

2023 Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin



**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

**Zatížení čistírenských kalů syntetickými parfemovými
látkami, jejich rizika a možnosti remediac**

Bakalářská práce

Autorka: Hana Kučerová

Ochrana krajiny a využívání přírodních zdrojů

Vedoucí práce: prof. Ing. Pavel Tlustoš, CSc., dr. h. c.

© 2023 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci " Zatížení čistírenských kalů syntetickými parfemovými látkami, jejich rizika a možnosti remediac" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 28.4 2023

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala panu prof. Ing. Pavlu Tlustošovi, CSc., dr. h. c. za trpělivost a cenné rady. Mým konzultantem byl Abraham Demelaysh Chane, kterému tímto děkuji za spolupráci na experimentu. Dále bych chtěla velmi poděkovat všem svým blízkým za neustálou podporu a skvělé zázemí.

Zatížení čistírenských kalů syntetickými parfémovými látkami, jejich rizika a možnosti remediac

Souhrn

Literární rešerše v této bakalářské práci pojednává o syntetických parfémovaných látkách (nebo též syntetických vonných látkách), o rizicích pro životní prostředí, která jsou nebo mohou být s těmito látkami spojena a o možnostech jejich remediac. Jedná se o uměle vyrobené látky organického původu s širokým spektrem využití. Najdeme je např. v mýdlech, pracích práscích nebo prostředcích na mytí nádobí. Počátky výroby těchto umělých vonných látek najdeme již ve 20. století. Cílem bylo vytvořit látky svou vůní co nejpodobnější vonným látkám rostlinného nebo živočišného původu a zároveň rozšířit spektrum vonných látek. Syntetické vonné látky se po použití těchto produktů dostávají přes kanalizaci do čistíren odpadních vod. Ty nejsou schopné je všechny zachytit a tak část těchto látek pokračuje dále do vodního ekosystému.

Cílem experimentální části bylo zjistit, zda se tyto látky akumulují v kalech, případně, jestli ovlivňují růst biomasi. Pro odstranění syntetických parfémových látek byly vybrány tyto metody: přirozená atenuace, fytoemediac, mykoemediac a kombinace fytoemediac a mykoemediac. Jako rostlina pro remediac byla vybrána kukuřice setá (*Zea mays*), pro mykoemediac byly vybrány dva druhy ligninolytických hub, *Pleurotus ostreatus* a *Phanerochaete chrysosporium*.

Nejefektivnější metodou při odstraňování galaxolidu a tonalidu z půdy byla mykoemediac s využitím druhu *Pleurotus ostreatus*, bylo odstraněno 56,32 % galaxolidu a 47,43 % tonalidu. Při fytoemediaci bylo odstraněno 45,44 % galaxolidu a 44,2 % tonalidu.

Galaxolid byl detekován v kořenech i výhoncích rostliny, tonalid pouze v kořenech. Největší množství galaxolidu akumulovaného v kořenech bylo 9,89 µg/kg (při kombinaci fytoemediac a mykoemediac s *Pleurotus ostreatus*), největší množství galaxolidu akumulované ve výhoncích bylo 3,44 µg/kg (při použití fytoemediac). Největší množství tonalidu akumulovaného v kořenech bylo 3,84 µg/kg (při fytoemediaci).

Výnos biomasy stonků byl nejvyšší při použití fytoemediac (199,4 g; 33,86 %), při této metodě bylo také získáno nejvíce biomasy klasů (101,03 g; 43,05 %). Nejvíce biomasy kořenů bylo získáno při použití kombinace fytoemediac a mykoemediac s *Pleurotus ostreatus* (70,32 g; 27,15 %).

Klíčová slova: čistírenské kaly, parfémové látky, kosmetická rezidua, akumulace v půdě, akumulace v rostlinách, remediac

The Contamination of Sewage Sludge by Synthetic Musks, their Risks, and Methods of Remediation

Summary

The literature review in this bachelor thesis deals with synthetic perfumed substances (or synthetic fragrances), the risks to the environment that are or may be associated with these substances and the possibilities of their remediation. These are artificially produced substances of organic origin with a wide range of uses. We can find them, for example, in soaps, washing powders or dishwashing detergents. The beginnings of the production of these artificial fragrances can be found in the 20th century. The aim was to make the fragrances as similar as possible to fragrances of plant or animal origin and at the same time to expand the spectrum of fragrances. Synthetic fragrances, after using these products, get through the sewer to sewage treatment plants. They are not able to capture them all, so some of these substances continue further into the aquatic ecosystem.

The aim of the experimental part was to find out whether these substances accumulate in sludge, or whether they affect biomass growth. The following methods were selected for the removal of synthetic perfume substances: natural attenuation, phytoremediation, mycoremediation and a combination of phytoremediation and mycoremediation. Maize (*Zea mays*) was selected as a plant for remediation, two species of ligninolytic fungi, *Pleurotus ostreatus* and *Phanerochaete chrysosporium*, were selected for mycoremediation.

The most effective method for removing galaxolide and tonalide from soil was mycorremediation using *Pleurotus ostreatus*, removing 56.32% of the galaxolide and 47.43% of the tonalide. During phytoremediation, 45.44% galaxolide and 44.2% tonalide were removed.

Galaxolide was detected in both the roots and shoots of the plant, tonalid only in the roots. The largest amount of galaxolide accumulated in the roots was 9.89 µg/kg (when combining phytoremediation and mycoremediation with *Pleurotus ostreatus*), the largest amount of galaxolide accumulated in shoots was 3.44 µg/kg (when phytoremediation is used). The largest amount of tonalide accumulated in the roots was 3.84 µg/kg (in phytoremediation).

The yield of stem biomass was highest when phytoremediation was used (199.4 g; 33.86%), this method also yielded the most cob biomass (101.03 g; 43.05%). Most root biomass was obtained using a combination of phytoremediation and mycoremediation with *Pleurotus ostreatus* (70.32 g, 27.15%).

Keywords: sewage sludge, perfume substances, cosmetic residues, accumulation in soil, accumulation in plants, remediation

Obsah

1. Úvod	8
2. Cíl práce	9
3. Literární rešerše	10
3.1 Historie vonných látek	11
3.2 Rozdělení vonných látek	14
3.2.1 Vonné látky rostlinného původu	14
3.2.1.2 Metody získávání rostlinných vonných látek	15
3.2.2 Vonné látky živočišného původu	17
3.2.3 Vonné látky syntetické	18
3.3 Syntetické parfémové látky v životním prostředí	22
3.3.1 Atmosféra	23
3.3.2 Hydrosféra	25
3.3.3 Pedosféra	25
3.3.4 Biosféra	27
3.3.5 Syntetické parfémové látky v České republice	29
3.4 Možnosti odstranění syntetických parfémových látek ze životního prostředí	30
3.4.1 Fotodegradace pomocí UV záření	30
3.4.2 Použití ligninolytických hub	31
3.4.3 Fytoremediace	32
3.4.2.1 Fytodekontaminační technologie	32
3.4.2.2 Fytostabilizační technologie	35
3.4.2.3 Výhody fytoremediace	38
3.4.2.4 Nevýhody fytoremediace	38

4. Experimentální část	39
4.1 Cíl experimentální části	40
4.2 Sledované látky	40
4.3 Informace o lokalitě experimentu	40
4.4 Pracovní postup	40
4.4.1 Příprava půdy a kalu	40
4.4.2 Příprava ligninolytických hub	42
4.4.3 Průběh experimentu	42
4.4.4. Extrakce a syntéza syntetických parfémových látek	44
4.5 Výsledky	45
4.6 Diskuze	47
5. Závěr	49
6. Literatura	50

Úvod

Téma své bakalářské práce jsem si vybrala, protože mě zajímá téma znečištění životního prostředí. V tomto případě se jedná o znečištění kalů syntetickými parfémovými látkami. Toto téma považuji za aktuální, přínos vnímám hlavně u experimentální části, která se zabývá využitím fyto-remediace ve spolupráci s ligninolytickými houbami jako možností odstranění těchto látek ze životního prostředí.

Potřebu pečovat o sebe a zkrášlovat se měli lidé napříč staletími. Používání kosmetiky bylo podmíněno dobou, trendy, dostupností surovin, ale třeba i církví. Zatímco v pravěku a dobách následujících si lidé museli vystačit s vonnými látkami rostlinného a živočišného původu, na přelomu 19. a 20. století se toto spektrum začalo rozšiřovat o vonné látky syntetické (též syntetické musk sloučeniny nebo syntetické parfémové látky). Spektrum vonných látek se tak rozšířilo, zvětšila se parfemářská výroba a tyto produkty se staly dostupnějšími pro více lidí.

První skupinou syntetických vonných látek byly nitromusk sloučeniny, které začaly být vyráběny na počátku 20. století. Komerčně nejdůležitějšími byl musk xylen a musk keton, dále také musk ambrette, musk mosken a musk tibeten. Později ale bylo zjištěno, že tyto sloučeniny mají negativní dopad na životní prostředí, a tak jejich produkce poklesla. V současnosti jsou však stále přítomné v životním prostředí, jak dokazují různé studie. Po nitromusk sloučeninách přišly makrocyclické musk sloučeniny. Jejich výhodou je snazší biodegradovatelnost v životním prostředí oproti ostatním skupinám musk sloučenin. Nevýhodou je jejich vysoká cena. Zástupci těchto látek jsou třeba habanolid a cyklopentadekanolid. V polovině 20. století došlo k objevu polycyclických musk sloučenin. Komerčně nejdůležitějšími látkami jsou galaxolid a tonalid. Nejmladší skupinou jsou lineární (či alycyclické) musk sloučeniny.

Syntetické parfémové látky se řadí mezi organické cyklické semivolatilní perzistentní sloučeniny. Jsou součástí mýdel, pracích gelů nebo prostředků na mytí nádobí. Vzhledem k jejich perzistenci je můžeme najít ve všech sférách životního prostředí. Doposud nejprozkoumanější oblastí je zřejmě hydrosféra. Hlavním zdrojem těchto látek jsou čistírny odpadních vod, do kterých se tyto látky po použití dostávají. Ty nejsou schopny všechny tyto látky odstranit, a tak se tyto látky dostávají do životního prostředí skrze vypouštěnou vodu nebo kal. Problematika syntetických vonných látek prozatím není spolehlivě objasněna. U některých látek již byl prokázán negativní vliv na životní prostředí a tak jsou regulovány nebo zakázány (např. musk xylen).

Pokud je v životním prostředí látka, která má na něj negativní vliv, je potřeba nalézt metody, které ji ze životního prostředí dokážou odstranit. Experimentální část této bakalářské práce se zabývá odstraněním syntetických parfémových látek pomocí fyto-remediace v kombinaci s ligninolytickými houbami.

Cíl práce

Cílem teoretické části práce je popsat výskyt a vlastnosti parfémových látek, jejich zdroje a vstupy do životního prostředí. Následně pak stanovit jejich možná rizika pro živé organismy, včetně člověka. A nakonec popsat principy vedoucí k jejich remediaci v jednotlivých složkách životního prostředí, zejména z odpadních vod a čistírenských kalů.

Cílem experimentální části je poté zjistit, jak parfémové látky přítomné v kalech z čistíren odpadních vod ovlivňují růst rostlin, popřípadě, zda jsou tyto látky v kalech akumulovány.

3. Literární řešení

3.1 Historie vonných látek

Slovo parfém pochází z latinského výrazu *per fumum*, tedy „skrze kouř“, což odkazuje na výpary vonných látek vzniklých při náboženských obřadech.

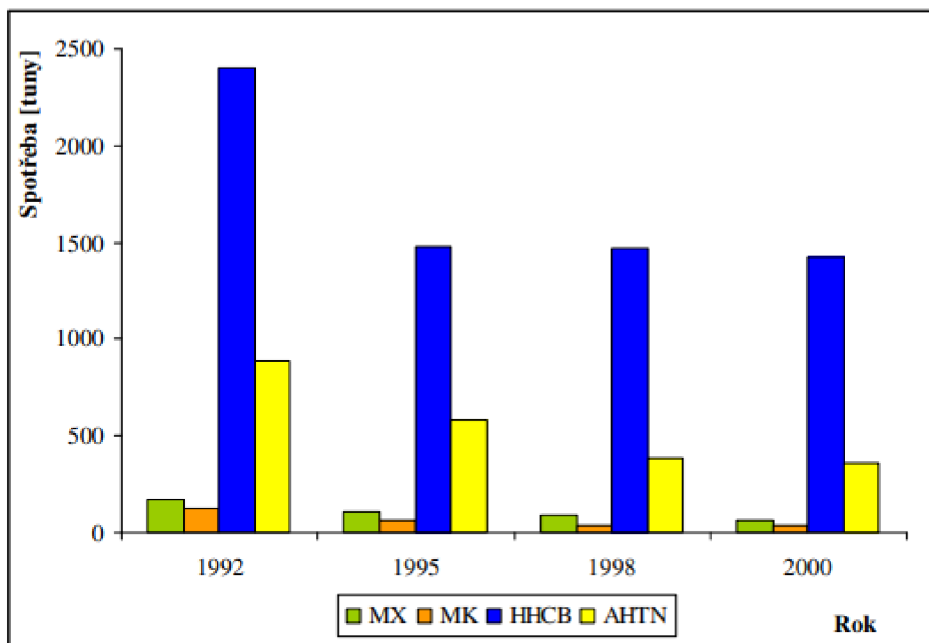
Používání parfémů má v lidské kultuře dlouhou historii. Stopy (nebo zmínky) o vonných látkách, které se používali k ztraktivnění, k maskování nepříjemných pachů nebo při náboženských obřadech, můžeme dohledat téměř u všech starověkých civilizací, jako byla třeba egyptská, perská, řecká, římská či arabská. Po staletí měly vonné látky dvě hlavní funkce: používali se při již zmíněných náboženských obřadech nebo pro zkrášlování těla. Ve starověkém Egyptě se používalo k náboženským účelům kadidlo, často bylo nazýváno jako „vůně Bohů“. Egypťané také používali maceraci za studena a vytvářeli horké odvary, což jim umožňovalo zachytit (přenést) vonné látky do tuků a olejů. Takto získané masti, určené hlavně elitám, byly využívány v každodenním životě. Většina starověkých parfémů byla pevného skupenství. Umění parfemářství se poté rozšířilo i do Řecka, Říma a islámského světa a zaujalo významné postavení na křižovatce posvátného, léčebného a kosmetického umění.

S příchodem křesťanství a pádem Římské říše (5. století n.l.) došlo k úpadku používání parfémů. Přesto se tradici používání parfémů podařilo udržet a a rozvoj destilačních technik spolu s rozvojem mezinárodního obchodu ve středověku přispěly k jejich oživení. Geber (latinizovaná verze jeho jména Džábir ibn Haján, asi 721-815), alchymista z raného islámského období, se zasloužil o vývoj několika chemických přístrojů (alembiku a retorty) a o popis mnoha chemických procesů. O nějakou dobu později, Avicenna (latinizovaná verze jeho jména Íbn Sina, asi 980-1037), perský polymatik, vynalezl kondenzátor (chladič) a poprvé destiloval etanol. Původ extrakce či destilace je nicméně spojován s jejich sběrem po dekantaci pomocí florentské baňky, kterou vynalezl neapolský polymatik Giovanni Battista della Porta (1535-1615). Během 16. století došlo k rozšíření používání alkoholu při výrobě parfémů. Revolučním pokrokem v tomto odvětví byl pak produkt Aqua Mirabilis, vynalezený Gianem Paolem Feminisem. Jednalo se o lehký, aromatický produkt s obsahem alkoholu 95 %, s tony bergamotu, citronu, pomeranče atd., který se využíval jako parfém i jako lék (např. jako ústní voda, tonikum, přísada v koupelích, ...). Tento produkt poté pod názvem Eau de Cologne rozšířil po Evropě vynálezceův prasynovec Giovanni Maria Farina (1685-1766).

Po celá staletí se při výrobě parfémů používaly látky rostlinného nebo živočišného původu, a tak byl výběr vonných látek omezený. Navíc, k získání pouhého kilogramu esenciálního oleje bylo zapotřebí tisíce kilogramů rostlinného materiálu, takže byly parfémy obzvláště drahé a v důsledku toho dostupné jen bohatší vrstvy obyvatelstva. Od poloviny 19. století však nástup moderní syntetické chemie umožnil rychlé nasazení mnoha syntetických vonných látek, což výrazně obohatilo portfolio parfemérů a umožnilo větší tvůrčí svobodu. Řemeslná parfumerie se rychle rozrostla v silné průmyslové odvětví. Chemie se od té doby stala základem moderní parfumerie: syntetické vůně, tedy vůně, které obsahují přírodní složky v kombinaci se syntetickými, nebo které jsou zcela vyrobeny ze syntetických složek, jsou obecně vnímány jako silnější, déle trvající, sofistikovanější a levnější než přírodní vůně. Spotřeba syntetických parfémových látek je zobrazena na obrázku 1 (Burger 2019).

