

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Ústav pro životní prostředí
Studijní program: Environmentální vědy



Mgr. Alena Grasserová

Osud mikropolutantů v průběhu vermikompostování

Fate of micropollutants during vermicomposting

Disertační práce

Školitel: prof. RNDr. Tomáš Cajthaml, Ph.D., DSc.

Praha, 2024

Tato disertační práce byla vytvořena v rámci projektu NAZV č. QK1910095 s názvem „Využití vermikompostování k eliminaci mikropolutantů za účelem bezpečné aplikace čistírenského kalu na zemědělskou půdu“ a také za podpory Grantové agentury Univerzity Karlovy – projekt č. 370621 s názvem „Vliv vermikompostování na cytotoxicitu čistírenského kalu před jeho aplikací v zemědělství – *in vivo* a *in vitro* studie“.

Disertační práce vznikla ve spolupráci s Mikrobiologickým ústavem Akademie věd České republiky, v.v.i.

Školitel: prof. RNDr. Tomáš Cajthaml, Ph.D., DSc.
Ústav pro životní prostředí
Přírodovědecká fakulta
Univerzita Karlova

Prohlášení

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

V Praze, únor 2024

Mgr. Alena Grasserová

Disertační práce byla sepsána na základě těchto publikací, jež jsou součástí přílohy:

Publikace 1

Grasserová, A.; Hanč, A.; Innemanová, P.; Cajthaml, T. Composting and Vermicomposting Used to Break down and Remove Pollutants from Organic Waste: A Mini Review. *EUROPEAN JOURNAL OF ENVIRONMENTAL SCIENCES* **2020**, *10*, 9–14.

Publikace 2

Semerád, J.; Pacheco, N.I.N.; Grasserová, A.; Procházková, P.; Pivokonský, M.; Pivokonská, L.; Cajthaml, T. *In Vitro* Study of the Toxicity Mechanisms of Nanoscale Zero-Valent Iron (nZVI) and Released Iron Ions Using Earthworm Cells. *Nanomaterials* **2020**, *10*, 2189.

Publikace 3

Hanč, A.; Hřebečková, T.; Grasserová, A.; Cajthaml, T. Conversion of Spent Coffee Grounds into Vermicompost. *Bioresource Technology* **2021**, *341*, 125925.

Publikace 4

Innemanová, P.; Grasserová, A.; Cajthaml, T. Pilot-Scale Vermicomposting of Dewatered Sewage Sludge from Medium-Sized WWTP. *Detritus* **2022**, 35–41.

Publikace 5

Dume, B.; Hanč, A.; Švehla, P.; Míchal, P.; Pospíšil, V.; Grasserová, A.; Cajthaml, T.; Chane, A.D.; Nigussie, A. Influence of Earthworms on the Behaviour of Organic Micropollutants in Sewage Sludge. *Journal of Cleaner Production* **2023**, *416*, 137869.

Publikace 6

Grasserová, A.; Pacheco, N.I.N.; Semerád, J.; Filipová, A.; Innemanová, P.; Hanč, A.; Procházková, P.; Cajthaml, T. New Insights into Vermiremediation of Sewage Sludge: The Effect of Earthworms on Micropollutants and Vice Versa. *Waste Management* **2024**, *174*, 496–508.

Deklarace spolupráce na odborných publikacích:

Jménem dalších spoluautorů prohlašuji, že se Mgr. Alena Grasserová významně podílela na vzniku Publikace 1 (její podíl 80 %). Její účast byla následující: příprava manuskriptu.

Jménem dalších spoluautorů prohlašuji, že se Mgr. Alena Grasserová významně podílela na vzniku Publikace 2 (její podíl 20 %). Její účast byla následující: podíl na experimentální práci, vyhodnocení dat, příprava manuskriptu.

Jménem dalších spoluautorů prohlašuji, že se Mgr. Alena Grasserová významně podílela na vzniku Publikace 3 (její podíl 15 %). Její účast byla následující: podíl na experimentální práci, vyhodnocení dat, příprava manuskriptu.

Jménem dalších spoluautorů prohlašuji, že se Mgr. Alena Grasserová významně podílela na vzniku Publikace 4 (její podíl 30 %). Její účast byla následující: podíl na experimentální práci, vyhodnocení dat, příprava manuskriptu.

Jménem dalších spoluautorů prohlašuji, že se Mgr. Alena Grasserová významně podílela na vzniku Publikace 5 (její podíl 20 %). Její účast byla následující: podíl na experimentální práci, vyhodnocení dat, příprava manuskriptu.

Jménem dalších spoluautorů prohlašuji, že se Mgr. Alena Grasserová významně podílela na vzniku Publikace 6 (její podíl 70 %). Její účast byla následující: podíl na experimentální práci, vyhodnocení dat, příprava manuskriptu.

V Praze, únor 2024

prof. RNDr. Tomáš Cajthaml, Ph.D., DSc.

Abstrakt

Vermikompostování se v posledních letech stává populární přírodě-blízkou metodou používanou ke zpracování biologického odpadu, včetně čistírenského kalu. Ten je díky svým vlastnostem záhodno využít jako hnojivo na zemědělskou půdu. Kromě cenných prvků ale kal obsahuje i polutanty, jež po jeho aplikaci na pole mohou být přijímány rostlinami a živočichy a kontaminovat tak potravní řetězce. Do skupiny polutantů nacházejících se v kalu spadají i mikropolutanty, látky vyskytující se napříč životním prostředím v nízkých koncentracích. Mezi mikropolutanty se řadí například farmaka a produkty osobní péče, per- a polyfluorované látky nebo pesticidy. Tyto látky mají mnoho známých nežádoucích účinků, jako je endokrinní disrupce, antibiotická rezistence či rozvoj některých typů rakoviny. Ačkoliv hnojení čistírenskými kaly je jednou z hlavních cest vstupu mikropolutantů do životního prostředí, koncentrace mikropolutantů v čistírenských kalech nejsou před jejich aplikací na půdu nijak sledovány ani regulovány.

Tato disertační práce se zabývá osudem mikropolutantů v průběhu vermikompostování, a to především čistírenských kalů jako substrátu. Vermikompostování bylo aplikováno za účelem stabilizace kávové sedliny a čistírenských kalů z různých čistíren odpadních vod smíchaných se slámou. Experimenty probíhaly v různém měřítku a uspořádáních, včetně venkovního provozního vermikompostéru. Oproti kontrole bez žížal vedlo vermikompostování ke snížení kofeinu v kávové sedlině. V provozním experimentu s čistírenským kalem byla účinnost odstranění sumy sledovaných mikropolutantů 35 a 34 %. V laboratorních experimentech s čistírenským kalem došlo oproti kontrole bez žížal k signifikantnímu odstranění látek diklofenak, metoprolol, mirtazapin, telmisartan a triklosan. Nejvíce bioakumulovanými mikropolutanty v žížalí tkáni byly kofein, karbamazepin, cetirizin, citalopram, diklofenak, triklosan, perfluorooktansulfonová kyselina (PFOS), perfluorotridekanová kyselina (PFTrDA), perfluorododekanová kyselina (PFDoDA) a perfluoroundekanová kyselina (PFUnDA).

Abstract

Vermicomposting is recently becoming a rather popular environmentally friendly technique for stabilizing biowaste, including sewage sludge. There is an effort to utilize the sewage sludge as fertilizer on agricultural land. But apart from nutrients, the sludge also contains harmful pollutants, which subsequently after its deposition on fields can be taken up by plants and organisms contaminating the food chains. Micropollutants, the substances that can be found throughout the environment in trace concentrations, are one of the pollutants occurring in sludge. It is for example pharmaceuticals and personal care products, per- and polyfluoroalkyl substances, or pesticides. Their negative effects are known – they can be for instance endocrine disruption, antibiotic resistance, or the development of cancer. Although the deposition of sewage sludge on fields as a fertilizer is one of the main introduction routes of micropollutants to the environment, the content of micropollutants before deposition is not monitored nor regulated.

This dissertation focuses on the fate of micropollutants during vermicomposting, especially in sewage sludge substrates. The vermicomposting method was applied to stabilize coffee spent grounds and sewage sludge obtained from distinct wastewater treatment plants mixed with straw. The research covered diverse scales and layouts, including an outside pilot-scale experiment. Contrary to the treatments without the earthworms, the vermicomposting of the spent coffee grounds led to a significant decrease in caffeine in the substrate. In the pilot-scale experiment, the total operating removal efficiency of all the detected micropollutants was 35% and 34%. In the small-scale laboratory experiments, there was a significant decrease of diclofenac, metoprolol, mirtazapine, telmisartan, and triclosan contrary to the no-earthworms control. The most bioaccumulative micropollutants in earthworms were caffeine, carbamazepine, cetirizine, citalopram, diclofenac, triclosan, perfluorooctane sulfonic acid (PFOS), perfluorotridecanoic acid (PFTrDA), perfluorododecanoic acid (PFDoDA), and perfluoroundecanoic acid (PFUnDA).

Obsah

Abstrakt	5
Abstract	6
Seznam zkratk.....	9
1 Úvod.....	12
2 Mikropolutanty	14
2.1 Mikropolutanty v životním prostředí	14
2.1.1 Zdroj a osud.....	14
2.1.2 Legislativa	16
2.2 Zástupci emergentních mikropolutantů a jejich vliv na organismy	18
2.2.1 Farmaka a produkty osobní péče (PPCP)	18
2.2.2 Endokrinní disruptory (ED).....	18
2.2.3 Pesticidy.....	19
2.2.4 Per- a polyfluorované látky (PFAS)	19
2.2.5 Nano- a mikročástice kovů a polymerů	20
3 Remediační metody	20
3.1 Fyzikálně-chemické	20
3.2 Biologické	21
3.2.1 Vermikompostování a vermiremediace	22
4 Toxikologické testy na žížalách	25
4.1 Klasické (konvenční) testy toxicity na žížalách.....	26
4.2 Žížalí biomarkery	26
5 Vermistabilizace čistírenského kalu	29
5.1 Toxický vliv čistírenského kalu na žížaly	29
5.2 Vliv žížal na mikroorganismy	30
5.3 Vermiremediace mikropolutantů v čistírenském kalu	32
6 Cíle disertační práce	36
7 Závěry.....	37

Literatura	39
Poděkování	59
Přílohy	60

Seznam zkratek

AChE	acetylcholinesterasa
AWI	indikátory antropogenního znečištění (z anglického anthropogenic waste indicators)
BAF	bioakumulační faktor
BCF	biokoncentrační faktor (z anglického bio-concentration factor)
BSAF	akumulační faktor biota-půda (z anglického biota-soil accumulation factor)
C/N	poměr uhlík/dusík
CAT	katalasa (z anglického catalase)
CE	karboxylesterasa (z anglického carboxylesterase)
CFR	chlorované zpomalovače hoření (z anglického chlorinated flame retardants)
C _s	koncentrace látky v půdě (z anglického concentration in soil)
C _w	koncentrace látky ve vodě (z anglického concentration in water)
ČOV	čistírna odpadních vod
DDT	dichlorodifenyltrichloroethan
DNA	deoxyribonukleová kyselina (z anglického deoxyribonucleic acid)
ED	endokrinní disruptory
GPX	glutathion peroxidasa
GR	glutathion reduktasa
GST	glutathion S-transferasa
HFR	halogenované zpomalovače hoření (z anglického halogenated flame retardants)
Hsp	protein teplotního šoku (z anglického heat shock protein)
ISO	Mezinárodní organizace pro normalizaci (z anglického International Organization for Standardization)
K _d	adsorpční rozdělovací koeficient
K _F	Freundlichův adsorpční koeficient
K _{ow}	koeficient oktanol-voda

LD50	letální dávka 50 (dávka látky, po jejímž podání zahyne 50 % vystavených jedinců)
MDA	malondialdehyd
MT	metalothionein
NOAEL	žádný pozorovatelný nepříznivý účinek (nejvyšší dávka, při níž nebyl pozorován žádný nepříznivý účinek na zkoumaný organismus; z anglického no observed adverse effect level)
NRRT	retence neutrální červeně (z anglického neutral red retention time)
OECD	Organizace pro hospodářskou spolupráci a rozvoj (z anglického Organisation for Economic Co-operation and Development)
OSN	Organizace spojených národů
PAU	polycyklické aromatické uhlovodíky
PBDE	polybromované difenylethery
PC	karbonylovaný protein (z anglického protein carbonyl)
PCB	polychlorované bifenyly
PFAS	per- a polyfluorované látky (z anglického per- and polyfluoroalkyl substances)
PFD _o DA	perfluorododekanová kyselina (z anglického perfluorododecanoic acid)
PFOA	perfluorooktanová kyselina (z anglického perfluorooctanoic acid)
PFOS	perfluorooktansulfonová kyselina
PFT _r DA	perfluorotridekanová kyselina (z anglického perfluorotridecanoic acid)
PFUnDA	perfluoroundekanová kyselina (z anglického perfluoroundecanoic acid)
POD	guajakol peroxidasa
POP	perzistentní organické polutanty
POSF	perfluorooktansulfonyl fluorid
PPCP	farmaka a produkty osobní péče (z anglického pharmaceuticals and personal care products)
SOD	superoxiddismutasa
TF	transfer faktor

UNEP

Program OSN pro životní prostředí (z anglického United Nations Environment Programme)

1 Úvod

Čistírenský kal (v angličtině používán název sewage sludge nebo biosolids) vzniká jako vedlejší produkt při čištění odpadní vody v čistírnách odpadních vod (ČOV) [1]. V České republice bylo v minulých letech vyprodukováno kolem 200 tisíc tun sušiny/rok tohoto materiálu, z toho asi 30 % bylo přímo bez předchozí úpravy aplikováno na zemědělskou půdu [2,3]. Dle dostupných informací množství produkovaného kalu s každým rokem stoupá a se vzrůstajícím počtem populace bude stoupat i nadále [4]. Je tedy potřeba hledat vhodné řešení, jak tento materiál uplatnit. Čistírenský kal je bohatý na živiny, jako například fosfor, uhlík, dusík a také řadu mikronutrientů, jež podporují růst rostlin; aplikace kalu navíc pomáhá udržovat půdní strukturu [1,5]. Z toho důvodu se jeví jako logická snaha tuto surovinu dále využít ke hnojení zemědělské půdy, než ji zlikvidovat například skládkováním nebo spalováním [6]. Čistírenský kal ale vedle nutrientů obsahuje i řadu potenciálně toxických látek, jež se do něj dostávají jak s odpadní vodou z domácností, továren a zdravotnických zařízení, tak se splachy z polí a skládek [1]. Mezi toxické látky obsažené v kalu patří například těžké kovy a organické sloučeniny – pesticidy, farmaka a produkty osobní péče (PPCP), endokrinní disruptory (ED), per- a polyfluorované látky nebo detergenty [1,6,7]. Před aplikací na pole musí kaly splňovat limity pro těžké kovy dané Evropskou unií, limity ostatních polutantů a mikropolutantů si ale každý stát reguluje sám, nebo zcela chybí [8]. Je zde tak objektivní riziko, že spolu s živinami se s aplikací kalu na půdu dostanou i zmíněné rizikové látky. Ty následně mohou být kumulovány v rostlinách a půdních živočišných nacházejících se v místě znečištění; splachem z polí může také docházet ke kontaminaci vod povrchových a podzemních, čímž hrozí další riziko kontaminace životního prostředí a potravních řetězců [9,10].

Relativně novou bioremediační technologií, jež využívá činnosti žížal a mikroorganismů ke stabilizaci čistírenských kalů, je vermikompostování [11]. Žížaly nejen, že mění strukturu a složení substrátu, ale mohou i akumulovat či biodegradovat toxické látky. Navíc substrát provzdušňují a rozměňují, což ho dělá přístupnějším pro mikroorganismy. Vermikompostování čistírenského kalu za účelem odstranění polutantů bylo dobře popsáno především pro skupinu těžkých kovů – byl zjištěn pokles jejich mobility a také jejich bioakumulace v tělech žížal [12–15]. Další studie vermikompostování kalů se zaměřovaly spíše na klasické organické polutanty, jako jsou polycyklické aromatické uhlovodíky (PAU) [16,17] nebo ropné uhlovodíky [18]. Nicméně, osud rozsáhlé skupiny mikropolutantů v průběhu vermikompostování není zatím zcela prozkoumán.

Tato disertační práce se zabývá studiem osudu mikropolutantů, zejména těch nově se objevujících, při procesu vermikompostování čistírenských kalů. Po provedení laboratorních experimentů byla analyzována rozsáhlá skupina PPCP, ED, v jednom případě i PFAS, a to jak ve dvou kalových substrátech před a po vermikompostování, tak v tělech žížal ke zjištění případné bioakumulace. Dále byl proces odstranění mikropolutantů z čistírenského kalu pomocí žížal testován ve venkovním

vermikompostéru v provozním měřítku. V neposlední řadě byl zjišťován vliv dvou čistírenských kalů na žížaly, a to na více úrovních toxikologických testů včetně biomarkerů na tkáňové a buněčné úrovni.

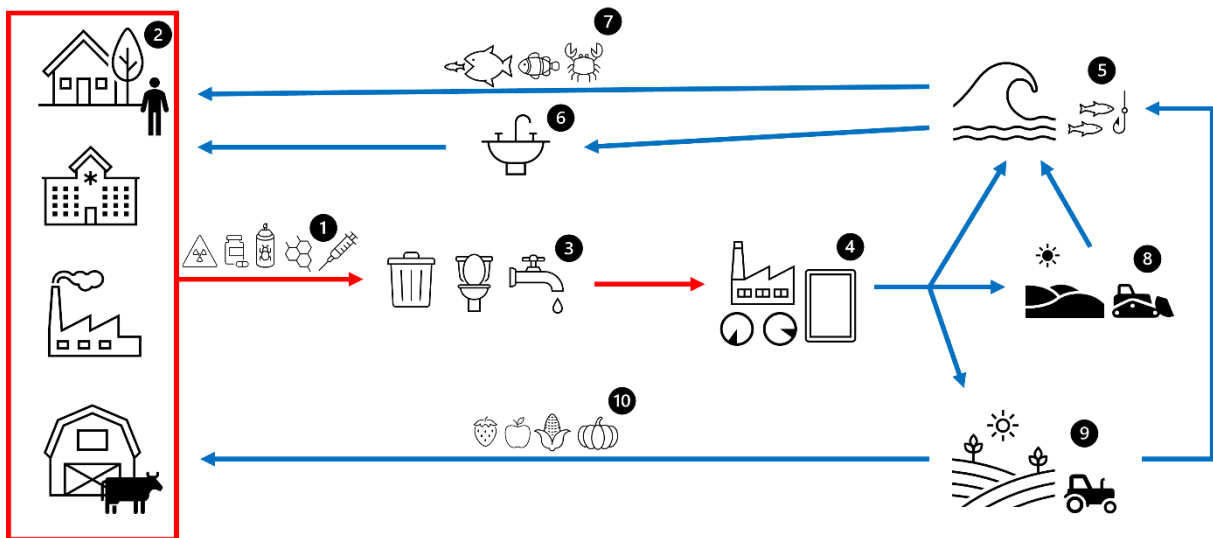
2 Mikropolutanty

Mikropolutanty jsou látky organické nebo anorganické povahy vyskytující se v životním prostředí ve stopových koncentracích (μg až pg na L nebo kg) [19]. Jedná se o rozsáhlou skupinu látek zahrnující jak látky přírodního původu, tak látky synteticky vyrobené. Některé z nich se řadí mezi takzvané emergentní (nově se objevující) polutantů. Do této skupiny patří například: PPCP, PFAS, zpomalovače hoření, pesticidy, ED, nanomateriály, změkčovadla (ftaláty) či metaloidy [19,20].

2.1 Mikropolutanty v životním prostředí

2.1.1 Zdroj a osud

Rozvoj ekonomiky a kontinuální růst populace v mnohých regionech vede k produkci a užívání čím dál tím většího množství látek, které jsou posléze detekovány v nejrůznějších složkách přírody [21–23]. Mikropolutanty se do životního prostředí dostávají více cestami a mohou jím posléze kolovat, což ilustruje Obrázek 1. Ze zdroje jejich použití – domácností, městských zařízení (nemocnice, veterinární kliniky, průmyslové výroby atd.), ale i z polí či jiných nebodových zdrojů kontaminace se dostávají do ČOV [24,25]. Dnešní ČOV, implementující konvenční techniky čištění, však nejsou na kontinuálně přítékající koncentrace mikropolutantů uzpůsobeny, a tak často dochází k nedostatečnému odstranění těchto látek [26–29]. Mikropolutanty jsou poté v odtoku z ČOV unášeny do povrchových vod a následně mohou kontaminovat pitnou vodu, pokud nedojde k jejich odstranění v úpravárnách pitných vod [30,31]. V povrchových vodách je dále koncentracím mikropolutantů vystavena vodní biota, jež může látky bioakumulovat a následně kontaminovat potravní řetězec [32]. Čistírenský kal, produkováný jako vedlejší produkt v ČOV, může být použit (případně zlikvidován) několika způsoby. Jako příklad lze uvést využití jako hnojiva na zemědělské půdě nebo skládkování [33]. O mikropolutanty obohacený výluh (splach) může nicméně pronikat do povrchových, podpovrchových i podzemních vod a kontaminovat je [34]. Mikropolutanty aplikované na zemědělskou půdu, ať už účelně (například pesticidy) či sorbované na čistírenský kal, mohou být akumulovány pěstovanými plodinami či přítomnými organismy a taktéž kontaminovat potravní řetězec [35,36]. Některé mikropolutanty, zejména veterinární léčivé přípravky, se dostávají do životního prostředí buď přímo (pokud jsou aplikovány v akvakultuře) nebo aplikací močůvky/chlévského hnoje na zemědělskou půdu [37].



Obrázek 1: Zdroj a osud mikropolutantů v životním prostředí. Mikropolutanty (1) vstupují do životního prostředí z různých zdrojů (2). Jedná se především o domácnosti (PPCP – zubní pasty, ústní vody, mýdla, parfémy, čisticí prostředky, repelenty atd.), nemocniční zařízení pro lidi i zvířata (farmaka, dezinfekční přípravky) a průmyslové výroby (nanomateriály, těžké kovy, bisfenoly, ftaláty atd.). Likvidací (3) se v odpadní vodě dostávají tyto látky do ČOV (4) nebo spolu s odpadem přímo na skládku odpadu (8). Z důvodu nedostatečného odstranění v ČOV se tyto látky odtokem dostávají do vod povrchových (5). Pokud nedojde k odstranění mikropolutantů ani v úpravkách pitných vod, je tato mikropolutanty-obohacená voda vedena zpět ke zdroji kontaminace (2). V povrchové vodě se mikropolutanty taktéž mohou akumulovat v tělech vodních živočichů a postupovat tak dále potravním řetězcem (7). Čistírenský kal, získávaný jako vedlejší produkt v ČOV (4), může být mimo jiné likvidován skládkováním (8). Výluh ze špatně zabezpečených skládek může kontaminovat povrchové vody (5). Dalším způsobem likvidace čistírenského kalu je jeho aplikace jako hnojiva na zemědělskou půdu (9). Odtud mohou mikropolutanty (jak ty původem z kalu, tak ty aplikované na zemědělskou půdu záměrně – pesticidy) také prosakovat do povrchové vody (5). Vedlejším rizikem je akumulace mikropolutantů plodinami vysázenými na tuto půdu (10) a jejich následný příjem biotou (2).

