



Fakulta zemědělská
a technologická
Faculty of Agriculture
and Technology

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH
BUDĚJOVICÍCH
FAKULTA ZEMĚDĚLSKÁ A TECHNOLOGICKÁ**

Katedra potravinářských biotechnologií a kvality zemědělských produktů

Bakalářská práce

Mikrobiální bioremediace perzistentních organických
polutantů

Autorka práce: Jana Žáčková

Vedoucí práce: Ing. František Lorenc, Ph.D.

Konzultant práce: doc. MVDr. Lucie Hasoňová, Ph.D.

České Budějovice
2024

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem autorem této kvalifikační práce a že jsem ji vypracoval(a) pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu použitých zdrojů.

V Českých Budějovicích dne.....

.....
Podpis

Abstrakt

Perzistentní organické polutanty (POPs) patří mezi nejvýznamnější kontaminanty životního prostředí. Jejich společnými vlastnostmi jsou vysoká toxicita, schopnost akumulace a persistence v živých organismech, což způsobuje závažná zdravotní rizika. Mikrobiální bioremediace představuje účinné řešení dekontaminace prostředí pomocí mikroorganismů, které mohou některé znečišťující látky využívat jako zdroj energie a uhlíku. Cílem této bakalářské práce je: a) poskytnout ucelené informace o problematice POPs; b) popsat možnosti degradace nebo transformace POPs v prostředí pomocí bioremediačních technologií; c) charakterizovat nejvyužívanější typy a konkrétní zástupce mikroorganismů využívaných pro mikrobiální bioremediace a popsat praktické případy uplatňování těchto mikroorganismů v rámci bioremediací POPs. V závěru práce byly diskutovány negativní důsledky znečištění životního prostředí a související možnosti využití prostředků bioremediace k odstranění nebo zmírnění jeho dopadů.

Klíčová slova: perzistentní organické polutanty, bioremediace, kontaminanty, bioremediace, mikroorganismy, bakterie

Abstract

Persistent Organic Pollutants (POPs) are one of the most significant environmental contaminants. Their common characteristics represent high toxicity and the ability to accumulate and persist in living organisms, causing serious health risks. Microbial bioremediation is an effective solution in environmental decontamination via microorganisms, which can use some pollutants as a source of carbon and energy. The bachelor's thesis aimed to (a) provide comprehensive information on POPs; (b) describe the potential for degradation or transformation of POPs via bioremediation technology; (c) characterize the most used types and specific microorganisms used for microbial bioremediation and describe the practical cases of applications of these microorganisms in the context of POPs bioremediation. The last part of the thesis discussed the negative effects of environmental pollution and the related possibilities of bioremediation applications to suppress the impacts of pollution.

Klíčová slova: persistent organic pollutants, bioremediation, contaminants, microorganisms, bacteria

Poděkování

Tímto bych ráda poděkovala Ing. Františku Lorencovi, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady, veškerou ochotu a trpělivost během zpracování mé bakalářské práce. Poděkování patří také mé rodině, která pro mě byla oporou po celou dobu mého studia.

Obsah

1	Úvod	7
2	Perzistentní organické polutanty	8
2.1	Rozdělení a charakteristika vybraných POPs Stockholmské úmluvy.....	8
2.1.1	<i>Pesticidy</i>	10
2.1.2	<i>Polychlorované bifenyly</i>	15
2.1.3	<i>PCDD a PCDF</i>	16
3	Bioremediace	19
3.1	Remediace in situ	20
3.2	Bioremediace ex situ	21
3.3	Faktory ovlivňující účinnost bioremediace	23
4	Mikroorganismy využívané při bioremediaci	26
4.1	Bakterie využívané při bioremediacích.....	26
5	Realizované příklady mikrobiálních bioremediací	30
5.1	Degradace DDT pomocí bakterie <i>Arthrobacter globiformis</i> DC-1.....	30
5.2	Bioremediace říčních sedimentů znečištěných PCBs	32
6	Závěr	36
7	Seznam použité literatury	38
8	Seznam obrázků	49
9	Seznam tabulek	50

1 Úvod

Postupující urbanizace i rozvoj řady odvětví průmyslu, zemědělství nebo těžby vedly v posledních desetiletích k výraznému znečištění životního prostředí. Globální industrializace vyústila ve výrobu různých chemikálií včetně barviv, pesticidů, léků, kosmetických produktů a mnoha dalších. V současné době je ekosystém Země neustále znečišťován různými kontaminujícími látkami, mezi kterými jsou nejrizikovější perzistentní organické polutanty (POPs, *Persistent organic pollutants*) (Karthigadevi et al., 2021).

POPs jsou skupinou znečišťujících látek, které v posledních letech představují celosvětový problém. Kontaminace těmito polutanty způsobuje nerovnováhu v ekologických systémech a ohrožuje integritu životního prostředí a zdraví živých organismů. Perzistentním organickým polutantům se dostalo velké pozornosti, zejména kvůli jejich vysoké toxicitě, schopnosti akumulovat se v různých složkách životního prostředí a mnohdy jejich obtížnému odstraňování. Již během 80. a 90. let 20. století let některé studie poukázaly na vážné dopady na vodní ekosystém, otravy zvířat, reprodukční dysfunkce, imunotoxicitu atd. (Arslan et al., 2015; Alharbi et al., 2018).

Mezi POPs se řadí některé pesticidy (zejména ty organochlorové), průmyslové chemikálie (polychlorované bifenyly, polycyklické aromatické uhlovodíky) a vedlejší produkty průmyslových procesů (dioxiny a furany) (Nagag et al., 2023).

V důsledku těchto znepokojivých dopadů na životní prostředí a zdraví živých organismů byla sepsána v roce 2001 tzv. Stockholmská úmluva pod záštitou organizace spojených národů o perzistentních organických polutantech (POPs), aby se snížila, a nakonec eliminovala výroba a používání těchto perzistentních sloučenin (Arslan et al., 2015; Fiedler et al. 2019).

Mikrobiální bioremediace představuje jednu z nejúspěšnějších a ekologicky nejvýhodnějších biotechnologických inovací. V dnešní době jsou bioremediační techniky běžně používanou metodou k dekontaminaci prostředí zamořeném toxickými látkami. Mikroorganismy jsou rozšířeny v celé biosféře zejména proto, že dokážou růst v široké škále environmentálních podmínek a mají schopnost rozkládat organické kontaminující látky tím, že je využívají jako zdroj uhlíku a energie (Uquab et al., 2016; Abatent et al., 2017).

2 Perzistentní organické polutanty

Perzistentní organické polutanty jsou běžně rozšířené kontaminanty různých složek životního prostředí. Tyto látky vznikají především antropogenní činností a mají potenciál významně kontaminovat jednotlivé organismy i celé potravní řetězce prakticky kdekoli na Zemi, bez ohledu na místo jejich vstupu do ekosystému (Özkara et al., 2016; Kopáček et al., 2020). Ačkoli je řada zemí (Česká republika, Albánie, Austrálie, Rakousko, Kanada, Ghana, Island, Švédsko, Vietnam a mnoho dalších) již před 20 lety vyřadila z oběhu používání, kvůli své persistenci přetrvávají v životní prostředí dodnes (Pariatambi a Kee, 2016). Navíc byly nalezeny na místech lidskou činností zdánlivě nedotčených, jako jsou např. oblasti za polárním kruhem, v Grónsku, sedimenty vysokohorských jezer atd. Důsledkem výskytu v těchto chladných oblastech je tzv. globální destilační efekt, kdy se v teplejších oblastech POPs snadno odpaří do atmosféry a následnou kondenzací je látka deponována dále od zdroje vstupu (Kopáček et al., 2020).

Většinu POPs tvoří organohalogenované sloučeniny se silnou vazbou mezi uhlíkem a halogenem, která je činí velmi odolnými vůči fotolýze a biodegradaci (Velíšek a Hajšlová, 2009; Guo et al., 2019). Znepokojující je rovněž fakt, že tyto látky jsou schopny procházet fosfolipidovou membránou a akumulovat se v tukové tkáni živých organismů. Tím se dostávají do potravního řetězce, přičemž negativně ovlivňují zdraví zasažených jedinců a fungování celého ekosystému (Velíšek a Hajšlová, 2009; Velíšek et al., 2014).

Od počátku 21. století zesílily snahy o kontrolu produkce škodlivin, které vyústily ve zmiňovanou Stockholmskou úmluvu o perzistentních organických polutantech. Díky účinnému regulačnímu mechanismu, jež Stockholmská úmluva představuje, se daří koncentrace perzistentních organických polutantů snižovat (Tsygankov, 2023; Kopáček et al., 2020).

2.1 Rozdělení a charakteristika vybraných POPs Stockholmské úmluvy

Perzistentní organické polutanty mohou být rozděleny do tří skupin (Wang et al., 2022):

- 1) pesticidy (zejména organochlorové);
- 2) průmyslové chemikálie;
- 3) nežádoucí vedlejší produkty.

Rozdělení perzistentních organických polutantů Stockholmské úmluvy je uvedeno v tabulce 2.1.

Tabulka 2.1.: Rozdělení perzistentních organických polutantů Stockholmské úmluvy (Wang et al., 2022)

Rok zařazení	Chemikálie	Použití	Přílohy
2001	Aldrin, chlordan, dieldrin, endrin, heptachlor, mirex, toxafen	P	A
	DDT	P	B
	Hexachlorbenzen	P	A + C
	PCBs	PCH	A + C
	PCDDs + PCDFs	VP	C
2009	HCH, lindan, chlordecon	P	A
	PFOS, PFOSF, POSF	PCH + P	B
2011	Endosulfan	P	A
2013	HBCD/HBCDD	PCH	A
2015	PCP	PCH + P	A
	PCN	PCH	A + C
	HCBD	PCH	A
2017	HCBD	PCH	C
	SCCP	PCH	A
2019	Dicofol	P	A
	PFOA	PCH	A

P = pesticidy; PCH = průmyslové chemikálie; VP = vedlejší produkt; Příloha A = eliminace; Příloha B = omezení; Příloha C = Neúmyslná výroba; DDT = dichlordifenyiltrichlorethan; PCBs = polychlorované bifenyly; PCDDs = polychlorované dibenzodioxiny; PCDFs = polychlorované dibenzofurany; HCH = hexachlorciklohexan; PFOS = perfluorooktansulfonát; PFOSF = perfluorooktanesulfonyl fluorid; POSF = perfluorooktanesulfonyl fluorid; HBCD = hexabromcyklododekan; PCP = fencyklidin; PCN = polychlorovaný naftalen; HCBD = hexachlorbutadien; SCCP = chlorované parafíny s krátkým řetězcem; PFOA = kyselina perfluoroktanová.

2.1.1 Pesticidy

Pesticidem se podle definice FAO (*Food and Agricultural Organization*) rozumí jakákoliv látka nebo směs látek z chemických nebo biologických složek určená k odpuzování, ničení nebo potlačování jakéhokoliv škodlivého organismu nebo k regulaci růstu rostlin.

Vzhledem k jejich často velmi složité chemické struktuře se pro lepší komunikaci označují triviálními názvy. Daná účinná látka může být v přípravku obsažena sama, nebo může být ve směsi v kombinaci s dalšími účinnými látkami – kupříkladu v herbicidu s názvem Mustang jsou ve směsi obsaženy 3 účinné látky (kyselina dichlorfenoxyoctová, aminopyralid a florasulam). Tabulka 2.2. uvádí tradiční klasifikaci pesticidů podle cílového škodlivého organismu, na který působí (Babička, 2017).

Tabulka 2.2.: Klasifikace pesticidů podle cílových škodlivých organismů (převzato z Velíšek a Hajšlová, 2009)

Skupina pesticidů	Cílový škodlivý činitel	Skupina pesticidů	Cílový škodlivý činitel
akaricidy	roztoči	ovicidy	vajíčka hmyzu
algicidy	řasy	larvicidy	larvy hmyzu
avicidy	ptáci	adulticidy	dospělý hmyz (imago)
baktericidy	bakterie	molluskocidy	měkkýši
fungicidy	plísně a cizopasně houby	nematicidy	červi
herbicidy	plevelné rostliny	rodenticidy	hlodavci
insekticidy	hmyz	virucidy	viry

Již v počátcích zemědělství se lidé snažili nalézat strategie, jak své plodiny ochránit proti škůdcům a chorobám. Velkým podnětem k nalezení způsobů, jak překonat problémy způsobené škůdci a chorobami, bylo nepochybně minimalizovat ztráty jimi způsobené, které i dnes činí 35 až 40 % u všech potenciálně potravinářských a průmyslných plodin (Unsworth, 2010).