Tím, že se snížil tlak na trh s přírodními surovinami, se zachovala uživatelská odvětví (například parfumerie a společnosti poskytující osobní péči) před vážným nedostatkem některých surovin; jedním z nejpřesvědčivějších příkladů je příběh santalového dřeva (*Santalum album* L.). Po desetiletí pocházela velká většina santalového dřeva z Indie a většina z něj byla výsledkem nekontrolovaného a podvodného sběru. Důležitost santalového dřeva v mnoha odvětvích (používá se pro svou sladkou, teplou, kořeněnou a houževnatou vůni v parfémtech a v osobní péči, ale také při zpracování dřeva, uctívání v hinduistických a buddhistických rituálech, v tradiční medicíně atd.) následně způsobila jeho iracionální nadměrné využívání, které vedlo k celosvětovému nedostatku a masivnímu nárůstu tržní ceny santalového dřeva. V důsledku toho bylo *S. album* v roce 1997 zapsáno na červený seznam IUCN (Mezinárodní unie pro ochranu přírody) jako zranitelný druh a jeho využívání je od té doby přísně kontrolováno. Při hledání syntetických náhražek santalového dřeva bylo vynaloženo velké úsilí: syntéza santalu se ukázala být tak nákladná, že není pro parfémový průmysl zajímavá a napomohla vývoji chemických látek s typickým nádechem santalového dřeva. Ze syntetických aromatických látek vyvinutých v 19. století lze uvést benzylacetát (1855), dodnes používaný pro své jasmínové tóny, a náhražky vanilky, například kumarin (1868) a vanilin (1874). Tato poslední syntéza je často považována za zlomový bod v moderním parfemářství.

Vzhledem k tomu, že se na světový trh každoročně dostávají stovky nových vůní, je výběr spotřebitelů velký a výrobci se snaží o inovace, aby se v tomto miliardovém odvětví odlišili od konkurence. Inovace v tomto odvětví mohou spočívat v inovaci vonných složek: hlavní hráči na trhu se zaměřují na vývoj ekologicky koncipovaných přírodních vonných složek, především kvůli rostoucím obavám spotřebitelů, kteří se zaměřují na udržitelný rozvoj, pokud jde o syntetické látky a s nimi související bezpečnost a ekologické otázky. Společně s agrohospodářstvím a udržitelnou výrobou surovin mohou ekologické metody extrakce, a zejména používání nových rozpouštědel a/nebo aktivačních technik, které nahrazují nebo doplňují konvenční zahřívání, představovat zásadní průlom, který umožní plně řešit tuto trojitou výzvu, kterou je propojení inovací, technologií a udržitelnosti s cílem vyvinout spektrum vůní pokrývající všechny aromatické skupiny a zároveň uspokojit potřeby zákazníků (Burger 2019).



Obrázek 1: Spotřeba syntetických parfémových látek v letech 1992 až 2000, převzato od Zouhar 2013.

V grafu vidíme spotřebu čtyř zástupců syntetických parfémových látek - musk xylenu (MX), musk ketonu (MK), galaxolidu (HHCB) a tonalidu (AHTN) mezi roky 1992 a 2000. Největší spotřeba byla u galaxolidu, nejmenší u musk ketonu. Mezi lety 1995 až 2000 se spotřeba galaxolidu měnila minimálně. Spotřeba všech čtyř zástupců s postupem let klesala.

3.2 Rozdělení vonných látek

Dle původu můžeme vonné látky rozdělit na:

- vonné látky rostlinného původu
- vonné látky živočišného původu
- vonné látky syntetické (uměle vyrobené)

3.2.1 Vonné látky rostlinného původu

K kosmetickém průmyslu nejvíce používané přírodní základní vonné suroviny jsou v rostlinném světě všeobecně rozšířené. Za svou příjemnou vůni vděčí růže nebo konvalinky silicím. Jsou známy také silice s nepříjemným pachem, např. pach bolehlavu plamatého, či smrdutý pach některých hub, který odpuzuje jak lidi, tak zvířata. Silice se v rostlinách hromadí v silicových buňkách, silicových rezervoárech a žlázkách. Z jakých komponentů se skládají silice jednotlivých rostlin je dáno dědičnými vlastnostmi, každý druh nebo odrůda má tedy své charakteristické složení, ale přesné složení může být ovlivněno mnoha dalšími okolnostmi. Silice mohou být uloženy v různých orgánech, může se také stát, že jedna rostlina má v každém orgánu silice různých složení a jsou tedy použitelné (nebo nepoužitelné) k různým účelům. Např. v kořeni kozlíku lékařského se po delší době tvoří nepříjemně páchnoucí silice, zatímco jeho květ má příjemnou karafiátovou vůni. Mezi nejznámější voňavé květiny patří černý bez, heřmánek, jasmín, frézie, levandule, šeřík nebo růže (Babucs 1999). Vonné látky mohou v rostlinách vznikat dvěma způsoby, mevalonátovým a šikimátovým (Moravcová 2011).

Mevalonátový proces

Tímto způsobem vznikají terpenické látky. Biosyntéza těchto látek vychází ze tří molekul acetyl koenzymu. Zjednodušeně lze toto popsat jako kondenzaci izoprenových jednotek za přítomnosti specifického enzymu. Jedním z meziproduktů při těchto reakcích je kyselina mevalonová, podle níž dostal tento proces své jméno. Postupně pak vznikají prekursori terpenů i všechny látky vyskytující se v silicích. Jedná se např. o uhlovodíky (limonen, pinen), aldehydy (citral), alkoholy (linalool) a další sloučeniny. (Moravcová 2011).

Šikimátový (fenylpropanový) proces

Tímto způsobem vznikají vonné látky, které mají ve své molekule aromatické jádro. Výchozím produktem je glukóza. Přes řadu produktů (jedním z nich je kyselina šikimátová), vznikne nakonec kyselina skořicová. Z ní pak dalšími biosyntetickými procesy vznikají aromatické sloučeniny (např. kumariny a jejich deriváty), i látky fenolické povahy (např. eugenol). Šikimátovým procesem vznikají hlavně látky hojně zastoupené v silicích, připravených ze semen rostlin z čeledi mrkvovitých. (Moravcová 2011).

3.2.1.1 Metody získávání rostlinných vonných látek

Destilace

Většina komponentů obsažených v rostlinách s vonnými silicemi je po chemické stránce terpenového původu, anebo to jsou přímo terpeny. Vedle nich to jsou ještě sloučeniny síry a některé aromatické sloučeniny (např. fenoly, kumariny).

Bod varu různých složek silic je velmi odlišný (160 až 290 °C). Většinou to jsou látky s výrazně příjemnou vůní. Odpařují se již na nižší teploty, než je jejich bod varu. Pokud chceme získat z rostliny co nejvíce silice, použijeme destilaci. Tekutinu obsaženou v rostlinných buňkách (v tomto případě silici) zahřejeme spolu s tekutinou, která se s ní nemísí (voda), tím dojde k uvolnění par, které se následně ochladí, čímž dojde ke kondenzaci a poté lze silici uchovat.

Destilace s vodní párou je rozšířenou metodou, protože silice se sami vaří až při vysokých teplotách a na jejich bodech varu začínají probíhat procesy, které zeslabují jejich kvalitu. Bod varu sloučeniny s vodou je naopak nižší, než kdybych destilovali zvláště vodu nebo silici. V důsledku toho lze z rostlin získat při teplotě pod 100°C i takové složky silic, jejichž teplota varu je 300°C.

Základ destilační aparatury tvoří destilační kotlík, chladič a florentinská nádoba propojené trubicemi. Tlak v peci potřebný k destilaci je 400 až 700 kPa, teplota se pohybuje mezi 150 až 170°C. Délka destilace závisí na vlastnostech rostliny, typu kotle, množství páry a rychlosti proudění.

Po destilaci projdou vonné silice dalšími procesy, které vedou k jejich vyčištění nebo obohacení (např. zkoncentrování pomocí frakční destilace)(Babucs 1999).

Extrakce

Některé aromatické látky obsahují vedle silic i vonné látky, jejichž získávání destilací s vodní párou má pro nízký tlak jejich výparů jen malý stupeň účinnosti, nebo je jejich výroba obtížná pro jejich snadnou rozpustnost ve vodě. Extrakce (luhování) pomocí rozpouštědla může být prováděna za nízké či vysoké teploty vonnými nebo nearomatickými rozpouštědly. Kromě vonných látek obsahuje extrakt i některé látky rozpustné v použitém rozpouštědle (pryskyřice, tuk, vosk, barvivo). Kvalita extraktu se mění v závislosti na rozpouštědle a použité technologii extrakce. Extrakce organickým rozpouštědlem se provádí zpravidla za tepla, teplota závisí na bodu varu rozpouštědla. Jako rozpouštědlo se používá např. alkohol nebo aceton. K výslednému produktu se dospěje nejčastěji ve dvou krocích. Rostlina se nejdříve extrahuje tukem nerozpustným ve vodě a takto získaná silice se rozpouští v lihu. Po oddělení látek v lihu nerozpustných se získá absolutní silice, která je rozpustná v silicích i v lihu. Extrakční postupy prováděné pod vysokým tlakem vyžadují nákladná zařízení a drahá rozpouštědla, proto se používají jen v případech, kdy vonnou látku nelze získat destilací s vodní párou (Babucs 1999).

Lisování

Silice citrusů (pomeranče, citronu, mandarinky, grapefruitu) jsou velmi citlivé, již za teploty 100°C podléhají zkáze a nedají se tedy kvalitně získávat destilací s vodní párou. Tyto silice se proto získávají studenou cestou nebo drcením kůry s následným odstředěním. Ovocná šťáva, která spolu s olejem vzniká, není vůbec vedlejším produktem, často je cennější než samotná vonná silice (Babucs 1999).

Anfleráž

Při použití tohoto postupu se skleněný plát pokryje vrstvou tuku, na níž se poskládají do rámu květy (např. pomerančovníku, jasmínu). Tuk do sebe nasává jejich silice. Květy se denně vyměňují a nakonec se odebere i tuk. Takto vzniklá pomáda se rozpouští v lihu a výsledná látka se získá následnou destilací. Anfleráž se používá především v jižní Francii (Babucs 1999).

3.2.2 Vonné látky živočišného původu

Ve svém původním stavu mohou být tyto látky tak silné, že je jejich vůně až odpudivá. Je tedy třeba je ředit a poté můžeme dosáhnout příjemné vůně. Často se jedná o velmi vzácné a drahé látky. V současnosti jsou nahrazovány syntetickými variantami (Zouhar 2009).

Ambra

Ambra rostlinného původu je rozpuštěná pryskyřice mnoha druhů jedlí. Má kouřovou, doutnavou a medově sladkou vůni, a právě proto je velmi cenná, zvláště při vytváření „orientálních“ parfémů. V nich se používá jako protipól k často velmi pronikavým a různým tonům bylin a koření. „Ambrový“ se také běžně používá jako obecný termín pro teplý a orientální účinek v parfému (Babucs 1999).

Ambra živočišného původu je lehká, vláčná, voskovitá, na dotek mastná substance vylučovaná ze žaludku vorvaňů (Babucs 1999). Je drahá a vzácná, používá se jako fixátor v parfémtech (zajistí delší trvanlivost v nádobě i na kůži)(Oakes 1996).

Cibet

V surovém stavu se jedná o masťovitou hmotu žluté až žlutohnědé barvy a velmi intenzivního zápachu. Získává se jako výměšek z podčasní žlázy šelem z čeledi cibetkovitých (Tylichová 2011). Cibet se používá v nepatrných množstvích s mnohem atraktivnějšími ingrediencemi, používá se jako fixátor (Oakes 1996).

Kastoreum

Tento červenohnědý výměšek je produktem lymfatických žláz bobra. Bylo používáno již v 9. století arabskými voňavkáři. Používá se jako fixátor v pánské kosmetice (Zouhar 2009).

Pižmo (mošus)

Jedná se o výměšek žláz kabara pižmového, vylučují ho pouze samci. Jedno zvíře dokáže vyprodukovat 150 g pižma ročně (Babucs 1999).

3.2.3 Vonné látky syntetické

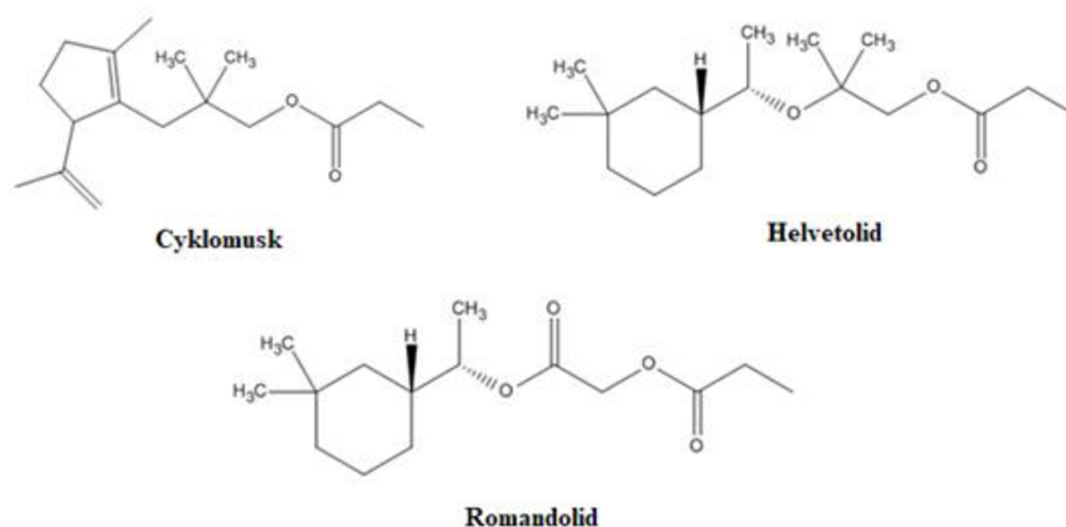
Jedná se o středně těžké organické cyklické sloučeniny. Syntetické parfémové látky jsou vysoce perzistentní sloučeniny, které se mohou bioakumulovat ve vodě, půdě a potravinovém řetězci, a proto mohou představovat riziko pro životní prostředí. Lipofilita těchto látek vykazuje vysoký bioakumulační potenciál, který se týká nejen životního prostředí, ale také ovlivňuje bezpečnost potravin a následně veřejné zdraví (Košnář et.al. 2021).

Tyto látky můžeme podle jejich chemické struktury rozdělit na:

- lineární musk sloučeniny
- makrocyclické musk sloučeniny
- nitromusk sloučeniny
- polycyclické musk sloučeniny

Lineární musk sloučeniny

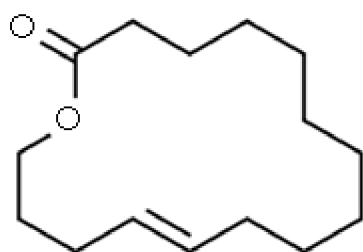
Také se jim říká alycyclické musk sloučeniny. Cílem jejich vývoje bylo nahradit polycyclické a nitromusk sloučeniny (kvůli jejich škodlivosti pro životní prostředí) a makrocyclické musk sloučeniny (kvůli jejich drahé výrobě) (Eh 2004). První z těchto sloučenin byla objevena v roce 1969 vědci z institutu International Flavors and Fragrances a byla pojmenována Rosamusk. Nebyl však široce využit a tak některé starší prameny mohou tvrdit, že první lineární musk sloučeninou byl cyklomusk (obrázek 2) (colognoisseur.com). Ten byl objeven v roce 1975 Hoffmannem a von Fraunbergem z BASF. Jednalo se o trisubstituovaný derivát cyklopentenu. Cyklomusk má ovocnou, jahodovou pižmovou vůni. Asi o 15 let později objevili Giersch a Schulte-Elte ze švýcarské firmy Firmenich Helvetolid (obrázek 2). Vyzařuje ovocný a hruškovitý pižmový zápach. V roce 2000 Williams ze švýcarské firmy Firmenich objevil Romandolid (obrázek 2), který voní podobně jako musk ambrette (Eh 2004).