Některé mikropolutanty jsou perzistentní a mohou se tudíž akumulovat v životním prostředí a biotě, jiné se rozkládají na nejrůznější degradační produkty/metabolity, z nichž některé mohou být toxičtější než mateřská látka [38]. I když se mikropolutant rychle odbourává, jeho ustavičné zavádění do přírody neustálým používáním z něj dělá všudypřítomnou látku. Tento fenomén se nazývá „pseudo-perzistence“ a byl pozorován například u látky bisfenolu A [39,40].

V přírodě se mikropolutanty distribuují dle jejich vlastností a vlastností prostředí. Obecně se látky polárnější povahy (nízká hodnota koeficientu oktanol-voda K_{ow}) spíše vyskytují ve vodách, nepolární (vysoká hodnota koeficientu oktanol-voda K_{ow}) a nenabitě látky se naopak sorbují na

organickou složku půdy a sediment [41]. Distribuce ovšem záleží na mnoha parametrech, jako jsou chemické a fyzikální vlastnosti látky (struktura látky, koeficient K_{ow} , rozpustnost ve vodě, ionizace, molekulární hmotnost, přítomnost funkčních skupin, volatilita) a prostředí (množství organické hmoty, přítomnost huminových látek, zrnitost, specifická velikost povrchu či pH systému a iontová síla) [27,41–44]. Distribuci organických látek mezi půdou či sedimentem a vodnou fází popisuje Freundlichova adsorpční izoterma a Freundlichův adsorpční koeficient (K_F) [45]. Pokud dojde k dosažení rovnováhy, Freundlichův adsorpční koeficient nabývá hodnoty adsorpčního rozdělovacího koeficientu K_d , přičemž $K_d = c_s/c_w$ (c_s je koncentrace látky v půdě a c_w je koncentrace látky ve vodě). Adsorpci látky na substrát zapříčiňuje fyzisorpce a/nebo chemisorpce [46,47]. Při fyzisorpci se uplatňují například van der Waalsovy síly, interakce pomocí vodíkových můstků či interakce ion-ion (elektrostatická síla), chemisorpce je tvořena chemickými vazbami a je zpravidla pevnější než například van der Waalsovy síly [48]. Adsorpce látky (tedy její imobilizace) může být příčinou její snížené toxicity [49].

2.1.2 Legislativa

Užívání a následná likvidace čím dál většího množství léků a ostatních přípravků ze skupiny mikropolutantů (PPCP, pesticidů, ftalátů aj.) jde ruku v ruce se zvyšováním kvality života a s ním spojeným rozvojem průmyslu [50]. I přes to, že většině zástupců mikropolutantů chybí dostatečné toxikologické hodnocení, na trh přichází nové a nové substance. Látky s prokázanou toxicitou jsou zakazovány nebo omezovány, zanedlouho je ale nahrazují látky s podobnou strukturou i účinkem. Zbývá tedy snaha zabránit vniku a následnému šíření těchto látek životním prostředím.

Výroba a užívání některých mikropolutantů je v České republice i ostatních státech Evropské unie regulována Nařízením evropského parlamentu a Rady (EU) 2019/1021 ze dne 20. června 2019 o perzistentních organických znečišťujících látkách [51]. Členské státy se zavazují omezit či úplně zastavit výrobu daných látek, vyrábět a užívat tyto látky jen v krajních, předem určených, případech a také tyto látky bezpečně likvidovat. Nařízení je založeno na závazcích dvou stávajících mezinárodních smluv – Stockholmské úmluvy a Protokolu o perzistentních organických polutantech (POP) z Úmluvy o dálkovém znečišťování ovzduší přecházejícím hranice států. Obě zmíněné úmluvy se zabývají restrikcí POP. Stockholmská úmluva byla přijata v květnu 2001, a to v rámci Programu OSN pro životní prostředí (UNEP) [52]. Jedná se o globální úmluvu, pro Českou republiku pak začala platit v květnu 2004. Tato úmluva v současné době reguluje 29 zástupců/skupin POP, jejichž výroba, používání, vývoz a dovoz jsou buď úplně zakázány nebo omezeny a jedná se tedy o akt takzvané předběžné opatrnosti. Z mikropolutantů můžeme v této úmluvě najít například zástupce z řad perfluorovaných látek (například perfluorooktanová kyselina PFOA, perfluorooktansulfonová kyselina PFOS a perfluorooktansulfonyl fluorid POSF) a jejich solí, dále z řad pesticidů (například lindan, aldrin, mirex) či polychlorovaných bifenyly jako celé skupiny látek. Na rozdíl od Stockholmské úmluvy, jež má za cíl předcházet výskytu vybraných POP ve všech složkách přírody, Protokol o POP řeší restrikce emisí POP především

v ovzduší [53]. Na jeho seznamu se v této době nachází 23 zástupců/skupin, přičemž tyto látky se shodují s těmi uvedenými ve Stockholmské úmluvě. Protokol si dává za cíl vyloučit nebo alespoň omezit emise vybraných, lidskou činností produkovaných POP do životního prostředí. Protokol ratifikovalo 34 smluvních stran, Česká republika tak učinila v roce 2002.

Evropská unie monitoruje prostřednictvím Prováděcího rozhodnutí Komise (EU) 2022/1307 (dle směrnice Evropského parlamentu a Rady 2008/105/ES) vybrané látky, jež mohou představovat riziko pro vodní prostředí na úrovni Unie [54]. Seznam látek (takzvaný watch list) se modifikuje zpravidla jednou za dva roky a obsahuje zejména látky ze skupiny emergentních polutantů, často řazených mezi mikropolutanty. Monitoring látek ve členských státech by měl poskytnout informace o jejich koncentracích ve vodním prostředí a jejich možném riziku, na základě kterého by mohly být uvedeny v seznamu prioritních látek. Po získání dostatečných informací je látka ze seznamu vyjmuta a nahrazena jinou. V rámci seznamu je taktéž každé látce přiřazena indikativní analytická metoda spolu s mezní hodnotou detekce/kvantifikace. Stávající seznam látek zahrnuje 12 látek nebo jejich skupin. Jedná se například o antibiotika (klindamycin, ofloxacin, trimethoprim a sulfomethoxazol), prostředky na ochranu proti slunečnímu záření (butyl-methoxydibenzoylmethan, oktokrylen a benzofenon-3), pesticidy (dimoxystrobin, azoxystrobin, diflufenikan, famoxadon a fipronil) nebo azolové sloučeniny (klotrimazol, flukonazol či prochloraz) [54].

Hygienické limity pro pitnou a teplou vodu v ČR udává Vyhláška č. 252/2004 Sb. v souladu s právem Směrnice Rady 98/83/ES o jakosti vody určené pro lidskou spotřebu [55]. Mezi chemickými látkami najdeme například pesticidy, jejichž limit (pro sumu včetně relevantních metabolitů) je pro pitnou vodu $0,5 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Z PAU je v seznamu dále benzo[a]pyren (limit $0,01 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) a skupina čtyř PAU (benzo[b]fluoranthen, benzo[k]fluoranthen, benzo[ghi]perylen a indeno[1,2,3-cd]pyren; limit sumy $0,1 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$).

Jak již bylo zmíněno, jedna z hlavních cest vstupu mikropolutantů do životního prostředí je spolu s čistírenským kalem použitým ke hnojení zemědělské půdy. Za rok 2022 bylo v ČR z celkových 197 991 tun sušiny vyprodukovaného čistírenského kalu použito 32 % v zemědělství, což je druhý nejčastější způsob likvidace čistírenského kalu po kompostování [3,8]. V ČR jsou mezní hodnoty polutantů a bakterií v čistírenském kalu používaném ke hnojení zemědělské půdy stanoveny ve Vyhlášce č. 273/2021 Sb., o podrobnostech nakládání s odpady (Zákon č. 541/2020 Sb., o odpadech) [56]. V případě organických polutantů se jedná o halogenované organické sloučeniny (AOX) s mezním limitem $500 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ sušiny, polychlorované bifenylly (PCB, suma 7 kongenerů – 28, 52, 101, 118, 138, 153, 180) s mezním limitem $0,6 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ sušiny a PAU (suma 12 PAU – anthracenu, benzo[a]anthracenu, benzo[b]anthracenu, benzo[k]fluoranthenu, benzo[a]pyrenu, benzo[ghi]perylenu, fenantrenu, fluoranthenu, chrysenu, indeno[1,2,3-cd]pyrenu, naftalenu a pyrenu) s mezním limitem $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ sušiny. Zástupci mikropolutantů ve zmiňovaném dokumentu prozatím chybí.

2.2 Zástupci emergentních mikropolutantů a jejich vliv na organismy

2.2.1 Farmaka a produkty osobní péče (PPCP)

Skupina farmak a produktů osobní péče (PPCP, anglicky pharmaceuticals and personal care products) zahrnuje velké množství látek různorodých vlastností. Jak název napovídá, patří sem jak léčiva a jejich rezidua, tak látky obsažené v produktech používaných v každodenním životě, například v kosmetice, mýdlech, šampónech, zubních pastách, deodorantech nebo v čisticích prostředcích [57]. Kvůli vysokému nadužívání PPCP a jejich následné, v podstatě neustálé, introdukci do životního prostředí je v nízkých koncentracích můžeme najít v různých složkách životního prostředí – ve vodě, sedimentu, půdě i biotě [58].

Léčiva a některé látky ze skupiny produktů osobní péče jsou biologicky aktivní a do těla jsou podávány za účelem interakce se specifickými procesy a metabolickými dráhami. Z organismu jsou tyto aktivní látky buď vyloučeny v nezměněné podobě nebo mohou být metabolizovány, přičemž toxicita dané látky může s přeměnou na metabolit klesat nebo stoupat. V čistírnách odpadních vod je jejich odstranění zpravidla obtížné, a to kvůli jejich různorodé povaze [59]. Přestože většina těchto látek není svou podstatou perzistentní, jejich nepřetržité zavádění do životního prostředí, a tedy neustálá expozice organismů z nich dělá „pseudo-perzistentní“ látky [60]. U exponovaných necílových organismů se tedy může projevit efekt biologicky aktivní látky. Pokud je organismus vystaven směsi PPCP, může také dojít k synergickému efektu (takzvané potenciaci nebo také koktejlovému efektu), kdy směs dvou a více látek působí mnohem větší účinek, než by byl součet účinků každé jednotlivé látky. Mnoho látek ze skupiny PPCP může narušovat hormonální systém a lze je tedy řadit mezi ED. Je to například antimikrobiální látka triklosan, syntetické pižmo galaxolid, protizánětlivá léčiva ibuprofen a diklofenak, antibiotika penicilin a tetracyklin nebo antidepresivum fluoxetin. ED různými mechanismy narušují hormonální systém; konkrétněji se jim věnuje kapitola 2.2.2 níže. Dalším negativním dopadem užívání PPCP, konkrétně antibiotik, je antibiotická rezistence [61].

2.2.2 Endokrinní disruptory (ED)

Jak již z názvu vyplývá, endokrinní disruptory (ED, anglicky endocrine disruptors) jsou látky narušující hormonální systém [62]. Jedná se o exogenní látky nebo jejich směsi, jež interagují s endokrinním receptorem a tento receptor následně aktivují nebo inhibují. Mohou také narušovat syntézu či degradaci hormonů, čímž může docházet k narušení homeostázy, vývoje, reprodukce a/nebo chování organismu. Skupina ED zahrnuje velké množství různorodých látek. Patří sem jak látky přírodní (hormony 17β -estradiol, estron nebo estriol), tak látky syntetické (PPCP: triklosan, 17α -ethinylestradiol, galaxolid; látky užívané při výrobě plastů: ftaláty, nonylfenol, bisfenol A; některé bromované zpomalovače hoření, polychlorované bifenoly, dioxiny, pesticidy, PFAS a mnoho dalších).

ED způsobují reprodukční toxicitu (snížení plodnosti, vrozené vady reprodukčních orgánů, rakovinu prsu/varlat/endometria, změnu poměru narozených samců a samic), thyroidní toxicitu (poruchy metabolismu), mohou narušovat insulinovou dráhu a diskutuje se o mnoho dalších nežádoucích účincích na organismy [63].

2.2.3 Pesticidy

Pesticidy jsou chemikálie používané k eliminaci škůdců nebo k prevenci před jejich výskytem za účelem ochrany plodin [64]. Na základě škůdců, které likvidují, lze pesticidy rozdělit do těchto podskupin: herbicidy, insekticidy, fungicidy, algicidy, baktericidy, rodenticidy a další. Podle statistik je účinné pouze 1 % aplikovaných pesticidů, zbývajících 99 % končí necíleně v prostředí – půdě, vodě, atmosféře nebo organismech a způsobuje znečištění [65]. Nadměrné používání pesticidů může také ovlivnit nutriční rovnováhu, což má za následek snížení kapacity výnosu plodin [66]. Dle jejich chemické struktury rozdělujeme pesticidy do tří hlavních skupin, a to na organochlorované, organofosforové a na karbamáty [67]. Organochlorované pesticidy jsou zpravidla insekticidy a některé látky z této skupiny byly v mnohých zemích kvůli svým toxickým účinkům zakázány (například dichlorodifenyltrichloroethan – DDT, lindan, aldrin nebo chlordan. Skupina organofosforových pesticidů obsahuje například látky chlorpyrifos, fenitrothion nebo parathion. Svými účinky tyto insekticidy zvyšují výnosy plodin, v posledních letech se tedy rapidně zvyšuje jejich potřeba. Karbamáty jsou sloučeniny odvozené od kyseliny karbamové. Do této skupiny řadíme například insekticidy karbofuran, aldikarb nebo karbaryl.

Pesticidy mají různé toxické účinky, a to podle aktivní skupiny, kterou obsahují [66]. Dusičnany například snižují schopnost organismů přijímat kyslík blokováním hemoglobinu a organofosfáty inaktivují acetylcholinesterasu a nervový systém. Některé pesticidy navíc působí jako ED.

2.2.4 Per- a polyfluorované látky (PFAS)

Per- a polyfluorované látky (PFAS, anglicky per- and polyfluoroalkyl substances) jsou syntetické látky používané v nejrůznějších aplikacích za účelem využití jejich specifických vlastností. Je to především chemická a tepelná inertnost, amfifilita, vysoká hustota, nízké povrchové napětí a nízká dielektrická konstanta [68,69]. PFAS byly/jsou využívány jako surfaktanty v emulzích, jako odpuzovače vody v nepromastitelném papíru, běžkařských voscích, v hasicích pěnách či impregnacích nebo v teflonovém nádobí. Jejich vysoká chemická a tepelná odolnost však komplikuje či zabraňuje jejich (bio)degradaci, a tak se tyto látky, z toho důvodu často nazývané „věčné chemikálie“, kumulují v životním prostředí. Mezi nejznámější PFAS patří PFOS a PFOA.

Někteří zástupci PFAS se taktéž řadí do skupiny ED. V literatuře jsou dále zmiňovány jejich karcinogenní účinky, imunotoxicita či narušování metabolismu lipidů [70,71].

2.2.5 Nano- a mikročástice kovů a polymerů

Mezi nově se objevující formy znečištění patří i nano- a mikročástice kovů a polymerů. Nano- a mikročástice jsou pevné částice velikosti 10–1000 nm, respektive 1–1000 μm [72]. Mikročástice a zejména nanočástice mají díky své malé velikosti řadu unikátních chemických, fyzikálních, ale i biologických vlastností [73]. Patří mezi ně například velký specifický povrch, stabilita, reaktivita nebo optické a magnetické vlastnosti. Nanotechnologie se v posledních letech rapidně vyvíjí a nanomateriály se používají v nespočtu odvětví jako je například nanomedicína (tkáňové inženýrství, nanoléčiva a lékařská zařízení), kosmetika (složky opalovacích krémů), elektronika (nanočipy, polovodiče) nebo chemie (barvy, nátěry).

Ačkoliv se nanočástic vyrábí čím dál tím větší množství, jejich analýza v životním prostředí je velice obtížná a jejich toxicita pro organismy je často neznámá [74]. Nanočástice se mají tendenci bioakumulovat v játrech a slezině. Hlavními cestami do organismu je přijetí spolu s potravou nebo s vdechovaným vzduchem. Nanočástice mohou působit pneumotoxicky, způsobovat oxidační stres nebo se podílet na vzniku zánětu [75].

3 Remediační metody

Stejně jako chování látek v přírodě, i výběr metody pro jejich odstranění (remediaci) se liší v závislosti na povaze samotné látky a také její matrici. V případě mikropolutantů se v literatuře jako matrice často uvádí čistírenský kal nebo odpadní voda, protože jejich prostřednictvím se tyto látky mohou dostávat do životního prostředí [76]. Ačkoliv se metody odstranění polutantů z pevné a kapalné matrice odlišují, jejich princip je často podobný. Na základě povahy je můžeme rozdělit na metody fyzikálně-chemické a biologické [22].

3.1 Fyzikálně-chemické

Fyzikálně-chemické remediace zahrnují širokou škálu metod. Pro čištění vodné fáze se využívá například již zmíněná adsorpce, dále oxidace, ozonizace, (nano)filtrace, elektrodialýza a nebo reverzní osmóza [22,77,78]. Pro remediaci polutantů v pevné fázi, jako je čistírenský kal, sediment či půda, se používají metody založené na vymývání, volatilizaci či zahřívání (extrakce, termální desorpce, incinerace a pyrolýza) [79]. Dále se pak uplatňují chemické metody, jako je oxidace a redukce, dehalogenace a elektrokinetika [80].

3.2 Biologické

Nevýhodou fyzikálně-chemických remediačních metod je jejich vysoká cena a častá nutnost rekultivace půdy po její sanaci (remediace způsobí sekundární kontaminaci) [81]. Je tedy snaha implementovat jiné metody, které neškodí životnímu prostředí, jsou dobře přijímány veřejností a jsou méně finančně nákladné. Tyto metody jsou založeny na přirozené činnosti organismů a/nebo rostlin. Nejčastěji se jedná o mikroorganismy (bioremediace), dále se používají i houby (mykoremediace), rostliny (fytoremediace) nebo žížaly (vermioremediace) [82]. Mezi nevýhody biologických metod bychom mohli zahrnout delší čas remediací (v řádu měsíců až let) a případnou toxicitu substrátu pro použitý organismus, jež může průběh remediace zpomalit či úplně zastavit. Kontaminovaný materiál lze sanovat přímo v místě znečištění (*in situ*) či ho vytěžit, převést a dekontaminovat na jiném místě k tomu určeném (*ex situ*). Takováto manipulace zvyšuje nákladnost remediace, její výhodou je naproti tomu možnost monitorovat a kontrolovat její průběh. Při bioremediacích se uplatňují aerobní mikroorganismy (například *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Acinetobacter* a jiné), které využívají kontaminanty jako zdroj uhlíku a energie [83]. Často ale dochází ke kometabolismu, kdy mikroorganismus přemění kontaminant na základě podobné struktury s jeho přirozeným substrátem a tento kontaminant tedy není využit jako zdroj energie [84]. Při degradaci například vysoce chlorovaných látek se uplatňují anaerobní procesy (reduktivní dehalogenace). Bioremediaci lze provádět různými způsoby, hlavními technikami v případě pevných matric jsou: monitorovaná přirozená atenuace, podpořená bioremediace, bioaugmentace, bioventing, biopile, land farming, kompostování či bioreaktor [83,85]. Při čištění vody se uplatňuje podporovaná bioremediace (biostimulace), biosparging či bioslurping. Monitorovaná přirozená atenuace spočívá v dlouhodobém sledování lokality kontaminované snáze biodegradovatelnými polutanty [86]. K odstranění polutantů dochází přirozenými chemickými, fyzikálními i biologickými vlivy. Uplatňující procesy jsou například sorpce, biodegradace, ředění, chemická a fotochemická oxidace či volatilizace. Jak už název napovídá, technika podporované bioremediace (biostimulace) spočívá v podpoření funkce mikroorganismů již přítomných v místě znečištění. Obecně se mikroorganismům dodávají živiny (například dusík a fosfor), v saturované zóně lze dodávat kyslík [87]. Při bioaugmentaci se naopak do sanované lokality dodávají mikroorganismy schopné degradace dané látky. Bioventing spočívá ve vhánění vzduchu do nesaturované zóny nad vrstvou podzemní vody [88]. Spolu s vháněným vzduchem zónu opouští těkavé látky, jež mohou být jímány nad povrchem, a zároveň dojde k podpoře činnosti aerobních mikroorganismů. Biopile a land farming jsou příklady *ex situ* bioremediace [83,85]. Rozdíl je v uspořádání sanovaného materiálu, které je buď ve vrstvě v případě metody land farming, nebo na hromadě v případě biopile. V obou případech je materiál provzdušňován obracením či zaváděným vzduchem. Dále mohou být mikroorganismům dodávány nutrienty. Sanovaný materiál může být zavlažován, výluhy jsou jímány a v případě potřeby také sanovány. Kompostování je založeno na práci aerobní biomasy, kdy je sanovaný materiál smíchán

s kompostovacím substrátem a činností mikroorganismů dochází k zahřívání až na 70 °C [89]. V bioreaktoru je kal či půda *ex situ* smíchána s bioaktivními mikroorganismy, proces je dobře kontrolovatelný a vhodný i pro více rekalcitranční látky jako jsou například polycyklické aromatické uhlovodíky [90]. Jsou zde dosaženy optimální podmínky pro činnost mikroorganismů – vhodné pH, teplota či koncentrace substrátu. Biospargingem nazýváme techniku, při níž se do saturované zóny vhání vzduch nebo jiný plyn [91]. Stejně jako u bioventing se používá k sanaci těkavých látek a jako zdroj kyslíku pro saturovanou zónu. Bioslurping naproti tomu kombinuje metodu bioventingu s odsátím nemísitelné fáze kontaminantu z povrchu podzemní vody [92].

Mykoremediace jsou remediace, při kterých se k odstranění polutantů využívají houby [93–95]. Nejčastěji se mluví o houbách ligninolytických (houby bílé hniloby), mezi které řadíme například *Pleurotus ostreatus* (hlívu ústříčnou) či *Trametes versicolor* (outkovku pestrou). Tyto houby produkují extracelulární enzymy, jako je lakasa a peroxidasa, jež jsou schopny rozkládat látky se složitější strukturou, včetně aromatického jádra. Zmíněné enzymy jsou houbami používány k rozkladu ligninu, ale jejich nízká specifita umožňuje rozklad i jiných strukturálně podobných látek. Těmi jsou například PAU, PCB, chlorované fenoly, ale i pesticidy, ED či jiné mikropolutanty. Díky obsahu velkého množství funkčních skupin v buněčných stěnách jsou houby schopny fungovat jako biosorbent a vázat těžké kovy.