Vůbec první zmínky o používání pesticidů se objevují již před 2500 př. n. l., kdy lidé využívali sloučenin síry k regulaci hmyzu a roztočů (Unsworth, 2010; Abrol a Shankar, 2012). Číňané, kupříkladu, používali sloučeniny

arsenu pro ochranu plodin během vegetace (Velíšek a Hajšlová, 2009). Zajímavostí je aplikace kouře proti plísním a sněti kolem roku 950 př. n.l., kdy bylo principem spálit některé materiály typu sláma, hnůj, ryby, rohy zvířat atd. tak, aby se zápachající kouř rozptýlil po všech plodinách (Unsworth, 2010; Abrol a Shankar, 2012). Velkou roli také sehrávaly rostlinné pesticidy z řad alkaloidů, typicky nikotin a anabasin nacházející se v extraktech z kořenů a listů tabáku. Mezi lety 1750-1880 byly objeveny dva významné insekticidy – pyrethrum, který se získává ze sušených květů bylin rodu *Pyrethrum* z čeledi *Asperaceae* a rotenon, nacházející se např. v kořenech liany *Derris elliptica* z čeledi *Fabaceae* (Unsworth 2010; Abrol a Shankar, 2012).

Chemické experimenty prováděné od druhé poloviny 19. století umožnily vyvinout efektivnější pesticidy, mezi které se řadí např. insekticid arsenitan měďnatý neboli tzv. pařížská zeleň objevená roku 1867 (Özkara et al., 2016). Dále byla roku 1886 objevena ve Francii tzv. bordeauxská jícha, která našla své uplatnění v prevenci proti plísňovým onemocněním vinné révy a brambor (Velíšek a Hajšlová, 2009).

Růst syntetických pesticidů se zrychlil ve 40. letech 20. století objevem účinků DDT (dichlordifenyltrichlorethan). Dostupnost DDT pro zemědělské použití počínaje rokem 1945 otevřela novou éru ochrany proti škůdcům, což vedlo nejen k jeho rozsáhlému používání, ale také k vývoji řady dalších syntetických organických insekticidů (např. aldrin, BHC, endrin, parathion, aj.). Společností bylo DDT upřednostňováno zejména pro svou širokospektrální aktivitu, nízkou cenu a dostupnost. Na jeho negativní účinky prakticky ve všech složkách globálního ekosystému upozornila již cca 20 let od začátku jeho používání Rachel Carsonová. Vydání její knihy *Silent Spring* roku 1962 vedlo k vypracování koncepce integrované ochrany proti škůdcům (Özkara et al., 2016). Přesto, že bylo DDT a příbuzné látky zakázány již před více než 40 lety, jejich rezidua jsou prokazována ještě dnes (Chattopadhyay a Chattopadhyay, 2015). Výjimkou ze zákazu je použití DDT ke kontrole vektorů vážných onemocnění, zejména malárie, kterou Stockholmská dohoda umožňuje (Hasoňová et al., 2019).

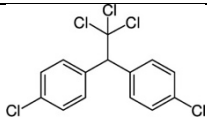
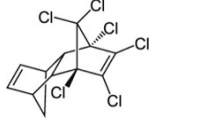
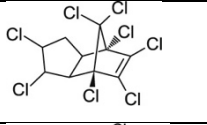
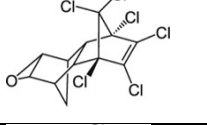
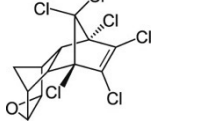
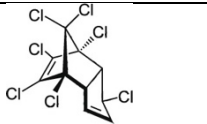
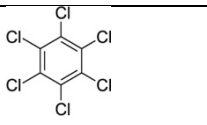
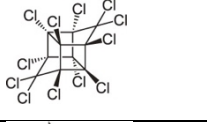
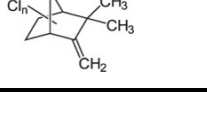
Kromě základního rozdělení existují další způsoby klasifikace, např. podle způsobu účinku. Dle tohoto členění se pesticidy rozdělují na nesytemové, kdy účinná látka neproniká do cévních svazků rostliny – ke škůdci se dostane přímým kontaktem skrz jeho pokožku a sytemové pesticidy, které účinně pronikají do rostlinných tkání a pohybují se cévním svazkem (Yavad a Devi, 2017).

Na základě chemického složení jsou pesticidy klasifikovány do čtyř hlavních skupin: organochlorové sloučeniny, organofosforové sloučeniny, karbamáty a pyrethroidy (Rathore a Nollet, 2012; Kaur et al., 2019). V tabulce 2.3. jsou uvedeny příklady pesticidů rozdělených na základě chemického složení.

Tabulka 2.3.: Základní rozdělení pesticidů podle chemického složení (Kaur et al., 2019)

Skupina pesticidů	Příklady pesticidů reprezentujících danou skupinu
Organochlorové (součástí Stockholmské úmluvy)	DDT, aldrin, dieldrin, endrin, chlordan, chlordekon, heptachlor, lindan, mirex, endosulfan, Toxafen, β - hexachlorcyklohexan
Organofosforové	malathion, dichlorvos, chlorpyrifos, ethion
Karbamáty	fenoxykarb, propoxur, methiocarb
Pyrethroidy	fluvalinát, bifenthrin, lambda – cyhalothrin

Tabulka 2.4.: Perzistence organochlorových pesticidů (Jayaraj, 2016)

Organochlorový pesticid	Strukturní vzorec	Perzistence v životní prostředí/poločas rozpadu
DDT		Vysoká perzistence / 2-15 let
Aldrin		Střední perzistence / 4-7 let
Chlordan		Vysoká perzistence / 10 let
Dieldrin		Vysoká perzistence / 9 měsíců
Endrin		Střední perzistence / 1 den až 12 let
Heptachlor		Vysoká perzistence / 2 roky
Hexachlorbenzen		Vysoká perzistence / 3–6 let
Mirex		Vysoká perzistence / 10 let
Toxafen		Střední perzistence / 11 let

Vzhledem k jejich příbuzné chemické struktuře, kde je chlorem substituovaná a fatická sloučenina nebo aromatické jádro, vykazují podobné vlastnosti, jako je již zmíněná vysoká perzistence (tabulka 2.4.), nízká polarita a nízká rozpustnost ve vodě (Jayaraj, 2016). Naopak jejich vysoká lipofilita může i při nízkých úrovních expozice způsobit závažné zdravotní problémy, protože se akumulují v tukových částech lidského těla (Shi, 2020).

Biologický účinek organochlorových pesticidů spočívá v jejich navázání na specifická cílová místa zasažených organismů, včetně vazby a blokování GABA

receptorů sodíkových kanálů v mozku. Vazbou na tato místa narušují normální fungování nervového systému, což vede k nadměrné stimulaci nebo inhibici nervových vzruchů. Navíc mohou také zasahovat do normální funkce endokrinního systému tím, že narušují tvorbu, uvolňování, transport a metabolismus hormonů (Brennan, 2023).

Mezi nejsledovanější organochlorové pesticidy ze Stockholmské úmluvy patří např., endosulfan, chlordekon, hexachlorcyklohexan, mirex a další.

Endosulfan je insekticid náležící do třídy cyklodienů, konkrétně se jedná o cyklický ester kyseliny sírové. Navzdory svým znepokojivým toxickým účinkům na lidské zdraví a životní prostředí je endosulfan stále jedním z nejrozšířenějších zemědělských pesticidů (převážně v rozvojových zemích), zejména díky své vysoké účinnosti, nízké ceně a stabilitě v prostředí. Komerčně vyráběný endosulfan se skládá ze dvou izomerů α – endosulfanu a β – endosulfanu (Jha a Paul., 2020; Sharma et al., 2022). Absorpce endosulfanu může nastat požitím, inhalací, kontaktem s kůží nebo transplacentární cestou (Menezes et al., 2017). Expozice endosulfanu je spojena s celou řadou zdravotních komplikací, mění normální fungování téměř každého orgánu lidského těla prostřednictvím různých mechanismů od indukce enzymů, hormonální nerovnováhy a změněné genové regulace až po narušení endokrinního systému (Nair et al., 2023; Sultan et al., 2023).

Stejně vlastnosti týkající se lidského zdraví vykazují i hexachlorcyklohexany (Sultan et al., 2023). Technický hexachlorcyklohexan (t-HCH) je širokospektrální pesticid, který způsobil závažnou globální kontaminaci životního prostředí. Aplikuje se jako technická směs obsahující α -HCH, β -HCH, γ -HCH, δ -HCH, ε -HCH stereoisomery, avšak pouze gama izomer, označován jako lindan, nese insekticidní vlastnosti (Papachio et al., 2023; Srivastava et al., 2023). Vzhledem k tomu, že 1 tuna výroby lindanu produkuje kolem 9 tun odpadu obsahujícího komplexní směs dalších izomerů, je způsobena vážná kontaminace životního prostředí. Na základě této míry produkce se odhaduje, že na celém světě existuje asi 4,8 milionu tun odpadu z výroby HCH (Srivastava et al., 2023).

Chlordekon je insekticid, který se dříve vyráběl v USA pod obchodním názvem Kepone. Jedním z hlavních použití chlordekonu byla regulace škůdce populace zavíječe banánového (*Cosmopolites Sordidus*) na kávovníku, banánovníku a citrusových stromů (Asifa a Chitra, 2019; Méndez-Fernandez et al., 2018; Moreau et al., 2022). Toxicita chlordekonu byla poprvé rozpoznána v 70. letech minulého

století po nadměrné expozici pracovníků v továrně na výrobu chlordekonu v Hopewellu ve Spojených státech. Taková expozice měla za následek několik zdravotních poruch zahrnujících poruchy centrálního nervového systému (např. třes končetin), reprodukčního systému (např. snížená produkce spermií), hepatotoxicitu aj. (Emond a Multigner, 2022; Moreau et al., 2022).

2.1.2 Polychlorované bifenyly

Nejvýznamnější z průmyslových chemikálií jsou polychlorované bifenyly (PCB), které patří celosvětově k nejvíce sledovaným POPs. PCB představují skupinku organohalogenových látek, u kterých je v bifenylovém jádře nahrazeno několik atomů uhlíku chlorem. PCB se získávají z ropy a dehtu, ze kterých se extrahuje benzen a následně se přemění na bifenyl, ten je dále chlorován na polychlorovaný bifenyl. Teoreticky lze odvodit 209 kongenerů (izomerů), lišících se úrovní chlorace a pozicí substituentů, z nichž bylo cca 130 komerčně využíváno (Su et al. 2023, 2020; Reddy et al., 2019).

Díky svým fyzikálně-chemickým vlastnostem, jako jsou např. teplotní odolnost, nehořlavost, chemická stabilita a nízká těkavost, měly široké pole působnosti v průmyslové produkci, kdy se používaly např. v chladicích systémech, v transformátorech a kondenzátorech (ve kterých se nachází dodnes), jako běžné aditivum barev, lepidel, plastů či pesticidů (Petrlík a Válek, 2018).

Manipulaci s PCB nebyla výrobci ani uživateli věnována náležitá pozornost, zejména pro jejich nízkou akutní toxicitu (Velíšek a Hajšlová, 2009). Přibližně od 30. let 20. století započala výroba po celém světě, nicméně až v 60. letech se začaly objevovat první náznaky kontaminace v potravních řetězcích a bioakumulace v živých organismech, během kterých došlo k silným kontaminacím mnoha půdních a vodních biotopů (Kopáček a kol., 2020). Celosvětová produkce PCB v letech 1930 až 1993 činila přibližně 1,3 milionů tun. Přestože výroba a používání PCB byla ve většině zemí koncem 70. a začátkem 80. let zakázána, stále se pomalu a nepřetržitě uvolňují ze starých zařízení a skládek odpadu do životního prostředí (Zhu et al., 2022).