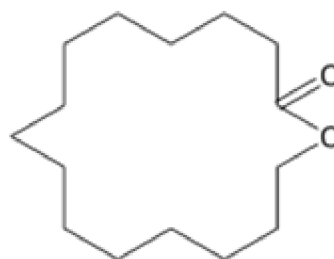
Obrázek 2: Strukturální vzorce vybraných zástupců lineárních musk sloučenin (colognoisseur.com)

Makrocyclické musk sloučeniny

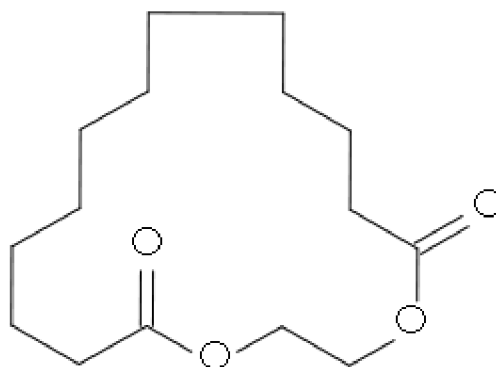
Nebo též makrocyclické parfémové látky. Vývoj makrocyclických musk sloučenin byl zahájen v roce 1926, a to popisem struktury masconu a civetonu, kteří jsou odpovědní za typický mošusový zápach některých živočišných výměšků, jako je např. výměšek kabara pižmového (mascon) a cibetky (civeton). Makrocyclické musk sloučeniny obsahují 15 až 17 čtené cykly obsahující ketonovou nebo laktonovou skupinu. Intenzita a typ vůně jsou ovlivněny velikostí kruhu. Vůně sloučenin majících 14 čtený kruh atomů má slabší intenzitu než sloučeniny s 15 až 16 čteným kruhem. Rovněž bylo prokázáno, že přírodní makrocyclické sloučeniny živočišného původu jsou povahou ketony, zatímco látky rostlinného původu jsou povahou laktony. Výhodou makrocyclických musk sloučenin je lepší biodegradovatelnost v životním prostředí (oproti polycyklickým a nitromusk sloučeninám). Mezi zástupce těchto sloučenin patří např. habanolid, cyklopentadekanolid a ethylenbrassylát (obrázek 3)(Tobková 2015)



Habanolid



Cyklopentadekanolid

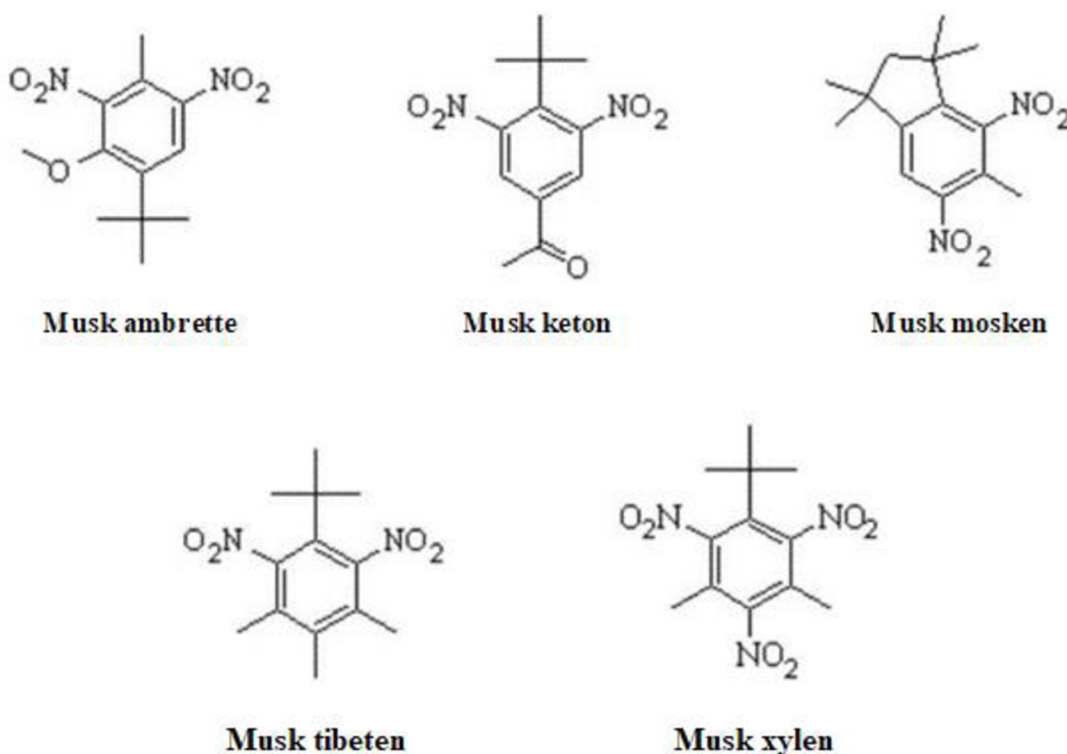


Etylenbrassylát

Obrázek 3: Strukturální vzorce vybraných zástupců makrocyclických musk sloučenin (habanolid: modifikováno dle chemspider.com; cyklopentadekanolid: wikipedia.org; etylenbrassylát: modifikováno dle molinstincts.com)

Nitromusk sloučeniny

Nebo též nitroparfémové látky. Tyto látky jsou nejstarší skupinou syntetických vonných látek. Začaly být vyráběny na začátku 20. století jako levná náhrada přírodních makrocyclických musk sloučenin. Z hlediska chemie se jedná o substituované dinitro- a trinitroderiváty benzenu (Rimkus & Wolf 1995). První z těchto pižem bylo náhodně vyrobeno již na konci 19. století Albertem Bauerem a bylo známé pod jménem Bauerovo pižmo (Tylichová 2011). Mezi komerčně nejdůležitější nitromusk sloučeniny patří xylenové pižmo, ketonové pižmo, musk mosken, musk tibeten a musk ambrette. Musk xylen a musk keton (obrázek 4) se používají jako přísada v detergentech, avivážích, čistících prostředcích pro domácnost a jiných vonných nekosmetických přípravcích, přičemž musk xylen je nejpoužívanější nitromusk sloučeninou. Kvůli svému bioakumulačnímu potenciálu ve vodním prostředí je od roku 1982 v Japonsku jeho používání omezeno. U musk moskeny a musk tibetenu (obrázek 4) bylo zakázáno jejich používání ve vonných produktech z důvodu nepříznivých výsledků u sktrukturně podobných sloučenin. Musk ambrette (obrázek 4) se přestalo používat, protože jeho spotřeba byla spojena se slabostí zadních končetin u potkanů a byly pozorovány neuropatologické změny v mozku, páteři a periferních nervech (Taylor et.al. 2014).



Obrázek 4: Strukturální vzorce vybraných zástupců nitromusk sloučenin (modifikováno dle Taylor et.al.2014)

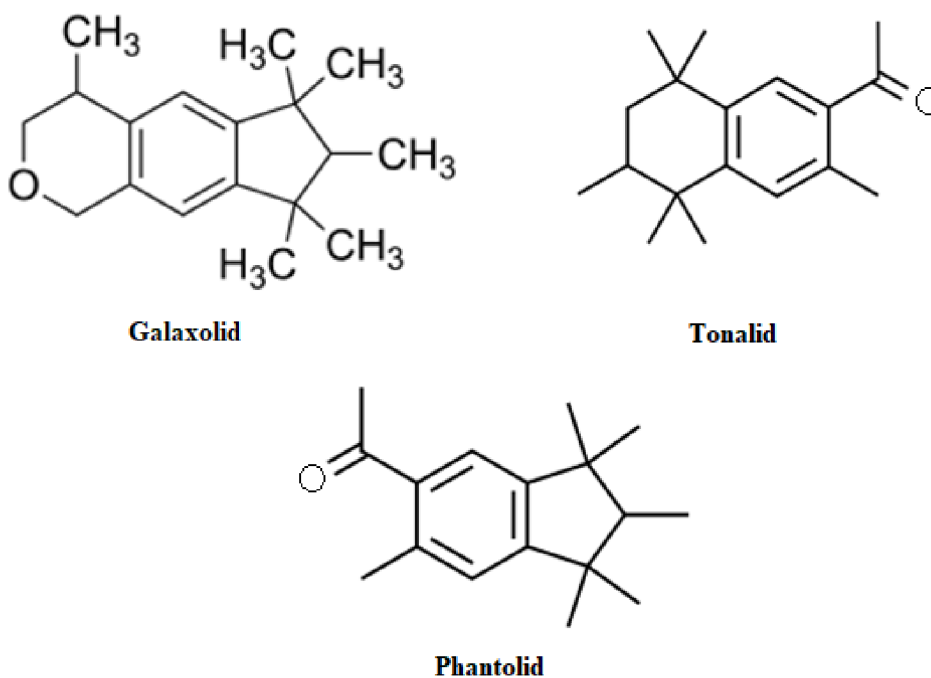
Polycyklické musk sloučeniny

Nebo též polycyklické parfémové látky. Z hlediska chemické struktury se jedná o deriváty indanu, tetralinu, kumarinu a o tricyklické sloučeniny, vysoce substituované hlavně metylovými skupinami. V 90. letech 20. století se jejich celosvětová produkce pohybovala okolo 6000 t/rok. V porovnání s nitromusk sloučeninami jsou polycyklické musk sloučeniny odolnější vůči alkáliím, jsou stáječší na světle a jejich výroba je levnější, proto je také převážně nahradila. V současné době jsou považována za problematická z hlediska své schopnosti narušovat metabolismus buňky. Mezi nejznámější zástupce polycyklických pižem patří tonalid (AHTN), galaxolid (HHCB), phantolid (AHMI), traseolid (ATII) a celestolid (ADBI) (Šuta 2016).

Galaxolid (obrázek 5) je obchodní název pro 4,6,6,7,8,8-hexamethyl-1,3,4,6,7,8-hexahydrocyklopenta[*g*]isochromen (pubchem.ncbi.nlm.nih.gov). Poprvé byl syntetizován v roce 1965 a je využíván např. v parfémech, pleťových a kolínských vodách, jako změkčovadlo v textilním průmyslu a detergent. Galaxolid je považován za endokrinní disruptor, který stimuluje estrogenní receptory a váže se na ně. Působí však také na androgenní receptory (Šuta 2016).

Tonalid (obrázek 5) je obchodní název pro 6-Acetyl-1,1,2,4,4,7-hexamethyltetralin (pubchem.ncbi.nlm.nih.gov). Je to bílý krystalický prášek. Má sladkou, dřevitě-pižmovou vůni (scentspiraci.com). Je toxický pro vodní prostředí (pubchem.ncbi.nlm.nih.gov).

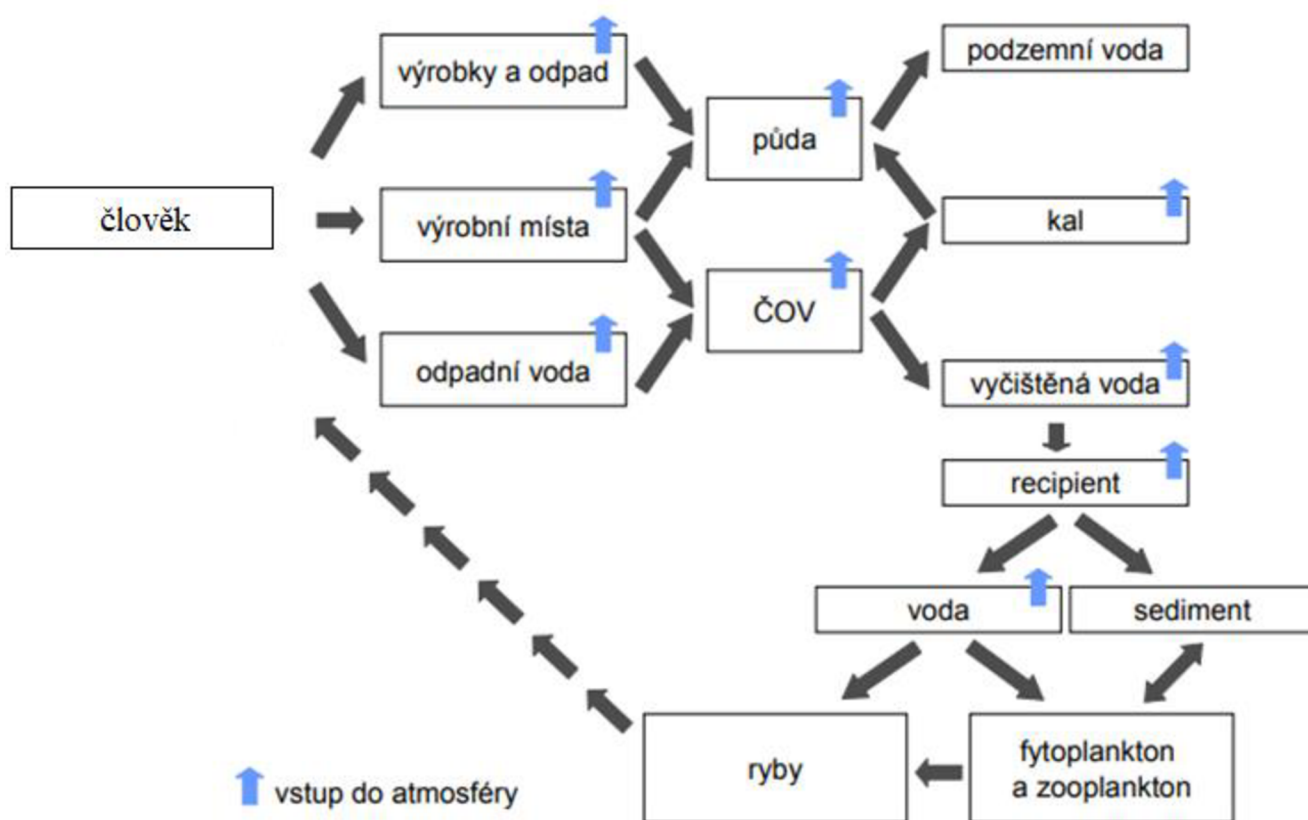
Phantolid (obrázek 5) je obchodní název pro 1-(1,1,2,3,3,6-hexamethyl-2,3-dihydro-1H-inden-5-yl)ethan-1-one (pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)



Obrázek 5: Strukturální vzorce vybraných zástupců polycyklických musk sloučenin (galaxolid: www.trc-canada.com; tonalid a phantolid: modifikováno dle pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)

3.3 Syntetické parfémové látky v životním prostředí

Vstupy syntetických parfémových látek (SPL) do životního prostředí jsou zobrazeny v obrázku 6. Pravděpodobně doposud nejprozkoumanější sférou životního prostředí, co se týče SPL, je hydrosféra. Do vodního prostředí se SPL dostávají skrze čistírny odpadních vod (ČOV), které nejsou schopné je všechny odstranit. SPL byly nalezeny ve vodě i tělech vodních živočichů. Volatilizace SPL z čistíren odpadních vod může být zdrojem atmosférického znečištění. Co se týče pedosféry, zde hrozí kontaminace z kalu z ČOV, který je pro svůj vysoký obsah organických látek využíván jako hnojivo. Přítomnost SPL byla potvrzena i v lesních půdách.



Obrázek 6: Schéma vstupu syntetických parfémových látek do životního prostředí (modifikováno dle Tylichová 2011)

3.3.1 Atmosféra

Do atmosféry Země se syntetické parfémové látky (SPL) mohou dostat díky své semivolatilitě. Zdrojem mohou být čistírný odpadních vod (např. aerosol z aerační nádrže) či vzduch v domácnostech (např. uvolnění SPL při používání produktu, jehož jsou součástí).

Zatím neexistuje mnoho studií, zabývajících se vlivem SPL na atmosféru. Jako příklad zde uvádím analýzu, která byla provedena v Německu I. Weinbergem et.al. (2011).

Vzorky byly odebrány ze dvou čistíren odpadních vod (nad aeračními nádržemi) a porovnány se vzorky z míst, na která čistírný odpadních neměly vliv. Analyzoval se obsah polyfluorovaných sloučenin, polybromovaných difenyleterů a syntetických parfémových látek. Obsah jednotlivých zástupců SPL je zobrazen v grafu na obrázku 7.

