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 48(3), 398-404.
- Woo, O. T., Chung, W. K., Wong, K. H., Chow, A. T., & Wong, P. K. (2009). Photocatalytic oxidation of polycyclic aromatic hydrocarbons: Intermediates identification and toxicity testing. *Journal of Hazardous Materials*, 168(2-3), 1192-1199.
- Wu, B.-Z., Chen, H.-Y., Wang, S. J., Wai, C. M., Liao, W., & Chiu, K. (2012). Reductive dechlorination for remediation of polychlorinated biphenyls. *Chemosphere*, 88(7), 757-768.
- Wu, T.-N. (2008). Environmental perspectives of microwave applications as remedial alternatives: Review. *Practice Periodical of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste Management*, 12(2), 102-115.
- Wunder, T., Kremer, S., Sterner, O., & Anke, H. (1994). Metabolism of the polycyclic aromatic hydrocarbon pyrene by *Aspergillus niger* SK 9317. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 42(4), 636-641.
- Xu, W., Zhang, G., Li, X., Zou, S., Li, P., Hu, Z., & Li, J. (2007). Occurrence and elimination of antibiotics at four sewage treatment plants in the Pearl River Delta (PRD), south china. *Water Research*, 41(19), 4526-4534.
- Yadav, J. S., Quensen III, J. F., Tiedje, J. M., & Reddy, C. A. (1995). Degradation of polychlorinated biphenyl mixtures (Aroclors 1242, 1254, and 1260) by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* as evidenced by congener-specific analysis. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(7), 2560-2565.
- Yagi, O., & Sudo, R. (1980). Degradation of polychlorinated biphenyls by microorganisms. *Journal of the Water Pollution Control Federation*, 52(5), 1035-1043.
- Zahran, E. M., Bhattacharyya, D., & Bachas, L. G. (2013). Reactivity of Pd/Fe bimetallic nanotubes in dechlorination of coplanar polychlorinated biphenyls. *Chemosphere*, 91(2), 165-171.
- Zhang, C., Du, Y., Tao, X.-Q., Zhang, K., Shen, D.-S., & Long, Y.-Y. (2013). Dechlorination of polychlorinated biphenyl-contaminated soil via anaerobic composting with pig manure. *Journal of Hazardous Materials*, 261, 826-832.
- Zhang, L., Li, P., Gong, Z., & Li, X. (2008). Photocatalytic degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons on soil surfaces using TiO₂ under UV light. *Journal of Hazardous Materials*, 158(2-3), 478-484.
- Zhao, Y. H., Ji, G. D., Cronin, M. T. D., & Dearden, J. C. (1998). QSAR study of the toxicity of benzoic acids to *Vibrio fischeri*, *Daphnia magna* and carp. *Science of the Total Environment*, 216(3), 205-215.
- Zheng, Z., & Obbard, J. P. (2002). Removal of surfactant solubilized polycyclic aromatic hydrocarbons by *Phanerochaete chrysosporium* in a rotating biological contactor reactor. *Journal of Biotechnology*, 96(3), 241-249.
- Zhou, W., & Zhu, L. (2007). Efficiency of surfactant-enhanced desorption for contaminated soils depending on the component characteristics of soil-surfactant-PAHs system. *Environmental Pollution*, 147(1), 66-73.
- Zounková, R., Klimešová, Z., Nepejchalová, L., Hilscherová, K., & Bláha, L. (2011). Complex evaluation of ecotoxicity and genotoxicity of antimicrobials oxytetracycline and flumequine used in aquaculture. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 30(5), 1184-1189.

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala svému školiteli doc. RNDr. Tomášovi Cajthamlovi, Ph.D. za odborné vedení disertační práce. Rovněž bych chtěla poděkovat Dr. Monice Möder, Ph.D. za pomoc při identifikaci metabolitů, kolegům z Laboratoře environmentální biotechnologie za pomoc při experimentální práci a především rodině za podporu.

Přílohy

Publikace 1	75
Publikace 2	101
Publikace 3	108
Publikace 4	117
Publikace 5	126
Publikace 6	135
Publikace 7	143
Publikace 8	152