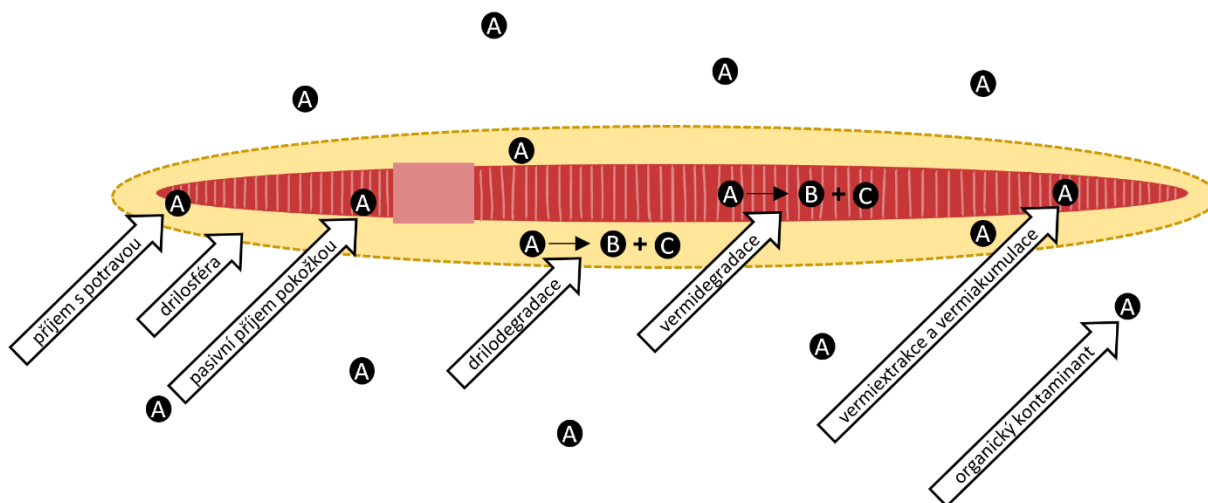
Při fytoremediaci dochází k sanaci pomocí rostlin [96]. Rostliny mohou sanovat oblast různými mechanismy – polutant může být přijat rostlinou a následně akumulován v těle rostliny (fytoextrakce a fytoakumulace), dále může být polutant přijat rostlinou a následně vyloučen v imobilizované formě (fytostabilizace a fytoimobilizace) nebo může být polutant degradován, a to buď v těle rostliny (fytodegradace) nebo v prostoru okolo kořenů nazývaném rhizosféra, který rostliny ovlivňují vylučováním kořenových exsudátů (rhizodegradace). Jako poslední z technik lze zmínit fytovolatilizaci, při které je rostlinou vylučován těkavý produkt transformace polutantu. Fytoremediace se ukázala být účinnou zejména pokud jde o akumulaci těžkých kovů [97]. Užívanými rostlinami, tzv. hyperakumulátory, nejčastěji jsou: *Helianthus annuus* (slunečnice roční), *Salix viminalis* (vrba košíkářská), *Populus nigra* (topol černý) nebo *Panicum miliaceum* (proso seté) [98].

3.2.1 Vermikompostování a vermiremediace

Vermikompostování je proces, při kterém dochází k rozkladu organické hmoty společnou činností žížal a mikroorganismů [99]. Žížaly hmotu rozmělní na menší částice, homogenizují ji a zároveň ji provzdušňují, což ji dělá přístupnější pro mikroorganismy. Nad to jsou žížalí exkrementy obohaceny o střevní bakterie. Slizovité výměšky žížal také vytvářejí prostředí s optimální vlhkostí, teplotou a obsahem lehce asimilovatelného uhlíku, čímž podporují mikrobiální aktivitu [100]. Oblast s těmito unikátními vlastnostmi, ovlivněná činností žížal, se nazývá drilosféra. Efekt žížal může být ale dočasný (v řádu hodin–dnů), po vyschnutí chodbiček zvýšená aktivita mikroorganismů ustává a může

být dokonce nižší než v oblastech mimo drilosféru. Finální produkt, vermikompost, se od výchozího produktu liší v biologických i fyzikálně-chemických vlastnostech. Vyznačuje se zrnitou pórovitou konzistencí s velkým specifickým povrchem, sníženým poměrem uhlík/dusík (C/N), vysokým obsahem huminových látek, dostupných makro- a mikronutrientů a organických kyselin pro rostliny, vysokou mikrobiální aktivitou [99,101]. Z těchto důvodů se vermikompost používá jako aditivum do půdy pro zlepšení jejích vlastností. Metoda vermikompostování je využívána ke zpracování nejrozličnějších druhů organických odpadů, jako je čistírenský kal [102,103], mrva [104,105] či odpad ze zpracování zeleniny, ovoce a dalších plodin [106–109]. V některých studiích je před vermikompostováním substrát ještě kompostován [109,110]. Spojení těchto technik přináší hned několik výhod [111] (Publikace 1). Při kompostování dochází k velkému zahřívání substrátu, které je žádoucí pro odstranění patogenů, pro žížaly jsou ale tyto teploty smrtelné. Po termofilní fázi kompostování se tedy kompost může nechat v mohutnější vrstvě, jež se už nezahřívá a může být osídlena žížalami, které kompost provzdušní a svou činností urychlí jeho zpracování.

Pokud je technika vermikompostování použita k remediaci polutantů, mluvíme o takzvané vermiremediaci [112]. Na té se může podílet mnoho procesů, jež jsou znázorněny na Obrázku 2. Příjem polutantu žížalou a jeho následnou akumulaci nazýváme vermieuxtrakcí, respektive vermiakumulací. Polutant se může do těla žížaly dostat dvěma způsoby, a to buď aktivně spolu s potravou nebo pasivně přes stěnu pokožky. Přes stěnu pokožky látky rozpuštěné v půdní vodě nebo slabě sorbované na substrát prostupují ve směru snižujícího se chemického potenciálu. Látky přijímány spolu s potravou se dostávají do trávicího traktu a jsou distribuovány do tkání žížaly. Způsob vstupu polutantu závisí na mnoha faktorech, u hydrofobních látek s log K_{ow} vyšším než 5 by například měla převažovat varianta příjmu spolu s potravou [113,114]. Translokace polutantu do tkání uvnitř žížaly zatím nebyla velice prozkoumána, autoři ve studiích prozatím rozdělovali žížalu na tři části – část před opaskem, opasek a část za opaskem, dále pak na tkáň pokožky a střeva [115]. Pokud dojde k degradaci polutantu ve drilosféře, mluvíme o drilodegradaci [112]. Pokud k transformaci nebo degradaci polutantu dojde v těle žížaly, mluvíme o vermitransformaci či vermidegradaci. Na té se mohou podílet enzymy, například cytochrom P450 nebo peroxidasy či mikroorganismy přirozeně přítomné ve střevě žížaly. Stejně jako v tělech ostatních eukaryot, i v případě žížal probíhá detoxifikace ve dvou krocích [116]. V prvním kroku dochází k zavedení polárních funkčních skupin (například -OH, -SH nebo -NH₂) do molekuly pomocí již zmiňovaného cytochromu P450. Ve druhém kroku je molekula konjugována s tělu-vlastní velice polární látkou (například glutathion či kyselina glukuronová) a tento polární konjugát je poté vyloučen z těla.



Obrázek 2: Procesy probíhající v žížale a v její blízkosti při vermiremediaci substrátu kontaminovaného organickým polutantem. Přepracováno dle autorů Shi *et al.* (2020) [112]. A – organický kontaminant; B, C – produkty degradace organického kontaminantu A.

Žížaly používané pro vermikompostování a vermiremediace

Již v roce 1977 rozdělil Bouché žížaly (*Lumbricidae*) na tři různé kategorie dle jejich způsobu života – epigeické, endogeické a anektické [117]. Epigeické druhy žijí převážně v humusové vrstvě při půdním povrchu. Živí se tedy organickou hmotou. Je pro ně charakteristický menší vzrůst a červeno-růžové zbarvení pokožky. Mají krátký reprodukční cyklus a jsou krátkověké. Endogeické žížaly se pohybují horizontálně v hloubce několika desítek centimetrů, kde konzumují taktéž organickou hmotu, která může být vázána na půdní částice. Jsou bez pigmentace a menšího vzrůstu. Anektické žížaly se v půdě pohybují vertikálně, a to do hloubky až několika metrů. Živí se stejně jako žížaly endogeické, při nedostatku potravy vylézají na povrch a zanáší organickou hmotu do půdy. Zástupci této skupiny jsou největšího vzrůstu, jejich zbarvení je tmavší na přední části těla před opaskem než na zadní části těla za opaskem, aby se skryly při vylézání na povrch za potravou.

Při procesu vermikompostování a při vermiremediacích se využívají téměř výhradně žížaly epigeické [99]. Ty se vyznačují již zmíněným krátkým reprodukčním a životním cyklem, dále pak přirozenou schopností kolonizovat organickou hmotu a rychle ji rozkládat a v neposlední řadě značnou odolností vůči změnám podmínek prostředí (široký rozsah vlhkosti, teploty a pH). Nejvíce využívanými z žížal mírného pásu jsou *Eisenia fetida* (Savigny 1826) a *Eisenia andrei* (Bouché 1972), jejichž vzhled zachycuje Obrázek 3. Za optimálních podmínek je délka jejich životního cyklu od kokonu do dalšího jedince schopného vytvořit kokon 45–51 dnů. Průměrná délka jejich života je 594 dnů při 28 °C. Optimální teplota substrátu je kolem 25 °C, optimální pH kolem 5 a vlhkost cca 85 %. *E. fetida* (žížala hnojní) má mezi jednotlivými segmenty (články) světlé zbarvení, *E. andrei* (žížala kalifornská) je oproti tomu celá tmavě červeně zbarvena [118]. Svými vlastnostmi si jsou tyto dva druhy velice podobné, ale

E. andrei má kratší životní cyklus a dokáže tedy vyprodukovat kokony o něco rychleji [119]. Dříve byly oba tyto druhy chybně shodně nazývány *E. fetida*, autoři Domínguez *et al.* (2005) ve své studii ale dokázali, že jsou to dva odlišné druhy, jež nejsou schopny po křížení produkovat životaschopné jedince [120]. Dalšími zástupci epigeických žížal jsou pak například *Dendrodrilus rubidus* (Savigny 1826), *Dendrobaena veneta* (Rosa 1882), *Lumbricus rubellus* (Hoffmeister 1843) nebo *Drawida nepalensis* (Michaelsen 1907) [118]. K vermikompostování v tropických oblastech, jako je Afrika či jižní Asie, se používají žížaly, jež preferují teploty kolem 25–30 °C a vysoký stupeň vlhkosti. Je to například *Eudrilus eugeniae* (Kinberg 1867), *Perionyx excavatus* (Perrier 1872) nebo *Polypheretima elongata* (Perrier 1872).



Obrázek 3: Vzhled žížal *Eisenia fetida* (vlevo) a *Eisenia andrei* (vpravo). Převzato z publikace autora Domínguez (2023) [121].

4 Toxikologické testy na žížalách

Žížaly tvoří většinu půdní biomasy a jsou klíčovými organismy podílejícími se na vytváření půdní struktury a zachování její funkce [122]. Svou činností ovlivňují složení přítomných mikroorganismů a organické hmoty, ale i růst rostlin. Proto se často používají jako půdní indikátorové/modelové organismy při ekotoxikologických testováních, a to nejen při aplikacích čistírenských kalů na zemědělskou půdu [123,124]. Stejně jako při vermikompostování a vermiremediacích se pro účely ekotoxikologického testování používají žížaly *Eisenia*.

Ekotoxikologické testy lze rozdělit na (sub)akutní a (sub)chronické a na klasické (konzervativní) či testy na tkáňové/buněčné úrovni. Akutní testy se vyznačují vysokou dávkou polutantu podanou zpravidla jednorázově [125]. Organismus je látce vystaven kratší čas – do 24 hodin. Po expozici by měl být organismus pozorován nejméně 14 dní, při přetrvávání příznaků déle. Na základě počtu mrtvých jedinců lze vypočítat hodnotu LD50 (letální dávka 50, anglicky lethal dose 50), která vyjadřuje dávku látky, po jejímž podání zahynulo 50 % vystavených jedinců. Dlouhodobé toxikologické testy se dělí na

subakutní, subchronické a chronické. Subakutní toxikologické testy se provádí jako kontrolní experiment před chronickým testováním ke zjištění vhodného rozsahu podávaných dávek. Jejich cílem je tedy zjistit reakci organismu na rozsah dávek a předejít nutnosti opakovat chronický toxikologický experiment kvůli úhynu zkoumaných organismů. Tyto testy trvají kolem 28 dnů. Testy chronické se od subakutních liší hlavně délkou trvání. Subchronické testy trvají zpravidla 28–90 dní, chronické pak déle (více než 90 dní). Delší toxikologické studie se provádí ke zjištění toxikologických efektů, jež vyžadují delší dobu expozice danou látkou. Na základě výsledků testů chronické toxicity lze také určit hodnotu NOAEL (žádný pozorovatelný nepříznivý účinek, anglicky no observed adverse effect level), jež určuje nejvyšší dávku, při níž nebyl pozorován žádný nepříznivý účinek na zkoumaný organismus.

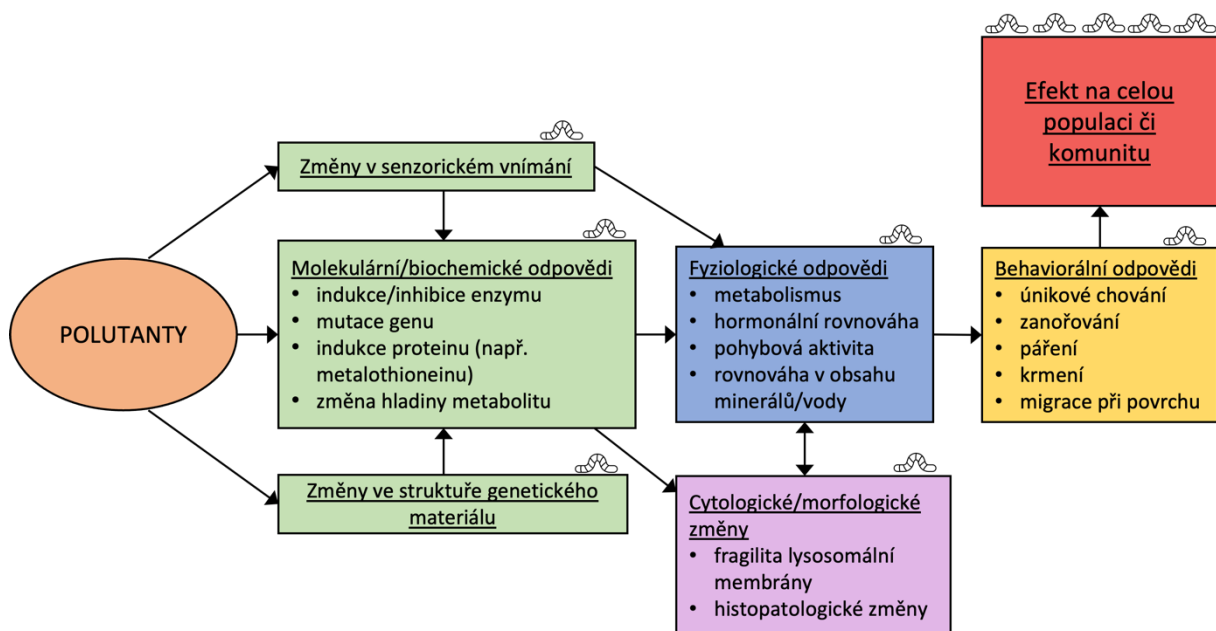
4.1 Klasické (konvenční) testy toxicity na žížalách

Klasickými, konvenčními nebo standardními se rozumí ty testy toxicity, jež se provádí především na úrovni jedinců a kultur [126]. Tyto testy, občas nazývané testy první generace, zkoumají předně akutní toxicitu a jsou standardizovány. Mezi nejrozšířenější standardizované testy patří normy ISO (Mezinárodní organizace pro normalizaci, anglicky International Organization for Standardization) a OECD (Organizace pro hospodářskou spolupráci a rozvoj, anglicky Organisation for European Economic Co-operation and Development). I v těchto normách se na základě jejich vlastností používá především žížala *Eisenia* (nejčastěji *fetida*), v některých případech je popsána metodika testu i pro jiné druhy, jako je *Dendrodrilus rubidus* nebo *Aporrectodea caliginosa*. Jedná se například o metodiky ISO: ISO 11268-1 řešící akutní toxicitu [127], ISO 11268-2 řešící vliv na reprodukci [128], ISO 11268-3 řešící účinky v terénních podmínkách [129] nebo ISO 17512-1 řešící testy únikového chování [130] a dále o metodiky OECD: OECD 222 řešící vliv na reprodukci a jiné subletální účinky [131] nebo OECD 207 řešící akutní toxicitu [132]. Pozorovanými znaky u těchto klasických testů jsou tedy zejména mortalita, reprodukce (počet mladých žížal a produkovaných kokonů), změna chování, morfologické změny, únikové chování a hmotnost organismů. Standardizované testy se vyznačují jejich rychlostí, jednoduchostí a nízkou cenou [133]. Často ale nezohledňují problematiku nízkých koncentrací sledovaných látek v přírodě, jejich dlouhodobou subakutní expozici, jejich společný (takzvaný koktejlový) toxický efekt a proměnlivé environmentální faktory ovlivňující jejich toxicitu.

4.2 Žížalí biomarkery

Obecně se testy toxicity na tkáňové, buněčné a molekulární úrovni čím dál tím častěji zahrnují do toxikologických studií za účelem objasnění subletálního toxického účinku látky na daný organismus [134]. Cílem je určit a popsat biomarkery vhodné k včasné identifikaci onemocnění a předejít tak

závažnějšímu toxickému účinku [135]. Biomarkery také mohou odrážet množství a biodostupnost toxické látky, tedy takzvané biodostupné frakce, které je organismus vystaven [136]. Biomarker by měl korelovat s množstvím přítomné toxické látky při stabilních experimentálních podmínkách [133]. Mezi biomarkery řadíme jak odpovědi organismu na specifický kontaminant (například metalothionein, jehož produkce je indukována přítomností kovů), tak odpovědi značící expozici nespécifickému polutantu, jež se projevuje například zvýšeným oxidativním stresem a může dále vést k závažným stavům (například poruchám imunitního systému, růstu a reprodukce) [137]. Většinou se jedná o biomarkery nespécifické [138]. Biomarkery můžeme sledovat na úrovni sub-buněčné, buněčné, tkáňové i na úrovni celého organismu. Řadu biologických odpovědí žízála na polutant v časové následnosti schematicky ukazuje Obrázek 4.



Obrázek 4: Schéma projevů toxicity (biologických odpovědí) žízála po vystavení polutantu. Přepřacováno dle autorů Sanchez-Hernandez *et al.* (2006) [133].

Jeden konkrétní biomarker může být sledován v homogenátu celé žízály, její části nebo například v žízálních buňkách [139]. Žízální buňky coelomocyty se vyskytují volně v tělní dutině žízála a účastní se obranných imunitních procesů, jako je například fagocytosa [140]. Jejich extrakci lze provést neinvazivně a jejich následná analýza přispívá informacemi o imunotoxicitě a cytotoxicitě látek [139].

Recentní studie se zaměřují na biomarkery enzymové aktivity, genové exprese či poškození DNA, proteinů a lipidů. Tyto studie často sledují větší množství různých biomarkerů najednou za účelem postihnout co nejvíce toxikologických efektů kontaminantu [141]. Nelze také opomenout analýzy metabolomu, jež mohou poskytnout velice rozsáhlé a citlivé informace o toxickém vlivu látek [142].

Tabulka 1 zahrnuje přehled žízálich biomarkerů – jaký stav může daný biomarker signalizovat a příklady studií, ve kterých byl tento biomarker sledován.

Tabulka 1: Přehled žízálich biomarkerů a jejich indikace.

Druh Biomarkeru	Biomarker (zkratka)	Indikace, signalizace	Příklady použití v literatuře
Enzymový	Acetylcholinesterasa (AChE)	Neurotoxická, expozice pesticidům, detoxikace	[143–145]
	Karboxylesterasa (CE)	Neurotoxická, expozice pesticidům, detoxikace	[146–148]
	Katalasa (CAT)	Oxidativní stres, antioxidant – fáze 1 detoxikace	[149–151]
	Superoxiddismutasa (SOD)	Oxidativní stres, antioxidant – fáze 1 detoxikace	[152–154]
	Glutathion peroxidasa (GPX)	Oxidativní stres, antioxidant – fáze 1 detoxikace	[155–157]
	Guajakol peroxidasa (POD)	Oxidativní stres, antioxidant – fáze 1 detoxikace	[158–160]
	Glutathion S-transferasa (GST)	Oxidativní stres, antioxidant – fáze 2 detoxikace	[161–163]
	Glutathion reductasa (GR)	Oxidativní stres, antioxidant – fáze 2 detoxikace	[164–166]
Molekulární	Protein teplotního šoku (Hsp)	Stres (různého původu, například teplotní)	[167,168]
	Malondialdehyd (MDA)	Oxidativní stres – peroxidace lipidů	[169–171]
	Karboonylovaný protein (PC)	Oxidativní stres – oxidace proteinů	[172–174]
	Poškozená DNA	Genotoxicita	[175–177]
	Metalothionein (MT)	Expozice kovům	[168,178,179]
	Metabolomická analýza	Různé	[180–182]
Buněčný	Retence neutrální červeně (NRRT)	Cytotoxicita – viabilita	[183–185]
	Eseje s fluorescenčními sondami na průtokovém cytometru	Cytotoxicita – viabilita, apoptosa, fagocytosa, nekrosa, oxidativní stres a další	[186–188]
	Koncentrace riboflavinu v eleocytech	Cytotoxicita	[189–191]
	Počet coelomocytů, jejich hustota	Cytotoxicita	[151,192,193]
	Genová exprese	Specifický biomarker – mRNA (SOD, Hsp, MT a další)	[187,194,195]
Tkáňový	Histopatologické změny tkáně	Disrupce tkáně	[196–198]
Behaviorální	Únikové chování	Nespecifická toxicita	[199–201]
	Reprodukce	Reprodukční toxicita	[141,150,202]
	Vytváření dutin (hloubka zanořování)	Nespecifická toxicita	[203–205]

5 Vermistabilizace čistírenského kalu

Techniky vermikompostování a vermiremediace popsané v kapitole 3.2.1 lze využít ke stabilizaci čistírenského kalu a tento proces se označuje jako vermistabilizace [206]. Ideálním produktem vermistabilizace čistírenského kalu je nezapáchající homogenní materiál s vyšší zrnitostí, vyšším obsahem huminových látek, aktivní mikrobiotou, snadno dostupnými mikro- a makroprvky a nižším obsahem patogenů a polutantů, než byl výchozí materiál. Je tedy bezpečné a žádoucí ho použít jako hnojivo na zemědělskou půdu. Některé čistírenské kaly jsou ale pro tuto metodu stabilizace nevhodné, jelikož mohou být pro žížaly toxické nebo obsahovat celou řadu látek, z nichž některé nejsou pomocí vermistabilizace odbouratelné [123,207].