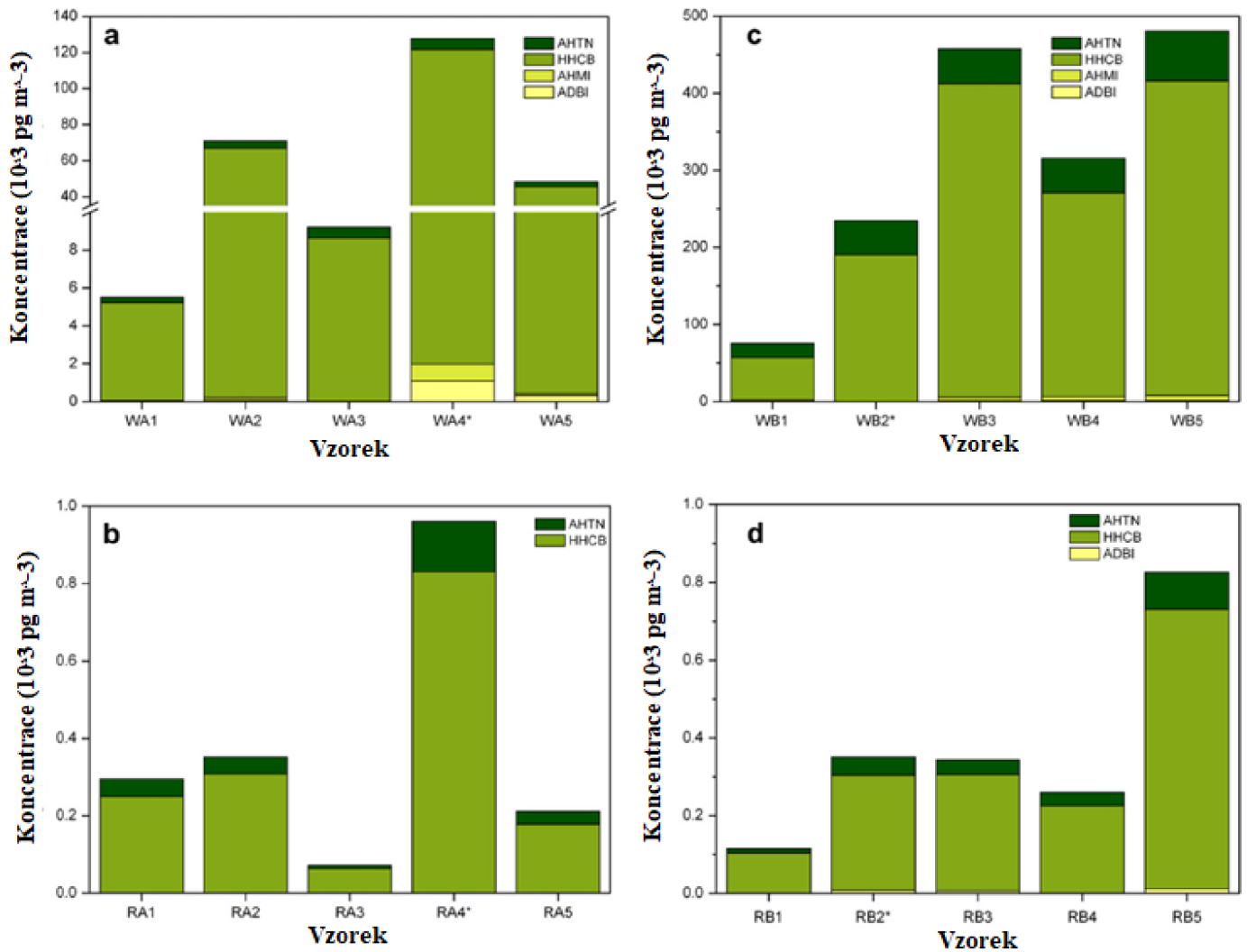
Na obrázku vidíme čtyři grafy, porovnávající koncentraci tonalidu (AHTN), galaxolidu (HHCB), celestolidu (ADBI) a phantolidu (AHMI) ve vzorcích (s plynnou fází) ze dvou čistíren odpadních vod (zde jsou označeny jako WA a WB) a dvou referenčních míst (zde jsou označeny jako RA a RB). Odběry byly provedeny ve dvou časových periodách, a to v období 4.8 až 11.8 2009 a 20.8 až 27.8 2009.

Obsah syntetických parfémových látek byl detekován ve všech vzorcích. Jejich celková koncentrace se v ČOV pohybovala mezi 5,52 a 480 ng.m⁻³, u referenčních vzorků to bylo od 73 do 826 pg.m⁻³.

Tonalid a galaxolid byli detekováni ve vzorcích z ČOV i referenčních sítí a také se zde nacházeli ve vyšších koncentracích než celestolid a phantolid. Galaxolid byl ve vzorcích zastoupen v největší koncentraci.

Celestolid a phantolid byly detekovány ve vzorcích z obou ČOV. Celestolid byl dále přítomen pouze ve vzorcích z referenční sítě RB. Celestolid nebyl v referenčních sítích detekován vůbec.

Weinberg et.al. (2011) uvádí, že celkově výsledky této studie naznačují, že volatilizace z odpadních vod je pravděpodobně důležitější vypouštěcí mechanismus ve srovnání s tvorbou aerosolů na zkoumaných ČOV.



Obrázek 7: Koncentrace galaxolidu (HHCB), tonalidu (AHTN), celstolidu (ADBI) a phantolidu (AHMI) ve vzorcích s plynnou fází z čistíren odpadních vod (WA 1-5, WB 1-5) a referenčních míst (RA 1-5, RB 1-5), symboly hvězdiček označují třídenní vzorky, modifikováno dle Weinberga et.al. (2011).

3.3.2 Hydrosféra

Po použití produktů s obsahem SPL se tyto látky dostávají do čistíren odpadních vod. Ty nejsou schopné je všechny odstranit a část těchto látek se tak dostává do vodního ekosystému. Jak už bylo řečeno, SPL jsou lipofilní a mohou tak pronikat do těl živočichů. To potom může ohrozit nejen je samotné, ale i živočichy výše postavené v potravním řetězci.

*Winkler et.al. (1998) analyzoval polycyklické a nitromusk sloučeniny včetně několika organochlorovaných pesticidů, polychlorovaných bifenylnů (PCBs) a polycyklických aromatických uhlovodíků ve vzorcích vody z řeky Labe, které byly odebírány týdně nebo dvakrát týdně. Během celé vzorkovací doby byla koncentrace HHCB a AHTN ve všech vzorcích vody významně vyšší než u ostatních organických polutantů. Tyto výsledky ukázaly, že polycyklické pižmové vůně HHCB a AHTN jsou převládající a významné kontaminanty ve vodě z řeky Labe. Ve stejné studii byly vzorky vody analyzovány bez a po centrifugaci. Koncentrace HHCB, AHTN a ADBI ve vodě po centrifugaci nebyla tak redukována, jak se předpokládalo u nepolárních a lipofilních látek. Ve všech 31 vzorcích byly nalezeny látky musk keton, galaxolid a tonalid. Koncentrace musk ketonu se pohybovala v rozmezí 4-22 ng/g. Převažujícími kontaminanty byly tonalid a galaxolid s koncentrací od 148 do 770 ng/g. Ve 23 z 31 vzorcích byl obsažen celestolid v rozmezí koncentrace 7 až 43 ng/g.

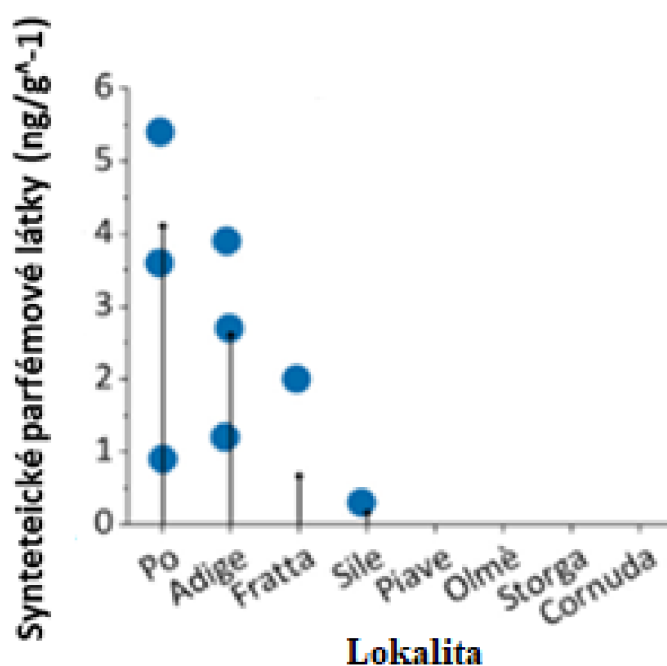
3.3.3 Pedosféra

Zdrojem kontaminace půd je např. kal z čistíren odpadních vod, kontaminovaná odpadní voda či únik těchto látek při havárii (např. v továrně při výrobě, na skládce). Kaly z odpadních vod jsou pro velký obsah organických látek využívány jako hnojivo na zemědělských půdách. Problémem je, že syntetické parfémové látky jsou lipofilní, snadno se tak naváží na organickou hmotu v kalu a při aplikaci na půdu jsou touto půdou absorbovány a mohou kontaminovat podzemní vodu. (Tylichová 2011).

Používání kalů v zemědělské půdě je v ČR v současnosti definováno vyhláškou č. 273/2021 Sb. „o *podrobnostech nakládání s odpady*“ (Ministerstvo životního prostředí 2021), neobsahuje však žádné informace o limitech pro syntetické parfémové látky.

Přítomnost SPL byla také potvrzena v lesních půdách. Článek z roku 2021 pojednává o analýze (nejen) syntetických látek v lesních půdách v italském regionu Benátsko. Graf s výsledky je na obrázku 8.

Vecchiato et.al. (2021) uvádí, že tyto vzorky poprvé odhalily přítomnost výrobků osobní péče, především 2-ethylhexyl-4-methoxycinnamátu (EHMC) a tonalidu (AHTN) v půdách chráněných lesů, dosahující koncentrace 3,4 ng/g⁻¹ (EHMC) a 5,0 ng/g⁻¹ (AHTN), spolu s výskytem organofosforu a bromovaných zpomalovačů hoření s celkovou koncentrací do 15 ng/g⁻¹.



Obrázek 8: Obsah syntetických parfémových ve vybraných lokalitách, modifikováno dle Vecchiata et.al. (2021)

Graf udává koncentraci syntetických parfémových látek v lesních půdách ve vybraných lokalitách italského regionu Benátsko. Modré tečky označují zaplavitelné oblasti. Černé čáry označují průměrné koncentrace pro každé místo odběru vzorků. Jak můžeme vidět, syntetické parfémové látky (SPL) byly detekovány pouze u zaplavitelných oblastí řek Po, Adige, Fratta a Sile. Největší koncentrace SPL se nacházela u řeky Po. Koncentrace nitromusk sloučenin se pohybovala pod $0,8 \text{ ng/g}^{-1}$. Koncentrace tonalidu (AHTN) se pohybovala v rozmezí $2,0$ až $5,0 \text{ ng/g}^{-1}$, koncentrace dalších polycyklických musk sloučenin (galaxolidu a celestolidu) se pohybovala pod hranicí detekce. Zástupce makrocyclických sloučenin byl detekován pouze v jednom vzorku v řece Po a to v koncentraci $1,1 \text{ ng/g}^{-1}$.

3.3.4 Biosféra

Člověk přichází do kontaktu se syntetickými parfémovými látkami (SPL) hlavně prostřednictvím používání různých kosmetických výrobků (např. deodoranty, sprchové gely, tělová mléka), prostředků na mytí nádobí nebo třeba pracích gelů. Přítomnost syntetických parfémovaných látek byla prokázána např. v mateřském mléce (Rimkus et.al. 1993), lidské tukové tkáni (Rimkus et.al. 1993) a lidské krvi (Hutter et.al. 2009).

Vzhledem ke svému lipofilnímu charakteru se SPL mohou do lidského těla dostat kůží. Některé vědecké studie naznačují, že význam dermální expozice může být dokonce vyšší než při inhalaci nebo orální expozici. Nicméně, hlavní nevýhodou je velká nejistota spojená s absorpcí a tím i konečným osudem pižma, které dosáhne systémového oběhu. Zatímco gastrointestinální absorpce se předpokládá kolem 50%, dermální absorpce byla odhadnuta v širokém rozmezí mezi 0,1% a 16%. Pokud vezmeme v úvahu také odpařování pižma na lidské kůži (přibližně 20 %), konečné množství vonných látek, které se dostanou do systémového oběhu skrze dermální expozici, lze očekávat jako velmi nízké (Trabalon et.al. 2015).

Dále se SPL mohou do lidského těla dostat konzumací ryb a dalších vodních živočichů. Jako příklad uvádím článek z roku 2015. Trabalon et.al. (2015) posuzovali rizika expozice vůči syntetickým parfémovým látkám (muskům, pižmům) prostřednictvím konzumace mořských plodů obyvateli španělského města Tarragona. Analyzovala se nejpoužívanější polycyklická a nitro pižma a produkty transformace v deseti široce konzumovaných druzích ryb a měkkýších. Zatímco v žádném vzorku nebyla přítomná nitropižma, ta polycyklická byla přítomná ve většině těchto vzorků. Nejvyšší koncentrace byla naměřena u galaxolidu (HHCB) a to u sardinek (367,3 ng/g, suchá hmotnost). U galaxolidu byla také odhadnuta nejvyšší hodnota expozice SPL vůči dospělým, a sice průměrně 19,7 ng/g tělesné hmotnosti na den⁻¹).

Celkově by současný příjem pižma prostřednictvím konzumace mořských plodů neměl pro obyvatelstvo Tarragony znamenat významná zdravotní rizika. Každopádně je žádoucí nepřetržité sledování, aby se zajistilo, že množství pižma v mořských plodech i v jiných potravinách nebude sledovat rostoucí trend. Dále by měla být podrobněji prozkoumána role dalších potenciálně důležitých expozičních cest, jako je dermální vstřebávání.

Co se týče zvířat, už zde byla zmíněna přítomnost syntetických parfémových látek v tělech ryb. To může působit problémy v potravním řetězci, kde se tyto látky akumulují. Vliv SPL byl také zkoumán u rostlin.

Steinberg et.al. (1999) se zabývali hepatotoxicitou a genotoxicitou tonalidu (AHTN). V této zprávě je prokázáno, že jedna vysoká dávka AHTN vede k akutnímu poškození jater u potkanů, charakterizovaného jednobuněčnou nekrózou, zánětem, otokem jaterní parenchymální buňky a přítomností cytoplazmatických kondenzací v hepatocytech, zatímco na ultrastrukturální úrovni je zřejmá dezorganizace hrubého endoplazmatického retikula a mitochondrií, stejně jako fokální cytolýza. Dále jsou předloženy důkazy, že AHTN není genotoxický, neindukuje proliferaci peroxisomů a nevede k indukci enzymů metabolizujících léčiva jako fenobarbital a 3-methylcholanthren.

Wang et al. (2015) se zase zabýval nejvyšší možnou koncentrací galaxolidu (HHCB), která ještě není toxická pro suchozemské rostliny a bezobratlé. Pro studii bylo zvoleno celkem osm druhů rostlin: pšenice setá (*T. aestivum*), kukuřice setá (*Z. mays*), pažitka česneková (*A. tuberosum*), rajče jedlé (*S. lycopersicum*), okurka setá (*C. sativus*), soja luštinatá (*G. max*), zelí pekinské (*B. pekinensis*), locika setá (*L. sativa*) a dva druhy bezobratlých: oblovka žravá (*A. fulica*) a žížala hnojní (*E. fetida*). Rostliny i živočichové byli umístěni na stejný typ půdy s obsahem HHCB a průběžně kontrolováni.

U pokusu s rostlinami bylo zjištěno, že nejcitlivějším druhem na expozici HHCB je rajče jedlé s hodnotou koncentrace 4.35 mg/kg u 21-d-EC₁₀. Naopak nejméně citlivým byl druh kukuřice setá s hodnotou koncentrace 58.73 mg/kg u 21-d-EC₁₀. Hodnota PNEC pro HHCB pro suchozemské druhy (rostliny a bezobratlé) se pohybovala v rozmezí od 0,70 do 3,52 mg/kg (při použití log-logistické metody SSD a 10 terestrických druhů). Dále bylo zjištěno, že dvouděložné druhy byly citlivější než druhy jednoděložné.

PCEC = predicted no effect concentration (předpokládaná koncentrace, při které nedochází k nepříznivým účinkům) (Wang et al. 2015)

21-d-EC₁₀ = effective concentration in 10% of the test organisms over 21 d (efektivní koncentrace v 10 % testovaných organismů přes 21 dnů) (Wang et al. 2015)

3.3.5 Syntetické parfémové látky v České republice

Syntetickými parfémovými látkami se zabývaly studie i v České republice. Vzhledem k tématu své práce bych zde chtěla zmínit studii, uskutečněnou Košnářem et. al (2021). Tato studie se zabývala výskytem polycyklických a nitromusk sloučenin v čistírenských kalech z odpadních vod.