Polychlorované bifenyly představují pro člověka zdravotní riziko a jsou u lidí stále běžně detekovány. Člověk může být vystaven kontaminujícím PCB primárně třemi různými cestami – požitím kontaminované potravy, vdechnutím a dermálním kontaktem (Idowu et al., 2023; Ododo et al., 2019; Othman

et al., 2022). Hlavním zdrojem PCB v potravě jsou zejména tučné ryby, jako jsou losos, sled'í, sardinky, tuňák, ančovičky atd. pocházející z kontaminovaných vodních ploch,

ale také další tučné potraviny, jako jsou např. mléčné výrobky nebo vejce (Idowu et al., 2023; Ododo et al., 2019). Zatímco u dospělých představuje hlavní cestu expozice konzumace kontaminované stravy, inhalace představuje dvakrát vyšší riziko karcinogenity, zejména u dětí (Othman et al., 2022). V roce 2015 zařadila Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny (IARC) PCB do skupiny 1 (látky karcinogenní pro člověka), čímž bylo ještě více poukázáno na jejich škodlivost (Othman et al., 2022; IARC, 2024). Vzhledem k jejich vysoce lipofilní povaze mohou být PCB absorbovány kontaktem kůže s kontaminovaným vybavením, vodou nebo půdou (Ododo et al., 2019). Inhalaci PCB je také věnována velká pozornost, zejména u osob žijících nebo pracujících v kontaminovaných budovách nebo v blízkosti skládek (Idowu, 2023; Ododo, 2019). Polychlorovaným bifenylym může být vystaven i plod či novorozenec, kdy se uvolňují PCB v těle matky přes placentu až ke tkáním plodu, nebo po narození prostřednictvím mateřského mléka (Rovira, 2022; Ododo, 2019).

Na metabolismu jednotlivých kongenerů PCB se podílí jeden z nejznámějších mikrozomálních enzymů (zejména jaterní enzymy, účastníci se metabolismu a detoxikace řady látek včetně léků) cytochrom P 450, díky kterému se PCB biotransformuje a eliminuje na vodorozpustnější deriváty. Obecně platí, že kongenery s menším počtem atomů chloru se metabolizují rychle a kongenery s 4-10 atomy chloru jsou vůči metabolismu odolnější (Grimm et al., 2015; Idowu et al., 2023; Ododo et al., 2019). Proto mají vysoce chlorované kongenery tendenci dlouhodobě zůstat v lipofilních tkáních těla jako jsou játra, plíce, ledviny atd. (Ododo et al., 2019).

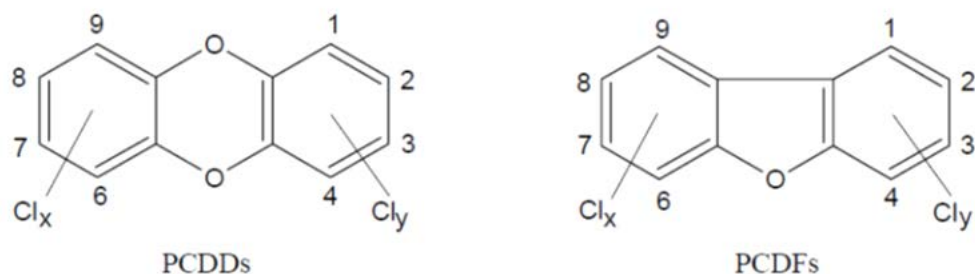
2.1.3 PCDD a PCDF

K dalším, neméně závažným environmentálním kontaminantům uvedeným ve Stockholmské úmluvě se řadí polychlorované dibenzo-*p*-dioxiny (PCDD) a polychlorované dibenzofurany (PCDF), které nebyly nikdy úmyslně vyráběny. PCDD/PCDF mohou být uvolňovány v řadě přírodních procesů, jako jsou sopečné erupce a lesní požáry, ale jejich přítomnost v životním prostředí je způsobena zejména emisemi průmyslových procesů, jako je spalování nebezpečných,

komunálních a zdravotnických odpadů, cementárny, bělení chloru papírenské buničiny atd. (Fiedler, 2016).

Vzhledem k tomu, že postrádají nějaké praktické využití, řadí se do kategorie tzv. nežádoucích vedlejších produktů. PCDD a PCDF mají podobné chemické vlastnosti, jelikož se každá sloučenina skládá ze dvou benzenových jader, které jsou na sobě navázány pomocí atomů kyslíku. U PCDD spojují benzenová jádra dva kyslíkové můstky a v případě PCDF spojují benzenová jádra uhlíková vazba a kyslíkový můstek. Obsahují čtyři až osm atomů chloru, připojených k atomům uhlíku na pozici 1 až 4 a dále na pozicích 6 až 9 (obrázek 2.1.). V současné době lze teoreticky odvodit celkem 210 kongenerů PCDD a PCDF, které se skládají ze 75 PCDD a 135 PCDF (Zain, 2022; Hernández, 2020). Celkem 17 nejtoxičtějších kongenerů má izomery s chlorem v pozici 2, 3, 7 a 8. Z těchto kongenerů byl jako nejtoxičtější sloučenina popsán 2,3,7,8-TCDD, který byl Mezinárodní agenturou pro výzkum rakoviny (IARC) klasifikován do skupiny I, tedy jako karcinogenní pro člověka (IARC, 2024). PCDD/PCDF jsou neúmyslně vyráběny různými procesy v důsledku působení tepla (např. spalováním) na organické sloučeniny obsahující chlor (Zain, 2021).

Obrázek 2.1: Strukturní vzorec PCDD a PCDF (ifst. org, 2020)



PCDDs = polychlorované dibenzodioxiny; PCDFs = polychlorované dibenzofurany

PCDD a PCDF se vyznačují bioakumulací, vysokou toxicitou a dlouhým poločasem rozpadu v životním prostředí. Kromě perzistence, chemické stability, značné lipofility a dalších vlastností, jsou také charakterizovány vysokou mírou akutní i chronické toxicity již ve stopových množstvích (Velíšek et al., 2014; Kopáček et al., 2020). Kvůli své lipofilitě se dioxiny vyskytují v produktech živočišného původu, jako je drůbež, ryby, maso, mléko a vejce. Potraviny obsahující dioxiny představují pro lidi hlavní zdroj expozice, činící asi 95 % z celkové expozice, přičemž nejdůležitější roli hrají potraviny živočišného původu (Rusin, 2019; Zain,

2021). Lidé mohou být také vystaveni těmto znečišťujícím látkám prostřednictvím kontaminovaného ovzduší. Obecně platí, že inhalační expozice PCDD/PCDF tvoří malou část celkové expozice (méně než 5 % z denního příjmu z potravy), nicméně v blízkosti průmyslových a městských oblastí, stejně tak i oblastí v blízkosti hlavních zdrojů, může dosáhnout až několikanásobně vyšší expozice (více než 25 % potenciální denní dávky) (Zain, 2021).

Nejcitlivější skupinou je bezesporu vyvíjecí se plod a novorozenci, zejména ti, kteří jsou vystaveni vysokému množství dioxinů prostřednictvím mateřského mléka (Marinković et al., 2010; Peivasteh – roudsari et al., 2023). Někteří lidé jsou vystaveni vyššímu množství dioxinů, než je TDI (z aj. *tolerable day intake*), kvůli svým specifickým stravovacím návykům (např. častí konzumenti mořských plodů, jako jsou Inuité) nebo povolání (pracovníci v průmyslu vyrábějící pesticidy nebo spalovny nebezpečného odpadu) (Marinković et al., 2010). Při krátkodobé expozici vysokým hladinám PCDD a PCDF dochází k poškození funkce jater a k tzv. chlorakné, které je charakterizováno jako chronické zánětlivé onemocnění kůže projevující se lézemi, cystami, pupínky, černými tečkami na kůži. Nejčastěji se objevuje v obličeji, ale v případě závažné otravy, pokračuje na ramena, záda, hrudník a břicho. Dlouhodobá expozice je spojena s poruchami nervového, imunitního, reprodukčního a endokrinního systému (Marinković et al., 2010; Peivasteh – roudsari et al., 2023).

3 Bioremediace

Bioremediace lze definovat jako proces, při němž jsou kontaminanty životního prostředí biologicky degradovány do méně toxických forem nebo na úroveň nižší, než jsou koncentrační limity stanovené regulačními orgány (Abatenh et al., 2017; Lorenzo, 2016). Obecně jsou mikroorganismy vhodné pro rozklad kontaminujících látek, jelikož jim jejich enzymy umožňují využívat kontaminanty životního prostředí jako zdroj své potravy. Kontaminující látky jsou přeměněny pomocí mikroorganismů reakcemi, které probíhají jako součást jejich metabolických procesů (Saxena et al., 2021; Singh et al., 2017).

Vzhledem k tomu, že může být bioremediace účinná pouze tam, kde podmínky prostředí umožňují mikrobiální růst a aktivitu, její použití často zahrnuje manipulaci s environmentálními parametry, aby mohly mikrobiální růst a degradace probíhat rychlejším tempem (Abatenh et al., 2017; Bala et al., 2022). Ačkoli hrají mikroorganismy v bioremediaci velkou roli, většinou se jedná o spolupráci mnoha dalších organismů. Bioremediační technologie je v první řadě založena na biologickém rozkladu, který odkazuje na úplné nebo částečné odstranění toxických znečišťujících látek, na neškodné nebo přirozeně se vyskytující sloučeniny, jako je například oxid uhličitý, voda, anorganické sloučeniny, které jsou bezpečné pro lidský, živočišný, rostlinný a vodní život (Abatenh et al., 2017 ; Akhtar et al., 2021). Bioremediace využívané k odstranění perzistentních organických polutantů lze kategorizovat podle typu aplikace jako bioremediace in situ a ex situ (Akhtar et al., 2021; Silva et al., 2020).

Proces, při kterém se kontaminovaný materiál zpracovává na jeho původním místě za přirozených podmínek prostředí, se nazývá in situ bioremediace a proces ex situ bioremediace zahrnuje odstranění kontaminantů mimo místo jejich přirozeného výskytu, např. v laboratorních podmínkách (Singh et al., 2017; Saxena et al., 2021).

Bioremediace in situ je udržitelnější, nákladově efektivnější a ekologičtější technika pro bioremediaci kontaminovaných oblastí, avšak v případě bioremediace ex situ jsou náklady obecně vyšší kvůli těžbě a přepravě kontaminovaných materiálů. Existují také rozdíly v rychlostech biologického rozkladu a jednotnosti procesů obou bioremediací, nicméně tyto metody do značné míry závisí mimo jiné na metabolickém potenciálu mikroorganismů (Akhtar, 2021).

3.1 Remediacce in situ

Jednou ze základních bioremediačních technik je biostimulace. Biostimulace obecně je reakce vyvolaná určitým environmentálním faktorem, který způsobuje změnu metabolických procesů tak, že daný organismus provádí úpravy vedoucí k účinnějšímu využívání zdrojů životního prostředí (Juárez – Maldonado, 2016; Sanchez – Mata et al, 2023). Prakticky se tato metoda opírá o aplikaci specifických živin, které stimulují aktivitu přirozeně se vyskytujících nebo původních mikroorganismů degradujících polutanty do daného místa, např. půdy, podzemní vody atd. (Ławniczak et al., 2020; Silva et al., 2020). Může se jednat např. o dodání hnojiv, růstových doplňků nebo poskytnutí dalších komponentů či podmínek týkajících se životního prostředí, které urychlí jejich metabolismus (pH, kyslík) (Abatenh et al., 2017). Při dlouhodobějších omezeních způsobených nevyváženým poměrem C:P:N, byť i malý nedostatek P, může vést k výrazně nižší rychlosti biologického rozkladu, což lze vyřešit např. přidáním běžných hnojiv obsahující dusík a fosfor (Ławniczak et al., 2020).

Jeden z dalších mechanismů bioremediace in situ je bioaugmentace, tedy metoda, při které se do kontaminovaného prostředí inokulují (naočkují) mikrobiální společenstva nebo jednotlivé kmeny mikroorganismů degradující polutanty (Raffa a Chiampo, 2021; Abatenh et al., 2017). Posílení mikrobiomu kontaminovaného místa nejen zvýší eliminaci polutantů z konkrétního místa, ale zároveň zvýší genetickou kapacitu požadovaného místa za účelem zvýšení biodegradační schopnosti původních mikrobiálních populací v dané kontaminované oblasti (Raffa a Chiampo, 2021; Abatenh et al., 2017). Schopnosti původních druhů nemusí být dostatečně efektivní k tomu, aby rozložily určité sloučeniny, a proto mohou být pro usnadnění jejich degradace těchto sloučenin geneticky modifikovány pomocí genetických manipulací. Geneticky upravené mikroorganismy všeobecně rozkládají polutanty rychleji než přírodní druhy a mimo jiné také vysoce konkurují původním druhům, predátorům a různým abiotickým faktorům (Abatenh et al., 2017; Goswami, 2018).

Jako bioventing se označuje technika zahrnující řízenou stimulaci proudění vzduchu dodáváním kyslíku do nenasycené (vadózní) zóny za účelem zvýšení aktivity původních mikroorganismů při bioremediaci (Maitra, 2018; Sharma, 2019). Bioventing využívá nízké rychlosti proudění vzduchu, aby poskytl pouze dostatek

kyslíku k udržení mikrobiální aktivity. Je možné ho realizovat v aktivním nebo pasivním režimu, s ohledem na provzdušňování. V prvním případě je vzduch aktivně vháněn do půdy dmychadlem, zatímco u druhého, pasivního způsobu, dochází k výměně plynů přes ventilační vrty pouze vlivem atmosférického tlaku (Raffa a Chiampo, 2021; Smith et al., 2023). Tabulka 3.1. uvádí výhody a nevýhody in situ bioremediace.