5.1 Toxický vliv čistírenského kalu na žížaly

Toxicita čistírenského kalu může mít různý původ, protože se jedná o materiál různorodých vlastností s širokým spektrem obsažených látek a patogenů [207]. Toxický efekt na žížaly může mít například vysoká koncentrace amoniakálního dusíku [99], již zmíněných patogenů [208] a/nebo těžkých kovů [209]. Hlavní roli v toxicitě čistírenského kalu hraje tedy jeho původ [209] a jeho úprava v ČOV [206]. Autoři Masciandaro *et al.* (2002) zaznamenali únikové chování u žížal *E. fetida* při zvýšení obsahu anaerobně upraveného čistírenského kalu ve směsi s půdou [210]. Přisuzovali to nedostatku kyslíku či přítomnosti toxických látek vzniklých anaerobními procesy. Vermistabilizace byla aplikována i na primární čistírenské kaly, jež neprošly sekundárním biologickým procesem čištění v ČOV [206,211]. Tyto kaly je ovšem záhodno nejlépe předkompostovat či/a smíchat s plnidlem, aby bylo zamezeno toxickému vlivu na žížaly. Čistírenské kaly silně kontaminované těžkými kovy obecně nejsou považovány za bezpečné z hlediska aplikace na zemědělskou půdu, a to ani po vermistabilizaci [103] (Publikace 4). Žížaly sice jsou schopny bioakumulace těžkých kovů, ale po jejich úmrtí a rozkladu se těžké kovy opět stávají součástí substrátu. Některé studie ovšem uvádí, že žížaly jsou schopny snížit biodostupnost a mobilitu těžkých kovů jejich inkorporací do organických komplexů, například s huminovými látkami [212]. Autoři Natal-da-Luz *et al.* (2009) porovnávali toxicitu tří různých čistírenských kalů na žížale *E. andrei* [209]. Zatímco kal pocházející z městské ČOV a kal pocházející z ČOV olivové výroby neměly na žížaly toxický vliv, kal pocházející z ČOV galvanovny obsahující vysoké koncentrace kovů zapříčinil únikové chování žížal a měl vliv na jejich reprodukci (nižší počet mláďat oproti kontrole). Autoři Urionabarrenetxea *et al.* (2022) zaznamenali narušení viability a snížení počtu coelomocytů žížaly *E. fetida* po expozici skládkovaným čistírenským kalem [193]. V další studii pak autoři Babić *et al.* (2016) pozorovali oxidativní stres u žížaly *E. fetida* po expozici čistírenským kalem pocházejícím z městské ČOV [123]. Dále bylo pozorováno poškození a ztenčení žížalí pokožky. Autoři Rorat *et al.* (2013) zkoumali vliv komunálního čistírenského kalu na životaschopnost, reprodukci

a imunitní systém žížaly *D. veneta* [192]. V uspořádáních s 0 % a 50 % čistírenského kalu (smíchaném s půdou) došlo u žížal k inhibici reprodukce. Naproti tomu, v uspořádáních s 25 % čistírenského kalu došlo k podpoření reprodukce, nárůstu váhy žížal a také zvýšení počtu žížalích buněk coelomocytů. Biomasa žížal *E. fetida* stoupala v uspořádáních s čistírenským kalem ve studii autorů Roques *et al.* (2023), v níž byla provedena simulace přidávání čistírenského kalu na zemědělskou půdu jako hnojiva [213]. Nejvyšší nárůst žížalí biomasy byl pozorován v uspořádání s 20 g·kg⁻¹ suché váhy kalu. V uspořádání s nejvyšším množstvím přidaného kalu (50 g·kg⁻¹ suché váhy) byla autory zaznamenána vyšší mortalita oproti uspořádáním s nižšími koncentracemi kalu a nebyla zde nalezena žádná žížalí mláďata. Tyto studie tedy ukazují, že nižší procento přidaného kalu (na rozdíl od vyššího) může pozitivně ovlivnit růst a reprodukci žížal.

Toxický efekt čistírenského kalu na žížaly lze zmírnit jeho předúpravou před vermistabilizací. Jde například o předkompostování, při kterém proběhne termická fáze, jež má destruktivní vliv na patogeny a také při ní mohou vytekat toxické volatilní látky jako je amoniak a methan [111] (Publikace 1). Další možností je smíchat čistírenský kal před vermikompostováním s plnidlem/aditivem (v angličtině bulking agent) [214]. Jako plnidlo se používá například sláma, papír, kartón, tráva, piliny, jehličí, potravinový odpad, chlévský hnůj nebo samotný zralý vermikompost [214–217]. Plnidlo nejenom že čistírenský kal ředí, má také vliv na poměr C/N, vlhkost, provzdušnění, a tedy i vlastnosti vzniklého materiálu [218]. Autoři některých studií přidávají jako aditivum biochar, popílek nebo například fosfátovou horninu, jež fungují jako adsorbenty pro toxické látky, a tedy snižují toxicitu čistírenského kalu [219–222]. Další možností, jak zamezit toxickému vlivu čistírenského kalu na žížaly, je vlastní uspořádání vermikompostéru, ve kterém proces probíhá. Řešením může být oddělené umístění žížal (žížalího substrátu) a substrátu s čistírenským kalem, kdy mohou žížaly mezi těmito dvěma materiály volně migrovat. Takový koncept je v literatuře nazýván „wedge“ systém [103,223].

5.2 Vliv žížal na mikroorganismy

Přítomnost žížal a jejich druh, druh substrátu a podmínky vermikompostování jsou faktory mající značný vliv na sukcesi přítomných mikroorganismů [224,225]. Publikované práce zabývající se složením mikroorganismů v průběhu kompostování a vermikompostování se povětšinou shodují, že kompostování s žížalami sice vede k redukci populací mikroorganismů a jejich aktivity, naopak ale dochází k nárůstu jejich diverzity [226–228]. Autoři Domínguez *et al.* (2019) pozorovali a popsali změny v zastoupení i celkovém množství bakterií v průběhu vermikompostování rostliny janovce metlatého (*Cytisus scoparius*) s žížalou *E. andrei* [224]. Celková mikrobiální populace sledována jako bazální respirace kontinuálně klesala. Sukcese bakterií byla závislá na formě zdroje přítomného organického uhlíku v substrátu. Dle zastoupení bakterií v různých časových fázích vermikompostování

rozdělili autoři bakteriální sukcesi do tří skupin. První skupina bakterií je ta přítomná v substrátu před samotným začátkem vermikompostování (kopiotrofní bakterie, převážně kmen *Proteobacteria*, den 0). Druhá skupina bakterií se skládá z těch, jež prošly střevem žížal a byly následně vyloučeny (nárůst bakterií kmenu *Bacteroidetes*, kolem dne 14). Poslední třetí skupina bakterií je asociována s přítomností zbývající rekalcitrantnější části substrátu (oligotrofní bakterie, nárůst bakterií kmenu *Actinobacteria*, kolem dne 42). Kopiotrofní bakterie se vyskytují na místech s vysokou koncentrací lehce dostupného substrátu a mají tedy rychlejší kinetiku růstu. Po spotřebování jednoduše dostupného zdroje uhlíku nahrazují tyto bakterie oligotrofové, jež jsou schopni přežít v lokalitách s nedostatkem živin a rostou pomaleji [229]. Autoři Huang *et al.* (2013) vermikompostavali odpad ze zeleniny s pomocí žížaly *E. fetida* [230]. Výsledky autorů se shodují s výsledky předešlých studií, a sice že ačkoliv při vermikompostování počet mikroorganismů a jejich aktivita klesá, mikrobiální diverzita oproti kontrole bez žížal naopak roste. Zatímco v kontrole převažoval kmen *Firmicutes*, ve vermikompostu byly dominantní kmény *Bacteroidetes* a *Actinobacteria*. Autoři Gopal *et al.* (2017) vermikompostavali kokosové listy s pomocí žížaly *Eudrilus* [231]. V průběhu vermikompostování došlo k poklesu relativního zastoupení kmenů *Bacteroidetes* a *Proteobacteria*. V průběhu zrání vermikompostu relativní zastoupení těchto kmenů ovšem opět narůstalo. Kmen *Firmicutes* vykazoval nárůst v relativním zastoupení po celou dobu procesu vermikompostování, včetně období jeho zrání.

Výsledky studie zkoumající vermikompostování čistírenského kalu se ohledně zastoupení bakteriálních kmenů víceméně shodují s těmi popsanými výše na rostlinném materiálu, a sice že dominujícími kmény ve finálním vermikompostu jsou především *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* a *Verrucomicrobiota* [232]. Autoři dále uvádějí, že složení bakteriálních kmenů ve vermikompostovaném kalu je podobné tomu ve vermikompostu a zároveň se zásadně liší od toho v kalu před vermikompostováním. Autoři Lv *et al.* (2015) porovnávali změny v mikrobiomu při kompostování a vermikompostování (*E. fetida*) čistírenského kalu a chlévské mrvy, přičemž kompost a vermikompost se významně lišil v zastoupení bakterií [233]. Zatímco v kompostu převažoval kmen *Firmicutes* v termofilní fázi a *Actinobacteria* ve fázi zrání, u vermikompostu převažoval kmen *Proteobacteria*, a to v průběhu celého procesu. Vermikompost vykazoval obecně větší bakteriální diverzitu než samotné kompostování. U podobného experimentu pozorovali autoři Lv *et al.* (2018) kolem 20. dne nárůst bakteriální populace a aktivity ve vermikompostu [234]. Autoři to přisuzovali aktivitě žížal, jež vedla k fragmentaci organické hmoty a následně jednoduššímu příjmu bakteriemi. Autoři Yang *et al.* (2021) vermikompostavali odvodněný čistírenský kal s pomocí žížaly *E. fetida* a zjistili, že hlavními aktivními kmény bakterií ve vermikompostu jsou *Proteobacteria* a *Actinobacteria*, přičemž v kontrole bez žížal to byly kmény *Proteobacteria* a *Bacteroidetes* [235]. Autoři Huang *et al.* (2020) taktéž pozorovali vyšší podíl *Proteobacteria* ve vermikompostovaném čistírenském kalu (zastoupení 46 %) než v kontrole bez žížal (34 %) [236]. Autoři Duan *et al.* (2024) zaznamenali pokles bakteriální populace až o 93 % po vermikompostování čistírenského kalu (uspořádání 70 % kal a 30 % čínské byliny) [237].

5.3 Vermiremediace mikropolutantů v čistírenském kalu

Během procesu vermiremediace mikropolutantů v čistírenském kalu (či jiném organickém substrátu) se uplatňuje několik mechanismů [238]. Prvním mechanismem je příjem žížalou spolu s potravou a následná mineralizace v žížalím střevě za použití enzymů/přítomných mikroorganismů či příjem absorpcí skrz pokožku. Dalším mechanismem je degradace pomocí mikroorganismů, jež se nachází v substrátu anebo v biofilmu v okolí žížal (drilosféře). Činnost mikroorganismů je zde podpořena činností žížal. Posledním mechanismem je sorpce mikropolutantů na částice vermikompostu vzniklého činností žížal.

Literatura věnující se vermiremediaci mikropolutantů z čistírenských kalů byla shrnuta do Tabulky 2, do které byly pro přehlednost zahrnuty i Publikace 4–6. Ve studiích byl nejčastěji používán druh žížaly *Eisenia* a studie trvaly od 21 dnů do cca 155 dnů. Autoři zkoumali vermiremediace jednotlivých látek nebo rozsáhlé skupiny mikropolutantů. Autoři některých studií kalový substrát mikropolutantem dodatečně kontaminovali [239–241]. Některé studie byly provedeny *in situ* po předchozí jednorázové [242] či dlouhodobější [243] aplikaci čistírenských kalů na zemědělskou půdu, jiné v provozním měřítku [103]. Většina uvedených ale probíhala v laboratorním prostředí. Téměř všechny uvedené studie zkoumaly vermiaakumulaci a uváděly tedy bioakumulační faktory látek (BAF), transfer faktory (TF), biokoncentrační faktory (BCF), případně akumulaci faktory biota-půda (BSAF). BAF, TF a BCF byly počítány stejně, a to jako podíl koncentrace látky v žížalách a koncentrace látky v substrátu na konci experimentu. Ve výpočtu BSAF byly tyto koncentrace normalizovány na obsah lipidů v žížalách a obsah uhlíku v půdě. Ostatní studie pozorovaly změny koncentrace látek v substrátu [103]. V některých studiích byly koncentrace látek v kalovém substrátu pod detekčním limitem, nýbrž v tělech žížal bylo těchto látek nalezeno kvantifikovatelné množství [186,242,244]. Žížaly tedy v tomhle ohledu mohou plnit funkci tzv. pasivních vzorkovačů a svou schopností bioakumulace odhalit látky v substrátu, jež se tam pravděpodobně vyskytují, nýbrž pod limitem detekce vyhodnocovací metody. Problémem ale je, že u těchto látek není možné vypočítat hodnoty BAF.

Autoři Kinney *et al.* (2008) analyzovali přítomnost 77 indikátorů antropogenního znečištění (AWI, anglicky anthropogenic waste indicators) v žížalách *in situ* po jednorázové aplikaci komunálního čistírenského kalu na pole [242]. V žížalách bylo po 30 dnech nalezeno 25 látek, přičemž nejvíce byly akumulovány látky triklosan, cholesterol, indol nebo skatol. Tatáž výzkumná skupina sledovala tentokrát 59 AWI v půdě s přidavkem 0–4 % komunálního čistírenského kalu [244]. V žížalách bylo nalezeno 25 látek a nejvyšší BAF byl zaznamenán u látek *para*-kresol, methylsalicylát, bisfenol A a cholesterol. Autoři Rivier *et al.* (2019) zkoumali bioakumulaci a odstranění šesti organických kontaminantů z komunálního čistírenského kalu (tři druhy) žížalou *Aporrectodea caliginosa* [245]. Míra odstranění byla největší pro látku nonylfenol (nad 99,8 %) a signifikantní bioakumulace byla zaznamenána pro galaxolid a triklosan. Autoři Grasserová *et al.* (2024; Publikace 6)

zkoumali odstranění a případnou bioakumulaci 88 látek ze třídy PPCP, ED a PFAS v komunálním čistírenském kalu (dva druhy) smíchaném v různém poměru se slámou [186]. Ze substrátu byly oproti kontrole bez žížal signifikantně eliminovány látky diklofenak, metoprolol, telmisartan a triklosan. K největší bioakumulaci v žížalách došlo u látek kofein a diklofenak ze skupiny PPCP a PFOS, perfluorotridekanová kyselina (PFTrDA), perfluorododekanová kyselina (PFDoDA) a perfluoroundekanová kyselina (PFUnDA) ze skupiny PFAS. Autoři Innemanová *et al.* (2022; Publikace 4) sledovali vermiremediaci 35 látek ze skupiny PPCP a ED ve venkovním provozním experimentu s čistírenským kalem a slámou [103]. Úspěšnost odstranění se pohybovala nad 90 % pro látky acesulfam, equilin, equol, furosemid, hydrochlorothiazid, ibuprofen, sacharin, sulfamethazin a 17 β -estradiol. Vermiremediace 12 látek, taktéž ze směsi čistírenského kalu a slámy, byla sledována autory Dume *et al.* (2023; Publikace 5) [246]. Největší účinnost odstranění byla zaznamenána u triklosanu a mirtazapinu. BCF byl nejvyšší pro diklofenak, triklosan a kofein. Příjem látek triklosan, galaxolid a tonalid žížalami *D. veneta* byl studován autory Havránek *et al.* (2017) [247]. TF pro tyto látky byl 0,76 pro triklosan, 0,13 pro galaxolid a 0,024 pro tonalid. Autoři Chevillot *et al.* (2018) se zabývali vermiremediací triklosanu a jeho metabolitu methyltriklosanu [248]. Reportované hodnoty BAF pro triklosan byly cca 2, methyltriklosan byl pod detekčním limitem. Příjem triklosanu a tvorba jeho transformačního produktu methyltriklosanu byla zkoumána autory Chen *et al.* (2020) [249]. Autoři uvedli, že *E. fetida* bioakumulovala výrazně více triklosanu (BAF pod 11) než *Metaphire guillelmi* (BAF pod 0,6). Autoři Sherburne *et al.* (2016) studovali možný transfer triklosanu a triklokarbanu do žížal z půdy, jež byla v minulosti hnojena čistírenským kalem [243]. Autoři odhadli (žížalí střeva nebyla před analýzou vyprázdněna) hodnotu BSAF pro triklosan 67 a pro triklokarban 0,79. Autoři Pannu *et al.* (2011) studovali bioakumulaci triklosanu ve dvou různých půdách uměle kontaminovaných čistírenským kalem [240]. Zjistili, že bioakumulace je účinnější z půdy obsahující vysoký podíl jílu (BAF 12) než z půdy obsahující vysoký podíl písku (BAF 6,5). Pro žížaly žijící v půdě s předchozí jednorázovou aplikací čistírenského kalu byl zjištěn BAF triklosanu 4,3. Autoři Snyder *et al.* (2011) publikovali obdobnou studii, kde zjišťovali BAF ve třech druzích uměle kontaminovaných půd triklokarbanem s přídatkem čistírenského kalu [239]. Schopnost žížal bioakumulovat triklokarban klesala v řadě jílovitá půda (BAF 20), písčité půda (BAF 18) a uměle vytvořená půda (BAF 2,2). Autoři Sidhu *et al.* (2019) rovněž zkoumali bioakumulaci v uměle kontaminované směsi čistírenského kalu a půdy/písku, tentokrát se jednalo o antibiotika ciprofloxacin a azitromycin [241]. BAF pro ciprofloxacin se pohyboval mezi hodnotami 3,4–3,9, BAF pro azitromycin pak v rozmezí 6,3–7,6. Autoři taktéž uvedli i hodnoty BAF pro žížaly, u nichž nedošlo před analýzou k vyprázdnění střev. Tyto hodnoty byly násobně větší (rozmezí 16–21) a tudíž ukazují, jak je vyčištění střev žížal v tomto ohledu stěžejní. Autoři Wen *et al.* (2015) zkoumali bioakumulaci látek PFOS a PFOA v 7 různých půdách s předchozí aplikací čistírenského kalu. Hodnoty BAF byly pro PFOS v rozmezí 1.54–4.12 a pro PFOA 0,516–1,36. Čím vyšší byly koncentrace těchto dvou látek v půdě, tím nižší byly odpovídající hodnoty BAF. Bioakumulace PFAS a halogenovaných zpomalovačů hoření (HFR) v žížalách byla zkoumána autory

Navarro *et al.* (2016, 2017) [250,251]. V první uvedené studii byly BAF zjišťovány v matrici čtyř různých čistírenských kalů smíchaných s půdou. BAF PFAS byl v rozmezí od 2,2 pro PFOA do 198 pro PFDoDA. Rozmezí BAF pro polybromované difenylethery (PBDE) bylo 0,6–17 a pro chlorované zpomalovače hoření (CFR) 0,5–20. Druhá z uvedených studií zkoumala bioakumulaci v žížalách na uměle kontaminované půdě s přidavkem dvou různých čistírenských kalů po vysetí kukuřice seté. Obecně byly zaznamenány vyšší hodnoty BAF pro PFAS než pro PBDE. Nejvyšší BAF měl PFOS (6,09).

Tabulka 2: Vermiremediace mikropolutantů.

Skupina	Mikropolutant	Substrát	Druh žížaly	Délka expozice	Poznámky k vermiremediaci	Reference
Mikropolutanty	77 látek	Půda, čistírenský kal	Nespecifikováno	30 dnů, 155 dnů	Rozsah BAF látek nalezených v tělech žížal po 155 dnech byl od 0,05 pro galaxolid do 27 pro triklosan.	[242]
Mikropolutanty	59 látek	Půda, čistírenský kal	<i>E. fetida</i>	2 týdny, 8 týdnů	BAF pro látky <i>para</i> -kresol, methylsalicylát, bisfenol A a cholesterol byl vyšší než 100.	[244]
Mikropolutanty	6 látek	Půda, čistírenský kal	<i>Aporrectodea caliginosa</i>	96 dnů	BAF (TF) galaxolidu v žížalách byl 7–18, triklosanu 120–160.	[245]
PPCP, ED a PFAS	88 látek	Odvodněný kal, sláma	<i>E. andrei</i>	56 dnů	Signifikantní odstranění diklofenaku (90 %), metoprololu (88 %), telmisartanu (62 %) a triklosanu (81 %).	[186] (Publikace 6)
PPCP a ED	35 detekovaných látek	Odvodněný kal, sláma	<i>E. andrei</i>	9 měsíců	Nejvyšší účinnost odstranění (vyšší než 90 %) pro látky acesulfam, equilin, equol, furosemid, hydrochlorothiazid, ibuprofen, sacharin, sulfamethazin a 17 β -estradiol.	[103] (Publikace 4)
PPCP a ED	12 látek	Odvodněný kal, sláma	<i>E. andrei</i>	120 dnů	Nejvyšší účinnost odstranění pro triklosan (37 %) a mirtazapin (14 %).	[246] (Publikace 5)
PPCP a ED	Triklosan, galaxolid, tonalid	Půda, čistírenský kal	<i>D. veneta</i>	7 dnů	Nalezená koncentrace v žížalách byla následující: 2,6 \pm 0,6 mg·g ⁻¹ galaxolidu, 0,04 \pm 0,02 mg·g ⁻¹ tonalidu a 0,6 \pm 0,2 mg·g ⁻¹ triklosanu.	[247]
PPCP	Triklosan, methyl-triklosan	Půda, čistírenský kal	<i>E. andrei</i>	21 dnů	BAF triklosanu se pohyboval kolem hodnoty 2.	[248]
PPCP	Triklosan, methyl-triklosan	Půda, čistírenský kal	<i>Metaphire guillelmi</i> , <i>E. fetida</i>	14 dnů	BAF triklosanu byl až 11 pro <i>E. fetidu</i> a až 0,6 pro <i>M. guillelmi</i> .	[249]
PPCP	Triklokarban, triklosan	Půda, čistírenský kal	<i>Lumbricus</i>	- (kal na půdu aplikován předchozích 7 let)	Biota-půda akumulační faktor (BSAF) byl 0,79 pro triklokarban a 67 pro triklosan; BAF pro triklosan 15,9 (vše bez vyčištění střev žížal).	[243]
PPCP	Triklosan	Půda, čistírenský kal	<i>E. fetida</i>	28 dnů	BAF triklosanu v žížalách byl vyšší v hlinité půdě (12 \pm 3,1) než v písčité půdě (6,5 \pm 0,84).	[240]
PPCP	Triklokarban	Půda, písek, čistírenský kal	<i>E. fetida</i>	31 dnů	BAF triklokarbanu v uměle kontaminovaném substrátu byl 18 \pm 3,5 (písčítá půda), 20 \pm 2,1 (jílovitá půda) a 5,2 \pm 0,22 (uměle vytvořená půda).	[239]
PPCP	Ciprofloxacin, azitromycin	Půda, čistírenský kal	<i>E. fetida</i>	28 dnů	BAF pro ciprofloxacin se pohyboval kolem hodnoty 4, pro azitromycin kolem hodnoty 7.	[241]
PFAS	PFOS, PFOA	Půda, čistírenský kal	<i>E. fetida</i>	30 dnů	BAF pro PFOA (0,52–1,34) byl nižší než pro PFOS (1,54–4,12).	[252]
PFAS a HFR	49 látek	Půda, čistírenský kal	<i>E. andrei</i>	21 dnů	Průměrný BAF byl 2,2–198 pro PFAS, 0,6–17 pro PBDE a 0,5–20 pro CFR.	[250]
PFAS a HFR	49 látek	Půda, čistírenský kal	<i>E. andrei</i>	28 dnů	Vyšší BAF po PFAS (4,06 \pm 2,23) než pro PBDE (0,02 \pm 0,02).	[251]

6 Cíle disertační práce

Vermikompostování je jednou z bioremediačních technik, jež se v posledních letech jeví jako účinná metoda k úpravě kalů a eliminaci v nich obsažených polutantů. Hlavním cílem této disertační práce je tedy posoudit vliv vermikompostování na emergentní mikropolutanty obsažené v čistírenském kalu. Za účelem zaručení optimálních podmínek vermikompostování byl také testován toxický vliv čistírenského kalu na žížaly.