V rámci studie bylo odebráno 55 vzorků čistírenských kalů ze 43 různých čistíren odpadních vod v České republice. Odběry vzorků se uskutečnily během let 2017 až 2019. Bylo analyzováno 6 polycyklických musk sloučenin (cashmeran, celestolid, phantolid, galaxolid, tonalid, traseolid) a 5 nitromusk sloučenin (musk keton, musk xylen, musk ambrrete, musk mosken, musk tibeten).

Bylo zjištěno, že polycyklické musk sloučeniny se ve vzorcích nacházely častěji a ve vyšším obsahu než nitromusk sloučeniny.

Co se týče jednotlivých musk sloučenin, nejdominantnějšími sloučeninami byl galaxolid a tonalid, které představovaly přibližně 78,2 % a 20,4 % průměrného celkového obsahu syntetických parfémových látek (5518 $\mu\text{g}/\text{kg}$ suché hmotnosti). Obsah galaxolidu se pohyboval v rozmezí 718,3 a 8399 $\mu\text{g}/\text{kg}$ suché hmotnosti, obsah tonalidu 245,7 a 1980 $\mu\text{g}/\text{kg}$ suché hmotnosti.

Nitromusk sloučeniny byly ve vzorcích nalezeny v menším množství, průměrně 26,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Nejvíce byl zastoupen musk keton (v 85 % z 55 vzorků), nejméně musk mosken (v 7 % z 55 vzorků).

Tato studie byla také zaměřena na to, jak velikost čistíren odpadních vod (ČOV) a technologie použité ke stabilizaci kalu ovlivňují obsah syntetických parfémových látek. Konstrukční kapacita ČOV byla dle koeficientu ekvivalentní obyvatel rozdělena na malé, střední a velké. Technologie zpracování kalu byla rozdělena na aerobní a anaerobní digesce, přičemž anaerobní digesce byla dále rozdělena na mezofilní a termofilní (tedy dle teploty).

Současná studie naznačuje, že akumulace hlavních musk sloučenin v čistírenských kalech není současnými technologiemi ČOV ovlivněna. Před jejich použitím v zemědělství by měly být zapojeny inovativní procesy zpracování kalů z čistíren odpadních vod (Košnář et. al. 2021).

3.4 Možnosti odstranění syntetických parfémových látek ze životního prostředí

3.4.1 Fotodegradace pomocí UV záření

Tuto metodu zkoušeli použít Neamtu et. al. (2000) pro odstranění nitromusk sloučenin z vody. Studie byla zaměřena na pět nitromusk sloučenin: musk xylen, musk keton, musk mosken, musk ambrette a musk tibeten. Fotodegradační proces byl proveden v míchací nádržece ve fotoreaktoru při 298 K. Zdrojem UV záření byla nízkotlaká rtuťová výbojka. Během experimentu byly ke vzorkům nitromusk sloučenin přidány dvě různé dávky peroxidu vodíku.

Jak se očekávalo, přítomnost peroxidu vodíku urychlila fotodegradaci musk ketonu. Konverze 95% byla dosažena za dobu ozáření 120 minut bez přítomnosti H_2O_2 . Stejného převodu lze dosáhnout za pouhých 30 minut, s dávkou $1,6 \mu\text{mol/l}^{-1} \text{H}_2\text{O}_2$. Tato data ukazují, že počínaje hodnotou $1,2 \mu\text{mol/l}^{-1}$ jakékoli zvýšení koncentračních dávek H_2O_2 dále nezvyšuje degradaci musk ketonu. Mohlo to být kvůli tomu, že hydroxylové radikály generované při fotolýze vodného H_2O_2 produkují hydroperoxylové radikály (HO_2) za přítomnosti lokálního přebytku H_2O_2 . Hydroperoxylové radikály jsou mnohem méně reaktivní a nepřispívají k oxidačnímu rozkladu organického substrátu.

V další části experimentu tedy byla dávka peroxidu vodíku upravena na hodnotu $1746 \mu\text{mol/l}^{-1}$. Porovnáním přeměny různých nitromusk sloučenin, v daném čase a konstantní dávce peroxidu vodíku, šlo vyhodnotit relativní reaktivitu pěti substrátů. Reaktivita se zvyšovala v tomto pořadí: musk tibeten < musk mosken < musk keton < musk xylen < musk ambrette. Toto pořadí v podstatě udává míru rozpustnosti těchto sloučenin ve vodě.

V tabulce 1 jsou zobrazeny výsledky z této studie, udávající, jak se měnila koncentrace vybraných nitromusk sloučenin v čase a při různých dávkách peroxidu vodíku.

Tabulka 1: Koncentrace různých nitromusk sloučenin v čase, při 298 K a dvou dávkách H_2O_2 , modifikováno dle Neamtu et.al. 2000

Čas (min)	Koncentrace látky ($\mu\text{mol/l}^{-1}$)				
	H_2O_2	Musk mosken	Musk xylen	Musk ambrette	Musk tibeten
0	0	0,0705	0,278	2,627	0,0648
10	0	0,029	0,125	1,07	0,056
	1,1746	0,0594	0,0479	0,1328	0,0415
30	0	0,0187	0,0973	0,0584	0,0432
	1,1746	0,0089	0,02	0,0272	0,0306
60	0	0,0167	0,0538	0,168	0,036
	1,1746	0,0067	0,0035	0,0115	0,0197
90	0	0,0156	0,0427	0,1198	0,0306
	1,1746	0,0056	/	0,0073	0,0183
120	0	0,0144	0,0317	0,0717	0,0252
	1,1746	0,0045	/	0,0031	0,0169

3.4.2 Použití lignolitických hub

Rodarte-Morales et.al. (2011) použili druhy *Phanerochaete chrysosporium* a *Bjerkandera adusta* k degradaci léčiv a produktů osobní péče (PPCPs, pharmaceutical and personal care products). Z léčiv byli vybráni zástupci antidepresiv (citalopram, fluoxetin), antibiotik (sulfamethoxazol), protizánětlivých léků (diklofenak, ibuprofen atd.), antiepileptik (karbamazepin) a léků na uklidnění (diazepam), jako zástupci syntetických parfémových látek byli vybráni galaxolid, tonalid a celestolid. Bylo zjištěno, že došlo ke kompletní degradaci všech PPCPs, s výjimkou fluoxetinu a diazepamu, jejichž hodnota odstranění se pohybovala mezi 23 a 57 %. Galaxolid, tonalid ani celestolid nebyli po 14 dnech experimentu detekováni, což mohlo být způsobené jejich volatilizací (vytěkáním).

Stella et.al. (2017) použili druhy *Pleurotus ostreatus* a *Irpex lacteus* k degradaci polychlorovaných bifenylyů (PCB) v kontaminovaných půdách s různými chemickými vlastnostmi a autochtonní mikroflórou. Kromě účinnosti při odstraňování PCB byla pozornost věnována i dalším důležitým parametrům, jako jsou změny toxicity a tvorba produktů přeměny PCB. Kromě toho byly sledovány strukturální změny a dynamika bakteriálních i houbových společenstev pomocí sekvenování nové generace a analýzy fosfolipidových mastných kyselin. Nejlepších výsledků bylo dosaženo s použitím *P. ostreatus*, které po 12 týdnech experimentu vedlo k odstranění 18,5 % PCB z objemové části, 41,3 % PCB z povrchové části a 50,5 % PCB z rhizosférické části skládkové půdy. Byly zjištěny četné produkty přeměny (hydroxylované a metoxylované PCB, chlorbenzoáty a chlorbenzylalkoholy), což svědčí o tom, že obě houby byly schopny oxidovat a rozkládat aromatickou část PCB v půdě. Analýza mikrobiálního společenstva odhalila, že *P. ostreatus* účinně kolonizoval půdní vzorky a potlačoval ostatní rody hub. Stejná houba však podstatně stimulovala bakteriální taxony, které zahrnují předpokládané rozkladače PCB. Výsledky této studie prokázaly proveditelnost použití této houby pro bioremediaci.

Hidalgo et.al. (2023) porovnávali účinnost fytořemediace a mykoremediace při odstraňování olova a lindanu z půdy. Pro fytořemediaci byla použita kostřava červená a směs druhů čeledi brukvovitých (brukev řepka, brukev sítinovitá), pro mykoremediaci byly použity druhy *Pleurotus ostreatus* a *Agaricus bisporus*. Experiment byl rozdělen na několik variant: kontrolní varianta (bez použití hub a rostlin), fytořemediace s použitím kostřavy červené, fytořemediace s použitím směsi brukvovitých, mykoremediace s *Agaricus bisporus* (se substrátem naočkovaným pšeničným potěrem; se substrátem již použitým, tj. odpadním) a mykoremediace s *Pleurotus osetratus* (se substrátem naočkovaným; se substrátem již použitým pro produkci hub, tj. odpadním). Tyto varianty byly poté rozděleny na dvě skupiny dle dávky olova přidaného do půdy (350 nebo 1930 mg/kg). Mykoremediace vykázala nejvýznamnější snížení koncentrace lindanu v porovnání s fytořemediací a variantou bez přidání hub a rostlin. Nejefektivnější bylo použití *Pleurotus ostreatus* (varianty s inokulovaným substrátem), v tomto případě došlo ke snížení koncentrace lindanu o 88,9 % (v půdě s obsahem olova 1930 mg/kg) a 54,4 % (v půdě s obsahem olova 350 mg/kg) a také došlo ke zvýšení koncentrace extrahovatelného olova. Při porovnání fytořemediace a kontrolní varianty nebyl ve snížení koncentrace lindanu významný rozdíl. U půdy s obsahem olova 350 mg/g došlo k významné redukci koncentrace extrahovatelného olova při obou použitých fytořemediacích.

3.4.3 Fytoremediace

Jedná se o druh bioremediace, při které využíváme k odstranění kontaminantů z životního prostředí rostliny a s nimi spolupracující mikroorganismy (Soudek et.al. 2008). Schéma fytoremediace je zobrazeno na obrázku 9.

Tuto bioremediační technologii můžeme dle typu kontaminantu a jeho zpracování rostlinami rozdělit na (Soudek et.al. 2008):

Fytodekontaminační technologie:

- fytoextrakce (fytoakumulace)
- fytodegradace
- fytovolatilizace
- rhizofiltrace

Fytostabilizační technologie:

- redoxní přeměna kontaminantu
- zabudování kontaminantu do rostlinných struktur
- převedení kontaminantu na nerozpustnou formu

3.4.2.1 Fytodekontaminační technologie

Fytoextrakce (fytoakumulace)

Jedná se o proces, kdy jsou rostliny využívány k absorpci kontaminantů a jejich následné akumulaci v rostlinném těle. Metoda je vhodná např. pro sanaci těžkých kovů, polokovů nebo radionuklidů (Hatasová 2016).

Litz et.al. (2007) se zabývali použitím salátu (*Lactuca sativa*) a mrkve (*Daucus carota*) pro fytoremediaci syntetických parfémových látek z kalu a třech různých typů půdy (kambizol, luvizol, podzol). Experiment trval 37 týdnů (259 dní).

Na konci experimentu bylo zjištěno, že degradace galaxolidu a tonalidu byla pomalá. Po 37 týdnech zůstalo v půdách 50 % galaxolidu. Perzistence tonalidu v půdě byla vyšší než u galaxolidu, po 37 týdnech bylo detekováno 75 % této látky. Pomocí salátu byla koncentrace galaxolidu snížena z hodnoty 290 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (po 6 týdnech) na 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (po 12 týdnech), tedy o 65 %, koncentrace tonalidu byla snížena 820 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (po 6 týdnech) na 440 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (po 12 týdnech), tedy o 46 %. Při použití mrkve byla koncentrace galaxolidu více než 20 mg/kg (po 14 týdnech), během dalších čtyř týdnů to bylo 14 mg/kg , hodnota se tedy snížila o 30 %. Koncentrace tonalidu byla 18 mg/kg (po 14 týdnech), během dalších čtyř týdnů byla hodnota snížena na 12 mg/kg , hodnota se tedy snížila o 33 %. Dále bylo zjištěno, že listy salátu, pěstovaného na půdě obohacené o 30 mg/kg každého pižma, dokázaly naakumulovat 78 až 110 $\mu\text{g}/\text{kg}$ galaxolidu a 209 až 275 $\mu\text{g}/\text{kg}$ tonalidu.

Ramos et.al. (2021) se zabývala příjmem syntetických parfémových látek z půdy rajčaty (*Solanum lycopersicum* L). Experiment trval 6 měsíců (180 dní). Vzorčky půdy byly odebrány na začátku a na konci experimentu, rajčata byla sklizena na konci experimentu.

Během experimentu došlo ke snížení koncentrace syntetických parfémových látek v půdě. Obsah galaxolidu byl snížen z 341 na 56 ng/g (tedy o 84 %), obsah tonalidu byl snížen z 88 na 21 ng/g (tedy o 76 %). Obsah galaxolidu v rajčatech byl 68 ng/g, obsah tonalidu v rajčatech byl 4 ng/g.

Fernandes et.al. (2022) zkoumali příjem syntetických parfémových látek hrachem (*Pisum sativum*). Experiment trval 86 dní.

Galaxolid i tonalid byly detekovány v kořenech, v nadzemních částech rostliny byl detekován pouze galaxolid. Průměrná nejvyšší koncentrace galaxolidu v kořenech byla 346 ng/g, u tonalidu to pak bylo cca 270 ng/g. Průměrná nejvyšší koncentrace galaxolidu v nadzemních částech rostliny byla lehce nad 6,90 ng/g.

Půda v květináčích bez rostliny obsahovala 21–63 % původně aplikovaného množství galaxolidu a 35–96 % tonalidu, zatímco v květináčích osazených rostlinou zůstalo v půdě 6–23 % původně aplikovaného množství galaxolidu a 37–64 % tonalidu, došlo tedy k rozptýlení těchto látek. Výnos biomasy se pohyboval v jednotkách gramů.

Fytodegradace

V tomto případě dochází k degradaci organických látek. Některé druhy rostlin mohou degradovat organické látky až na základní prvky a ty potom využít ve svůj prospěch (např. pro svůj růst) (Soudek et.al. 2009). V případě organických látek se enzymy v kořenech rostlin účastní degradace organických kontaminantů. Fragmenty jsou pak zabudovány v nové rostlinné biomase. Fytodegradace využívá některé ze stejných enzymů, které se podílejí na akumulaci v tkáních. Enzymy schopné modifikovat organické látky tím, že vytvářejí postranní skupiny na organických sloučeninách a tím zvyšují rozpustnost a umožňují konjugaci, hrají ve výchozích krocích fytodegradace významnou roli. Mezi tyto skupiny enzymů účastnicích se fytodegradace patří dehalogenasy, mono- a dio-xygenasy, peroxidasy, peroxygenasy, karboxylesterasy, laccasy, nitrilasy, fosfatasy a nitroreduktasy (Soudek et.al., 2008).

Nebeská et.al. (2015) zkoumala, jakou roli hraje rostlina ozdobnice obrovská (*Miscanthus giganteus*) ve fytodegradaci a změnách bakteriálních společenství půdy kontaminované ropným průmyslem. Ozdobnice obrovská byl úspěšně pěstována v půdě kontaminované ropným průmyslem s koncentracemi C10-C40 v rozmezí 1,4–3,6 mg/kg a za zvýšené slanosti. Parametry biomasy (hmotnost biomasy, délka výhonku, počet stonků a poměr kmene/list) byly výrazně sníženy se zvyšujícím se podílem kontaminované půdy. Dominantními kmeny byly Proteobakterie a Aktinobakterie. Četnost aktinobakterií se snížila s pěstováním ozdobnice ve prospěch méně hojných kmenů Verrucomicrobia, Bacterioides a Acidobacteria. Každopádně, většina rodů aktinobakterií a proteobakterií, které byly identifikovány jako potenciální rozkladatelé ropy, byly hojnější v kontaminované půdě s ozdobnicí (*Pseudomonas*, *Shinella*, *Altererythrobacter*, *Azospirillum*, *Mesorhizobium* a *Dyella*). Lze tedy konstatovat, že *Miscanthus giganteus* se zdá být slibnou plodinou pro sanaci půd kontaminovaných ropou, ale nejprve je třeba vyjasnit a vyřešit otázku fytotoxicity.

