

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Přírodovědecká fakulta

## **Fotochemická degradace parabenů**

Diplomová práce

**Bc. Kristýna Frejlachová**

Školitelka: Doc. RNDr. Šárka Klementová, CSc.

České Budějovice 2017

Frejlachová, K., 2017: Fotochemická degradace parabenů. [Photochemical degradation of parabens. Mgr. Thesis, in Czech.] – 40 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

### **Annotation**

The aim of this master thesis was to investigate a photochemical degradation of three representatives of parabens (methylparaben, ethylparaben and propylparaben) in aqueous solutions. Two experimental arrangements were adopted in the study: a heterogeneous photocatalytic process on an immobilized TiO<sub>2</sub> and a reaction in a homogeneous mixture; in the latter arrangement, the effect of Fe(III) concentrations was examined.

### **Prohlášení**

Prohlašuji, že svoji diplomovou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejich internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 15. dubna 2017

.....Podpis

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala mé školitelce Doc. RNDr. Šárce Klementové, CSc. za odborné vedení během provádění experimentů, dále za její přátelský přístup a čas strávený při tvorbě rešeršní části mé diplomové práce.

Moje poděkování též náleží Ing. Gabriele Strnadové a Ing. Davidu Kahounovi, Ph.D. za pomoc při práci s HPLC přístroji.

Poslední díky je směřováno k HBÚ BC AV ČR za provedení TOC analýzy.

## Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod.....</b>	<b>1</b>
	1.1 Základní charakteristika parabenů.....	1
	1.2 Použití a stabilita.....	2
	1.3. Legislativa.....	4
	1.4 Expozice u člověka.....	5
	1.5 Přítomnost parabenů v přírodních vodách.....	9
<b>2</b>	<b>Cíl práce.....</b>	<b>14</b>
<b>3</b>	<b>Materiály a metody.....</b>	<b>15</b>
<b>4</b>	<b>Výsledky.....</b>	<b>17</b>
<b>5</b>	<b>Diskuze.....</b>	<b>26</b>
<b>6</b>	<b>Závěr.....</b>	<b>29</b>
<b>7</b>	<b>Seznam použité literatury.....</b>	<b>30</b>

# 1 ÚVOD

Přítomnost léčiv a produktů osobní péče (PPCP – Pharmaceuticals and Personal Care Products) ve vzorcích životního prostředí je téma, které přitahuje v posledních letech čím dál větší zájem. Produkty osobní péče jsou široce používány po celém světě jako prostředky k ochraně, a údajně k zlepšování zdraví lidí. Ukazuje se v celosvětovém měřítku, že tyto sloučeniny nejsou zadržovány a kompletně odstraňovány v čistírnách odpadních vod, ale částečně neodbourané vstupují do životního prostředí <sup>[1,2]</sup>. Účinek mnohých z těchto látek na zdraví savců a jiných organismů při dlouhodobém působení není prozkoumán. Je tedy těžké přesně identifikovat, které z látek představují ve vodním prostředí potenciálně existující riziko <sup>[3]</sup>.

Celosvětová výroba a používání parabenů má za následek jejich výskyt v životním prostředí jednak v důsledku výroby, jednak z důvodu používání. Nejcitlivějším místem kontaminace bývají povrchové vody využívané jako zdroje vody pitné. Vzhledem k možnému negativnímu dopadu na lidské zdraví roste snaha o zdokonalení metod pro co nepřesnější stanovení jejich množství ve vodách a možnosti pro jejich odstranění z vod <sup>[4]</sup>.

## 1.1 Základní charakteristika parabenů

Parabeny neboli para-hydroxybenzoáty jsou estery kyseliny 4-hydroxybenzoové. Všechny sloučeniny patřící do této skupiny jsou, jak název říká, tvořeny benzenovým jádrem, esterifikovanou karboxylovou skupinou a hydroxylovou skupinou na čtvrtém uhlíku (tedy v pozici para). Sloučeniny se liší pouze délkou alkylového řetězce esterové skupiny <sup>[5]</sup>.

V čisté formě jsou všechny běžně dostupné parabeny (methyl-, ethyl-, propyl-, *n*-propyl-, butyl-, *n*-butyl-, a benzylparaben) bílé krystalické látky bez chuti a zápachu <sup>[5]</sup>. Parabeny jsou stabilní na vzduchu a odolné hydrolyze ve vodě (nezávisle na teplotě) v kyselých a neutrálních roztocích v rozmezí pH od 4,5 – 7,5. Patrná hydrolyza probíhá při pH větším než 7. V zásaditých roztocích jsou parabeny hydrolyzovány na příslušné kyseliny. Se zvyšujícím se alkylovým řetězcem roste odolnost vůči hydrolyze <sup>[6]</sup>.