Tabulka 3.1.: Výhody a nevýhody in situ bioremediace (Goswami et al., 2018; Taigy et al., 2021; Kumar et al., 2018.)

In situ bioremediace		
Metoda	Výhody	Nevýhody
Bioestimulace	<ul style="list-style-type: none"> • Probíhá na původním místě kontaminace. • Nákladově efektivní. • Šetrná k životnímu prostředí 	<ul style="list-style-type: none"> • Dlouhý proces. • Těžko kontrolovatelná. • Některé kontaminanty nemusí být zcela odbouratelné. • Závislost na environmentálních faktorech. • V průběhu biotransformace mohou vznikat meziprodukty toxičtější než původní kontaminanty.
Bioaugmentace		
Bioventing		

3.2 Bioremediace ex situ

Jednou z nejjednodušších technik ex situ bioremediace je landfarming. Landfarming je metoda spočívající v začlenění kontaminované půdy, sedimentů nebo kalů na povrch čisté půdy. Pravidelným obděláváním či orání se kontaminovaná půda provzdušňuje a podporují se tím i biodegradační schopnosti přirozeně se vyskytujících mikroorganismů. Pokud nativní mikrobiální populaci chybí degradační potenciál, zahrne se bioestimulace a/nebo bioaugmentace, aby se zvýšila efektivita procesu (Arora 2012; Azubuike et al., 2016). Ve většině případů je považována za ex situ bioremediace, nicméně může být uskutečňována i jako in situ bioremediace. Důležitou roli v tom, zda bude půda obdělávána ex situ nebo in situ, hraje hloubka kontaminujících látek (Kaur et al., 2021; Yadav et al., 2021). Obvykle se udává,

že pokud se kontaminovaná půda nachází v hloubce menší než 1 metr, jedná se o in situ bioremediace, a pokud se kontaminující látky nacházejí více než 1,7 metru pod povrchem, je třeba půdu pro úspěšnou bioremediace přemístit na povrch země (Azubuike et al., 2016; Nikolopoulou et al., 2013).

Mezi běžně používané ex situ techniky patří také kompostování. Je to biologický proces prováděný za podmínek, které termofilním heterotrofním mikroorganismům umožňují rozkládat organickou hmotu na stabilní užitečný konečný produkt. Kompostové hromádky nebo řádky jsou monitorovány z hlediska vlhkosti a teploty a jsou pravidelně provzdušňovány (Das, 2014, Sayra a Sánchez, 2020). Pro účely bioremediace mohou být znečištěné půdy nebo sedimenty smíchány s doplňkovými materiály jako jsou např. sláma, dřevěná štěpka, hnůj atd. (Kaur et al., 2021). Za účelem dosažení optimálních výsledků v rozumné době při kompostování musí být parametry řízení procesu nastaveny v optimálních hodnotách a proces prochází dvěma hlavními fázemi. První fáze je charakterizována rozsáhlou mikrobiální aktivitou, která vede k neustálému zvyšování teploty přecházející z mezofilních oblastí (25–45 °C) do termofilních (více než 45 °C). K udržení aerobních podmínek pro účinnou mikrobiální aktivitu během této fáze je zapotřebí vysoká míra provzdušňování. V druhé fázi se snižuje teplota a mikrobiální aktivita je relativně nízká, protože zásoba živin byla vyčerpána (Sayra a Sánchez, 2020).

Mezi další způsoby ex situ bioremediace se řadí techniky využívající bioreaktory. Jako bioreaktor se označuje speciálně navržená nádoba pro uchování kontaminovaného odpadu, která poskytuje optimální podmínky pro katabolickou aktivitu mikroorganismů pro degradaci. Do bioreaktoru jsou přiváděny kontaminanty, které jsou v pevné formě nebo v suspenzním systému (ve formě kalu) (Etuk et al., 2024; Kaur et al., 2021). Celkově lze konstatovat, že biodegradace v bioreaktorových systémech je účinnější ve srovnání s jinými systémy, jelikož bioreaktor je výhodný hlavně v tom, že jsou parametry bioprocesu to znamená teplota, rychlost provzdušňování, pH, koncentrace substrátu a inokula důsledně monitorovány a kontrolovány. Také podmínky v bioreaktoru jsou takové, že napodobují přirozené prostředí tak, aby se dosáhlo zvýšené účinnosti odstraňování kontaminantů a byly zajištěny podmínky pro optimální růst a aktivitu mikroorganismů (Etuk et al., 2024; Saygal a Ahmed, 2021; Azubuike et al., 2016). Ačkoli se bioremediace pomocí bioreaktoru osvědčila výše zmíněnými způsoby, má také své nedostatky. Nejenže je finančně náročnější, ale také je nutné

dekontaminovat půdu fyzikální extrakcí před zpracováním v bioreaktoru (Saygal a Ahmed, 2021). V tabulce 3.2. jsou shrnuty výhody a nevýhody ex situ bioremediace.

Tabulka 3.2.: Výhody a nevýhody ex situ bioremediace (Azubuike et al.; 2016; Tomei a Daugulis, 2013)

Ex situ bioremediace		
Metoda	Výhody	Nevýhody
Landfarming	<ul style="list-style-type: none"> • Relativně krátká doba bioremediace. • Dobře kontrolovatelné podmínky. 	<ul style="list-style-type: none"> • Nutnost přemístění kontaminovaného materiálu. • Vyšší náklady. • Narušení půdní struktury.
Kompostování	<ul style="list-style-type: none"> • Rychlá reakční rychlost. 	<ul style="list-style-type: none"> • Kontrola abiotických ztrát.
Bioreaktor	<ul style="list-style-type: none"> • Relativně krátká doba bioremediace. • Dobře kontrolovatelné podmínky. 	<ul style="list-style-type: none"> • Finančně náročné. • Nutnost fyzikální dekontaminace před zpracováním v bioreaktoru.

3.3 Faktory ovlivňující účinnost bioremediace

Mikroorganismy jsou do bioremediace zapojeny prostřednictvím jejich enzymatické dráhy. Fungují jako biokatalyzátory a usnadňují postup biochemických reakcí, které degradují nežádoucí znečišťující látky. Účinnost bioremediace závisí na mnoha faktorech, mezi které patří biotické faktory (charakteristiky mikroorganismů), fyzikálně-chemické vlastnosti kontaminantů (chemická struktura, koncentrace, toxicita a biologická dostupnost) a faktory prostředí (typ půdy, teplota, pH, kyslík, slanost, dostupnost živin a vody) (Kebede et al., 2021; Negrin et al., 2020).

Biotické faktory, jako je bakteriální spolupráce a konkurence, jsou zásadní pro přežití a stabilitu v rámci mikrobiálních společenství daného ekosystému. Může se jednat o konkurenci mezidruhovou (např., mezi bakteriemi a houbami) nebo vnitrodruhovou (mezi samotnými druhy bakterií), přičemž konkurenční vztahy mohou být limitujícím faktorem pro účinnost biodegradace. Dalším důležitým biotickým faktorem je počet bakterií (hustota populace) degradujících POPs.

Abundance, respektive hustota populace těchto mikroorganismů je klíčovým faktorem pro degradaci polutantu.

Mikroorganismy mají přirozeně rozvinutou schopnost adaptace na měnící se podmínky prostředí, a je tedy možné je izolovat za téměř jakýchkoliv podmínek prostředí. Dokážou se přizpůsobit teplotám pod bodem mrazu nebo extrémním vedrům v pouštních podmínkách, anaerobním podmínkám i přítomnosti nebezpečných sloučenin (Luka et al., 2018). Avšak i takovéto schopnosti adaptace mají určitá omezení ve smyslu optimálních podmínek pro bioremediace, jež představuje například teplota. Mikroorganismy jsou sice schopné přizpůsobit se širokému rozsahu teplot, avšak v rozmezí optimálních teplot bude bioremediace nejúčinnější.

Podobná situace platí i u pH, kdy může bioremediace probíhat v širokém rozmezí hodnot, ale pro drtivou většinu mikroorganismů je optimální pH mezi 6,5 a 8,5. Navíc pH půdy je také důležité pro aktivitu enzymů produkovaných mikroorganismy, jelikož při nevhodném pH prostředí může docházet k jejich denaturaci (Fouad et al., 2023; Kumari et al., 2018).

Dalším klíčovým faktorem bioremediace je kyslík, protože většina mikrobiálních procesů zahrnuje oxidaci. Dostupnost kyslíku v půdě do jisté míry závisí na půdních vlastnostech a míře mikrobiální spotřeby kyslíku a zda v prostředí půdy probíhá aerobní nebo anaerobní bioremediace (Kumari et al., 2018).

Dostupnost živin rovněž významně ovlivňuje proces mikrobiální degradace kontaminantů. Pro buněčný metabolismus a efektivní proliferaci v kontaminovaných prostředích potřebují mikroorganismy živiny jako je dusík, fosfor, draslík a minerály (Tomer et al., 2020). Tyto živiny jsou základními stavebními kameny života a umožňují mikroorganismům vytvářet potřebné enzymy k rozkladu kontaminantů (Luka et al., 2018). Přidáním živin, zejména dusíku a fosforu, se upravuje rovnováha základních živin pro růst a reprodukci mikroorganismů. Má vliv na rychlost a efektivitu biologického degradace a optimalizuje se tím bakteriální poměr prvků C: N: P. Přidání vhodného množství živin je výhodná strategie pro zvýšení metabolické aktivity mikroorganismů, a tím i rychlosti biologického rozkladu (Kashyap, 2020; Tomer et al., 2020).

V úvahu je třeba brát i dostupnost vody, kterou potřebují mikroorganismy pro svůj růst a difúzi živin a vedlejších produktů přes buněčnou stěnu během procesu biologického rozkladu. Při nízké vlhkosti může být pohyb bakterií omezen, a naopak

nadměrná vlhkost může vyplnit menší póry mezi částicemi a omezit tak přenos kyslíku (Niti et al., 2013).

4 Mikroorganismy využívané při bioremediaci

Cílem bioremediace je stimulovat mikroorganismy živinami a dalšími chemickými sloučeninami, které jim umožní kontaminující látky degradovat. Dnes fungující bioremediační techniky spoléhají na původní mikroorganismy pocházející z kontaminovaných míst, kdy je třeba je povzbudit k práci tím, že jim dodáváme optimální množství živin a dalších látek nezbytných pro jejich metabolismus. V současné době se zkoumají způsoby, jak kontaminovaná místa rozšířit o nepůvodní mikroorganismy, stejně tak jako o geneticky modifikované mikroorganismy vhodné pro degradaci kontaminujících látek v konkrétních lokalitách (Das, 2014; Bala et al., 2022). Pro dosažení lepších výsledků bioremediace má značný vliv několik faktorů, jako jsou fyzikální, chemické a biologické, typ půdy, obsah uhlíku a dusíku atd. (Bala et al., 2022). Uhlík je jednou z nejdůležitějších živin, které napomáhají bioremediaci in situ tím, že zvyšují metabolickou aktivitu přirozených mikrobiálních společenstev a urychlují proces bioremediace k rozkladu stávajících kontaminujících látek. V anaerobním prostředí může mnoho mikroorganismů metabolizovat organický uhlík a vytvářet plynný vodík (Alvarez et al., 2017).

4.1 Bakterie využívané při bioremediacích

V průběhu biodegradačního procesu se pesticidy přeměňují na produkty rozkladu nebo jsou zcela mineralizovány mikroorganismy, které znečišťující sloučeniny využívají jako živiny pro své metabolické reakce. Klíčovou roli v biotransformačních mechanismech hrají enzymy (Raffa a Chiampo, 2021). Ve většině uváděných případů byla enzymatická degradace označena za jeden z hlavních mechanismů používaných mikroorganismy v procesu bioremediace (Odukkathil a Vasudevan, 2013; Randika et al., 2022; Uqab et al., 2016). Některé mikroorganismy jsou schopny produkovat enzymy, které mohou rozkládat účinné složky pesticidů. Tyto enzymy působí jako potenciální faktory bioremediace kontaminantů pesticidů. Vzhledem k široké rozmanitosti jejich chemické struktury však může být pro bioremediaci pesticidů zapotřebí široké spektrum skupin enzymů, jako jsou např. oxidoreduktázy, monooxygenázy, dioxygenázy, hydrolázy, lyázy, lakázy, peroxidázy, lipázy atd. (Raffa a Chiampo, 2021; Randika et al., 2022).