Fytovolatilizace

Tato metoda je založená na schopnosti některých rostlin přeměnit kontaminant do těkavé formy, která může být více i méně toxická. V rámci transpirace je pak těkavá forma látky uvolněna do atmosféry. Takto lze odstranit např. As, Se nebo Hg. Zatím neexistuje mnoho informací o tom, jak rostliny přeměňují kontaminanty na jejich těkavou formu, ale zřejmě zde hrají roli houby a bakterie asociované s kořeny rostlin. Výhody této metody spočívají v tom, že rostlinný materiál nemusíme sklízet a není potřeba rostlin s velkou biomasou, také dochází k minimálnímu narušení ekosystému kontaminované plochy. Na druhou stranu, použití této metody je kontroverzní, protože nedochází k odstranění kontaminantu, ale pouze k jeho přesunu z půdy do atmosféry (Lábusová 2010).

Rhizofiltrace

Rhizofiltrace se aplikuje při odstraňování kontaminantů z povrchových, splaškových nebo vyčerpaných podzemních vod použitím kořenového systému rostlin. Dochází k precipitaci kontaminantu na kořenovém systému nebo k absorpci přímo v kořenech. Na rozdíl od fytoextrakce jsou při rhizofiltraci cílovou částí rostliny kořeny. Metodě je cenově výhodná pro případy znečištění velkých objemů vody malými koncentracemi polutantů. S úspěchem se používá např. v Černobyli, kde se díky slunečnicím odstraňují izotopy Cs a Sr z povrchových vod (Soudek et.al. 2008).

Yang et.al. (2015) zkoumali potenciál fazolu (*Phaseolus vulgaris* L. var. *Vulgaris*) pro rhizofiltraci uranu. Tato studie potvrdila, že fazole obecná (L. var. *vulgaris*) má dobrou schopnost rhizofiltrace uranu a cesia z kontaminované podzemní vody. Pro akumulaci s uměle kontaminovanými roztoky uranu (nebo cesia) byl prokázán lineární akumulací vztah s rostoucími koncentracemi uranu (nebo cesia). Mírně kyselé pH (pH 3-5) vedlo k významnému zvýšení bioakumulace uranu v kořenech v důsledku změn ve speciaci uranu v roztoku. Pro rhizofiltraci pomocí skutečné podzemní vody, účinnost odstraňování U se zvýšila z 83% na 99% během 72 hodin s úpravou pH z 6,8 na 5,0. Výsledky analýz SEM a EDS umožnily spekulovat, že uran v roztoku o pH 7-8 by byl silně adsorbován na povrchu kořene, zatímco hlavním mechanismem odstraňování cesia by byl spíše příjem vnitřními kořeny než adsorpce na povrchu kořene.

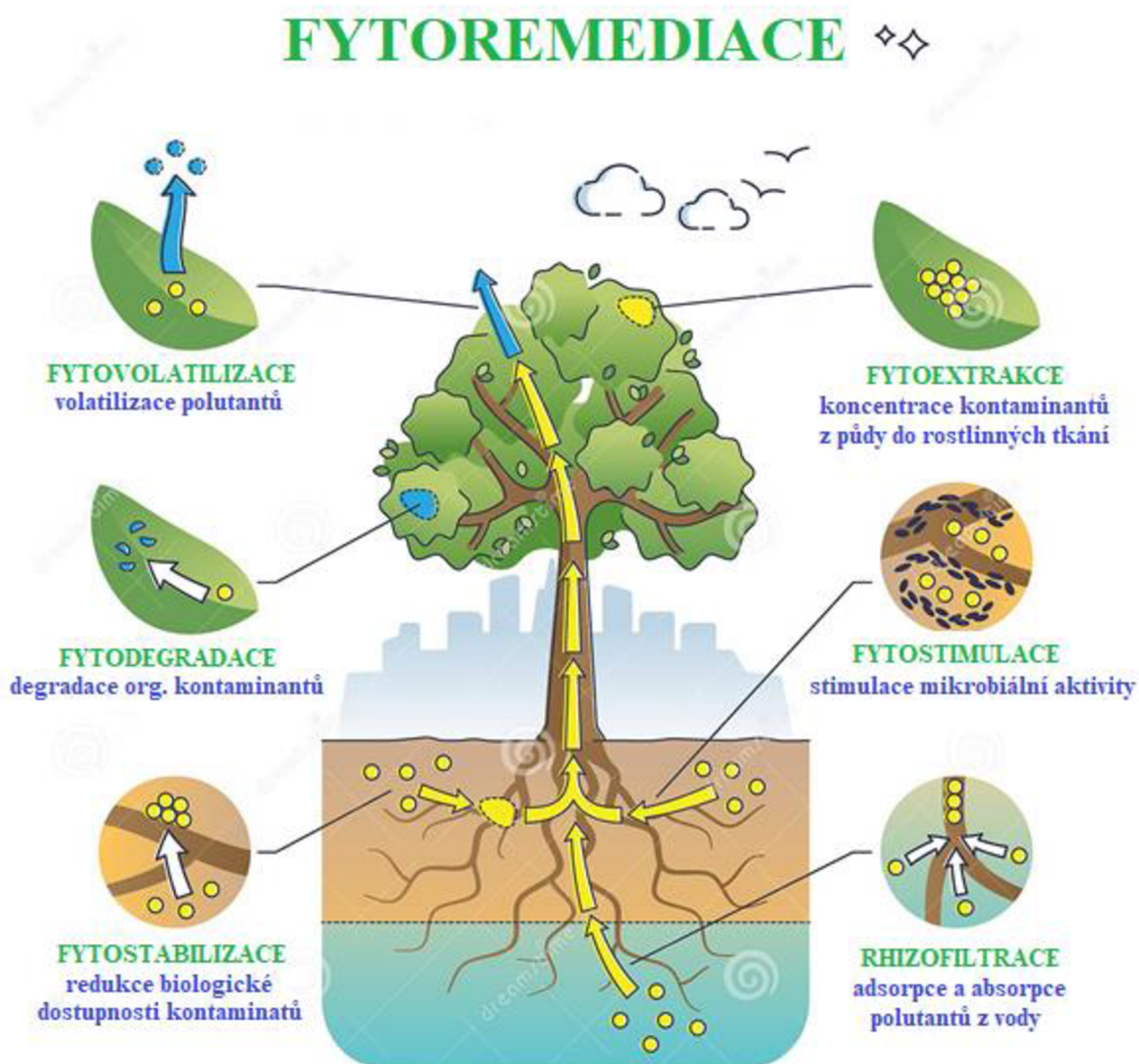
3.4.2.2 Fytostabilizační technologie

Fytostabilizace využívá rostliny k imobilizaci vodních a půdních kontaminantů. Závisí na chemických, biologických a fyzikálních vlastnostech půdy. Kořenový systém díky adsorpci, absorpci, komplexaci a precipitaci snižuje možnost vymývání kontaminantu z půdy, sedimentů a kalů. Při fytostabilizaci se dále uplatňuje vliv produkce huminových látek, které váží kontaminant v půdě. Svým vzrůstem také zabraňují vodní a větrné erozi, čímž zabraňují rozptýlu kontaminace na povrchu. Fytostabilizace lze užít tam, kde je potřeba obnovit vegetační pokrývku, ale kvůli vysoké kontaminaci nelze na zasaženém území aplikovat běžnou vegetaci. Užívá se pro finální úpravu ploch, kde byly k odstranění znečištění použity jiné sanační technologie (Soudek et.al., 2008). Fytostabilizační technologie se dále dělí na (Bárta 2015):

- redoxní přeměna kontaminantu (např. redukce šestimocného chromu na třímocný, který je méně toxický)
- převedení kontaminantu na nerozpustnou formu (např. navázání olova na fosforečnan)
- zabudování kontaminantu do rostlinných struktur

Rostlina může být při rozkladu polutantů podpořena (**fytoestimulace**) a to několika způsoby. Lze ji např. inokulovat definovanou kulturou mykorrhizních hub nebo bakteriemi podporujícími růst rostlin, tzv. plant growth-promoting bacteria (PGPB). Výzkum v této oblasti však zatím nedává jednoznačné výsledky. Některé studie ukazují, že po inokulaci mykorrhizními houbami došlo k vyššímu příjmu těžkých kovů, jiné studie však žádný efekt neprokázaly. Tyto rozporuplné výsledky ukazují na fakt, že se vliv mykorrhizních hub bude lišit v závislosti na použitém druhu rostliny, ale i použité mykorrhizní houbě. Podobné rozporuplné výsledky ukazuje i použití PGPB. Bude tedy třeba provést další studie a vybrat takové kombinace mykorrhizních hub a PGPB, které budou pomáhat rostlině efektivně růst a zároveň sorbovat kontaminanty (Bárta 2015).

Obrázek 9: Schéma průběhu fytoremediace (modifikováno dle fr.dreamstime.com)



Tabulka 2: Příklady rostlin vhodných pro různé fytořediční technologie (Soudek et.al 2008)

Technologie	Médium	Kontaminanty	Typické rostliny
Fytotransformace	půda, podzemní voda, výluhy ze skládek	chlorované alifatické uhlovodíky (např. TCE), aromatické uhlovodíky (např. BTEX), explosiva (např. TNT)	freatofytické stromy (např. vrba, topol), trávy (např. žito, kostřava), čeleď Fabaceae (např. jetel, vojtěška)
Rhizosferní bioremediace	půda, aplikace na půdu, omezené skládky	biodegradovatelné organické látky (např. TPH, PAHs, PCBs)	freatofytické stromy, travniny s vláknitými kořeny (např. troskut prstnatý, kostřava), uvolňovače fenolických látek (např. moruše, jabloň)
Fytostabilizace	půda	kovy (např. Pb, U, Cd, Zn, As, Cu, Cr, Se); hydrofobní organické látky, které nejsou degradovatelné	freatofytické stromy pro hydraulickou kontrolu, trávy s vláknitými kořeny pro kontrolu eroze
Fytoextrakce	půda, sedimenty, brownfields	kovy (např. Ni, Zn, Cd, Pb, Cu)	hořčice sareptská, slunečnice, penízek modravý
Rhizofiltrace	podzemní voda, odpadní voda přes umělé mokřady	kovy (např. Ni, Zn, Cd), radionuklidy, hydrofobní organické sloučeniny	vodní a mokřadní rostliny (orobinec, stolístek vodní)
Fytovolatilizace	půdy, sedimenty	Se, As, Hg, těkavé organické sloučeniny (např. MTBE)	freatofytické stromy pro zachycení podzemních vod, mokřadní rostliny, hořčice sareptská

Vysvětlení zkratk v Tabulce 2:

TCE = trichloroethylen, BTEX = benzen, toluen, ethylbenzen a celkový xylen, TNT = 2,4,6-trinitrotoluen, TPH = celkové ropné uhlovodíky, PAHs = polycyklické aromatické uhlovodíky
PCBs = polychlorované bifenoly, MTBE = metyl terc-butyl eter

3.4.2.3 Výhody fytořemediace (Soudek et.al. 2008)

- in situ metoda - odpadá odvoz kontaminované zeminy z lokality
- nevyžaduje mnoho lidských pracovníků (kromě setí a dalších zemědělských úkonů)
- využití solární energie (potřebná pro fotosyntézu, která je zdrojem energie pro rostlinu)
- transfer kontaminantů je u této metody rychlejší (v porovnání s přírodní atenuací)
- přijatelná pro veřejnost (zelená krajina je hezčí než měsíční krajina)
- snížení eroze
- rostliny lze po ukončení procesu dále využít (např. zdroj energie, získání kovů)
- rostliny jsou vůči kontaminantům více rezistentní než člověk a zvířata

3.4.2.4 Nevýhody fytořemediace (Soudek et.al. 2008)

- poškození rostliny při vysoké koncentraci kontaminantu
- část kontaminantů zůstává v kořenové části (náročné na sklizeň)
- malá velikost rostlin, které jsou schopné řemediace (hyperakumulátory sice dokáží naakumulovat vysoké množství kontaminantů, ale vysoká koncentrace kontaminantů redukuje růst rostliny a tak je u těchto rostlin produkce biomasy nízká)
- nebezpečné pro potravní řetězec (rostlinu může spást zvíře)
- dlouhodobý proces (může trvat i několik desetiletí)
- ne všechny kontaminanty jsou biologicky odbouratelné
- chybí vhodné rostliny
- kontaminace nemusí být v dosahu kořenové zony

4. Experimentální část

4.1 Cíl experimentální části

Syntetické parfémové látky (musky) patří zpravidla mezi středně těkavé cyklické chemické lipofilní stabilní sloučeniny, které se využívají při výrobě parfémů, tělových krémů a dalších látek osobní potřeby. Parfémové látky proto nacházíme v odpadních vodách a po jejich vyčištění v kalech. S ohledem na jejich možná rizika je třeba hledat cesty vedoucí k jejich odstranění z kalů a z jednotlivých složek životního prostředí. Cílem experimentální části je zjistit, jak parfémové látky přítomné v kalech z čistíren odpadních vod ovlivňují růst rostlin, popřípadě, zda jsou tyto látky v kalech akumulovány.

4.2 Sledované látky

V rámci experimentu bylo sledováno šest zástupců ze skupiny polycyklických musk sloučenin (galaxolid, tonalid, celestolid, phantolid, traseolid, cashmeran) a pět zástupců nitromusk sloučenin (musk keton, musk xylen, musk tibeten, musk ambrette, musk mosken). Z těchto jedenácti zástupců však byli detekováni pouze galaxolid a tonalid, a proto zde uvádím pouze výsledky týkající se těchto dvou látek.

4.3 Informace o lokalitě experimentu

Experiment byl proveden na České zemědělské univerzitě, na Fakultě agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, v Praze 6 – Suchbátka. Toto místo leží v nadmořské výšce 286 m.n.m.. Průměrná roční teplota je 9,1 °C, průměrná denní teplota během experimentu byla 19,1 °C. Průměrné roční srážky jsou 495 mm.

4.4 Pracovní postup

4.4.1 Příprava půdy a kalu

Charakteristiku půdy je uvedena v tabulce 1. Byla vysušena vzduchem, proseta, homogenizována a zbavena hrubých částí (kořeny, kamínky).

Tabulka 1: Charakteristika půdy

Lokalita odběru	Humpolec, Česká republika
Souřadnice lokality odběru	49°55'39"N, 15°34'89"E
Typ půdy	haplická kambisol
Struktura půdy	písčitohlinitá
Obsah jílu (<0,002 mm)	5,84%
Obsah písku (0,05-2 mm)	50,61%
Obsah sedimentu (0,002-0,005 mm)	43,55%
pH (CaCl ₂)	5,4
Kapacita výměny iontů	58,9 mol(+)/kg
Elektrická vodivost	329 μS/cm
Celkový obsah uhlíku	1,93%
Celkový obsah vodíku	0,70%
Celkový obsah dusíku	0,19%
Σsyntetické parfémové látky	nedetekováno

Charakteristika kalu je uvedena v tabulce 2. Anaerobně stabilizovaný kal byl získán z čistírny odpadních vod sloužící pro cca 200 000 obyvatel a se 38% zátížením odpadní vodou. Hydraulická retenční doba odpadních vod v ČOV byla 35 dní. Účinnost odstraňování biochemické spotřeby kyslíku bylo 96,8 %, účinnost odstraňování biologické spotřeby kyslíku pak byla 95,4 %.

Reprezentativní vzorek kalu (10 kg čerstvé hmotnosti) se skládal ze čtyř náhodně odebraných dílčích vzorků anaerobně zpracovaného kalu. Důkladně promíchaný kal byl poté při teplotě 4°C dopraven do laboratoře k další homogenizaci. Před analýzou byl homogenizovaný kal lyofilizován a uchováván v chladničce v lahvích z jantarového skla. Zbývající kal použitý pro úpravu půdy byl ponechán při teplotě 4 °C.

Tabulka 2: Charakteristika kalu

Celk. org. hmota	56,10%
Obsah popela	43,90%
H/C	1,98
O/C	0,53
C/N	7,7
(O+C)/N	0,66
Σsyntetické parfémové látky	5256 μg/kg
Obsah sušiny	23,29%
pH (CaCl ₂)	6,44
Obsah uhlíku	27,21%
Obsah dusíku	4,12%
Obsah vodíku	4,51%
Obsah síry	1,17%
Obsah kyslíku	19,09%

4.4.2 Příprava ligninolytických hub

Pro experiment byly použity dva druhy ligninolytických hub, hlíva ústříčná [*Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm., kmen HK35 (*P. ostreatus*)] a *Phanerochaete chrysosporium* (Burds.) (*P. chrysosporium*). Houby byly získány z Katedry zahradnictví na ČZU a ze sbírky bazidiomycet Mikrobiologického ústavu Akademie věd České republiky. Jako ligninocelulózový substrát byly použity pelety z pšeničné slámy.