Dílčí cíle práce:

1. Optimalizace podmínek vermikompostování (vermikompostování s předkompostováním a vermikompostování substrátů různých vlastností) – Publikace 1 a 3.
2. Optimalizace testů cytotoxicity na žížalích buňkách coelomocytech s použitím průtokové cytometrie jako detekční metody – Publikace 2.
3. Posouzení vermiremediace mikropolutantů ze skupiny PPCP a ED v čistírenském kalu ve venkovních provozních vermikompostérech – Publikace 4.
4. Studium vermiremediace mikropolutantů ze skupiny PPCP, ED a PFAS z různých čistírenských kalů v laboratorních podmínkách (posouzena vermidegradace a vermiakumulace mikropolutantů) – Publikace 5 a 6.
5. Hodnocení (cyto)toxického vlivu čistírenských kalů na žížaly – Publikace 6.
6. Vliv žížal na přítomné mikroorganismy při procesu vermikompostování čistírenského kalu – Publikace 6.

7 Závěry

1. V Publikaci 1 byly popsány procesy kompostování a vermikompostování a byl vytvořen ucelený přehled publikací, ve kterých jsou obě tyto metody jdoucí po sobě využity k rozkladu organické hmoty a k eliminaci polutantů – především těžkých kovů a PAU. Zařazení procesu takzvaného předkompostování před vermikompostování má několik výhod. Při kompostování dochází k nárůstu teploty (až na 80 °C), při které dojde k usmrcení patogenů a vytěkání plynů toxických pro žížaly. Další výhodou je, že materiál se po proběhnutí termické fáze nezahřívá a vermikompostování tak může probíhat v mohutnější vrstvě.
2. Testy cytotoxicity na žízalích buňkách coelomocytech byly optimalizovány v Publikaci 2. Coelomocyty žížaly *Eisenia andrei* byly neinvazivně odebrány za využití extrakčního pufru a následně exponovány nanočásticemi nulamocného železa. Byly provedeny eseje s fluorescenčními sondami ke zjištění viability, produkce reaktivních forem kyslíku, apoptosy a nekrosy a schopnosti fagocytovat. Tyto testy byly dále použity ke zjištění cytotoxicity čistírenských kalů *in vivo* v Publikaci 6, kdy byly žížaly nejdříve exponovány čistírenským kalem a posléze byly buňky extrahovány a byly provedeny zmíněné eseje.
3. Publikace 3 se zabývala vermikompostováním kávové sedliny a jako plnidlo zde byly použity totožné slámové pelety jako v Publikacích 5 a 6. Nejvyšší počet a množství biomasy žížal *E. andrei* bylo pozorováno v uspořádání 25 % kávové sedliny a 75 % vlhčených slaměných pelet (objemová procenta). Oproti variantě bez žížal byly varianty s žížalami bohatší na sledované nutrienty (fosfor, draslík a hořčík) a došlo zde k rychlejší stabilizaci substrátu. Zároveň varianta s žížalami vedla k účinnější eliminaci mikropolutantu kofeinu obsaženém v kávové sedlině než varianta bez žížal obsahující stejný podíl kávové sedliny.
4. Posouzení účinnosti vermiremediace ve venkovních provozních vermikompostérech bylo předmětem Publikace 4. Čistírenský kal (anaerobně stabilizovaný, 33 tisíc ekvivalentních obyvatel) byl ve vrstvách prokládán slámou a v kalových vrstvách byl sledován úbytek 35 látek ze skupin PPCP a ED. Účinnost odstranění nad 90 % byla zjištěna pro látky acesulfam, equilin, equol, furosemid, hydrochlorothiazid, ibuprofen, sacharin, sulfamethazin a 17β-estradiol. Celková účinnost odstranění sledovaných mikropolutantů ve dvou vermikompostovacích segmentech (lišících se v počtu vrstev a množství kalu ve vrstvě) byla 35 a 34 %.

5. Vermikompostování čistírenského kalu (aerobní stabilizace; 3,5 tisíc ekvivalentních obyvatel) v laboratorních podmínkách s použitím slaměných pelet jako plnidla bylo náplní Publikace 5. Čistírenský kal byl s vlhčenými slaměnými peletami smíchán v poměrech 100 %, 75 %, 50 % a 25 % kalu, zbytek pelety (hmotnostní procenta); žížaly měly přístup ze strany vermikompostéru. Celková váha materiálu byla 9 kg, experiment trval 120 dní a bylo sledováno 12 zástupců PPCP a ED jak ve vermikompostovaném substrátu a přítomných žížalách, tak v kompostovaném substrátu bez přítomnosti žížal. Největší účinnost odstranění ve variantě s žížalami oproti kontrole bez přítomnosti žížal byla zjištěna pro triklosan (37 %) a mirtazapin (14 %). Vermiakumulace byla nejvyšší pro kofein, karbamazepin, cetirizin, citalopram, diklofenak a triklosan.
6. V kontrolovaných laboratorních podmínkách byl proveden i experiment blíže popsáný v Publikaci 6. Vermikompostování bylo studováno na čistírenských kalech ze dvou různých ČOV (aerobní stabilizace a 6 tisíc ekvivalentních obyvatel; anaerobní stabilizace a 33 tisíc ekvivalentních obyvatel – shodná ČOV jako v Publikaci 4). Čistírenské kaly byly každý zvlášť smíchány s vlhčenými slaměnými peletami v poměrech 75 %, 50 %, 25 % a 0 % kalu, zbytek pelety (hmotnostní procenta). Experiment trval 56 dní, celková váha substrátu byla 200 g a bylo sledováno celkem 88 mikropolutantů ze skupiny PPCP, ED a PFAS. Oproti kontrole bez žížal došlo ve vermikompostu k signifikantnímu odstranění látek diklofenak, metoprolol, telmisartan a triklosan. Nejvíce vermiakumulovanými mikropolutanty ze skupiny PPCP a ED byl kofein a diklofenak, ze skupiny PFAS pak PFOS, PFTrDA, PFDoDA a PFUnDA. U většiny mikropolutantů platilo, že hodnota jejich BAF byla nejvyšší v uspořádání s nejnižším procentem kalu (25 % kalu a 75 % slaměných pelet) a klesala se stoupajícím procentem obsaženého kalu. I když byla na počátku suma koncentrací PPCP a ED, respektive PFAS v každém z kalů signifikantně jiná, akumulované koncentrace těchto dvou skupin mikropolutantů v žížalách po vermikompostování se nelišily.
- Ve vermikompostované směsi kalu a slámy došlo ke zdatelnému poklesu bakteriální PLFA. Největší pokles byl zaznamenán v uspořádání 75 % kalu a 25 % slámy – 90% pokles v případě kalu 1 a 79% pokles v případě kalu 2. Cytotoxikologické eseje na žížalích buňkách (popsané a optimalizované v Publikaci 2) neukázaly značné rozdíly v cytotoxicitě jednotlivých kalových uspořádání. Výsledky lze nalézt v příložené Publikaci 6.

Literatura

1. Singh, R.P.; Agrawal, M. Potential Benefits and Risks of Land Application of Sewage Sludge. *Waste Management* **2008**, *28*, 347–358, doi:10.1016/j.wasman.2006.12.010.
2. Vodovody, kanalizace a vodní toky – 2021. Dostupné online: <https://www.czso.cz/csu/czso/vodovody-kanalizace-a-vodni-toky-2021> (cit. 13.3. 2023).
3. Vodovody, kanalizace a vodní toky – 2022. Dostupné online: <https://www.czso.cz/csu/czso/vodovody-kanalizace-a-vodni-toky-2022> (cit. 1.2. 2024).
4. Ferrentino, R.; Langone, M.; Fiori, L.; Andreottola, G. Full-Scale Sewage Sludge Reduction Technologies: A Review with a Focus on Energy Consumption. *Water* **2023**, *15*, 615, doi:10.3390/w15040615.
5. Carbonell, G.; Pro, J.; Gómez, N.; Babín, M.M.; Fernández, C.; Alonso, E.; Tarazona, J.V. Sewage Sludge Applied to Agricultural Soil: Ecotoxicological Effects on Representative Soil Organisms. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **2009**, *72*, 1309–1319, doi:10.1016/j.ecoenv.2009.01.007.
6. Elmi, A.; Al-Khaldy, A.; AlOlayan, M. Sewage Sludge Land Application: Balancing Act between Agronomic Benefits and Environmental Concerns. *Journal of Cleaner Production* **2020**, *250*, 119512, doi:10.1016/j.jclepro.2019.119512.
7. Dubey, M.; Mohapatra, S.; Tyagi, V.K.; Suthar, S.; Kazmi, A.A. Occurrence, Fate, and Persistence of Emerging Micropollutants in Sewage Sludge Treatment. *Environmental Pollution* **2021**, *273*, 116515, doi:10.1016/j.envpol.2021.116515.
8. Hudcová, H.; Vymazal, J.; Rozkošný, M. Present Restrictions of Sewage Sludge Application in Agriculture within the European Union. *Soil and Water Research* **2019**, *14*, 104–120, doi:10.17221/36/2018-SWR.
9. Passuello, A.; Mari, M.; Nadal, M.; Schuhmacher, M.; Domingo, J.L. POP Accumulation in the Food Chain: Integrated Risk Model for Sewage Sludge Application in Agricultural Soils. *Environment International* **2010**, *36*, 577–583, doi:10.1016/j.envint.2010.04.015.
10. da Silva Souza, T.; Lacerda, D.; Aguiar, L.L.; Martins, M.N.C.; Augusto de Oliveira David, J. Toxic Potential of Sewage Sludge: Histopathological Effects on Soil and Aquatic Bioindicators. *Ecological Indicators* **2020**, *111*, 105980, doi:10.1016/j.ecolind.2019.105980.
11. Samal, K.; Raj Mohan, A.; Chaudhary, N.; Moulick, S. Application of Vermitechnology in Waste Management: A Review on Mechanism and Performance. *Journal of Environmental Chemical Engineering* **2019**, *7*, 103392, doi:10.1016/j.jece.2019.103392.
12. Suthar, S.; Sajwan, P.; Kumar, K. Vermiremediation of Heavy Metals in Wastewater Sludge from Paper and Pulp Industry Using Earthworm *Eisenia fetida*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **2014**, *109*, 177–184, doi:10.1016/j.ecoenv.2014.07.030.
13. Wang, L.; Zheng, Z.; Zhang, Y.; Chao, J.; Gao, Y.; Luo, X.; Zhang, J. Biostabilization Enhancement of Heavy Metals during the Vermiremediation of Sewage Sludge with Passivant. *Journal of Hazardous Materials* **2013**, *244–245*, 1–9, doi:10.1016/j.jhazmat.2012.11.036.
14. He, X.; Zhang, Y.; Shen, M.; Zeng, G.; Zhou, M.; Li, M. Effect of Vermicomposting on Concentration and Speciation of Heavy Metals in Sewage Sludge with Additive Materials. *Bioresource Technology* **2016**, *218*, 867–873, doi:10.1016/j.biortech.2016.07.045.
15. Rorat, A.; Wloka, D.; Grobelak, A.; Grosser, A.; Sosnecka, A.; Milczarek, M.; Jelonek, P.;

- Vandenbulcke, F.; Kacprzak, M. Vermiremediation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Heavy Metals in Sewage Sludge Composting Process. *Journal of Environmental Management* **2017**, *187*, 347–353, doi:10.1016/j.jenvman.2016.10.062.
16. Poluszyńska, J.; Jarosz-Krzemińska, E.; Helios-Rybicka, E. Studying the Effects of Two Various Methods of Composting on the Degradation Levels of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Sewage Sludge. *Water, Air, & Soil Pollution* **2017**, *228*, 305, doi:10.1007/s11270-017-3481-7.
 17. Abu Bakar, A.; Yin, L.; Mahmood, N.; Abdullah, N. Vermiremediation and Mycoremediation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soil and Sewage Sludge Mixture: A Comparative Study. *International Journal of Environmental Science and Development* **2013**, *4*, 565–568, doi:10.7763/IJESD.2013.V4.414.
 18. Abdollahinejad, B.; Pasalari, H.; Jafari, A.J.; Esrafil, A.; Farzadkia, M. Bioremediation of Diesel and Gasoline-Contaminated Soil by Co-Vermicomposting Amended with Activated Sludge: Diesel and Gasoline Degradation and Kinetics. *Environmental Pollution* **2020**, *263*, 114584, doi:10.1016/j.envpol.2020.114584.
 19. Bertram, M.G.; Martin, J.M.; Wong, B.B.M.; Brodin, T. Micropollutants. *Current Biology* **2022**, *32*, R17–R19, doi:10.1016/j.cub.2021.11.038.
 20. Kumar, V.; Sharma, N.; Umesh, M.; Chakraborty, P.; Kaur, K.; Duhan, L.; Sarojini, S.; Thazeem, B.; Pasrija, R.; Vangnai, A.S.; *et al.* Micropollutants Characteristics, Fate, and Sustainable Removal Technologies for Landfill Leachate: A Technical Perspective. *Journal of Water Process Engineering* **2023**, *53*, 103649, doi:10.1016/j.jwpe.2023.103649.
 21. Eggen, R.I.L.; Hollender, J.; Joss, A.; Schärer, M.; Stamm, C. Reducing the Discharge of Micropollutants in the Aquatic Environment: The Benefits of Upgrading Wastewater Treatment Plants. *Environmental Science & Technology* **2014**, *48*, 7683–7689, doi:10.1021/es500907n.
 22. Bhatt, P.; Bhandari, G.; Bilal, M. Occurrence, Toxicity Impacts and Mitigation of Emerging Micropollutants in the Aquatic Environments: Recent Tendencies and Perspectives. *Journal of Environmental Chemical Engineering* **2022**, *10*, 107598, doi:10.1016/j.jece.2022.107598.
 23. Derco, J.; Gotvajn, A.Ž.; Čižmarová, O.; Dudáš, J.; Sumegová, L.; Šimovičová, K. Removal of Micropollutants by Ozone-Based Processes. *Processes* **2021**, *9*, 1013, doi:10.3390/pr9061013.
 24. Ternes, T.A. Occurrence of Drugs in German Sewage Treatment Plants and Rivers. *Water Research* **1998**, *32*, 3245–3260, doi:10.1016/S0043-1354(98)00099-2.
 25. Fromme, H.; Küchler, T.; Otto, T.; Pilz, K.; Müller, J.; Wenzel, A. Occurrence of Phthalates and Bisphenol A and F in the Environment. *Water Research* **2002**, *36*, 1429–1438, doi:10.1016/S0043-1354(01)00367-0.
 26. Luo, Y.; Guo, W.; Ngo, H.H.; Nghiem, L.D.; Hai, F.I.; Zhang, J.; Liang, S.; Wang, X.C. A Review on the Occurrence of Micropollutants in the Aquatic Environment and Their Fate and Removal during Wastewater Treatment. *Science of The Total Environment* **2014**, *473–474*, 619–641, doi:10.1016/j.scitotenv.2013.12.065.
 27. Kim, M.-K.; Zoh, K.-D. Occurrence and Removals of Micropollutants in Water Environment. *Environmental Engineering Research* **2016**, *21*, 319–332, doi:10.4491/eer.2016.115.
 28. Das, S.; Ray, N.M.; Wan, J.; Khan, A.; Chakraborty, T.; Ray, M.B. Micropollutants in Wastewater: Fate and Removal Processes. *Physico-Chemical Wastewater Treatment and Resource Recovery*; InTech: Londýn, Velká Británie, 2017; 75–107 ISBN 978-953-51-3129-8.
 29. Hollender, J.; Zimmermann, S.G.; Koepke, S.; Krauss, M.; McArde, C.S.; Ort, C.; Singer, H.; von

- Gunten, U.; Siegrist, H. Elimination of Organic Micropollutants in a Municipal Wastewater Treatment Plant Upgraded with a Full-Scale Post-Ozonation Followed by Sand Filtration. *Environmental Science & Technology* **2009**, *43*, 7862–7869, doi:10.1021/es9014629.
30. Yin, R.; Shang, C. Removal of Micropollutants in Drinking Water Using UV-LED/Chlorine Advanced Oxidation Process Followed by Activated Carbon Adsorption. *Water Research* **2020**, *185*, 116297, doi:10.1016/j.watres.2020.116297.
 31. Ebrahimzadeh, S.; Wols, B.; Azzellino, A.; Kramer, F.; van der Hoek, J.P. Removal of Organic Micropollutants in a Drinking Water Treatment Plant by Powdered Activated Carbon Followed by Rapid Sand Filtration. *Journal of Water Process Engineering* **2022**, *47*, 102792, doi:10.1016/j.jwpe.2022.102792.
 32. Semerád, J.; Horká, P.; Filipová, A.; Kukla, J.; Holubová, K.; Musilová, Z.; Jandová, K.; Frouz, J.; Cajthaml, T. The Driving Factors of Per- and Polyfluorinated Alkyl Substance (PFAS) Accumulation in Selected Fish Species: The Influence of Position in River Continuum, Fish Feed Composition, and Pollutant Properties. *Science of The Total Environment* **2022**, *816*, 151662, doi:10.1016/j.scitotenv.2021.151662.
 33. Ye, Y.; Hao Ngo, H.; Guo, W.; Woong Chang, S.; Duc Nguyen, D.; Fu, Q.; Wei, W.; Ni, B.; Cheng, D.; Liu, Y. A Critical Review on Utilization of Sewage Sludge as Environmental Functional Materials. *Bioresour. Technol.* **2022**, *363*, 127984, doi:10.1016/j.biortech.2022.127984.
 34. Renou, S.; Givaudan, J.G.; Poulain, S.; Dirassouyan, F.; Moulin, P. Landfill Leachate Treatment: Review and Opportunity. *Journal of Hazardous Materials* **2008**, *150*, 468–493, doi:10.1016/j.jhazmat.2007.09.077.
 35. Semerád, J.; Hatasová, N.; Grasserová, A.; Černá, T.; Filipová, A.; Hanč, A.; Innemanová, P.; Pivokonský, M.; Cajthaml, T. Screening for 32 Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) Including GenX in Sludges from 43 WWTPs Located in the Czech Republic - Evaluation of Potential Accumulation in Vegetables after Application of Biosolids. *Chemosphere* **2020**, *261*, 128018, doi:10.1016/j.chemosphere.2020.128018.
 36. Juraske, R.; Castells, F.; Vijay, A.; Muñoz, P.; Antón, A. Uptake and Persistence of Pesticides in Plants: Measurements and Model Estimates for Imidacloprid after Foliar and Soil Application. *Journal of Hazardous Materials* **2009**, *165*, 683–689, doi:10.1016/j.jhazmat.2008.10.043.
 37. Boxall, A.B.A.; Kolpin, D.W.; Halling-Sørensen, B.; Tolls, J. Are Veterinary Medicines Causing Environmental Risks? *Environmental Science & Technology* **2003**, *37*, 286A-294A, doi:10.1021/es032519b.
 38. Giger, W.; Brunner, P.H.; Schaffner, C. 4-Nonylphenol in Sewage Sludge: Accumulation of Toxic Metabolites from Nonionic Surfactants. *Science* **1984**, *225*, 623–625, doi:10.1126/science.6740328.
 39. Oehlmann, J.; Schulte-Oehlmann, U.; Kloas, W.; Jagnytsch, O.; Lutz, I.; Kusk, K.O.; Wollenberger, L.; Santos, E.M.; Paull, G.C.; Van Look, K.J.W.; *et al.* A Critical Analysis of the Biological Impacts of Plasticizers on Wildlife. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* **2009**, *364*, 2047–2062, doi:10.1098/rstb.2008.0242.
 40. Flint, S.; Markle, T.; Thompson, S.; Wallace, E. Bisphenol A Exposure, Effects, and Policy: A Wildlife Perspective. *Journal of Environmental Management* **2012**, *104*, 19–34, doi:10.1016/j.jenvman.2012.03.021.
 41. Murillo-Torres, R.; Durán-Álvarez, J.C.; Prado, B.; Jiménez-Cisneros, B.E. Sorption and Mobility of Two Micropollutants in Three Agricultural Soils: A Comparative Analysis of Their Behavior in

- Batch and Column Experiments. *Geoderma* **2012**, 189–190, 462–468, doi:10.1016/j.geoderma.2012.05.019.
42. Caliman, F.A.; Gavrilescu, M. Pharmaceuticals, Personal Care Products and Endocrine Disrupting Agents in the Environment - A Review. *CLEAN - Soil, Air, Water* **2009**, 37, 277–303, doi:10.1002/clen.200900038.
 43. Carter, L.J.; Wilkinson, J.L.; Boxall, A.B.A. Evaluation of Existing Models to Estimate Sorption Coefficients for Ionisable Pharmaceuticals in Soils and Sludge. *Toxics* **2020**, 8, 13, doi:10.3390/toxics8010013.
 44. Kodešová, R.; Fedorova, G.; Kodeš, V.; Kočárek, M.; Rieznyk, O.; Fér, M.; Švecová, H.; Klement, A.; Bořík, A.; Nikodem, A.; *et al.* Assessment of Potential Mobility of Selected Micropollutants in Agricultural Soils of the Czech Republic Using Their Sorption Predicted from Soil Properties. *Science of The Total Environment* **2023**, 865, 161174, doi:10.1016/j.scitotenv.2022.161174.
 45. Schwarzenbach, R.P.; Gschwend, P.M.; Imboden, D.M. General Introduction to Sorption Processes. *Environmental Organic Chemistry*; John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, New Jersey, USA, 2017; 351–368 ISBN 978-1-118-76723-8.
 46. Hu, H.; Xu, K. Physicochemical Technologies for HRP and Risk Control. *High-Risk Pollutants in Wastewater*; Elsevier: Amsterdam, Nizozemsko, 2020; 169–207 ISBN 978-0-12-816448-8.
 47. McMillan, W.G. Forces and Adsorption at Solid Surfaces. *Clays and Clay Minerals* **1954**, 3, 473–481, doi:10.1346/CCMN.1954.0030138.
 48. Busetty, S. Environmental Treatment Technologies: Adsorption. *Handbook of Environmental Materials Management*; Springer International Publishing: Cham, Německo, 2019; 1367–1397 ISBN 978-3-319-73644-0.
 49. De Silva, P.M.C.S.; Pathiratne, A.; van Gestel, C.A.M. Toxicity of Chlorpyrifos, Carbofuran, Mancozeb and Their Formulations to the Tropical Earthworm *Perionyx excavatus*. *Applied Soil Ecology* **2010**, 44, 56–60, doi:10.1016/j.apsoil.2009.09.005.
 50. Nure, J.F.; Nkambule, T.T.I. The Recent Advances in Adsorption and Membrane Separation and Their Hybrid Technologies for Micropollutants Removal from Wastewater. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* **2023**, 126, 92–114, doi:10.1016/j.jiec.2023.06.034.
 51. Nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2019/1021 ze dne 20. června 2019 o perzistentních organických znečišťujících látkách 2019. Dostupné online: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/ALL/?uri=CELEX%3A32019R1021> (cit. 9.2. 2024).
 52. Stockholmská úmluva 2019. Dostupné online: <https://www.pops.int/TheConvention/ThePOPs/tabid/673/Default.aspx> (cit. 9.2. 2024).
 53. United Nations Protocol on Persistent Organic Pollutants 1998. Dostupné online: <https://unece.org/environment-policy/air/protocol-persistent-organic-pollutants-pops> (cit. 9.2. 2024).
 54. Provděcí rozhodnutí komise (EU) 2022/1307 ze dne 22. července 2022, kterým se stanoví seznam sledovaných látek pro monitorování v rámci celé Unie v oblasti vodní politiky podle směrnice Evropského parlamentu a Rady 2008/105/ES 2022. Dostupné online: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX:32022D1307> (cit. 9.2. 2024).
 55. Ministerstvo zdravotnictví České republiky, Vyhláška č. 252/2004 Sb. ze dne 22. dubna 2004, kterou se stanoví hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly pitné