Proces degradace lze rozdělit do tří fází, které lze shrnout do:

- Fáze 1: Pesticidy se oxidací, redukčními nebo hydrolytickými reakcemi přeměňují na produkty více ve vodě rozpustné a méně toxické.
- Fáze 2: Produkty fáze 1 jsou přeměněny na cukry a aminokyseliny, které mají vyšší rozpustnost ve vodě a nižší toxicitu.
- Fáze 3: Přeměna metabolitů fáze 2 na méně toxické sekundární konjugáty (Raffa a Chiampo, 2021).

Při degradaci pesticidů se obvykle jedná o souhru více než jednoho mikroorganismu. Navíc nebyl zaznamenán žádný případ mineralizace pouze jedním kmenem. V průběhu let bylo identifikováno několik bakteriálních kmenů, které jsou schopné degradovat pesticidy přítomné v půdě. Každá bakterie má specifčnost, která ji činí zvláště vhodnou pro biodegradační proces. Kupříkladu bakterie rodů *Pseudomonas*, *Neisseria*, *Moraxella* a *Acinetobacter* jsou schopny téměř úplně rozložit pesticid DDT. Bakterie rodů *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Aerobacter*, *Micrococcus* a *Burkholderia* prokázaly schopnost rozkládat dieldrin a endrin (Doolotkeldieva et al., 2018). Jak uvádí Doolotkeldieva et al. 2018, u pesticidu aldrinu byla nejúčinnější bakterie *Bacillus polyxyma*, inkubovaná v minerálním médiu, která při svém metabolismu spotřebovala 0,2 mg aldrinu a po 12 dnech inkubace snížila jeho obsah na 48,2 %. Podobné účinnosti dosáhla i bakterie *Pseudomonas fluorescenc*, která prokázala dobrou degradační schopnost (0,2 mg aldrinu rozložila na 43,2 %) (Doolotkeldieva et al., 2018). Nicméně u celé řady pesticidů (endosulfan, lindan, chlorpyrifos atd.) může dosahovat míra biodegradace až 80-99 %. Obecně lze říct, že bakterie rodu *Pseudomonas* a *Bacillus* jsou mnoha autory shledány jako velmi účinné v bioremediaci celé řady pesticidů (Aresta et al., 2015; Giri et al., 2020; Kumar a Sachan, 2021; Randika et al., 2022).

Obě tyto bakterie jsou hojně zmiňovány i v procesech biodegradace polychlorovaných bifenyly. Při bioremediaci PCB je z počátku důležitá anaerobní degradace, jelikož odstranění heteroatomů (jako jsou halogeny) nebo skupin obsahujících heteroatom, je často mezi prvními kroky biologického rozkladu. Aerobní metabolismus následně vede ke štěpení aromatických nebo alifatických cyklických sloučenin (Doolotkeldieva et al. 2018). Účinnost biodegradace PCB do značné míry souvisí s přítomností vhodných kultur mikroorganismů. Mezi nejaktivnější bakterie schopné metabolizovat PCB se v odborné literatuře nejčastěji

uvádí *Achromobacter sp.*, *Acinetobacter sp.*, *Bacillus sp.*, *Burkholderia sp.*, *Janibacter sp.*, *Mycobacterium sp.*, *Pseudomonas sp.* a *Rhodococcus sp.* (Sharma et al., 2019).

Ve studiích provedených mnohými výzkumníky degradují kmeny bakterie *Rhodococcus ruber* a *Microbacterium sp.* široké spektrum kongenerů PCB. Bylo zjištěno, že kmeny P25 a B51 účinně degradují chlorované bifenyly od mono po hexachlorbifenyly, které zahrnují také planární kongenery (Sharma et al., 2018)

Jedna z nejpříznivějších technik detoxikace vysoce chlorovaný dioxinů (PCDD a PCDF) je reduktivní dechlorace. Vysoce chlorovaných kongenerů jsou obtížně odbourávány aerobní cestou a mnohem úspěšnější je degradace pomocí anaerobních bakterií, stejně tak jako u PCB. Reduktivní dechlorace je proces, kdy je z aromatického kruhu odstraněn chlor.

Na druhou stranu mikrobiální dechlorace vysoce chlorovaných analogů produkuje nejtoxičtější kongener, tj. 2,3,7,8-TCDD jako meziprodukt. Bakterie rodu *Dehalococcoides sp.* je schopná dechlorovat tento významný kongener 1,2,3,4-TCDD na mnohem méně chlorované kongenery (Saibu et al., 2020; Sebastian a Rao, 2022). K dalším úspěšným bakteriím schopným bioremediace patří např.: široce rozšířená bakterie *Sphingomonas sp.*, jejíž některé linie mohou degradovat PCDD/F prostřednictvím oxidace (Liang, 2020; Chai et al., 2016). Mezi další důležité bakteriální rody degradující PCDD a PCDF patří *Pseudomonas sp.*, *Burkholderia sp.*, *Acinetobacter sp.*, *Rhodococcus sp.*, atd. (Liang, 2020; Saleem et al., 2024; Sebastian a Rao, 2022). Příklady bakteriálních rodů schopných bioremediace POPs jsou uvedeny v tabulce 4.1.

Tabulka 4.1.: Bakterie schopné bioremediace POPs (Castejón-Godínez et al., 2022; Giri et al., 2021; Kumar et al., 2021; Randika et al., 2022; Saibu et al., 2020)

PCDF	<i>Sphingomonas sp.</i>	DDT	<i>Chryseobacterium sp.</i>	Aldrin a Dieldrin	<i>Pseudomonas sp.</i>
	<i>Agrobacterium sp.</i>		<i>Sphingomonas</i>		<i>Burkholderia sp.</i>
	<i>Burkholderia sp.</i>		<i>Sphingobacterium sp.</i>		<i>Cupriavidus sp.</i>
	<i>Paenibacillus sp.</i>	Endosulfan	<i>Alcaligenes sp.</i>		<i>Pseudonocardia sp.</i>
	<i>Pseudomonas sp.</i>		<i>Pseudomonas sp.</i>		<i>Enterobacter sp.</i>
PCDD	<i>Rhodococcus sp.</i>	Hexachloryklohexan	<i>Streptomyces sp.</i>	Heptachlor	<i>Bacillus sp.</i>
	<i>Sphingomonas sp.</i>		<i>Sphingobium sp.</i>		<i>Pseudomonas sp.</i>
	<i>Burkholderia sp.</i>		<i>Microbacterium sp.</i>		<i>Micrococcus sp.</i>
	<i>Rhodococcus sp.</i>		<i>Arthrobacter sp.</i>		<i>Flavobacterium sp.</i>

DDT = dichlordifenyltrichloretan; PCBs = polychlorované bifenyly; PCDDs = polychlorované dibenzodioxiny; PCDFs = polychlorované dibenzofuran

5 Realizované příklady mikrobiálních bioremediací

5.1 Degradace DDT pomocí bakterie *Arthrobacter globiformis* DC-1

V této studii Wang et al. (2023) izolovali z dlouhodobě kontaminované zemědělské půdy DDT nový, vysoce účinný degradující bakteriální kmen *Arthrobacter globiformis* DC-1, který by mohl využívat DDT jako jediný zdroj uhlíku a energie.

Vzorky půdy byly odebrány ze zemědělské půdy kontaminované DDT v oblasti Shenyang North New Area v Číně z povrchu 0–20 cm hluboko. Vzorek půdy o koncentraci DDT 137,1 µg/kg byl důkladně smíchán se 100 ml MSM (medium minerálních solí) obsahujícího 100 mg LDDT. Po 4 dnech inkubace při 30 °C byl přenesen 1 ml supernatantu do 100 ml čerstvého MSM obsahujícího 200 mg LDDT a inkubace se třikrát opakovala se zvyšující se koncentrací DDT. Finální obohacené kultury byly vhodně zředěny a rozprostřeny na MSM agarové plotny obsahující DDT a poté inkubovány po dobu 4 dnů při 30 °C. Různé kolonie, které se vytvořily, byly izolovány a poté testovány na schopnost degradovat DDT. Bakteriální kmen vykazující nejvyšší schopnost degradace DDT byl pojmenován DC-1 a byl použit pro následující experimenty. Pro posouzení růstu a schopnosti degradovat DDT kmene DC-1 byl MSM doplněn o 10 mg LDDT a inkubované vzorky byly odebírány po 1, 3, 5, 7 a 10 dnech. Navíc byl ještě hodnocen vliv teploty a pH na růst a biodegradace.

Z výsledků studie Wang et al. (2023) vychází, že kmen bakterie *Arthrobacter globiformis* DC-1 degradoval přes 75 % DDT při koncentraci 10 mg/l v MSM již během prvního dne. Během 1. dne inkubace s DDT se kmen DC-1 rychle adaptoval a jeho bakteriální biomasa dosáhla vrcholu právě po 1 dnu. Růst kmene DC-1 se po 3 dnech dramaticky zpomalil a jak ubíhala inkubační doba, rychlost degradace se zvyšovala velmi pomalu. Při kontinuální degradaci byl téměř všechen DDT vyčerpán a růst kmene DC-1 neměl dostatečný zdroj uhlíku, což vedlo k prudkému poklesu rychlosti degradace DDT.

Kmen DC-1 je grampozitivní, obligátně aerobní a má krátký až téměř tyčinkovitý tvar. Morfologie kolonie DC-1 na jednoduché agarové plotně byla světle žlutá, hladká, neprůhledná, mokrá a s mírně vyvýšeným povrchem. Biochemické testy prokázaly, že kmen DC-1 byl pozitivní na oxidázu, ureázu, katalázu, nitrátoreduktázu, hydrolýzu škrobu a na produkci acetylmethylkarbinolu, ale negativní na produkci indolu.

Růst mikroorganismů a jejich biodegradační schopnosti jsou do značné míry ovlivněny různými podmínkami prostředí. V této studii Wang et al. (2023) byl zkoumán vliv koncentrace DDT, teploty, pH a zdroje uhlíku na růst a rychlost biodegradace *A. globiformis* DC-1 (obrázek 5.1.). Vliv počátečních koncentrací DDT na růstovou odpověď a rychlost degradace byl studován při koncentracích v rozmezí 1–30 mg/l. Rychlost růstu a degradace DDT pomocí *A. globiformis* DC-1 se rychle zvyšovala se zvyšující se počáteční koncentrací DDT a dosáhla maxima, když koncentrace DDT byla 10 mg/l. Zvýšení koncentrace DDT na 20 a 30 mg/l inhibovalo růst kmene DC-1, jelikož tak vysoké koncentrace už byly pro buňky toxické. Ke stejnému výsledku došli při výzkumu i Pant et al. (2013) a Gao et al. (2011).

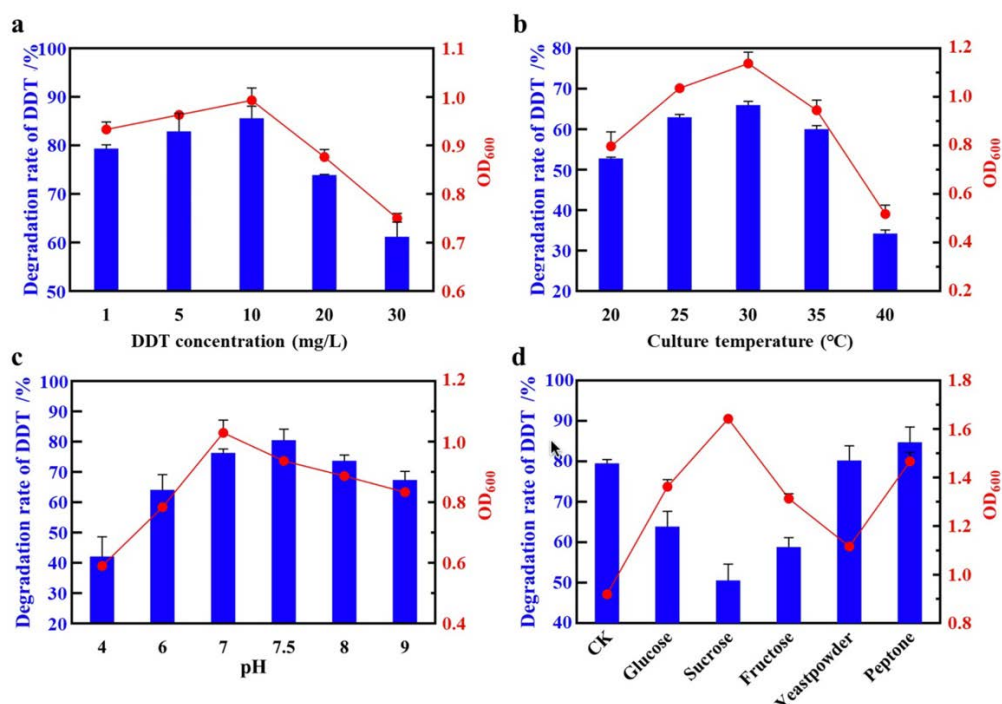
Rychlost růstu a degradace byly při 30 °C významně vyšší než při teplotách 20 °C a 40 °C, což poukazuje, že mezofilní prostředí je nejvhodnější.