Inokulum každé houby bylo připraveno podle metodiky popsané Košnářem et al. (2019). Stručně řečeno, každá houba byla kultivována ve sladovém extraktu a glukózovém agaru, aby se získala mycelia příslušných hub. Výsledné mycelium bylo aplikováno jako houbový potěr na pšeničné zrno. Tento substrát, umístěný ve skleněné láhvi o objemu 1 l obsahující sádro, byl autoklávován, inokulován kousky agaru obsahujícími mycelia a kultivován při pokojové teplotě po dobu dvou týdnů. Sterilizované pelety z pšeničné slámy byly umístěny v plastové nádobě o objemu 2,5 l a vlhkosti 60 % a naočkovány předem vyrobeným substrátem s každou kulturou.

Mykoremediační substráty s houbami byly kultivovány po dobu 4 týdnů, dokud nebyla celá vrstva slaměných pelet zarostlá houbovým myceliem. Substrát pěstovaný z hub pro bioremediační experiment měl obsah sušiny 33,7 % a obsah celkové organické hmoty 96,9 %. Obsah vybraných prvků byl následující: C (457,1 g/kg), S (1,0 g/kg), H (69,5 g/kg), N (3,4 g/kg).

4.4.3 Průběh experimentu

Nejříve bylo potřeba připravit si kbelíky. Pro každý vzorek byly potřeba dva kbelíky, žlutý a bílý (barva je uvedena pouze pro přehlednost). Objem kbelíků byl 6 l, horní průměr byl 21 cm, průměr dna byl 18 cm.

Na dno bílého kbelíku bylo umístěno plastové kolečko o výšce asi 10 cm. Na plastové kolečko byl položen žlutý kbelík, který měl ve svém dně provrtány tři otvory (ty zajistili odtok případné průsakové vody, která byla poté nalita zpět do půdy ve žlutém kbelíku). Plastové kolečko zajistilo, že dna kbelíků nebyla v kontaktu.

Do žlutých kbelíků pak byla vložena směs půdy a kalu, případně byla přidána lygninolitická houba (*Pleurotus ostreatus*, *Phanerochaete chrysosporium*) a zasazena kukuřice setá (*Zea mays*). Obsah žlutého kbelíku (složení vzorku) se odvíjel od toho, jaký remediační postup měl být použit a sledován (přirozená atenuace, mykoremediace, fytoemediace, kombinace fytoemediace a mykoremediace), celkově vzniklo 6 variant remediací. Každý vzorek byl vytvořen ve 4 replikacích. Žluté kbelíky byly plněny podle schématu uvedeného v tabulce 3. Kbelíky byly umístěny ve venkovním přístřešku.

Do každého kbelíku určeného pro zasazení bylo zasazeno 8 semen kukuřice (*Zea mays*) a 2 týdny po jejich vyklíčení byly vybrány čtyři sazenice podobné velikosti. Ty byly ponechány v kbelíku po zbytek experimentu. Půda osázených a neosázených kbelíků byla zavlažována destilovanou vodou, aby se během experimentu maximální vodní kapacita udržela na 60 %.

Vzorky půdy sestávající ze tří důkladně promíchaných dílčích vzorků z jednoho kbelíku byly odebrány na začátku (den 0) a na konci experimentu (den 120) z celého půdního profilu. Vzorky půdy pro analýzu syntetických parfémových látek byly před analýzou lyofilizovány,

rozemlety a skladovány v mrazáku. Rostliny byly sklizeny po 120 dnech experimentu a došlo k oddělení jejich výhonků a kořenů. Kořeny byly pečlivě odděleny od půdy a opláchnuty destilovanou vodou. Kořeny a výhonky byly nakrájeny na menší kousky, lyofilizovány, namlety a skladovány při teplotě 4°C.

Tabulka 3: Schéma experimentu

Varianta A označuje přirozenou atenuaci (kontrolní vzorky), varianta B je mykoremediace s použitím ligninolytické houby *Pleurotus ostreatus*, varianta C je mykoremediace s použitím ligninolytické houby *Phanerochaete chrysosporium*, varianta D je fytořemediace s použitím kukuřice (*Zea mays*), varianta E je kombinace fytořemediace a mykoremediace s použitím ligninolytické houby *Pleurotus ostreatus* a varianta F je kombinace fytořemediace a mykoremediace s použitím ligninolytické houby *Phanerochaete chrysosporium*.

Zkratka sh znamená hmotnost po vysušení, zkratka čh znamená čerstvá hmotnost.

Varianta	Směs	Č. vzorku	Osazeno
A	půda (4,0 kg sh) + kal (1 kg čh)	1	NE
	půda (4,0 kg sh) + kal (1 kg čh)	2	NE
	půda (4,0 kg sh) + kal (1 kg čh)	3	NE
	půda (4,0 kg sh) + kal (1 kg čh)	4	NE
B	půda (4,0 kg sh) + kal (1 kg čh) + <i>Pleurotus ostreatus</i> (0,2 kg čh)	5	NE
	půda (4,0 kg sh) + kal (1 kg čh) + <i>Pleurotus ostreatus</i> (0,2 kg čh)	6	NE
	půda (4,0 kg sh) + kal (1 kg čh) + <i>Pleurotus ostreatus</i> (0,2 kg čh)	7	NE
	půda (4,0 kg sh) + kal (1 kg čh) + <i>Pleurotus ostreatus</i> (0,2 kg čh)	8	NE
C	půda (4,0 kg sv) + kal (1 kg čv) + <i>Phanerochaete chrysosporium</i> (0,2 kg čv)	9	NE
	půda (4,0 kg sv) + kal (1 kg čv) + <i>Phanerochaete chrysosporium</i> (0,2 kg čv)	10	NE
	půda (4,0 kg sv) + kal (1 kg čv) + <i>Phanerochaete chrysosporium</i> (0,2 kg čv)	11	NE
	půda (4,0 kg sv) + kal (1 kg čv) + <i>Phanerochaete chrysosporium</i> (0,2 kg čv)	12	NE
D	půda (4,0 kg sh) + kal (1 kg čh)	13	ANO
	půda (4,0 kg sh) + kal (1 kg čh)	14	ANO
	půda (4,0 kg sh) + kal (1 kg čh)	15	ANO
	půda (4,0 kg sh) + kal (1 kg čh)	16	ANO
E	půda (4,0 kg sh) + kal (1 kg čh) + <i>Pleurotus ostreatus</i> (0,2 kg čh)	17	ANO
	půda (4,0 kg sh) + kal (1 kg čh) + <i>Pleurotus ostreatus</i> (0,2 kg čh)	18	ANO
	půda (4,0 kg sh) + kal (1 kg čh) + <i>Pleurotus ostreatus</i> (0,2 kg čh)	19	ANO
	půda (4,0 kg sh) + kal (1 kg čh) + <i>Pleurotus ostreatus</i> (0,2 kg čh)	20	ANO
F	půda (4,0 kg sh) + kal (1 kg čh) + <i>Phanerochaete chrysosporium</i> (0,2 kg čh)	21	ANO
	půda (4,0 kg sh) + kal (1 kg čh) + <i>Phanerochaete chrysosporium</i> (0,2 kg čh)	22	ANO
	půda (4,0 kg sh) + kal (1 kg čh) + <i>Phanerochaete chrysosporium</i> (0,2 kg čh)	23	ANO
	půda (4,0 kg sh) + kal (1 kg čh) + <i>Phanerochaete chrysosporium</i> (0,2 kg čh)	24	ANO

4.4.4 Extrakce a analýza syntetických parfémových látek

Rozpouštědla použitá v procesu extrakce byla n-hexan (Chromsolvpro analýzu reziduí pesticidů), aceton (Pestnorm) a ethanol (p. a.), vše získané od společnosti Chromservis (Česká republika). Vnitřní standardy Tonalid-d3 a pižmo xylen-d15 byly poskytnuty společností Neo-chema (Německo) a LGC Standards (Velká Británie). Zásobní roztok 11 syntetických musk sloučenin byl získán z Neochemy (Německo). p-terpenyl-d14 získaný od Chromservisu (Česká republika) byl použit jako obohacující náhrada.

Syntetické parfémové látky v pevných vzorcích byly extrahovány metodou vyvinutou Košnářem et al. (2021). Stručně řečeno, pevný vzorek s replikátem (4 replikace) z každého měření byl umístěn do skleněných zkumavek a obohacen náhradou, poté byla přidána extrakční rozpouštědla (etanol, tlumivý roztok octanu sodného a n-hexan). Tato směs pak byla třepána na třepačce a následně vložena do ultrazvukové nádrže. Po vyvážení hmotnosti extraktů čistým n-hexanem byly vzorky centrifugovány. N-hexanové rozpouštědlo bylo odebráno a filtrováno pomocí filtračního papíru. Re-extrakce byla provedena následným použitím ultrazvuku po přidání n-hexanu a opakováním výše uvedeného postupu. N-hexan z extrakce byl odpařen do sucha pomocí dusíku. Čistící postup byl proveden pomocí extrakce na pevné fázi (SPE) se silikagelovými patronami Strata SI- pro extrakci pižma z počátečního kalu a patron Strata FL (Florasilpro vzorky půdy s upraveným kalem a biomasy, aby se minimalizovaly možné matricové efekty, jak navrhli Vallecillos et al. (2015). SPE byla stabilizována směsí n-hexanu a etylacetátu. Extrakty, znovu rozpuštěné v n-hexanu, byly vloženy na silikagel. Eluce (vymývání) se prováděla pomocí n-hexanu a promýváním se směsí n-hexanu a etylacetátu. Kombinovaný eluát a promývací frakce byly opět koncentrovány téměř do sucha a poté byl přidán n-hexan. Konečné extrakty byly smíchány s vnitřními standardy v jantarové injekční lahvičce.

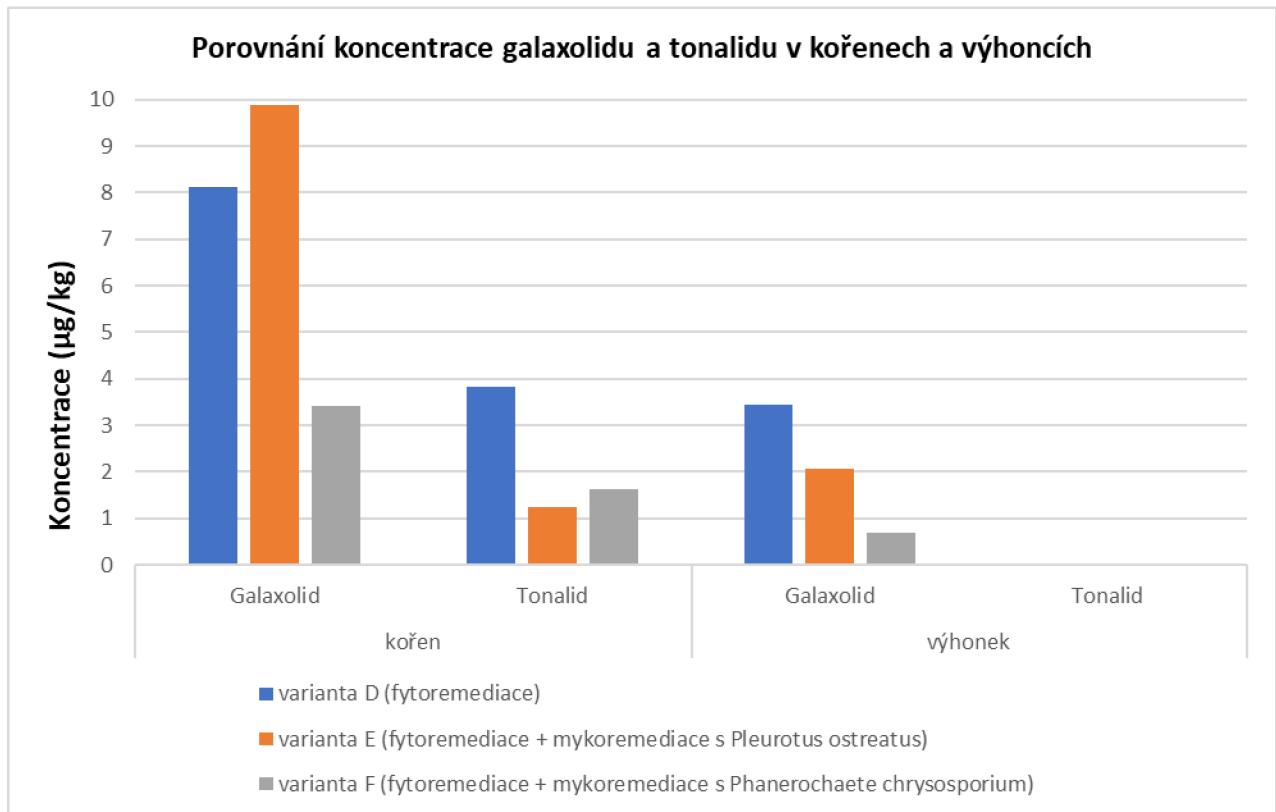
Cílové sloučeniny byly analyzovány pomocí plynového chromatografu, v souladu s Košnářem et al. (2021). Cílové syntetické parfémové sloučeniny byly separovány na koloně XLB Restek. Čisté helium bylo použito jako nosný nosný plyn v režimu dělení. Počáteční teplota pece byla 60 °C, poté 220 °C a nakonec 320 °C.

4.5 Výsledky

Galaxolid a tonalid v biomase kukuřice po vysušení

Koncentrace látek jsou zobrazeny v obrázku 1.

Obrázek 1:



Galaxolid byl detekován v kořenech i výhoncích (tj. nadzemních částech) kukuřice, v kořenech bylo vždy více galaxolidu než ve výhoncích. Nejvíce galaxolidu v kořenech bylo detekováno u varianty E (9,89 µg/kg), nejméně u varianty F (3,42 µg/kg). Nejvíce galaxolidu ve výhoncích bylo detekováno u varianty D (3,44 µg/kg), nejméně u varianty F (0,68 µg/kg). Tonalid byl detekován pouze v kořenech, nejvíce ho bylo detekováno u varianty D (3,84 µg/kg), nejméně u varianty E (1,25 µg/kg).

Výnos biomasy kukuřice po vysušení

Výnosy jsou uvedeny v tabulce 4.

Tabulka 4: Průměrný výnos biomasy kukuřice po vysušení

Varianta	Stonek+listy		Kořeny		Klasy	
	g	%	g	%	g	%
D	199,4 g	33,86%	70,32 g	27,15%	101,03 g	43,05%
E	152,99 g	29,67%	48,40 g	29,56%	90,60 g	42,48%
F	186,8 g	28,34%	66,86 g	25,47%	100,51 g	40,65%

Nejvíce biomasy (v %) klasů a stonků s listy bylo získáno u varianty D (fytoremediace), nejvíce biomasy kořenů bylo získáno u varianty E (mykoremediace s *Pleurotus ostreatus*). Nejméně biomasy všech částí rostliny bylo získáno u varianty F (mykoremediace s *Phanerochaete chrysosporium*).

Odstranění galaxolidu a tonalidu z půdy

Hodnoty odstranění jsou uvedeny v tabulce 5.

Tabulka 5: Průměrná hodnota odstranění galaxolidu a tonalidu z půdy

Varianta	Galaxolid (%)	Tonalid (%)
A	13.51 ± 1	9.98 ± 4.5
B	56.32 ± 5.2	47.43 ± 12
C	20.71 ± 15.5	20.41 ± 2.3
D	45.44 ± 0.5	44.2 ± 6.3
E	42.3 ± 6.3	37.65 ± 8.7
F	15 ± 16.1	31.95 ± 9.2

Nejvíce galaxolidu bylo odstraněno při použití mykoremediace s využitím druhu *Pleurotus ostreatus*, nejméně galaxolidu bylo odstraněno při přirozené atenuaci.

Nejvíce tonalidu bylo odstraněno při použití mykoremediace s využitím druhu *Pleurotus ostreatus* (varianta B), nejméně tonalidu bylo odstraněno při přirozené atenuaci (varianta A).

U všech variant bylo vždy odstraněno více galaxolidu než tonalidu.

4.6 Diskuze

Jak už bylo řečeno na začátku experimentální části, bylo sledováno jedenáct zástupců polycyklických a nitromusk sloučenin, avšak nakonec byly detekovány jen dva zástupci, galaxolid a tonalid (ze skupiny polycyklických musk sloučenin), přičemž galaxolid byl detekován ve větším množství než tonalid. Podobných výsledků dospěli i Ramos et.al. (2021) a Fernandes et.al (2022). Košnář et.al. (2021) kromě polycyklických musk sloučenin detekovali i nitromusk sloučeniny, avšak v malém množství.