- vody 2004. Dostupné online: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2004-252> (cit. 9.2. 2024).
56. Ministerstvo životního prostředí České republiky, Vyhláška č. 273/2021 Sb., Vyhláška o podrobnostech nakládání s odpady 2021. Dostupné online: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2021-273> (cit. 9.2. 2024).
 57. Boxall, A.B.A.; Rudd, M.A.; Brooks, B.W.; Caldwell, D.J.; Choi, K.; Hickmann, S.; Innes, E.; Ostapyk, K.; Staveley, J.P.; Verslycke, T.; *et al.* Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: What Are the Big Questions? *Environmental Health Perspectives* **2012**, *120*, 1221–1229, doi:10.1289/ehp.1104477.
 58. Nikolaou, A.; Meric, S.; Fatta, D. Occurrence Patterns of Pharmaceuticals in Water and Wastewater Environments. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2007**, *387*, 1225–1234, doi:10.1007/s00216-006-1035-8.
 59. Kumar, M.; Silori, R.; Mazumder, P.; Tauseef, S.M. Screening of Pharmaceutical and Personal Care Products (PPCPs) along Wastewater Treatment System Equipped with Root Zone Treatment: A Potential Model for Domestic Waste Leachate Management. *Journal of Environmental Management* **2023**, *335*, 117494, doi:10.1016/j.jenvman.2023.117494.
 60. Ebele, A.J.; Abou-Elwafa Abdallah, M.; Harrad, S. Pharmaceuticals and Personal Care Products (PPCPs) in the Freshwater Aquatic Environment. *Emerging Contaminants* **2017**, *3*, 1–16, doi:10.1016/j.emcon.2016.12.004.
 61. Ding, D.; Wang, B.; Zhang, X.; Zhang, J.; Zhang, H.; Liu, X.; Gao, Z.; Yu, Z. The Spread of Antibiotic Resistance to Humans and Potential Protection Strategies. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **2023**, *254*, 114734, doi:10.1016/j.ecoenv.2023.114734.
 62. Pironti, C.; Ricciardi, M.; Proto, A.; Bianco, P.M.; Montano, L.; Motta, O. Endocrine-Disrupting Compounds: An Overview on Their Occurrence in the Aquatic Environment and Human Exposure. *Water* **2021**, *13*, 1347, doi:10.3390/w13101347.
 63. Yilmaz, B.; Terekeci, H.; Sandal, S.; Kelestimur, F. Endocrine Disrupting Chemicals: Exposure, Effects on Human Health, Mechanism of Action, Models for Testing and Strategies for Prevention. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders* **2020**, *21*, 127–147, doi:10.1007/s11154-019-09521-z.
 64. Gavrilescu, M. Fate of Pesticides in the Environment and Its Bioremediation. *Engineering in Life Sciences* **2005**, *5*, 497–526, doi:10.1002/elsc.200520098.
 65. Zhang, W.; Jiang, F.; Ou, J. Global Pesticide Consumption and Pollution: With China as a Focus. *Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences* **2011**, *1*, 125–144, doi:10.0000/issn-2220-8860-piaees-2011-v1-0012.
 66. Usmani, Z.; Rani, R.; Gupta, P.; Prasad, M.N.V. Vermiremediation of Agrochemicals. *Agrochemicals Detection, Treatment and Remediation*; Elsevier: Amsterdam, Nizozemsko, 2020; 329–367 ISBN 978-0-08-103017-2.
 67. Varjani, S.; Kumar, G.; Rene, E.R. Developments in Biochar Application for Pesticide Remediation: Current Knowledge and Future Research Directions. *Journal of Environmental Management* **2019**, *232*, 505–513, doi:10.1016/j.jenvman.2018.11.043.
 68. Damião, G.; Morgado, P.; Silva, P.; Martins, L.F.G.; McCabe, C.; Filipe, E.J.M. Perfluorinated Pollutants in Water: Diffusion Coefficient of Perfluorosulfonic Acids by Molecular Dynamics Simulations. *Fluid Phase Equilibria* **2023**, *575*, 113928, doi:10.1016/j.fluid.2023.113928.
 69. Zhang, Y.-H.; Ding, T.-T.; Huang, Z.-Y.; Liang, H.-Y.; Du, S.-L.; Zhang, J.; Li, H.-X.

- Environmental Exposure and Ecological Risk of Perfluorinated Substances (PFASs) in the Shaying River Basin, China. *Chemosphere* **2023**, 339, 139537, doi:10.1016/j.chemosphere.2023.139537.
70. Li, Q.; Wang, P.; Wang, C.; Hu, B.; Wang, X. A Novel Procedure for Predicting Chronic Toxicities and Ecological Risks of Perfluorinated Compounds in Aquatic Environment. *Environmental Research* **2022**, 215, 114132, doi:10.1016/j.envres.2022.114132.
 71. Fenton, S.E.; Ducatman, A.; Boobis, A.; DeWitt, J.C.; Lau, C.; Ng, C.; Smith, J.S.; Roberts, S.M. Per- and Polyfluoroalkyl Substance Toxicity and Human Health Review: Current State of Knowledge and Strategies for Informing Future Research. *Environmental Toxicology and Chemistry* **2021**, 40, 606–630, doi:10.1002/etc.4890.
 72. Kreuter, J. Nanoparticles and Microparticles for Drug and Vaccine Delivery. *Journal of Anatomy* **1996**, 189, 503–505.
 73. Mekuye, B.; Abera, B. Nanomaterials: An Overview of Synthesis, Classification, Characterization, and Applications. *Nano Select* **2023**, 4, 486–501, doi:10.1002/nano.202300038.
 74. Mishra, S.; Sundaram, B. Fate, Transport, and Toxicity of Nanoparticles: An Emerging Pollutant on Biotic Factors. *Process Safety and Environmental Protection* **2023**, 174, 595–607, doi:10.1016/j.psep.2023.04.037.
 75. Asati, S.; Sahu, A.; Jain, A. Nanotoxicity: The Dark Side of Nanoformulations. *Current Nanotoxicity and Prevention* **2021**, 1, 6–25, doi:10.2174/2665980801999201230095324.
 76. Gomes, A.R.; Justino, C.; Rocha-Santos, T.; Freitas, A.C.; Duarte, A.C.; Pereira, R. Review of the Ecotoxicological Effects of Emerging Contaminants to Soil Biota. *Journal of Environmental Science and Health, Part A* **2017**, 52, 992–1007, doi:10.1080/10934529.2017.1328946.
 77. Alizadeh Fard, M.; Barkdoll, B. Magnetic Activated Carbon as a Sustainable Solution for Removal of Micropollutants from Water. *International Journal of Environmental Science and Technology* **2019**, 16, 1625–1636, doi:10.1007/s13762-018-1809-5.
 78. Petrovic, M. Analysis and Removal of Emerging Contaminants in Wastewater and Drinking Water. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **2003**, 22, 685–696, doi:10.1016/S0165-9936(03)01105-1.
 79. Koul, B.; Taak, P. In Situ Soil Remediation Strategies. *Biotechnological Strategies for Effective Remediation of Polluted Soils*; Springer Nature Singapore: Singapur, 2018; 59–75 ISBN 9789811324192.
 80. Chen, B.; Xu, J.; Zhu, L. Controllable Chemical Redox Reactions to Couple Microbial Degradation for Organic Contaminated Sites Remediation: A Review. *Journal of Environmental Sciences* **2024**, 139, 428–445, doi:10.1016/j.jes.2023.06.012.
 81. Kang, J.W. Removing Environmental Organic Pollutants with Bioremediation and Phytoremediation. *Biotechnology Letters* **2014**, 36, 1129–1139, doi:10.1007/s10529-014-1466-9.
 82. Ossai, I.C.; Ahmed, A.; Hassan, A.; Hamid, F.S. Remediation of Soil and Water Contaminated with Petroleum Hydrocarbon: A Review. *Environmental Technology & Innovation* **2020**, 17, 100526, doi:10.1016/j.eti.2019.100526.
 83. Sharma, I. Bioremediation Techniques for Polluted Environment: Concept, Advantages, Limitations, and Prospects. *Trace Metals in the Environment - New Approaches and Recent Advances*; IntechOpen: Londýn, Velká Británie, 2021 ISBN 978-1-83880-331-5.
 84. Nzila, A. Update on the Cometabolism of Organic Pollutants by Bacteria. *Environmental Pollution* **2013**, 178, 474–482, doi:10.1016/j.envpol.2013.03.042.

85. Kensa, V.M. Bioremediation - An Overview. *Journal of Industrial Pollution Control* **2011**, *27*, 161–168.
86. Song, Q.; Xue, Z.; Wu, H.; Zhai, Y.; Lu, T.; Du, X.; Zheng, J.; Chen, H.; Zuo, R. The Collaborative Monitored Natural Attenuation (CMNA) of Soil and Groundwater Pollution in Large Petrochemical Enterprises: A Case Study. *Environmental Research* **2023**, *216*, 114816, doi:10.1016/j.envres.2022.114816.
87. Omokhagbor Adams, G.; Tawari Fufeyin, P.; Eruke Okoro, S.; Ehinomen, I. Bioremediation, Biostimulation and Bioaugmentation: A Review. *International Journal of Environmental Bioremediation & Biodegradation* **2020**, *3*, 28–39, doi:10.12691/ijebb-3-1-5.
88. Magalhães, S.M.C.; Ferreira Jorge, R.M.; Castro, P.M.L. Investigations into the Application of a Combination of Bioventing and Biotrickling Filter Technologies for Soil Decontamination Processes – A Transition Regime between Bioventing and Soil Vapour Extraction. *Journal of Hazardous Materials* **2009**, *170*, 711–715, doi:10.1016/j.jhazmat.2009.05.008.
89. Oshins, C.; Michel, F.; Louis, P.; Richard, T.L.; Rynk, R. The Composting Process. *The Composting Handbook*; Elsevier: Amsterdam, Nizozemsko, 2022; 51–101 ISBN 978-0-323-85602-7.
90. Barathi, S.; J, G.; Rathinasamy, G.; Sabapathi, N.; Aruljothi, K.N.; Lee, J.; Kandasamy, S. Recent Trends in Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Pollution Distribution and Counteracting Bio-Remediation Strategies. *Chemosphere* **2023**, *337*, 139396, doi:10.1016/j.chemosphere.2023.139396.
91. Kao, C.M.; Chen, C.Y.; Chen, S.C.; Chien, H.Y.; Chen, Y.L. Application of in Situ Biosparging to Remediate a Petroleum-Hydrocarbon Spill Site: Field and Microbial Evaluation. *Chemosphere* **2008**, *70*, 1492–1499, doi:10.1016/j.chemosphere.2007.08.029.
92. Khan, F.I.; Husain, T.; Hejazi, R. An Overview and Analysis of Site Remediation Technologies. *Journal of Environmental Management* **2004**, *71*, 95–122, doi:10.1016/j.jenvman.2004.02.003.
93. Negi, B.B.; Das, C. Mycoremediation of Wastewater, Challenges, and Current Status: A Review. *Bioresource Technology Reports* **2023**, *22*, 101409, doi:10.1016/j.biteb.2023.101409.
94. Deshmukh, R.; Khardenavis, A.A.; Purohit, H.J. Diverse Metabolic Capacities of Fungi for Bioremediation. *Indian Journal of Microbiology* **2016**, *56*, 247–264, doi:10.1007/s12088-016-0584-6.
95. Akhtar, N.; Mannan, M.A. Mycoremediation: Expunging Environmental Pollutants. *Biotechnology Reports* **2020**, *26*, e00452, doi:10.1016/j.btre.2020.e00452.
96. Arthur, E.L.; Rice, P.J.; Rice, P.J.; Anderson, T.A.; Baladi, S.M.; Henderson, K.L.D.; Coats, J.R. Phytoremediation – An Overview. *Critical Reviews in Plant Sciences* **2005**, *24*, 109–122, doi:10.1080/07352680590952496.
97. Mudgal, V.; Raninga, M.; Patel, D.; Ankoliya, D.; Mudgal, A. A Review on Phytoremediation: Sustainable Method for Removal of Heavy Metals. *Materials Today: Proceedings* **2023**, *77*, 201–208, doi:10.1016/j.matpr.2022.11.261.
98. Trojanowska, M. Reclamation of Polluted Land in Urban Renewal Projects. Literature Review of Suitable Plants for Phytoremediation. *Environmental Challenges* **2023**, *13*, 100749, doi:10.1016/j.envc.2023.100749.
99. Domínguez, J. State-of-the-Art and New Perspectives on Vermicomposting Research. *Earthworm Ecology*; CRC Press: Boca Raton, Florida, USA, 2004; 401–424 ISBN 978-0-8493-1819-1.

100. Brown, G.G.; Barois, I.; Lavelle, P. Regulation of Soil Organic Matter Dynamics and Microbial Activity in the Drilosphere and the Role of Interactions with Other Edaphic Functional Domains. *European Journal of Soil Biology* **2000**, *36*, 177–198, doi:10.1016/S1164-5563(00)01062-1.
101. Aksakal, E.L.; Sari, S.; Angin, I. Effects of Vermicompost Application on Soil Aggregation and Certain Physical Properties. *Land Degradation & Development* **2016**, *27*, 983–995, doi:10.1002/ldr.2350.
102. Georgi, K.; Ekaterina, S.; Alexander, P.; Alexander, R.; Kirill, Y.; Andrey, V. Sewage Sludge as an Object of Vermicomposting. *Bioresource Technology Reports* **2022**, *20*, 101281, doi:10.1016/j.biteb.2022.101281.
103. Innemanová, P.; Grasserová, A.; Cajthaml, T. Pilot-Scale Vermicomposting of Dewatered Sewage Sludge from Medium-Sized WWTP. *Detritus* **2022**, 35–41, doi:10.31025/2611-4135/2022.15166.
104. Ferraz Ramos, R.; Almeida Santana, N.; de Andrade, N.; Scheffer Romagna, I.; Tirloni, B.; de Oliveira Silveira, A.; Domínguez, J.; Josemar Seminoti Jacques, R. Vermicomposting of Cow Manure: Effect of Time on Earthworm Biomass and Chemical, Physical, and Biological Properties of Vermicompost. *Bioresource Technology* **2022**, *345*, 126572, doi:10.1016/j.biortech.2021.126572.
105. Zhou, Y.; Zhang, D.; Zhang, Y.; Ke, J.; Chen, D.; Cai, M. Evaluation of Temperature on the Biological Activities and Fertility Potential during Vermicomposting of Pig Manure Employing *Eisenia fetida*. *Journal of Cleaner Production* **2021**, *302*, 126804, doi:10.1016/j.jclepro.2021.126804.
106. Hanc, A.; Chadimova, Z. Nutrient Recovery from Apple Pomace Waste by Vermicomposting Technology. *Bioresource Technology* **2014**, *168*, 240–244, doi:10.1016/j.biortech.2014.02.031.
107. Hanc, A.; Hrebeckova, T.; Grasserova, A.; Cajthaml, T. Conversion of Spent Coffee Grounds into Vermicompost. *Bioresource Technology* **2021**, *341*, 125925, doi:10.1016/j.biortech.2021.125925.
108. Hanc, A.; Hrebeckova, T.; Pliva, P.; Cajthaml, T. Vermicomposting of Sludge from a Malt House. *Waste Management* **2020**, *118*, 232–240, doi:10.1016/j.wasman.2020.08.027.
109. Pottipati, S.; Kundu, A.; Kalamdhad, A.S. Process Optimization by Combining In-Vessel Composting and Vermicomposting of Vegetable Waste. *Bioresource Technology* **2022**, *346*, 126357, doi:10.1016/j.biortech.2021.126357.
110. Rékási, M.; Mazsu, N.; Draskovits, E.; Bernhardt, B.; Szabó, A.; Rivier, P.-A.; Farkas, C.; Borsányi, B.; Pirkó, B.; Molnár, S.; *et al.* Comparing the Agrochemical Properties of Compost and Vermicomposts Produced from Municipal Sewage Sludge Digestate. *Bioresource Technology* **2019**, *291*, 121861, doi:10.1016/j.biortech.2019.121861.
111. Grasserová, A.; Hanč, A.; Innemanová, P.; Cajthaml, T. Composting and Vermicomposting Used to Break down and Remove Pollutants from Organic Waste: A Mini Review. *EUROPEAN JOURNAL OF ENVIRONMENTAL SCIENCES* **2020**, *10*, 9–14, doi:10.14712/23361964.2020.2.
112. Shi, Z.; Liu, J.; Tang, Z.; Zhao, Y.; Wang, C. Vermiremediation of Organically Contaminated Soils: Concepts, Current Status, and Future Perspectives. *Applied Soil Ecology* **2020**, *147*, 103377, doi:10.1016/j.apsoil.2019.103377.
113. Jager, T.; Fleuren, R.H.L.J.; Hogendoorn, E.A.; de Korte, G. Elucidating the Routes of Exposure for Organic Chemicals in the Earthworm, *Eisenia andrei* (Oligochaeta). *Environmental Science & Technology* **2003**, *37*, 3399–3404, doi:10.1021/es0340578.
114. Belfroid, A.C.; Scinen, W.; van Gestel, K.C.A.M.; Hermens, J.L.M.; van Leeuwen, K.J. Modelling

- the Accumulation of Hydrophobic Organic Chemicals in Earthworms: Application of the Equilibrium Partitioning Theory. *Environmental Science and Pollution Research* **1995**, 2, 5–15, doi:10.1007/BF02987505.
115. Shi, Z.; Zhang, F.; Wang, C. Adsorption of Phenanthrene by Earthworms - A Pathway for Understanding the Fate of Hydrophobic Organic Contaminants in Soil-Earthworm Systems. *Journal of Environmental Management* **2018**, 212, 115–120, doi:10.1016/j.jenvman.2018.01.079.
 116. Brown, P.J.; Long, S.M.; Spurgeon, D.J.; Svendsen, C.; Hankard, P.K. Toxicological and Biochemical Responses of the Earthworm *Lumbricus rubellus* to Pyrene, a Non-Carcinogenic Polycyclic Aromatic Hydrocarbon. *Chemosphere* **2004**, 57, 1675–1681, doi:10.1016/j.chemosphere.2004.05.041.
 117. Bouché, M.B. Strategies Lombriciennes. *Ecological Bulletins* **1977**, 122–132.
 118. Dominguez, J.; Edwards, C.A. Biology and Ecology of Earthworm Species Used for Vermicomposting. *Vermiculture Technology: Earthworms, Organic Wastes, and Environmental Management*; CRC Press: Boca Raton, Florida, USA, 2011; 27–40 ISBN 978-1-03-223712-1.
 119. Elvira, C.; Dominguez, J.; Briones, M.J.I. Growth and Reproduction of *Eisenia andrei* and *E. fetida* (Oligochaeta, Lumbricidae) in Different Organic Residues. *Pedobiologia* **1996**, 40, 377–384, doi:10.1016/S0031-4056(24)00342-1.
 120. Domínguez, J.; Velando, A.; Ferreira, A. Are *Eisenia fetida* (Savigny, 1826) and *Eisenia andrei* (Oligochaeta, Lumbricidae) Different Biological Species? *Pedobiologia* **2005**, 49, 81–87, doi:10.1016/j.pedobi.2004.08.005.
 121. Domínguez, J. State-of-the-Art and New Perspectives on Vermicomposting Research: 18 Years of Progress. *Vermicomposting for Sustainable Food Systems in Africa*; Springer Nature Singapore: Singapur, 2023; 27–44 ISBN 978-981-19807-9-4.
 122. Jouquet, P.; Dauber, J.; Lagerlöf, J.; Lavelle, P.; Lepage, M. Soil Invertebrates as Ecosystem Engineers: Intended and Accidental Effects on Soil and Feedback Loops. *Applied Soil Ecology* **2006**, 32, 153–164, doi:10.1016/j.apsoil.2005.07.004.
 123. Babić, S.; Barišić, J.; Malev, O.; Klobučar, G.; Popović, N.T.; Strunjak-Perović, I.; Krasnići, N.; Čož-Rakovac, R.; Klobučar, R.S. Sewage Sludge Toxicity Assessment Using Earthworm *Eisenia fetida*: Can Biochemical and Histopathological Analysis Provide Fast and Accurate Insight? *Environmental Science and Pollution Research* **2016**, 23, 12150–12163, doi:10.1007/s11356-016-6097-3.
 124. Nahmani, J.; Hodson, M.E.; Black, S. A Review of Studies Performed to Assess Metal Uptake by Earthworms. *Environmental Pollution* **2007**, 145, 402–424, doi:10.1016/j.envpol.2006.04.009.
 125. Heimann, K.G.; Doughty, K. Examination of Acute and Chronic Toxicity. *Regulatory Toxicology*; Springer Berlin Heidelberg: Berlín, Německo, 2014; 81–88 ISBN 978-3-642-35373-4.
 126. Jana Říhová Ambrožová: Encyklopedie Hydrobiologie. Dostupné online: http://147.33.74.135/knihy/uid_es-006/ebook.html?p=B023 (cit. 23.1. 2024).
 127. International Organization for Standardization, ISO 11268-1:2012 Soil Quality – Effects of Pollutants on Earthworms – Part 1: Determination of Acute Toxicity to *Eisenia fetida*/*Eisenia andrei*. Dostupné online: <https://www.iso.org/standard/53527.html> (cit. 23.1. 2024).
 128. International Organization for Standardization, ISO 11268-2:2023 Soil Quality – Effects of Pollutants on Earthworms – Part 2: Determination of Effects on Reproduction of *Eisenia fetida*/*Eisenia andrei* and Other Earthworm Species. Dostupné online:

- <https://www.iso.org/standard/79045.html> (cit. 23.1. 2024).
129. International Organization for Standardization, ISO 11268-3:2014 Soil Quality – Effects of Pollutants on Earthworms – Part 3: Guidance on the Determination of Effects in Field Situations. Dostupné online: <https://www.iso.org/standard/57583.html> (cit. 23.1. 2024).
 130. International Organization for Standardization, ISO 17512-1:2008 Soil Quality – Avoidance Test for Determining the Quality of Soils and Effects of Chemicals on Behaviour – Part 1: Test with Earthworms (*Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*). Dostupné online: <https://www.iso.org/standard/38402.html> (cit. 23.1. 2024).
 131. Organisation for Economic Co-operation and Development, Test No. 222: Earthworm Reproduction Test (*Eisenia fetida*/*Eisenia andrei*). Dostupné online: https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-222-earthworm-reproduction-test-eisenia-fetida-eisenia-andrei_9789264264496-en (cit. 23.1. 2024).
 132. Organisation for Economic Co-operation and Development, Test No. 207: Earthworm, Acute Toxicity Tests. Dostupné online: https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-207-earthworm-acute-toxicity-tests_9789264070042-en (cit. 23.1. 2024).
 133. Sanchez-Hernandez, J.C. Earthworm Biomarkers in Ecological Risk Assessment. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*; Reviews of Environmental Contamination and Toxicology; Springer New York: New York, USA, 2006; Vol. 188, 85–126 ISBN 978-0-387-31911-7.
 134. Zhao, W.; Teng, M.; Zhang, J.; Wang, K.; Zhang, J.; Xu, Y.; Wang, C. Insights into the Mechanisms of Organic Pollutant Toxicity to Earthworms: Advances and Perspectives. *Environmental Pollution* **2022**, *303*, 119120, doi:10.1016/j.envpol.2022.119120.
 135. Krewski, D.; Acosta Jr., D.; Andersen, M.; Anderson, H.; Bailar III, J.C.; Boekelheide, K.; Brent, R.; Charnley, G.; Cheung, V.G.; Green Jr., S.; *et al.* Toxicity Testing in the 21st Century: A Vision and a Strategy. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B* **2010**, *13*, 51–138, doi:10.1080/10937404.2010.483176.
 136. Lanno, R.; Wells, J.; Conder, J.; Bradham, K.; Basta, N. The Bioavailability of Chemicals in Soil for Earthworms. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **2004**, *57*, 39–47, doi:10.1016/j.ecoenv.2003.08.014.
 137. Solé, M. Biomarkers in Earthworms. *Interaction and Fate of Pharmaceuticals in Soil-Crop Systems: The Impact of Reclaimed Wastewater*; Springer Berlin Heidelberg: Berlín, Německo, 2020; 311–337 ISBN 978-3-030-61290-0.
 138. Shi, Z.; Tang, Z.; Wang, C. A Brief Review and Evaluation of Earthworm Biomarkers in Soil Pollution Assessment. *Environmental Science and Pollution Research* **2017**, *24*, 13284–13294, doi:10.1007/s11356-017-8784-0.
 139. Ečimović, S.; Grgić, M.; Bošnjaković, R.; Velki, M. Biomarker Responses in Earthworm Coelomocyte Extract – Noninvasively Collected Sample for Pesticide Effect Assessment. *Chemosphere* **2019**, *234*, 837–844, doi:10.1016/j.chemosphere.2019.06.141.
 140. Bilej, M.; Procházková, P.; Šilerová, M.; Josková, R. Earthworm Immunity. *Invertebrate Immunity*; Springer US: Boston, Massachusetts, USA, 2010; 66–79 ISBN 978-1-4419-8059-5.
 141. He, F.; Li, X.; Huo, C.; Chu, S.; Cui, Z.; Li, Y.; Wan, J.; Liu, R. Evaluation of Fluorene-Caused Ecotoxicological Responses and the Mechanism Underlying Its Toxicity in *Eisenia fetida*: Multi-Level Analysis of Biological Organization. *Journal of Hazardous Materials* **2022**, *437*, 129342,

doi:10.1016/j.jhazmat.2022.129342.

142. Simpson, M.J. Application of Metabolomic Methods to Evaluate the Impact of Pollutants on Soil Organisms: Recent Progress and Future Perspectives. *Current Opinion in Environmental Science & Health* **2023**, *31*, 100431, doi:10.1016/j.coesh.2022.100431.
143. Wang, C.; Yao, X.; Li, X.; Wang, Q.; Jiang, N.; Hu, X.; Lv, H.; Mu, B.; Wang, J. Fosthiazate, a Soil-Applied Nematicide, Induces Oxidative Stress, Neurotoxicity and Transcriptome Aberrations in Earthworm (*Eisenia fetida*). *Journal of Hazardous Materials* **2024**, *463*, 132865, doi:10.1016/j.jhazmat.2023.132865.
144. Sithole, S.; Nyoka, N.W.-K.; Kamdem, M.M.; Otomo, P.V. Dietary Deprivation Reduces the Deleterious Effects of Carbaryl on the Survival and Activity of Both Catalase and Acetylcholinesterase in Earthworms. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **2023**, *263*, 115293, doi:10.1016/j.ecoenv.2023.115293.
145. Costa, P.A.; Guilhermino, L.; Laskowski, R. Effects of Pesticide Formulations Containing Cypermethrin or Tebuconazole, Individually and in Mixture, on the Earthworm *Eisenia fetida*. *Applied Soil Ecology* **2024**, *193*, 105139, doi:10.1016/j.apsoil.2023.105139.
146. Vullo, A.I.; Vullo, D.L.; Basack, S.B. Assessment of Intensive Periurban Agriculture Soil Quality Applying Biomarkers in Earthworms. *Journal of Environmental Management* **2023**, *344*, 118535, doi:10.1016/j.jenvman.2023.118535.
147. Shi, L.; Zhang, P.; Xu, J.; Wu, X.; Pan, X.; He, L.; Dong, F.; Zheng, Y. Systematic Assessment of Cyflumetofen Toxicity in Soil-Earthworm (*Eisenia fetida*) Microcosms. *Journal of Hazardous Materials* **2023**, *452*, 131300, doi:10.1016/j.jhazmat.2023.131300.
148. Jouni, F.; Sanchez-Hernandez, J.C.; Brouchoud, C.; Capowiez, Y.; Rault, M. Role of Soil Texture and Earthworm Casts on the Restoration of Soil Enzyme Activities after Exposure to an Organophosphorus Insecticide. *Applied Soil Ecology* **2023**, *187*, 104840, doi:10.1016/j.apsoil.2023.104840.
149. Yao, X.; Liang, C.; Lv, H.; Liu, W.; Wang, Q.; Ding, J.; Li, X.; Wang, J. Expanding the Insight of Ecological Risk on the Novel Chiral Pesticide Mefentrifluconazole: Mechanism of Enantioselective Toxicity to Earthworms (*Eisenia fetida*). *Journal of Hazardous Materials* **2024**, *466*, 133585, doi:10.1016/j.jhazmat.2024.133585.
150. Liwarska-Bizukojc, E.; Bernat, P.; Jasińska, A. Effect of Bio-Based Microplastics on Earthworms *Eisenia andrei*. *Science of The Total Environment* **2023**, *898*, 165423, doi:10.1016/j.scitotenv.2023.165423.
151. Fernandes Sales Junior, S.; Oliveira Souza Soares, L.; Pinheiro Cunha, D.; Ernesto Taveira Parente, C.; Ferreira Mannarino, C.; Veríssimo Correia, F.; Mendes Saggiaro, E. Biomarker Response Index in Earthworms Following Chronic Exposure to Leachate from a Closed Dumpsite: Behavioral, Cytotoxicity and Antioxidant System Alterations. *Journal of Environmental Management* **2024**, *351*, 119990, doi:10.1016/j.jenvman.2023.119990.
152. Song, Y.; Sun, K.; Zhao, Q.; Li, Y.; Liu, G.; Liu, R. Molecular Interaction Mechanisms and Cellular Response of Superoxide Dismutase and Catalase to Fluoranthene. *Environmental Science and Pollution Research* **2023**, *30*, 104233–104245, doi:10.1007/s11356-023-29703-2.
153. He, F.; Liu, Q.; Jing, M.; Wan, J.; Huo, C.; Zong, W.; Tang, J.; Liu, R. Toxic Mechanism on Phenanthrene-Induced Cytotoxicity, Oxidative Stress and Activity Changes of Superoxide Dismutase and Catalase in Earthworm (*Eisenia foetida*): A Combined Molecular and Cellular Study. *Journal of Hazardous Materials* **2021**, *418*, 126302, doi:10.1016/j.jhazmat.2021.126302.

154. Qiao, Z.; Li, P.; Tan, J.; Peng, C.; Zhang, F.; Zhang, W.; Jiang, X. Oxidative Stress and Detoxification Mechanisms of Earthworms (*Eisenia fetida*) after Exposure to Flupyradifurone in a Soil-Earthworm System. *Journal of Environmental Management* **2022**, *322*, 115989, doi:10.1016/j.jenvman.2022.115989.
155. Sharma, S.; Gupta, R.; Singh, D. Super Oxide Dismutase, Catalase and Glutathione Peroxidase Activity in Heavy Metals Contaminated Earthworm, *Eisenia fetida*. *Journal of Entomology and Zoology Studies* **2020**, *8*, 1909–1913, doi:10.13140/RG.2.2.29426.32963.
156. Zhou, H.; Zhang, T.; Zhuang, J.; Xu, M.; Liu, X.; Shi, Q.; Zhou, D. Study on the Regulation of Earthworm Physiological Function under Cadmium Stress Based on a Compound Mathematical Model. *Environmental Toxicology and Pharmacology* **2020**, *80*, 103499, doi:10.1016/j.etap.2020.103499.
157. Wang, Z.; Li, C.; Shao, Y.; Xue, W.; Wang, N.; Xu, X.; Zhang, Z. Antioxidant Defense System Responses, Lysosomal Membrane Stability and DNA Damage in Earthworms (*Eisenia fetida*) Exposed to Perfluorooctanoic Acid: An Integrated Biomarker Approach to Evaluating Toxicity. *RSC Advances* **2021**, *11*, 26481–26492, doi:10.1039/D1RA04097A.
158. Yao, X.; Zhang, F.; Qiao, Z.; Yu, H.; Sun, S.; Li, X.; Zhang, J.; Jiang, X. Toxicity of Thifluzamide in Earthworm (*Eisenia fetida*). *Ecotoxicology and Environmental Safety* **2020**, *188*, 109880, doi:10.1016/j.ecoenv.2019.109880.
159. Wang, B.; Jiang, L.; Pan, B.; Lin, Y. Toxicity of Glufosinate-Ammonium in Soil to Earthworm (*Eisenia fetida*). *Journal of Soils and Sediments* **2022**, *22*, 1469–1478, doi:10.1007/s11368-022-03146-7.
160. Li, M.; Ma, X.; Saleem, M.; Wang, X.; Sun, L.; Yang, Y.; Zhang, Q. Biochemical Response, Histopathological Change and DNA Damage in Earthworm (*Eisenia fetida*) Exposed to Sulfentrazone Herbicide. *Ecological Indicators* **2020**, *115*, 106465, doi:10.1016/j.ecolind.2020.106465.
161. Owagboriaye, F.; Dedeke, G.; Bamidele, J.; Aladesida, A.; Isibor, P.; Feyisola, R.; Adeleke, M. Biochemical Response and Vermiremediation Assessment of Three Earthworm Species (*Alma millsoni*, *Eudrilus eugeniae* and *Libyodrilus violaceus*) in Soil Contaminated with a Glyphosate-Based Herbicide. *Ecological Indicators* **2020**, *108*, 105678, doi:10.1016/j.ecolind.2019.105678.
162. Parri, S.; Campani, T.; Conti, V.; Cai, G.; Romi, M.; Casini, S.; Zari, R.; Caldini, F.; Marsili, L. New Olive-Pomace Fertilizer Tested with a 2-Tiers Approach: Biomarkers on *Eisenia fetida*, Physicochemical Effects on *Solanum lycopersicum* and *Olea europaea*. *Journal of Environmental Management* **2024**, *351*, 119915, doi:10.1016/j.jenvman.2023.119915.
163. Hattab, S.; Boughattas, I.; Cappello, T.; Zitouni, N.; Touil, G.; Romdhani, I.; Livet, A.; Bousserhine, N.; Banni, M. Heavy Metal Accumulation, Biochemical and Transcriptomic Biomarkers in Earthworms *Eisenia andrei* Exposed to Industrially Contaminated Soils from South-Eastern Tunisia (Gabes Governorate). *Science of The Total Environment* **2023**, *887*, 163950, doi:10.1016/j.scitotenv.2023.163950.
164. Sanchez-Hernandez, J.C.; Narváez, C.; Cares, X.A.; Sabat, P.; Naidu, R. Predicting the Bioremediation Potential of Earthworms of Different Ecotypes through a Multi-Biomarker Approach. *Science of The Total Environment* **2023**, *862*, 160547, doi:10.1016/j.scitotenv.2022.160547.
165. Lackmann, C.; Velki, M.; Šimić, A.; Müller, A.; Braun, U.; Ečimović, S.; Hollert, H. Two Types of Microplastics (Polystyrene-HBCD and Car Tire Abrasion) Affect Oxidative Stress-Related

- Biomarkers in Earthworm *Eisenia andrei* in a Time-Dependent Manner. *Environment International* **2022**, *163*, 107190, doi:10.1016/j.envint.2022.107190.
166. Li, X.; Wang, M.; Jiang, R.; Zheng, L.; Chen, W. Evaluation of Joint Toxicity of Heavy Metals and Herbicide Mixtures in Soils to Earthworms (*Eisenia fetida*). *Journal of Environmental Sciences* **2020**, *94*, 137–146, doi:10.1016/j.jes.2020.03.055.
167. Rong, H.; Wang, C.; Liu, H.; Zhang, M.; Yuan, Y.; Pu, Y.; Huang, J.; Yu, J. Biochemical Toxicity and Potential Detoxification Mechanisms in Earthworms *Eisenia fetida* Exposed to Sulfamethazine and Copper. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **2020**, *105*, 255–260, doi:10.1007/s00128-020-02927-5.
168. Homa, J.; Stürzenbaum, S.R.; Kolaczowska, E. Metallothionein 2 and Heat Shock Protein 72 Protect *Allolobophora chlorotica* from Cadmium But Not Nickel or Copper Exposure: Body Malformation and Coelomocyte Functioning. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **2016**, *71*, 267–277, doi:10.1007/s00244-016-0276-6.
169. Hao, X.; Zhang, W.; Zhao, L.; Shen, L.; Zhu, L.; Zeng, B.; Jiang, D.; Bai, L. *Bacillus subtilis* Reduces Antibiotic Resistance Genes of Animal Sludge in Vermicomposting by Improving Heat Stress Tolerance of *Eisenia foetida* and Bacterial Community Adjustment. *Environmental Research* **2023**, *219*, 115088, doi:10.1016/j.envres.2022.115088.
170. Huang, C.; Zhang, X.; Wang, K.; Yue, S.; Qiao, Y. Evidence for the Metal Resistance of Earthworm *Eisenia fetida* across Generations (F1 and F2) under Laboratory Metal Exposure. *Journal of Hazardous Materials* **2022**, *425*, 128006, doi:10.1016/j.jhazmat.2021.128006.
171. Cheng, Y.; Zhu, L.; Song, W.; Jiang, C.; Li, B.; Du, Z.; Wang, J.; Wang, J.; Li, D.; Zhang, K. Combined Effects of Mulch Film-Derived Microplastics and Atrazine on Oxidative Stress and Gene Expression in Earthworm (*Eisenia fetida*). *Science of The Total Environment* **2020**, *746*, 141280, doi:10.1016/j.scitotenv.2020.141280.
172. Márquez-Lázaro, J.; Díaz-Pineda, K.; Méndez-Cuadro, D.; Rodríguez-Cavallo, E. Fluoroquinolone Antibiotics and Organophosphate Pesticides Induce Carbonylation on *Eisenia fetida* Muscle Proteins. *Science of The Total Environment* **2021**, *758*, 143954, doi:10.1016/j.scitotenv.2020.143954.
173. Bourdineaud, J.-P.; Štambuk, A.; Šrut, M.; Radić Brkanac, S.; Ivanković, D.; Lisjak, D.; Sauerborn Klobučar, R.; Dragun, Z.; Bačić, N.; Klobučar, G.I.V. Gold and Silver Nanoparticles Effects to the Earthworm *Eisenia fetida* – the Importance of Tissue over Soil Concentrations. *Drug and Chemical Toxicology* **2021**, *44*, 12–29, doi:10.1080/01480545.2019.1567757.
174. Yuan, Y.; Teng, H.; Zhang, T.; Wang, D.; Gu, H.; Lv, W. Toxicological Effects Induced by Two Carbamates on Earthworms (*Eisenia fetida*): Acute Toxicity, Arrested Regeneration and Underlying Mechanisms. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **2024**, *269*, 115824, doi:10.1016/j.ecoenv.2023.115824.
175. Shi, L.; Shen, C.; Zhang, P.; Xu, J.; Wu, X.; Pan, X.; He, L.; Dong, F.; Zheng, Y. Assessment on the Stereoselective Behavior of Cyflumetofen to Earthworms (*Eisenia foetida*): Degradation, Bioaccumulation, Toxicity Mechanism, and Metabolites. *Science of The Total Environment* **2023**, *892*, 164541, doi:10.1016/j.scitotenv.2023.164541.
176. Li, X.; Li, M.; Jiang, N.; Yao, X.; Wang, Q.; Lv, H.; Wang, C.; Wang, J. Evaluation of Soil Ecological Health after Exposure to Environmentally Relevant Doses of Di (2-Ethylhexyl) Phthalate: Insights from Toxicological Studies of Earthworms at Different Ecological Niches. *Environmental Pollution* **2023**, *322*, 121204, doi:10.1016/j.envpol.2023.121204.

177. Baihetiyaer, B.; Jiang, N.; Li, X.; He, B.; Wang, J.; Fan, X.; Sun, H.; Yin, X. Oxidative Stress and Gene Expression Induced by Biodegradable Microplastics and Imidacloprid in Earthworms (*Eisenia fetida*) at Environmentally Relevant Concentrations. *Environmental Pollution* **2023**, *323*, 121285, doi:10.1016/j.envpol.2023.121285.
178. Xu, Z.; Yang, Z.; Shu, W.; Zhu, T. Combined Toxicity of Soil Antimony and Cadmium on Earthworm *Eisenia fetida*: Accumulation, Biomarker Responses and Joint Effect. *Journal of Hazardous Materials Letters* **2021**, *2*, 100018, doi:10.1016/j.hazl.2021.100018.
179. Panzarino, O.; Hyršl, P.; Dobeš, P.; Vojtek, L.; Vernile, P.; Bari, G.; Terzano, R.; Spagnuolo, M.; de Lillo, E. Rank-Based Biomarker Index to Assess Cadmium Ecotoxicity on the Earthworm *Eisenia andrei*. *Chemosphere* **2016**, *145*, 480–486, doi:10.1016/j.chemosphere.2015.11.077.
180. Boughattas, I.; Vaccari, F.; Zhang, L.; Bandini, F.; Miras-Moreno, B.; Missawi, O.; Hattab, S.; Mkhinini, M.; Lucini, L.; Puglisi, E.; *et al.* Co-Exposure to Environmental Microplastic and the Pesticide 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D) Induce Distinctive Alterations in the Metabolome and Microbial Community Structure in the Gut of the Earthworm *Eisenia andrei*. *Environmental Pollution* **2024**, *344*, 123213, doi:10.1016/j.envpol.2023.123213.
181. Ran, C.; Liu, C.; Peng, C.; Li, X.; Liu, Y.; Li, Y.; Zhang, W.; Cai, H.; Wang, L. Oxidative Potential of Heavy-Metal Contaminated Soil Reflects Its Ecological Risk on Earthworm. *Environmental Pollution* **2023**, *323*, 121275, doi:10.1016/j.envpol.2023.121275.
182. Lin, X.; Liu, Z.; Wang, W.; Duan, G.; Zhu, Y. Effects of Artificial Sweetener Acesulfame on Soil-Dwelling Earthworms (*Eisenia fetida*) and Its Gut Microbiota. *Science of The Total Environment* **2024**, *907*, 167641, doi:10.1016/j.scitotenv.2023.167641.
183. Shi, Z.; Yan, J.; Ren, X.; Wen, M.; Zhao, Y.; Wang, C. Effects of Biochar and Thermally Treated Biochar on *Eisenia fetida* Survival, Growth, Lysosomal Membrane Stability and Oxidative Stress. *Science of The Total Environment* **2021**, *770*, 144778, doi:10.1016/j.scitotenv.2020.144778.
184. Shi, Z.; Wen, M.; Ma, Z. Effects of Polyethylene, Polyvinyl Chloride, and Polystyrene Microplastics on the Vermitoxicity of Fluoranthene in Soil. *Chemosphere* **2022**, *298*, 134278, doi:10.1016/j.chemosphere.2022.134278.
185. Vivas, F.; Balladares, S.; Lobos, M.G.; Gaete, H. Assessment Toxicity of Soils from Areas with Mining Activity Through the Stability of the Lysosomal Membrane and Avoidance Behavior in the Earthworm *Eisenia fetida*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **2022**, *110*, 13, doi:10.1007/s00128-022-03662-9.
186. Grasserová, A.; Pacheco, N.I.N.; Semerád, J.; Filipová, A.; Innemanová, P.; Hanč, A.; Procházková, P.; Cajthaml, T. New Insights into Vermiremediation of Sewage Sludge: The Effect of Earthworms on Micropollutants and Vice Versa. *Waste Management* **2024**, *174*, 496–508, doi:10.1016/j.wasman.2023.12.016.
187. He, F.; Wan, J.; Huo, C.; Li, X.; Cui, Z.; Li, Y.; Liu, R.; Zong, W. New Strategies for Evaluating Imidacloprid-Induced Biological Consequences Targeted to *Eisenia fetida* Species and the Corresponding Mechanisms of Its Toxicity. *Journal of Environmental Management* **2024**, *349*, 119456, doi:10.1016/j.jenvman.2023.119456.
188. Navarro Pacheco, N.I.; Roubalova, R.; Semerád, J.; Grasserova, A.; Benada, O.; Kofronova, O.; Cajthaml, T.; Dvorak, J.; Bilej, M.; Prochazkova, P. *In Vitro* Interactions of TiO₂ Nanoparticles with Earthworm Coelomocytes: Immunotoxicity Assessment. *Nanomaterials* **2021**, *11*, 250, doi:10.3390/nano11010250.
189. Du, L.; Wu, A.; Liu, G.; Li, H.; Yu, B.; zhen, H.; Wang, X. Green Autofluorescence Eleocytes