Rychlost růstu a degradace DDT se zvyšovala se zvyšujícím se pH v kyselých podmínkách a klesala v alkalických podmínkách. Maximální růst byl pozorován při pH 7,0, zatímco maximální degradace byla pozorována při pH 7,5 (80,51 %). Výsledky ukázaly, že neutrální (7,0) a alkalické (7,5) podmínky byly zvláště vhodné pro biodegradaci DDT *A. globiformis* DC-1 a kmen DC-1 vykazoval větší toleranci a degradaci DDT při alkalickém pH než při kyselém pH.

Zajímavostí je dodatečný vliv uhlíku po přidavku glukózy, sacharózy a fruktózy, kdy se ukázalo, že biodegradace DDT bakterií *A. globiformis* DC-1 je výrazně inhibována a bylo pozorováno pouze 50,6-63,9 % degradace. To mohlo být způsobeno kompetitivním vztahem mezi DDT a spolupřítomností zmíněných sacharidů, jelikož kmen DC-1 preferoval pro svůj růst jednodušeji metabolizovatelné zdroje uhlíku (glukózu, sacharózu nebo fruktózu). Opačný případ nastal při spolupřítomnosti peptonu při degradaci, kdy bylo dosaženo maximální rychlosti degradace DDT 84,2 %.

Výsledky studie ukázaly, že kmen DC-1 měl vysokou kapacitu využití pro kongenery DDT. Během 10 dnů inkubace byly rychlosti degradace vedlejších produktů DDE, DDD a o,p'-DDT kmenem DC-1 až 70,61 %, 64,43 % a 60,24 %. Kmen DC-1 je prvním kmenem degradujícím DDT, který je schopen degradovat DDT i kongenery DDT a využít je tak jako jediný zdroj uhlíku a energie (Wang et al., 2023).

Obrázek 5.1.: (A) Vliv koncentrace DDT, (B) teploty kultivace, (C) pH a (D) dalších zdrojů uhlíku na degradaci DDT a růst kmene DC-1 (Wang et al, 2023)



Degradation rate of DDT % = míra degradace DDT (%); DDT concentration (mg/L) = koncentrace DDT (mg/L); OD₆₀₀ = optická hustota při vlnové délce 600 nm; Culture temperature (°C) = teplota inkubace (°C); CK = kontrola; Glucose = glukóza; Sucrose = sacharóza; Fructose = fruktóza; Yestpowder = sušené kvasinky; Peptone = peptone

5.2 Bioremediace říčních sedimentů znečištěných PCBs

Studie Žeradin et al. (2022) byla založená na analýze potenciálu autochtonního (původního) mikrobiálního společenstva (modelový systém NMC = *natural microbial consortia* = přirozené mikrobiální konsorcium) a bioaugmentovaných alochtonními (vnesených, nepůvodních) bakteriemi degradujícími uhlovodíky (AHC = *aromatic hydrocarbons degrading* = bakterie degradující aromatické uhlovodíky) pro biodegradace PCB přítomných v říčních sedimentech za účelem ochrany životního prostředí a odhadu budoucího nakládání s těmito lokalitami.

Vzorky říčních sedimentů byly odebrány v Bělehradě v Srbsku ze soutoku řeky Topčiderka s Čukarički Rukavac. Sedimenty byly odebírány ze čtyř hloubek v nenarušených podmínkách: 0–1, 1–3, 3–6 a 6–10 cm.

Počet mikroorganismů v říčních sedimentech byl stanoven nanesením na agarové plotny inkubované při 28 °C. Bioaugmentace byla provedena naočkováním biomasy AHD obsahující bakterie rodu *Pseudomonas sp.*,

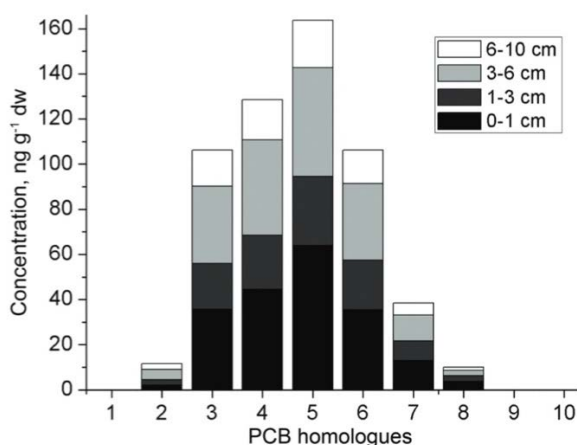
Rhodococcus sp. a *Achromobacter sp.*, která byla dříve izolována z míst kontaminovaných ropnými látkami.

Bioremediace kontaminovaného vzorku složeného ze všech 4 sedimentů (z různých hloubek) trvala 70 dní se střídáním anaerobních a aerobních cyklů. Paralelně byla sledována aktivita mikroorganismů v modelových systémech NMC a NMC-AHD. V modelovém systému NMC-AHD byla na začátku provedena bioaugmentace pomocí AHD (aromatické uhlovodíky degradující bakterie byly izolovány z místa kontaminovaného ropnými produkty).

Říční sedimenty se vyznačovaly neutrálním pH, relativně vysokým obsahem organického i anorganického uhlíku. Ze stanovených mikroorganismů tvořily dominantní frakci mikroorganismy TC (koliformní). Počet TC se zvyšoval s hloubkou vrstev sedimentu, spolu s HD (uhlovodíky degradující mikroorganismy). Vysoké počty stanovené pro všechny zkoumané skupiny mikroorganismů naznačují, že v říčních sedimentech probíhají intenzivní aerobní a anaerobní mikrobiologické procesy.

Vysoký obsah PCB ve vzorku sedimentu je pravděpodobně způsoben tím, že se zde proti proudu řeky Topčiderky v historii nacházel průmyslový závod Minel (výroba transformátorů a kondenzátorů). Nejvyšší koncentrace PCB byla zjištěna ve svrchní vrstvě (0–1 cm), následovaná 3 až 6 cm, 1 až 3 cm a 6 až 10 cm vrstvou. Toto zjištění naznačuje, že také mohlo dojít k nedávné kontaminaci (obrázek 5.2.).

Obrázek 5.2.: Distribuce PCB v sedimentech (Žeradanin et al., 2022)



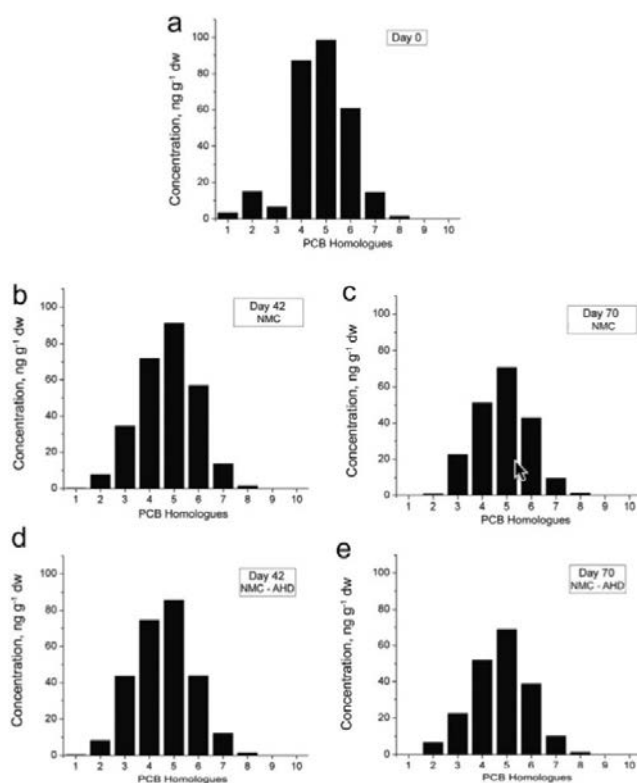
Concentration, $ng \cdot g^{-1} dw$ (dw = dry weight) = koncentrace sušiny v $ng \cdot g^{-1}$;
PCB homologues = kongenery polychlorovaných bifenylů

Na začátku bioremediace bylo celkové množství PCB 287,5 ng/g (den 0). V modelovém systému NMC byla koncentrace PCB 276,8 ng/g po 42 dnech a 198,5 ng/g po 70 dnech. Jinými slovy, po 70 dnech tedy došlo k významnému (>30 %) poklesu koncentrace PCBs.

V modelových systémech NMC-AHD byl zjištěn ještě rychlejší počáteční pokles koncentrace PCB v prvních 42 dnech 231,0 ng/g (20 %) a po 70 dnech byla koncentrace 195,2 ng/g tedy 32 %. Překvapivě byla koncentrace PCB v modelových systémech NMC a NMC-AHD po 70 dnech téměř stejná, což naznačuje, že přítomnost NMC v sedimentu má významný biodegradační potenciál pro redukci PCB a nese hlavní část bioremediačního potenciálu.

Stupeň chlorace a poloha atomů chloru na bifenylových kruzích mohou značně ovlivnit biologickou rozložitelnost různých kongenerů PCB. Vzorek sedimentu obsahoval monochlorované až oktachlorované bifenyly, přičemž dominantní byly pentachlorované kongenery. Během bioremediační studie byla pozorována změna koncentrací a profilů kongenerů, kdy se snížil obsah vyšších substituovaných kongenerů a byl rovněž zaznamenán nárůst trichlorovaných bifenyly. Tyto změny byly zaznamenány po aplikaci anaerobně aerobních cyklů, z čehož vyplývá, že došlo k reduktivní dehalogenaci. Změny v úrovni dominantních kongenerů, konkrétně snížení substituované vyšší frakce a zvýšení substituované nižší frakce v průběhu biodegradace po aplikaci anaerobně aerobních cyklů, odpovídalo výskytu procesu reduktivní dehalogenace. Změny ve vzorcích kongenerů PCB zobrazuje obrázek 5.3.

Obrázek 5.3.: Změna ve vzorcích kongenerů PCB získaných během bioremediační studie v různých modelových systémech (Žeradanin et al., 2022)



Concentration, $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1} \text{ dw}$ (dw = dry weight) = koncentrace sušiny v $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$;
 PCB homologues = kongenery polychlorovaných bifenylů; NMC = systém přirozených mikrobiálních konsorcií; NMC-AHD = systém NMC augmentovaný bakteriemi degradující aromatické uhlovodíky

6 Závěr

Znečištění životního prostředí není novým fenoménem, přesto zůstává největším světovým problémem, kterému lidstvo čelí a hlavní environmentální příčinou nemocnosti a úmrtnosti. Úroveň znečištění ovzduší, vody, půdy a potravin perzistentními organickými polutanty je vysoká, a proto je třeba jí věnovat velkou pozornost.

V roce 2015 vytvořilo několik autorů Komisi pro znečištění a zdraví pod záštitou *The Lancet* (jeden ze světových akademických časopisů s významným dopadem). Komise svou práci prováděla po dobu 2 let a svá zjištění zveřejnila v říjnu 2017, kdy ve své studii uvedla, že všechny formy znečištění byly v roce 2015 zodpovědné za přibližně 9 milionů předčasných úmrtí – 16 % všech úmrtí na celém světě a také za 268 milionů let života přizpůsobených zdravotnímu postižení. Znečištění je tak celosvětově největší environmentální příčinou nemocí a předčasných úmrtí (Landrigan et al., 2017). Ačkoli se to může zdát nepravděpodobné, tak právě nevědomost o formách znečištění může vést lidi k činnostem, které produkují škodlivé vedlejší produkty. Může se jednat např. o vypalování lesů a křovin, ukládání zemědělského odpadu do vodních ploch, špatná likvidace elektronického odpadu a mnoho dalších (Ukaogo et al., 2020). Komise zastává názor, že klíčové nástroje a technologie potřebné ke kontrole znečištění ve všech zemích byly vyvinuty a jsou dnes připraveny k tomu, aby byly přeneseny do celosvětového měřítko (Landrigan et al. 2017).