Při použití fytořemediace se podařilo odstranit 45,44 % galaxolidu a 44,2 % tonalidu z půdy. Litz et.al. (2007) použili pro odstranění galaxolidu a tonalidu z půdy salát (*Lactuca sativa*) a mrkev (*Daucus carota*). Pomocí salátu bylo odstraněno více galaxolidu (65 %) i tonalidu (46 %) než v tomto experimentu s použitím kukuřice (*Zea mays*), avšak při použití mrkve to bylo méně než v tomto experimentu, bylo odstraněno 30 % galaxolidu a 33 % tonalidu. Větší odstranění galaxolidu a tonalidu v tomto experimentu pomocí kukuřice v porovnání s použitím mrkve by mohlo být způsobeno přítomností kukuřice schopné stimulovat přítomné mikroorganismy a/nebo enzymatická aktivita v rhizosféře, jak předpokládá Chane et.al. (2023). Ramos et.al. (2021) použili pro fytořemediaci rajčata (*Solanum lycopersicum* L.), galaxolidu bylo odstraněno 84 % a tonalidu 76 %. Zde je ale potřeba zmínit, že rostliny byly pěstovány za mírně odlišných podmínek a každý experiment trval jinou dobu.

Nejvíce galaxolidu i tonalidu bylo odstraněno při použití mykoremediace s druhem *Pleurotus ostreatus*, zároveň byl tento druh při odstraňování těchto látek efektivnější než druh *Phanerochaete chrysosporium*. Větší efektivita tohoto druhu je pravděpodobně způsobena v důsledku menší konkurence s původními půdními organismy a nižší citlivostí na teplotní požadavky pro růst a produkci enzymů, jak uvádí Chane et.al. (2023). Větší úspěšnost druhu *Pleurotus ostreatus* při odstraňování různých kontaminantů oproti jiným druhům ligninolytických hub udává více studií. Sttela et.al. (2017) použili druhy *Pleurotus ostreatus* a *Irpex lacteus* k odstranění polychlorovaných bifenylnů (PCB) z půdy, při použití druhu *Pleurotus ostreatus* došlo k odstranění více PCB z půdy, než tomu bylo s použitím druhu *Irpex lacteus*. Rodarte-Morales et.al. (2011) použili pro degradaci léčiv a produktů osobní péče (PPCPs, pharmaceutical and personal care products) druhy *Phanerochaete chrysosporium* a *Bjerkandera adusta*, po 14 dnech nebyli syntetické parfémové látky detekovány. Tato studie však byla provedena v laboratoři, a ne ve venkovním prostředí. Hidalgo et.al. (2023) uvádí, že použití mykoremediace bylo efektivnější metodou při odstraňování lindanu z půdy než fytořemediace.

V rámci experimentu bylo nejvíce biomasy stonků a klasů získáno při fytořemediaci, nejvíce biomasy kořenů pak bylo získáno při použití kombinace fytořemediace a mykoremediace s použitím druhu *Pleurotus ostreatus*. Fernandes et.al. (2022) použili ve studii pouze rostlinu hrachu a výnos její biomasy byl mnohem menší než výnos kukuřice v tomto experimentu. Je potřeba vzít v potaz, že stavba kukuřice a hrachu je odlišná, rostliny byly pěstovány v odlišných podmínkách a také doba experimentu s kukuřicí byla výrazně delší.

Galaxolid i tonalid byli detekováni ve výhoncích, v kořenech byl detekován pouze galaxolid. Fernandes et.al. (2022) zkoumali příjem syntetických parfémových látek hrachem (*Pisum sativum*). Stejně jako v tomto experimentu s kukuřicí, i v této studii s hrachem byli galaxolid i tonalid detekováni v kořenech a v nadzemních částech pak pouze galaxolid. Oproti ostatním rostlinám (salát, hrách, rajče) bylo kukuřicí akumulováno méně galaxolidu i tonalidu.

5. Závěr

Experimentální část této bakalářské práce byla zaměřena na bioremediaci vybraných zástupců syntetických parfémových látek, konkrétně pomocí přirozené atenuace, fytoremediace, mykoremediace a jejich kombimace. Cílem bylo zjistit, zda se syntetické parfémové látky akumulují v kalech a jak ovlivňují růst biomasy.

Byla potvrzena přítomnost syntetických parfémových látek v kalech, nadzemních částech rostliny i v jejích kořenech. Pomocí vybraných remediačních metod byla odstraněna zhruba polovina galaxolidu a tonalidu z půdy.

Cílem práce bylo zjistit, zda a jak ovlivňují syntetické parfémové látky růst biomasy. Bylo zjištěno, že tam, kde byl nejvyšší výnos biomasy stonků a klasů, byla i nejvyšší koncentrace galaxolidu v těchto částech (tak se stalo v případě fytoremediace). Nejvyšší výnos kořenů byl zjištěn, když byla použita kombinace fytoremediace a mykoremediace s použitím druhu *Pleurotus ostreatus*, zde bylo také zaznamenáno největší množství galaxolidu v kořenech a zároveň nejmenší množství tonalidu. Pro zjištění, zda existuje souvislost mezi výnosem biomasy a obsahem galaxolidu a tonalidu v rostlinných částech, by byl nutný statistický výpočet. V rámci experimentu je také možné porovnat výnosy kukuřice s výnosy jiných rostlin, použitých ve studiích na stejné téma. Avšak přestože je zde zmíněno několik studií, které se zabývají příjmem syntetických parfémových látek rostlinami, pouze jediná uvádí výnos biomasy rostliny. Jedná se však o jiný druh rostliny, byla pěstována v odlišných podmínkách a v jiné roční době.

V rámci experimentu byly nejefektivnějšími metodami při odstraňování galaxolidu a tonalidu z půdy mykoremediace s využitím druhu *Pleurotus ostreatus* a fytoremediace. Naopak nejméně efektivní byla přirozená atenuace. Kombinace fytoremediace a mykoremediace s použitím *Phanerochaete chrysosporium* byla méně efektivní ve srovnání s druhým druhem ligninolitické houby. Tato zjištění potvrzují závěry jiných studií, že *Pleurotus ostreatus* může být využit pro bioremediace látek z prostředí, zároveň je také efektivní jeho spolupráce s kukuřicí setou (*Zea mays*). Zároveň lze říci, že kombinace určitých rostlin a hub je při odstraňování látek efektivní a jiná kombinace zase méně efektivní.

Použití kukuřice seté je pro fytoremediaci výhodné z hlediska rychlého růstu a relativně dobrého výnosu biomasy. Do budoucna by bylo vhodné, aby vzniklo více takových experimentů jako tento, aby mohlo dojít nejen k porovnání výnosu biomasy, ale také ke zjištění, které druhy hub jsou efektivní nebo neefektivní při kombinaci s fytoremediací pomocí kukuřice, případně dalších rostlin z čeledi lipnicovitých. Je také navrženo prodloužit dobu trvání experimentu, protože je možné, že při delší době experimentu by bylo odstraněno i více syntetických parfémových látek.

6. Literatura

Babucs E. Parfüm 2000. 1999. Geopen Könyvkiado, Debrecín, Maďarsko.

Bárta J. 2015. Fytostabilizace - když rostliny hasí naše průšvihy. Available from: <http://www.gate2biotech.cz/fytostabilizace-kdyz-rostliny-hasi-nase-prusvihy/> (accessed March 2023)

Burger P., Plainfossé H., Brochet X., Chemat F., Fernandez X. 2019. Extraction of Natural Fragrance Ingredients: History Overview and Future Trends. *Chemistry & Biodiversity* **16** (e1900424) DOI: 10.1002/cbdv.201900424

Co je to fytořemediace. 2009. Available from: <https://temata.rozhlas.cz/co-je-fytořemediace-7851987> (accessed March 2023)

Eh M. 2004. New Alicyclic Musks: The Fourth Generation of Musk Odorants. *Chemistry & Biodiversity* **1**: 1975-1984 DOI: 10.1002/cbdv.200490151

European Commission (Scientific Committee on Consumer Safety). 2012. OPINION on Fragrance allergens in cosmetic products. Brusel. SCCS1459/11

Fernandes A.S., Azevedo T., Rocha F., Nunes E., Homem V. 2022. Uptake and translocation of synthetic musk fragrances by pea plant grown in sewage sludge-amended soils. *Environmental Pollution* **310** (e119908) DOI: 10.1016/j.envpol.2022.119908

Hatasová N. 2016. Fytoextrakce vybraných farmak [bakalářská práce]. Univerzita Karlova v Praze, Praha.

Hidalgo J., Epelde L., Anza M., Becerril J.M., Garbisu C. 2023. Mycoremediation with *Agaricus bisporus* and *Pleurotus ostreatus* growth substrates versus phytoremediation with *Festuca rubra* and *Brassica* sp. For the recovery of a Pb and γ -HCH contaminated soil. *Chemosphere* **327** (e138538) DOI: 10.1016/j.chemosphere.138538

Hutter H. P., Wallner P., Moshhammer H., Hartl W., Sattelberger R., Lorbeer G., Kundi M. 2009. Synthetic musks in blood of healthy young adults: Relationship to cosmetics use. *Science of the Total Environment* **407**: 4821-4825 DOI: 10.1016/j.scitotenv.2009.05.026

Chane A.D., Košnář Z., Hřebečková T., Wiesnerová T., Jozífek M., Doležal P., Praus L., Tlustoš P. 2023. Bioremediation of the synthetic musk compounds Galaxolide and Tonalide by white rot fungal strain-assisted phytoremediation in biosolid-amended soil. *Chemosphere* (e138605) DOI: 10.1016/j.chemosphere.2023.138605

Košnář Z., Mercl F., Chane A.D., Pierdoná L., Míchal P., Tlustoš P. 2021. Occurrence of synthetic polycyclic and nitro musk compounds in sewage sludge from municipal wastewater treatment plants. *Science of the Total Environment* **801** (e149777)
DOI:10.1016/j.scitotenv.2021.149777

Košnář Z., Částková T., Wiesnerová I., Praus L., Jablonský I., Koudela M., Tlustoš P. 2019 Comparing the removal of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil after different bioremediation approaches in relation to the extracellular enzyme activities. *Journal of Environmental Sciences* **76**: 249-258 DOI: 10.1016/j.jes.2018.05.007

Lábusová J. 2010. Fytoremediace: biochemické charakteristiky rostlin hyperakumulující těžké kovy [bakalářská práce]. Univerzita Karlova v Praze, Praha.

Litz N.T., Müller J., Böhmer W. 2007. Occurrence of Polycyclic Musks in Sewage Sludge and their Behaviour in Soils and Plants Part 2: Investigation of Polycyclic Musks in Soils and Plants. *J. Soil Sediments* **7**: 36-44 DOI: 10.1065/jss.2006.10.187.2

Ministerstvo životního prostředí. 2021. Vyhláška ze dne 12. července 2021 o podrobnostech nakládání s odpady. Strana 2826 ve Sbírce zákonů České republiky, 2021, částka 119. Česká republika.

Moravcová L. 2011. Esenciální oleje, jejich získávání a využití v kosmetickém průmyslu [bakalářská práce]. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Zlín.

Neamtu M., Siminiceanu I., Kettrup A. 2000. Kinetics of nitromusk compounds degradation in water by ultraviolet radiation and hydrogen peroxide. *Chemosphere* **40**: 1407-1410
DOI: 10.1016/S0045-6535(99)00305-7

Nebeská D., Trögl J., Ševců A., Špánek R., Marková K., Lawrence D., Burdová H., Pidlisnyuk V. 2021. *Miscanthus x giganteus* role in phytodegradation and changes in bacterial community of soil contaminated by petroleum industry. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **224** (e112630) DOI: 10.1016/j.ecoenv.2021.112630

Oakes J. *The Book of Perfumes*. 1996. HarperCollins Publishers, Sydney, Austrálie.

Phantolid. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/47167> (accessed February 2023)

Ramos S., Homem V., Snatos L. 2021. Uptake and translocation of UV-filters and synthetic musk compounds into edible parts of tomato grown in amended soils. *Science of the Total Environment* **792** (e148482) DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.148482

Rimkus G.G., Wolf M. 1995. Nitro musk fragrances in biota from freshwater and marine environment. *Chemosphere* **30**: 641–651 DOI: 10.1016/0045-6535(94)00430-3

Rodarte-Morales A.I., Feijoo G., Moreira M.T., Lema J.M. 2011. Degradation of selected pharmaceutical and personal care products (PPCPs) by white-rot fungi. *World J Microbiol Biotechnol* **27**: 1839-1846 DOI: 10.1007/s11274-010-0642-x

Rosamusk, cyklomusk, helvetolid. 2014. Available from: <https://colognoisseur.com/olfactory-chemistry-alicyclic-musks-breaking-the-cycle/>

Soudek P., Petrová Š., Benešová D., Kotyza J., Vaněk T.. 2009. Fytoremediace a možnosti zvýšení jejich účinnosti. *Chemické listy* **102**: 346-352

Stella T., Covino S., Čvančarová M., Filipová A., Petruccioli M., D'Annibale A., Cajthaml T. 2017. *Journal of Hazardous Materials* **324**: 701-710 DOI: 10.1016/j.jhazmat.2016.11.044

Šuta M. 2016. Vybrané ingredience kosmetiky z hlediska dopadů na lidské zdraví a životní prostředí. Available from: https://www.veronica.cz/soubory/studie_kosmetika_cela.pdf (accessed February 2023).

Taylor K.M., Weisskopf M., Shine J. 2014. Human exposure to nitro musks and the evaluation of their potential toxicity: an overview. *Environmental Health* **14**: 2-7 DOI: 10.1186/1476-069X-13-14

Tobková L. 2015. Kontaminace životního prostředí musk sloučeninami [bakalářská práce]. Vysoké učení technické v Brně, Brno.

Tonalid. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/89440> (accessed February 2023)

Tonalid. Available from: <https://www.scentspiracy.com/synthetics/tonalid> (accessed February 2023)

Trabalón L., German C., Pocurull E., Nadal M., Domingo J., Borrull F. 2015. Exposure of the population of Catalonia (Spain) to musk fragrances through seafood consumption: Risk assessment. *Environmental Research* **143**: 116-122 DOI: 10.1016/j.envres.2015.04.007

Tylichová P. 2011. Syntetické vonné látky v odpadních vodách [diplomová práce]. Vysoké učení technické v Brně, Brno.

Vallecillos L., Pocurull E., Borrull F. 2015. Influence of pre-treatment process on matrix effect for the determination of musk fragrances in fish and musel. *Talanta* **134**: 690-698 DOI: 10.1016/j.talanta.2014.12.010

Vecchiato M., Bonato T., Barbante C., Gambaro A., Piazza R. 2021. Organic pollutants in protected plain areas: The occurrence of PAHs, musks, UV-filters, flame retardants and hydrocarbons in woodland soils. *Science of the Total Environment* **796** (e149003) DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.149003

Wang X., Liu Z., Wang W., Cong Z., Chen L. 2015. Derivation of predicted no effect concentration (PNEC) for HHCB to terrestrial species (plants and invertebrates). *Science of the Total Environment* **508**: 122-127 DOI: 10.1016/j.scitotenv.2014.11.079

Weinberg I., Dreyer A., Ebinghaus R. 2011. Waste water treatment plants as sources of polyfluorinated compounds, polybrominated diphenyl ethers and musk fragrances to ambient air. *Environmental Pollution* **159**: 125-132 DOI: 10.1016/j.envpol.2010.09.023

Winkler M., Kopf G., Hauptvogel C., Neu T. 1998. Fate of artificial musk fragrances associated with suspended particulate matter (SPM) from the River Elbe (Germany) in comparison to other organic contaminants. *Chemosphere* **37**: 1139-1156 DOI: 10.1016./S0045-6535(98)00110-6

Yang M., Jawitz J. W., Lee M. 2015. Uranium and cesium accumulation in bean (*Phaseolus vulgaris* L. var. *vulgaris*) and its potential for uranium rhizofiltration. *Journal of Environmental Radioactivity* **140**: 42-49 DOI: 10.1016/j.jenvrad.2014.10.015

Zouhar L. 2013. Studium průniku „musk“ sloučenin do abiotických a biotických složek vodních ekosystémů [disertační práce]. Vysoké učení technické v Brně, Brno.

Zouhar L. 2009. Syntetické vonné látky ve vodní biotě [diplomová práce]. Vysoké učení technické v Brně, Brno.