- from Earthworm as a Tool for Detecting Environmental Iron Pollution. *Ecological Indicators* **2020**, *108*, 105695, doi:10.1016/j.ecolind.2019.105695.
190. Chatterjee, A.; Thilagaraj, R.; Gobic, D. Effect of Heavy Metals on Four Different Earthworm's Species Specific Autofluorescing Eelocytes. *Invertebrate Survival Journal* **2017**, *14*, 32–43, doi:10.25431/1824-307X/isj.v14i1.32-43.
191. Plytycz, B.; Klimek, M.; Homa, J.; Mazur, A.I.; Kruk, J.; Morgan, A.J. Species-Specific Sensitivity of Earthworm Coelomocytes to Dermal Metal (Cd, Cu, Ni, Pb, Zn) Exposures: Methodological Approach. *Pedobiologia* **2011**, *54*, S203–S210, doi:10.1016/j.pedobi.2011.06.002.
192. Rorat, A.; Kacprzak, M.; Vandembulcke, F.; Plytycz, B. Soil Amendment with Municipal Sewage Sludge Affects the Immune System of Earthworms *Dendrobaena veneta*. *Applied Soil Ecology* **2013**, *64*, 237–244, doi:10.1016/j.apsoil.2012.12.017.
193. Urionabarrenetxea, E.; Garcia-Velasco, N.; Zaldibar, B.; Soto, M. Impacts of Sewage Sludges Deposition on Agricultural Soils: Effects upon Model Soil Organisms. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* **2022**, *255*, 109276, doi:10.1016/j.cbpc.2022.109276.
194. Li, D.; Zhang, J.; Liu, X.; Wang, X.; Li, B.; Du, Z.; Juhasz, A.; Wang, J.; Wang, J.; Zhu, L. Are PFBS, PFHxS, and 6:2FTSA More Friendly to the Soil Environment Compared to PFOS? A New Insight Based on Ecotoxicity Study in Soil Invertebrates (*Eisenia fetida*). *Science of The Total Environment* **2023**, *904*, 166689, doi:10.1016/j.scitotenv.2023.166689.
195. Jiang, W.; Zhai, W.; Liu, X.; Wang, F.; Liu, D.; Yu, X.; Wang, P. Co-Exposure of Monensin Increased the Risks of Atrazine to Earthworms. *Environmental Science & Technology* **2022**, *56*, 7883–7894, doi:10.1021/acs.est.2c00226.
196. Duo, L.; Wang, Y.; Zhao, S. Individual and Histopathological Responses of the Earthworm (*Eisenia fetida*) to Graphene Oxide Exposure. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **2022**, *229*, 113076, doi:10.1016/j.ecoenv.2021.113076.
197. Ma, Z.; Zhu, W.; Kang, J.; Ma, X.; Jiang, G. A Comprehensive Study on the Ecotoxicity of Ivermectin to Earthworms (*Eisenia fetida*). *Ecotoxicology and Environmental Safety* **2023**, *268*, 115709, doi:10.1016/j.ecoenv.2023.115709.
198. He, F.; Shi, H.; Liu, R.; Tian, G.; Qi, Y.; Wang, T. Randomly-Shaped Nanoplastics Induced Stronger Biototoxicity Targeted to Earthworm *Eisenia fetida* Species: Differential Effects and the Underlying Mechanisms of Realistic and Commercial Polystyrene Nanoplastics. *Science of The Total Environment* **2023**, *877*, 162854, doi:10.1016/j.scitotenv.2023.162854.
199. Lackmann, C.; Šimić, A.; Ečimović, S.; Mikuška, A.; Seiler, T.-B.; Hollert, H.; Velki, M. Subcellular Responses and Avoidance Behavior in Earthworm *Eisenia andrei* Exposed to Pesticides in the Artificial Soil. *Agriculture* **2023**, *13*, 271, doi:10.3390/agriculture13020271.
200. Reis, F.O.; de Moura Garcia, E.; Volcão, L.M.; Tavella, R.A.; de Lima Brum, R.; Müller, L.; Correa, E.K.; Ventura-Lima, J.; da Silva Júnior, F.M.R. Arsenite and Arsenate Toxicity in the Earthworm *Eisenia andrei* (Bouché 1972) in Natural Soil and Tropical Artificial Soil. *Environmental Science and Pollution Research* **2023**, *30*, 12872–12882, doi:10.1007/s11356-022-23025-5.
201. Shang, G.; Zhai, J.; Xu, G.; Wang, L.; Wang, X. Ecotoxicological Effects of Co-Exposure Biodegradable Microplastics Polylactic Acid with Cadmium Are Higher than Conventional Microplastics Polystyrene with Cadmium on the Earthworm. *Science of The Total Environment* **2023**, *903*, 166953, doi:10.1016/j.scitotenv.2023.166953.

202. Urionabarrenetxea, E.; Garcia-Velasco, N.; Marigómez, I.; Soto, M. Effects of Elevated Temperatures and Cadmium Exposure on Stress Biomarkers at Different Biological Complexity Levels in *Eisenia fetida* Earthworms. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* **2020**, *231*, 108735, doi:10.1016/j.cbpc.2020.108735.
203. He, F.; Liu, R.; Tian, G.; Qi, Y.; Wang, T. Ecotoxicological Evaluation of Oxidative Stress-Mediated Neurotoxic Effects, Genetic Toxicity, Behavioral Disorders, and the Corresponding Mechanisms Induced by Fluorene-Contaminated Soil Targeted to Earthworm (*Eisenia fetida*) Brain. *Science of The Total Environment* **2023**, *871*, 162014, doi:10.1016/j.scitotenv.2023.162014.
204. Dummett, I.; Sturrock, C.J.; Stroud, J.L. Monitoring the Effects of Pesticide Pellets to Address Farmers' Concerns on Soil Fauna, Specifically Earthworms. *Soil Use and Management* **2023**, *39*, 1235–1244, doi:10.1111/sum.12934.
205. Deng, S.; Wu, Y.; Duan, H.; Cavanagh, J.-A.E.; Wang, X.; Qiu, J.; Li, Y. Toxicity Assessment of Earthworm Exposed to Arsenate Using Oxidative Stress and Burrowing Behavior Responses and an Integrated Biomarker Index. *Science of The Total Environment* **2021**, *800*, 149479, doi:10.1016/j.scitotenv.2021.149479.
206. Gupta, R.; Garg, V.K. Stabilization of Primary Sewage Sludge during Vermicomposting. *Journal of Hazardous Materials* **2008**, *153*, 1023–1030, doi:10.1016/j.jhazmat.2007.09.055.
207. Fijalkowski, K.; Rorat, A.; Grobelak, A.; Kacprzak, M.J. The Presence of Contaminations in Sewage Sludge – The Current Situation. *Journal of Environmental Management* **2017**, *203*, 1126–1136, doi:10.1016/j.jenvman.2017.05.068.
208. Ghosh, S. Environmental Pollutants, Pathogens and Immune System in Earthworms. *Environmental Science and Pollution Research* **2018**, *25*, 6196–6208, doi:10.1007/s11356-017-1167-8.
209. Natal-da-Luz, T.; Tidona, S.; Jesus, B.; Morais, P.V.; Sousa, J.P. The Use of Sewage Sludge as Soil Amendment. The Need for an Ecotoxicological Evaluation. *Journal of Soils and Sediments* **2009**, *9*, 246–260, doi:10.1007/s11368-009-0077-x.
210. Masciandaro, G.; Ceccanti, B.; Garcia, C. “*In Situ*” Vermicomposting of Biological Sludges and Impacts on Soil Quality. *Soil Biology and Biochemistry* **2000**, *32*, 1015–1024, doi:10.1016/S0038-0717(00)00011-0.
211. Hait, S.; Tare, V. Vermistabilization of Primary Sewage Sludge. *Bioresource Technology* **2011**, *102*, 2812–2820, doi:10.1016/j.biortech.2010.10.031.
212. Swati, A.; Hait, S. Fate and Bioavailability of Heavy Metals during Vermicomposting of Various Organic Wastes – A Review. *Process Safety and Environmental Protection* **2017**, *109*, 30–45, doi:10.1016/j.psep.2017.03.031.
213. Roques, O.; Bayard, R.; Le Maux, J.; Patureau, D.; Néliu, S.; Lamy, I.; Bedell, J.-P. Assessing the Chronic Toxicity of Spreading Organic Amendments on Agricultural Soil: Tests on Earthworms and Plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **2023**, *265*, 115504, doi:10.1016/j.ecoenv.2023.115504.
214. Khalid, H.; Kashif Zahoor, M.; Riaz, D.; Arshad, M.; Yaqoob, R.; Ranian, K. Sewage Sludge-Induced Effect on Growth, Enzyme Inhibition, and Genotoxicity Can Be Ameliorated Using Wheat Straw and Biochar in *Pheretima posthuma* Earthworms. *Frontiers in Environmental Science* **2022**, *10*, 888394, doi:10.3389/fenvs.2022.888394.
215. Domínguez, J.; Edwards, C.A.; Webster, M. Vermicomposting of Sewage Sludge: Effect of

- Bulking Materials on the Growth and Reproduction of the Earthworm *Eisenia andrei*. *Pedobiologia* **2000**, *44*, 24–32, doi:10.1078/S0031-4056(04)70025-6.
216. Hait, S.; Tare, V. Optimizing Vermistabilization of Waste Activated Sludge Using Vermicompost as Bulking Material. *Waste Management* **2011**, *31*, 502–511, doi:10.1016/j.wasman.2010.11.004.
217. Xing, M.; Lv, B.; Zhao, C.; Yang, J. Towards Understanding the Effects of Additives on the Vermicomposting of Sewage Sludge. *Environmental Science and Pollution Research* **2015**, *22*, 4644–4653, doi:10.1007/s11356-014-3708-8.
218. Ren, X.; Jiao, M.; Chen, X.; Liu, T.; Zhang, Y.; Zhang, Z. Role of Bulking Agents and Additive on Composting. *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering*; Elsevier: Amsterdam, Nizozemsko, 2023; 127–142 ISBN 978-0-323-91874-9.
219. Malińska, K.; Zabochnicka-Świątek, M.; Cáceres, R.; Marfà, O. The Effect of Precomposted Sewage Sludge Mixture Amended with Biochar on the Growth and Reproduction of *Eisenia fetida* during Laboratory Vermicomposting. *Ecological Engineering* **2016**, *90*, 35–41, doi:10.1016/j.ecoleng.2016.01.042.
220. Malińska, K.; Golańska, M.; Cáceres, R.; Rorat, A.; Weisser, P.; Ślęzak, E. Biochar Amendment for Integrated Composting and Vermicomposting of Sewage Sludge – The Effect of Biochar on the Activity of *Eisenia fetida* and the Obtained Vermicompost. *Bioresource Technology* **2017**, *225*, 206–214, doi:10.1016/j.biortech.2016.11.049.
221. Khan, M.B.; Cui, X.; Jilani, G.; Lazzat, U.; Zehra, A.; Hamid, Y.; Hussain, B.; Tang, L.; Yang, X.; He, Z. *Eisenia fetida* and Biochar Synergistically Alleviate the Heavy Metals Content during Valorization of Biosolids via Enhancing Vermicompost Quality. *Science of The Total Environment* **2019**, *684*, 597–609, doi:10.1016/j.scitotenv.2019.05.370.
222. Wang, L.; Zhang, Y.; Lian, J.; Chao, J.; Gao, Y.; Yang, F.; Zhang, L. Impact of Fly Ash and Phosphatic Rock on Metal Stabilization and Bioavailability during Sewage Sludge Vermicomposting. *Bioresource Technology* **2013**, *136*, 281–287, doi:10.1016/j.biortech.2013.03.039.
223. Hanč, A.; Švehla, P.; Míchal, P.; Innemanová, P.; Hřečka, M. Optimální přístupy k vermikompostování čistírenského kalu - Certifikovaná metodika; 2022; ISBN 978-80-213-3224-9.
224. Domínguez, J.; Aira, M.; Kolbe, A.R.; Gómez-Brandón, M.; Pérez-Losada, M. Changes in the Composition and Function of Bacterial Communities during Vermicomposting May Explain Beneficial Properties of Vermicompost. *Scientific Reports* **2019**, *9*, 9657, doi:10.1038/s41598-019-46018-w.
225. Cai, L.; Gong, X.; Sun, X.; Li, S.; Yu, X. Comparison of Chemical and Microbiological Changes during the Aerobic Composting and Vermicomposting of Green Waste. *PLoS ONE* **2018**, *13*, e0207494, doi:10.1371/journal.pone.0207494.
226. Gómez-Brandón, M.; Aira, M.; Domínguez, J. Vermicomposts Are Biologically Different: Microbial and Functional Diversity of Green Vermicomposts. *Earthworm Assisted Remediation of Effluents and Wastes*; Springer Nature Singapore: Singapur, 2020; 125–140 ISBN 9789811545221.
227. Rosado, D.; Pérez-Losada, M.; Aira, M.; Domínguez, J. Bacterial Succession during Vermicomposting of Silver Wattle (*Acacia dealbata* Link). *Microorganisms* **2021**, *10*, 65, doi:10.3390/microorganisms10010065.
228. Aira, M.; Pérez-Losada, M.; Domínguez, J. Microbiome Dynamics during Cast Ageing in the Earthworm *Aporrectodea caliginosa*. *Applied Soil Ecology* **2019**, *139*, 56–63,

doi:10.1016/j.apsoil.2019.03.019.

229. Ho, A.; Lonardo, D.P.D.; Bodelier, P.L.E. Revisiting Life Strategy Concepts in Environmental Microbial Ecology. *FEMS Microbiology Ecology* **2017**, *93*, fix006, doi:10.1093/femsec/fix006.
230. Huang, K.; Li, F.; Wei, Y.; Chen, X.; Fu, X. Changes of Bacterial and Fungal Community Compositions during Vermicomposting of Vegetable Wastes by *Eisenia foetida*. *Bioresource Technology* **2013**, *150*, 235–241, doi:10.1016/j.biortech.2013.10.006.
231. Gopal, M.; Bhute, S.S.; Gupta, A.; Prabhu, S.R.; Thomas, G.V.; Whitman, W.B.; Jangid, K. Changes in Structure and Function of Bacterial Communities during Coconut Leaf Vermicomposting. *Antonie van Leeuwenhoek* **2017**, *110*, 1339–1355, doi:10.1007/s10482-017-0894-7.
232. Domínguez, J.; Aira, M.; Crandall, K.A.; Pérez-Losada, M. Earthworms Drastically Change Fungal and Bacterial Communities during Vermicomposting of Sewage Sludge. *Scientific Reports* **2021**, *11*, 15556, doi:10.1038/s41598-021-95099-z.
233. Lv, B.; Xing, M.; Yang, J.; Zhang, L. Pyrosequencing Reveals Bacterial Community Differences in Composting and Vermicomposting on the Stabilization of Mixed Sewage Sludge and Cattle Dung. *Applied Microbiology and Biotechnology* **2015**, *99*, 10703–10712, doi:10.1007/s00253-015-6884-7.
234. Lv, B.; Xing, M.; Yang, J. Exploring the Effects of Earthworms on Bacterial Profiles during Vermicomposting Process of Sewage Sludge and Cattle Dung with High-Throughput Sequencing. *Environmental Science and Pollution Research* **2018**, *25*, 12528–12537, doi:10.1007/s11356-018-1520-6.
235. Yang, J.; Huang, K.; Peng, L.; Li, J.; Liu, A. Fate of Functional Bacterial and Eukaryotic Community Regulated by Earthworms during Vermicomposting of Dewatered Sludge, Studies Based on the 16S rDNA and 18S rDNA Sequencing of Active Cells. *International Journal of Environmental Research and Public Health* **2021**, *18*, 9713, doi:10.3390/ijerph18189713.
236. Huang, K.; Xia, H.; Zhang, Y.; Li, J.; Cui, G.; Li, F.; Bai, W.; Jiang, Y.; Wu, N. Elimination of Antibiotic Resistance Genes and Human Pathogenic Bacteria by Earthworms during Vermicomposting of Dewatered Sludge by Metagenomic Analysis. *Bioresource Technology* **2020**, *297*, 122451, doi:10.1016/j.biortech.2019.122451.
237. Duan, Z.; Zhu, Y.; Xia, H.; Huang, K.; Peng, L. A Novel Strategy for Eliminating Antibiotic Resistance Genes during Fertilization of Dewatered Sludge by Earthworms: Vermicomposting Practice Using Chinese Herbal Residues Derived from Lianhua Qingwen as a Bulking Material. *Journal of Environmental Management* **2024**, *349*, 119444, doi:10.1016/j.jenvman.2023.119444.
238. Chowdhury S.D.; Surampalli R.Y.; Bhunia P. Potential of the Constructed Wetlands and the Earthworm-Based Treatment Technologies to Remove the Emerging Contaminants: A Review. *Journal of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste* **2022**, *26*, 04021066, doi:10.1061/(ASCE)HZ.2153-5515.0000668.
239. Snyder, E.H.; O'Connor, G.A.; McAvoy, D.C. Toxicity and Bioaccumulation of Biosolids-Borne Triclocarban (TCC) in Terrestrial Organisms. *Chemosphere* **2011**, *82*, 460–467, doi:10.1016/j.chemosphere.2010.09.054.
240. Pannu, M.W.; O'Connor, G.A.; Toor, G.S. Toxicity and Bioaccumulation of Biosolids-Borne Triclosan in Terrestrial Organisms. *Environmental Toxicology and Chemistry* **2012**, *31*, 646–653, doi:10.1002/etc.1721.

241. Sidhu, H.; O'Connor, G.; Ogram, A.; Kumar, K. Bioavailability of Biosolids-Borne Ciprofloxacin and Azithromycin to Terrestrial Organisms: Microbial Toxicity and Earthworm Responses. *Science of The Total Environment* **2019**, *650*, 18–26, doi:10.1016/j.scitotenv.2018.09.004.
242. Kinney, C.A.; Furlong, E.T.; Kolpin, D.W.; Burkhardt, M.R.; Zaugg, S.D.; Werner, S.L.; Bossio, J.P.; Benotti, M.J. Bioaccumulation of Pharmaceuticals and Other Anthropogenic Waste Indicators in Earthworms from Agricultural Soil Amended With Biosolid or Swine Manure. *Environmental Science & Technology* **2008**, *42*, 1863–1870, doi:10.1021/es702304c.
243. Sherburne, J.J.; Anaya, A.M.; Fernie, K.J.; Forbey, J.S.; Furlong, E.T.; Kolpin, D.W.; Dufty, A.M.; Kinney, C.A. Occurrence of Triclocarban and Triclosan in an Agro-Ecosystem Following Application of Biosolids. *Environmental Science & Technology* **2016**, *50*, 13206–13214, doi:10.1021/acs.est.6b01834.
244. Kinney, C.A.; Campbell, B.R.; Thompson, R.; Furlong, E.T.; Kolpin, D.W.; Burkhardt, M.R.; Zaugg, S.D.; Werner, S.L.; Hay, A.G. Earthworm Bioassays and Seedling Emergence for Monitoring Toxicity, Aging and Bioaccumulation of Anthropogenic Waste Indicator Compounds in Biosolids-Amended Soil. *Science of The Total Environment* **2012**, *433*, 507–515, doi:10.1016/j.scitotenv.2012.06.097.
245. Rivier, P.-A.; Havranek, I.; Coutris, C.; Norli, H.R.; Joner, E.J. Transfer of Organic Pollutants from Sewage Sludge to Earthworms and Barley under Field Conditions. *Chemosphere* **2019**, *222*, 954–960, doi:10.1016/j.chemosphere.2019.02.010.
246. Dume, B.; Hanč, A.; Švehla, P.; Michal, P.; Pospíšil, V.; Grasserová, A.; Cajthaml, T.; Chane, A.D.; Nigussie, A. Influence of Earthworms on the Behaviour of Organic Micropollutants in Sewage Sludge. *Journal of Cleaner Production* **2023**, *416*, 137869, doi:10.1016/j.jclepro.2023.137869.
247. Havranek, I.; Coutris, C.; Norli, H.R.; Rivier, P.; Joner, E.J. Uptake and Elimination Kinetics of the Biocide Triclosan and the Synthetic Musks Galaxolide and Tonalide in the Earthworm *Dendrobaena veneta* When Exposed to Sewage Sludge. *Environmental Toxicology and Chemistry* **2017**, *36*, 2068–2073, doi:10.1002/etc.3737.
248. Chevillot, F.; Guyot, M.; Desrosiers, M.; Cadoret, N.; Veilleux, É.; Cabana, H.; Bellenger, J. Accumulation and Sublethal Effects of Triclosan and Its Transformation Product Methyl-triclosan in the Earthworm *Eisenia andrei* Exposed to Environmental Concentrations in an Artificial Soil. *Environmental Toxicology and Chemistry* **2018**, *37*, 1940–1948, doi:10.1002/etc.4156.
249. Chen, X.; Ma, X.; Pan, Y.; Ji, R.; Gu, X.; Luo, S.; Bao, L.; Gu, X. Dissipation, Transformation and Accumulation of Triclosan in Soil-Earthworm System and Effects of Biosolids Application. *Science of The Total Environment* **2020**, *712*, 136563, doi:10.1016/j.scitotenv.2020.136563.
250. Navarro, I.; de la Torre, A.; Sanz, P.; Pro, J.; Carbonell, G.; Martínez, M. de los Á. Bioaccumulation of Emerging Organic Compounds (Perfluoroalkyl Substances and Halogenated Flame Retardants) by Earthworm in Biosolid Amended Soils. *Environmental Research* **2016**, *149*, 32–39, doi:10.1016/j.envres.2016.05.004.
251. Navarro, I.; de la Torre, A.; Sanz, P.; Porcel, M.Á.; Pro, J.; Carbonell, G.; Martínez, M. de los Á. Uptake of Perfluoroalkyl Substances and Halogenated Flame Retardants by Crop Plants Grown in Biosolids-Amended Soils. *Environmental Research* **2017**, *152*, 199–206, doi:10.1016/j.envres.2016.10.018.
252. Wen, B.; Zhang, H.; Li, L.; Hu, X.; Liu, Y.; Shan, X.; Zhang, S. Bioavailability of Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) and Perfluorooctanoic Acid (PFOA) in Biosolids-Amended Soils to Earthworms

(*Eisenia fetida*). *Chemosphere* **2015**, *118*, 361–366, doi:10.1016/j.chemosphere.2014.08.009.

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala mému školiteli, prof. RNDr. Tomášovi Cajthamlovi, Ph.D., DSc., za odborné vedení disertační práce a poskytnutí vynikajícího zázemí pro její zpracování. Dále bych ráda poděkovala svým kolegům z Laboratoře environmentální biotechnologie, a to zejména RNDr. Jaroslavovi Semerádovi, Ph.D. za jeho cenné rady nejen v oblasti environmentální analytické chemie a Natividad Isabel Navarro Pacheco, Ph.D. za její pomoc s toxikologickými analýzami. V neposlední řadě bych chtěla poděkovat své rodině za její podporu a trpělivost při mých studiích.

Přílohy

Publikace 1	strana 61
Publikace 2	strana 67
Publikace 3	strana 92
Publikace 4	strana 101
Publikace 5	strana 108
Publikace 6	strana 124