Perzistentní organické polutanty vznikají především antropogenní činností a přispívají k významné kontaminaci životního prostředí, jednotlivých mikroorganismů i celých potravních řetězců kdekoli na Zemi. Díky Stockholmské úmluvě se je daří účinně eliminovat, avšak vzhledem k jejich perzistenci, lipofilítě a tedy i akumulaci v prostředí jsou stále běžně detekovány.

Bioremediace nabízí možnost degradovat, odstraňovat, měnit, imobilizovat nebo jinak detoxikovat různé chemikálie z prostředí působením bakterií. Mikrobiální metabolismus původních nebo geneticky modifikovaných mikroorganismů lze využít k biodegradaci, protože bioremediace je ekologická, nákladově efektivní a poměrně účinná metoda ve srovnání s fyzikálními a chemickými metodami (Raff a Chiampo, 2021).

Mikrobiální bioremediace je často nedostatečně uznávanou technologií, ačkoli mnoho studií potvrdilo její významné přínosy. Existuje celá řada bakteriálních rodů schopná bioremediace POPs. Např. rody bakterií *Pseudomonas sp.*, *Bacillus sp.*, *Rhodococcus sp.*, *Sphingomonas sp.*, *Bulkholderia sp.*, *Acinetobacter sp.* a mnoho dalších mohou účinně biodegradovat POPs, za předpokladu optimalizace různých faktorů, které mají značný vliv na účinnost bioremediace.

7 Seznam použité literatury

1. Abatenh, E. et al. (2017). Application of microorganisms in bioremediation – review. *Journal of Environmental Microbiology*, 1:02-09.
 2. Abrol, P. D. a Shankar, U. (2012). *Integrated Pest Management Principles and Practice*. Jammu, Sher-e-Kashmir University of Agricultural Sciences and Technology, India. ISBN 978 1 84593 8086.
 3. Akhtar, A. B. T. et al. (2021). Persistent Organic Pollutants (POPs): Sources, Types, Impacts, and Their Remediation. In: Prasad, R. (eds.) *Environmental Pollution and Remediation, Environmental and Microbial Biotechnology*. Springer Nature Singapore Private Limited, Singapore, pp. 213-246, ISBN 978-981-15-5499-5.
 4. Alharbi, O. M. et al. (2018). Health and environmental effects of persistent organic pollutants. *Journal of Molecular Liquids*, 263: 442-453.
 5. Arora, R. (2012). *Microbial biotechnology: energy and environment*. CABI, Cambridge. ISBN 978-1-84593-956-4.
 6. Arslan, M. et al. (2017). Plant–bacteria partnerships for their mediation of persistent organic pollutants. *Environmental Science and Pollution Research*, 24: 4322-4336.
 7. Asifa, K. P. a Chitra, K. C. (2019). Effect of chlordecone on the reproductive potential of the cichlid fish, *Pseudotropheus maculatus* (Bloch, 1795). *Marine Sciences*, 2(2).
 8. Azubuike, C. C. et al. (2016). Bioremediation techniques-classification based on site of application: principles, advantages, limitations and prospects. *World Journal of Microbiology and biotechnology*, 32(11):180.
 9. Babička, L. (2017). *Toxicky významné látky v potravinách*. Potravinářská komora České republiky, Česká technologická platforma pro potraviny, Praha. ISBN 978-80-88019-28-2.
 10. Bala, S. et al. (2022). Recent strategies for bioremediation of emerging pollutants: a review for a green and sustainable environment. *Toxics*, 10(8) 484.
-

-
11. Baydan, E. et al. (2017). Contaminants in animal products. In: Sekkin, S. (Ed.) *Livestock Science*. Adnan Menderes University, Turkey. ISBN 978-953-51-5465-5.
 12. Bezpečnost potravin A-Z. *Polychlorované bifenyly*, Internetový portál bezpečnosti potravin Ministerstva zemědělství [online]. [13.3.2023]. Dostupné na: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/76517.aspx>.
 13. Brennan, E. et al. (2023). Association between Organochlorine Pesticides and Vitamin D in Female Subject. *Biomedicines*, 11(5): 1451.
 14. Das, S. (2014). *Microbial Biodegradation and Bioremediation*. Elsevier Science, Amsterdam. ISBN 978-0-12-800021-2.
 15. Emond, C., a Multigner, L. (2022). Chlordecone: development of a physiologically based pharmacokinetic tool to support human health risks assessments. *Archives of Toxicology*, 96(4): 1009-1019.
 16. Etuk, I. F. et al. (2024). An Overview of Bioremediation Process—Mechanisms and Factors Influencing It. *International Journal of Engineering and Modern Technology*, 10: 2504-8848.
 17. Fiedler, H. (2016). Release inventories of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and polychlorinated dibenzofurans. *Dioxin and Related Compounds: Special Volume in Honor of Otto Hutzinger*, 1-27.
 18. Fouad, F. A. et al. (2022). Role of Microorganisms in Biodegradation of Pollutants. In: Ali, G. A. M. a Makhlof, A. S. H. (Eds.) *Handbook of Biodegradable Materials*. Springer, Singapore, pp. 1-40. ISBN 978-3-031-09710-2.
 19. Gao, B. et al. (2011). Isolation and characterization of an *Alcaligenes* sp. strain DG-5 capable of degrading DDT under aerobic conditions. *Journal of Environmental Science and Health* 46: 257–263.
 20. Gonzáles, N. (2018). Level of PCDD/Fs in food stuffs in Tarragona County (Catalonia, Spain): Spectacular decrease in the dietary intake of PCDD/Fs in the last 20 years. *Food and Chemical Toxicology*, 121: 109-114.
-

-
21. Goswami M. et al, (2018): Bioaugmentation and biostimulation: a potential strategy for environmental remediation. *Journal of Microbiology & Experimentation*, 6(5): 223-231.
 22. Grimm, F.A. et al. (2015) Metabolism and metabolites of polychlorinated biphenyls. *Critical Reviews in Toxicology*, 45(3): 245-272.
 23. Guo, W. et al. (2019). Persistent Organic Pollutants in Food: Contamination Sources, Health Effects and Detection Method. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(22): 4361.
 24. Hasonova, L. et al. (2019). Výskyt DDT v syrovém mléce v období 2005-2018. *Mlékárenské listy*, 174 (30): 9-11.
 25. Hernández, C. S. et al. (2020). Biomonitoring of polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDDs), polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) and dioxin-like polychlorinated biphenyls (dl-PCBs) in human milk: Exposure and risk assessment for lactating mothers and breastfed children from Spain. *Science of The Total Environment*, 744:140710.
 26. Chai, B. et al. (2016). *Sphingomonas wittich* strain RW1 genome-wide gene expression shifts in response to dioxins and clay. *Plos One*, 11(6).
 27. Chattopadhyay, S., & Chattopadhyay, D. (2015). Remediation of DDT and its metabolites in contaminated sediment. *Current Pollution Reports*, 1(4): 248-264.
 28. Idowu, I. G. et al. (2023). Polychlorinated biphenyl (PCB) half-lives in humans: A systematic review. *Chemosphere*, 345:140359.
 29. Institute of Food Science and Technology, (2020). *Dioxins and Dioxin-like Compounds in Foods and Feeds*. [online] [cit. 12.3.2024]. Dostupné z: <https://www.ifst.org/resources/information-statements/dioxins-and-dioxin-compounds-foods-and-feeds>.
 30. International Agency for Research on Cancer, (2024). *List of Classifications*. [online] [cit. 12.3.2024]. Dostupné z: <https://monographs.iarc.who.int/list-of-classifications>.
 31. Iosob, G. A. et al. (2016). Biological remediation of soil polluted with oil products: an overview of available technologies. *Scientific Studies & Research*, 25(2).
-

-
32. Jayaraj, R. et al. (2017). Organochlorine pesticides, their toxic effects on living organisms and their fate in the environment. *Interdisciplinary Toxicology*, 9(3-4): 90-100.
33. Jha, S. K. and Paul, D. K. (2020). Efficacy of *Withania somnifera* on lipid profile of endosulfan induced toxicity in Swiss albino mice. *Journal of Applied and Natural Science*, 12(3): 454-459.
34. Juárez-Maldonado, A. et al. (2019). Nanoparticles and Nanomaterials as Plant Biostimulants. *International Journal of Molecular Science*, 20(1): 162.
35. Kalač, P. et al. (2010). *Chemie životního prostředí*. První vydání. Nakladatelství Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích, České Budějovice. ISBN 978-80-7394-232-8.
36. Kaur, G. et al. (2021). The Role of Microorganisms in Remediation of Environmental Contaminants. In: Prasad, R. (Eds.), *Environmental Pollution and Remediation*. Springer, Singapore, pp. 421-450. ISBN 978-981-15-5499-5.
37. Kaur, R. et al. (2019). Pesticides classification and its impact on environment. *International Journal of Current Microbiology and Applied Science*, 8(3): 1889-1897.
38. Karthigadevi, G. et al. (2021). Chemico-nanotreatment methods for the removal of persistent organic pollutants and xenobiotics in water – A review. *Bioresource Technology*, 324: 124678.
39. Kebede, G. et al. (2021). Factors influencing the bacterial bioremediation of hydrocarbon contaminants in the soil: mechanisms and impacts. *Journal of Chemistry*, 2021: 1-17.
40. Kopáček, J. et al. (2020). *Voda na Zemi*. První vydání. Nakladatelství Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích, České Budějovice. ISBN 978-80-7394-834-4.
41. Kumar, V. et al. (2018). Bioremediation: An Eco-sustainable Approach for Restoration. In: Singh, S., Sharma, D., Kumar, G., Sharma, N. R. (Eds.), *Microbial Bioprospecting for Sustainable Development of Contaminated Sites*. Springer, Singapore, pp. 115-136. ISBN 978-981-13-0053-0.
-

-
42. Kumari, M. et al. (2018). Application of microbes in remediation of hazardous wastes: a review. In: Varjani, S. J. (Eds.), *Bioremediation: Applications for Environmental Protection and Management*, Springer, Singapore, 223-241. ISBN 78-981-10-7485-1.
 43. Landrigan, P. J. et al. (2018). The Lancet Commission on pollution and health. *The lancet*, 391(10119), 462-512.
 44. Özkara, A., Akil, D., Konuk, M. (2016): *Pesticides, Environmental Pollution, and Health*. In: Larramendi, M. L. a Soloneski, S. (Eds.), *Environmental Health Risk – Hazardous Factors for Living Species*. National University of La Plata, Argentina. ISBN 978-953-51-2402-3.
 45. Ławniczak, Ł. et al. (2020). Microbial Degradation of Hydrocarbons-Basic Principles for Bioremediation: A Review. *Molecules*, 25(4): 856.
 46. Liang, G. (2020). *In situ remediation options for polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans (PCDD/Fs) in Sydney Harboursediments*, Doctoral dissertation, School of Civil and Environmental Engineering, Faculty of Engineering.
 47. Lorenzo, V. et al. (2016). Bioremediation at a global scale: from the test tube to planet Earth. *Microbial Biotechnology*, 9(5):618-25.
 48. Luka, Y. et al. (2018). Bioremediation: A solution to environmental pollution-a review. *American Journal of Engineering Research*, 7(2): 101-109.
 49. Maitra, S. (2018). In situ bioremediation – An overview. *Research Journal of Life Science, Bioinformatics, Pharmaceutical and Chemical Science*, 557.
 50. Marinković, N. et al. (2010). Dioxins and human toxicity. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 61(4):445-53.
 51. Méndez-Fernandez, P. et al. (2018). From banana fields to the deep blue: assessment of chlordecone contamination of oceanic cetaceans in the eastern Caribbean. *Marine pollution bulletin*, 137: 56-60.
 52. Menezes, R. G. et al. (2017). Endosulfan poisoning: An overview. *Journal of forensic and legal medicine*, 51: 27-33.
-

-
53. Moreau, X. et al. (2022). Hydra bioassay for the evaluation of chlordecone toxicity at environmental concentrations, alone or in complex mixtures with dechlorinated byproducts: experimental observations and modeling by experimental design. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(60): 91017-91035.
54. Nagar, N. et al. (2023). A review on structural mechanisms of protein-persistent organic pollutant (POP) interactions. *Chemosphere*, 138877.
55. Nair, L. V. et al. (2024). Cadmium selenium quantum dot based nanosensor with femto molar level sensitivity for the detection of the pesticide endosulfan. *Journal of Polymer Science and Engineering*, 6(1): 3208.
56. Negrin, V. L. et al. (2020). Eco-friendly strategies of remediation in the marine system: Bioremediation and phytoremediation. In: Arias, A. H. a Botté S. A. (Eds.), *Coastal and deep ocean pollution*, CRC Press, Boca Raton, pp. 184-214. ISBN 9780203704271.
57. Nikolopoulou, et al. (2013) Enhanced ex situ bioremediation of crudeoil contaminated beach sand by supplementation with nutrients and rhamnolipids. *Marine Pollution Bulletin*, 77(1-2): 37-44.
58. Niti, C. et al. (2013). Bioremediation: An emerging technology for remediation of pesticides. *Research Journal of Chemistry and Environment*, 17: 4.
59. Ododo, M. M. a Wabalo, B. K. (2019) Polychlorinated Biphenils (PCBs) and Their Impact on Human Health: A Review. *Journal of Environment Pollution and Human Health*, 7(2): 73-77.
60. Odukkathil, G., a Vasudevan, N. (2013). Toxicity and bioremediation of pesticides in agricultural soil. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 12: 421-444.
61. Othman, N. et al. (2022). A Review of Polychlorinated Biphenyls (PCBs) Pollution in the Air: Where and How Much Are We Exposed to? *International Journal Of Environmental Research and Public Health*, 19: 13923.
62. Pant, G. et al. (2013). Isolation, identification and characterization of p,p'-ddt degrading bacteria from soil. *Journal of Environmental Science and Technology*. 6: 130-137.
-

-
63. Papaccio, F. et al. (2024). Persistent β -Hexachlorocyclohexane Exposure Impacts Cellular Metabolism with a Specific Signature in Normal Human Melanocytes. *Cells*, 13(5): 374.
64. Peivasteh-Roudsari, L. et al. (2023). Origin, dietary exposure, and toxicity of endocrine-disrupting food chemical contaminants: A comprehensive review. *Heliyon*, 9(7): 18140.
65. Pepperný, K. (2015). Rezidua pesticidů v potravinách – zdravotní rizika a aktuální stav. In: Státní zdravotní ústav [online]. Praha [cit. 13.3.2024]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/tema/rezidua-pesticidu-v-potravinach-zdravotni-rizika-a-aktualni>
66. Pariatamby, A. a Kee, Y. L. (2016). Persistence of organic pollutants management and remediation. *Procedia Environmental Sciences*, 31: 842-848.
67. Petrlík, J. a Válek, P. (2018). Polychlorované bifenyly (PCB). [online] Arnika [12.3.2024]. Dostupné na: <https://arnika.org/polychlorovane-bifenyly-pcb>.
68. Qi, S. et al. (2022). Effects of Organochlorine Pesticide Residues in Maternal body on infants. *Frontiers in Endocrinology*, 13: 890307.
69. Raffa, C. M. a Chiampo, F. (2021). Bioremediation of Agricultural Soils Polluted with Pesticides: A Review. *Bioengineering*, 8(7): 92.
70. Randika, J. L. P. C. et al. (2022). Bioremediation of Pesticide-contaminated Soil: A Review on Indispensable Role of Soil Bacteria. *Journal of Agricultural Sciences*, 17(1).
71. Rathore, H. S. a Nollet, L. M. (2012). *Pesticides: evaluation of environmental pollution*. CRC press, USA. ISBN 987-1-4398-3624-8.
72. Reddy, A. et al. (2018). Polychlorinated biphenyls (PCBs) in the environment: Recent updates on sampling, pretreatment, cleanup technologies and their analysis. *Chemical Engineering Journal*, 258: 1186-1207.
73. Rovira, J. et al. (2022). Mixture of environmental pollutants in breast milk from a Spanish cohort of nursing mothers. *Environment International*, 166:107375.
-

-
74. Rusin, M. et al. (2019). PCDDs, PCDFs and PCBs in locally produced foods as health risk factors in Silesia Province, Poland, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 172: 128-135.
75. Saibu, S. et al. (2023). Soil microbiome response to 2-chlorodibenzo-p-dioxin during bioremediation of contaminated tropical soil in a microcosm-based study. *Journal of Hazardous Materials*, 451: 131105.
76. Saleem, H. et al. (2024). A Review on Bioremediation of Heavy Metals and Hydrocarbons Through Plant Growth-Promoting Bacteria and Composting. *Journal of Bioresource Management*, 11(1): 15.
77. Sánchez Mata, O. et al. (2023). Bioremediation of Automotive Residual Oil-Contaminated Soils by Biostimulation with Enzymes, Surfactant, and Vermicompost. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 20(16): 6600.
78. Saxena, G. et al. (2021). *Bioremediation for Environmental Sustainability*. Elsevier, Amsterdam. ISBN 978-0-12-820524-2.
79. Sayara, T. Sánchez, A. (2020). Bioremediation of PAH-Contaminated Soils: Process Enhancement through Composting/Compost. *Applied Science*, 10(11): 3684.
80. Sayqal, A. a Ahmed, O. B. (2021). Advances in heavy metal bioremediation: an overview. *Applied Bionics and Biomechanics*, 2021.
81. Sharma, A. et al. (2022). Exposure to endosulfan can cause long term effects on general biology, including the reproductive system of mice. *Frontiers in Genetics*, 13: 1047746.
82. Sharma, J. K. et al. (2018). Advances and perspective in bioremediation of polychlorinated biphenyl-contaminated soils. *Environmental Science and Pollution Research*, 25: 16355-16375.
83. Sharma, J. (2019). Advantages and limitations of in situ methods of bioremediation. *Recent Advances in Biology and Medicine*, 5(2019): 10941.
84. Sebastian, P. M. a Rao, K. V. (2022). Approaches in Bioremediation of Dioxins and Dioxin-Like Compounds-A Review on Current and Future Prospects. *Nature Environment & Pollution Technology*, 21(3).
-

-
85. Sales da Silva, I. G. et al. (2020). Soil bioremediation: Overview of technologies and trends. *Energies*, 13(18): 4664.
 86. Sayara, T. a Sánchez, A. (2020). Bioremediation of PAH-contaminated soils: process enhancement through composting/compost. *Applied Sciences*, 10(11): 3684.
 87. Srivastava, V., et al. (2023). Anaerobic degradation of hexachlorocyclohexane: Factors influencing the reactor start-up. *Journal of Water Process Engineering*, 53: 103833.
 88. Sultan, M. et al. (2023). Organochlorine pesticides (OCPs) in freshwater resources of Pakistan: A review on occurrence, spatial distribution and associated human health and ecological risk assessment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 249: 114362.
 89. Sharma, J. K., et al. (2018). Advances and perspective in bioremediation of polychlorinated biphenyl-contaminated soils. *Environmental Science and Pollution Research*, 25: 16355-16375.
 90. Shi, J. et al. (2020). Residual effects of organochlorine pesticides (OCPs) in an e-waste recycling area compared with heavy metal pollution. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 198: 110651.
 91. Shi, J. et al. (2024). New insights into survival strategies and PCB bioremediation potential of resuscitated strain *Achromobacter* sp. HR2 under combined stress conditions. *Journal of Hazardous Materials*, 465: 133242.
 92. Singh M. et al. (2017) Biotechnological Applications of Microbes for the Remediation of Environmental Pollution. In: Singh R., Trivedi M. (Eds.), *Biotechnology: Trends and Applications*, pp. 179-214, Stadium Press LLC, USA. ISBN 9781626990494.
 93. Smith, J. J. et al. (2023). Bioventing revisited: efficacy of enhanced biodegradation for sites with mobile LNAPL. *Quarterly Journal of Engineering Geology and Hydrogeology*, 56 (2): 2022–085.
 94. Su, X. et al. (2023). Resuscitation-promoting factor accelerates enrichment of highly active tetrachloroethene/polychlorinated biphenyl-dechlorinating cultures. *Applied and Environmental Microbiology*, 89(1): 01951-22.
-

-
95. Tyagi, B. a Kumar, N. (2021). Bioremediation: Principles and applications in environmental management. In: Singh, S. et al. (Eds.), *Bioremediation for environmental sustainability*, pp. 3-28, Elsevier, Amsterdam. ISBN 978-0-12-820524-2.
96. Tomei, M. C. a Daugulis, A. J. (2013). Ex Situ Bioremediation of Contaminated Soils: An Overview of Conventional and Innovative Technologies. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 43(20): 2107-2139.
97. Tomer, A. et al. (2021). Role of fungi in bioremediation and environmental sustainability. In: Prasad R. et al. (Eds.), *Mycoremediation and Environmental Sustainability*, třetí vydání, Springer, Switzerland, pp. 187-200. ISBN 978-3-030-54422-5.
98. Tsygankov, V. (2023). The Dirty Dozen of the Stockholm Convention and Other Persistent Organic Pollutants: A Review. *Persistent Organic Pollutants in the Ecosystems of the North Pacific*, 1-48.
99. Ukaogo, P. O. et al. (2020). Environmental pollution: causes, effects, and theremedies. In: Chovdhary, P. et al. *Microorganisms for sustainable environment and health*, Elsevier, Amsterdam, pp. 419-429. ISBN 987-0-12-891001-2.
100. Unsworth, J. (2010). History of Pesticide Use. [online] IUPAC [13.3.2024]. Dostupné na: http://agrochemicals.iupac.org/index.php?option=com_sobi2&sobi2Task=sobi2Details&catid=3&sobi2Id=31.
101. Uqab, B. et al. (2016). Review on bioremediation of pesticides. *J. Bioremediat. Biodegrad*, 7(2): 10-4172.
102. Velíšek, J. et al. (2014). *Vodní toxikologie pro rybáře*. První vydání. Nakladatelství Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích, Vodňany. ISBN 978-80-87437-89-6.
103. Velíšek, J. Hajšlová, J. (2009): *Chemie potravin 2*. 3. vyd. Tábor: OSSIS. ISBN 978-80-86659-16-9.
-

-
104. Wang, X. et al. (2023). Degradation of DDT by a novel bacterium, *Arthro bacter globiformis* DC-1: efficacy, mechanism and comparative advantage. *Water*, 15(15): 2723.
 105. Wang, Z. et al. (2022). Enhancing scientific support for the Stockholm Convention's implementation: an analysis of policy needs for scientific evidence. *Environmental Science & Technology*, 56(5): 2936-2949.
 106. Yadav, M. et al. (2021) Bioremediation of organic pollutants: a sustainable green approach. In: Mishra, V. K., a Kumar, A. (Eds.), *Sustainable environmental clean-up: green remediation*, Elsevier, Amsterdam. pp. 131-147. ISBN 978-0-12-823828-8.
 107. Zain, S. M. et al. (2021). Atmospheric PCDDs/PCDFs levels and occurrences in Southeast Asia: A review. *Science of The Total Environment*, 783: 146929.
 108. Zhu, M. et al. (2022). Environmental contamination and human exposure of polychlorinated biphenyls (PCBs) in China: A review, *Science of The Total Environment*, 805: 150270.
 109. Žerađanin, A. et al. (2022). Bioremediation of river sediment polluted with polychlorinated biphenyls: A laboratory study. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 87(1): 95-107.
-

8 Seznam obrázků

Obrázek 2.1: Strukturní vzorec PCDD a PCDF (ifst. org, 2020).....	17
Obrázek 5.1.: (A) Vliv koncentrace DDT, (B) teploty kultivace, (C) pH a (D) dalších zdrojů uhlíku na degradaci DDT a růst kmene DC-1 (Wang et al, 2023)	32
Obrázek 5.2.: Distribuce PCB v sedimentech (Žeradanin et al., 2022)	33
Obrázek 5.3.: Změna ve vzorcích kongenerů PCB získaných během bioremediační studie v různých modelových systémech (Žeradanin et al., 2022)	35

9 Seznam tabulek

Tabulka 2.1.: Rozdělení perzistentních organických polutantů Stockholmské úmluvy (Wang et al., 2022).....	9
Tabulka 2.2.: Klasifikace pesticidů podle cílových škodlivých organismů (převzato z Velíšek a Hajšlová, 2009)	10
Tabulka 2.3.: Základní rozdělení pesticidů podle chemického složení (Kaur et al., 2019)	12
Tabulka 2.4.: Perzistence organochlorových pesticidů (Jayaraj, 2016).....	13
Tabulka 3.1.: Výhody a nevýhody in situ bioremediace (Goswami et al., 2018; Taigy et al., 2021; Kumar et al., 2018.).....	21
Tabulka 3.2.: Výhody a nevýhody ex situ bioremediace (Azubuike et al.; 2016; Tomei a Daugulis, 2013).....	23
Tabulka 4.1.: Bakterie schopné bioremediace POPs (Castejón-Godínez et al., 2022; Giri et al., 2021; Kumar et al., 2021; Randika et al., 2022; Saibu et al., 2020).....	29