Parabeny jsou vyráběny synteticky esterifikací 4-hydroxybenzoové kyseliny příslušným alkoholem za přítomnosti katalyzátoru. Mezi nejvíce se vyskytující parabeny se řadí methylparaben, ethylparaben, propylparaben a butylparaben, kdy nejvíce používané v případě potravinových konzervačních látek jsou methylparaben a propylparaben <sup>[6]</sup>.

Parabeny se vyskytují i přirozeně, například v některých druzích ovoce a zeleniny. Byly nalezeny v borůvkách <sup>[7]</sup>, ale i v mrkvi <sup>[8]</sup>, ostružiníku <sup>[9]</sup> (Ostružiníku moruška, *Rubus chamaemorus*) v koncentraci 0,1-0,4 mg/100g pro methylparaben a 0,1-0,6 mg/100g pro propylparaben. Dále byly parabeny detekovány ve vanilce <sup>[10]</sup> (Bourbon a ugandská vanilka), kde byla stanovena koncentrace methylparabenu v bourbon vanilce na 0,38 mg/kg a 1,56 mg/kg ve vanilce ugandské.

Parabeny (methyl-, ethyl-, a propyl-) byly též nalezeny v rostlině <sup>[11]</sup> *Andrographis paniculata*, česky známé jako Právenka latnatá (Obr. 1.) <sup>[12]</sup>, která byla v minulosti využívána pro své účinky jako širokospektrální přírodní antibiotikum.



**Obr. 1:** Právenka latnatá <sup>[12]</sup>.

Biologická schopnost produkce parabenů byla zjištěna u mořských bakterií <sup>[13]</sup>, náležící k druhu *Microbulbifer*, které jsou schopné vytvářet tyto alkylestery (butyl, heptyl a nonyl) 4-hydroxybenzoové kyseliny v koncentraci až 10 mg/l.

## **1.2 Použití a stabilita**

Parabeny jsou celosvětově využívány jako konzervační prostředky, tedy látky zabráňující nežádoucímu růstu mikroorganismů v komerčních produktech. Parabeny splňují hned několik kritérií ideálních konzervačních prostředků využívaných v kosmetickém, farmaceutickém a potravinářském průmyslu – především široké spektrum antimikrobiální

aktivity a nízkou toxicitu. Dostatečná rozpustnost ve vodě zaručuje vytvoření efektivní koncentrace. Nejčastěji využívanými parabeny jsou methylparaben a propylparaben [6].

Parabeny jsou přidávány do mnoha prostředků pro osobní péči [14,15,16,17], jako jsou šampony, kondicionéry, mýdla, laky na vlasy, parfémové výrobky, deodoranty, krémy, zubní pasty a další – podle studie Yazar et al. [14] byl methylparaben obsažen ve více než 44 % a propylparaben více než 25 % z celkových 204 testovaných kosmetických produktů. Relativně vysoké koncentrace přítomného methylparabenu pak uvádí Baranowska et al. [16], kdy methylparaben byl obsažen v různých typech potřeb pro osobní péči, jako například krém na ruce (1112 µg/g), pleťová maska (497 µg/g), krému na obličej (1463 µg/g), obličejové tonikum (500 µg/g) či oční krém (9,68 µg/g).

Přítomnost parabenů v potravinách byla zkoumána např. ve studii Liao et al. [18]. Zabývali se stanovením 6 parabenů (methylparaben, ethylparaben, propylparaben, butylparaben, benzylparaben a heptylparaben) v potravinách v Číně. Pro studii bylo zvoleno 282 vzorků potravin (v supermarketech i v lokálních malých obchodech). Zahrnuty byly domácí čínské i dovážené produkty jako rýže, chleba, maso, vejce, houby, ovoce, zelenina, sýry a další denně konzumované potraviny. Ze zkoumaných 282 vzorků potravin 279 vzorků obsahovalo parabeny v rozsahu od meze stanovitelnosti (0,01 ng/g), až po hodnoty 2530 ng/g s průměrem 39,3 ng/g (pro sumu všech šesti výše uvedených parabenů). Nejvyšší koncentrace pro methylparaben (2170 ng/g) byla nalezena ve vzorku sušené papriky. Nejvyšší množství ethylparabenu a propylparabenu bylo nalezeno v sójové omáčce, a to 1140 ng/g pro ethylparaben a 547 ng/g pro propylparaben. Studie [18] dále uvádí stanovený denní příjem mixu parabenů z vypočítaných průměrných koncentrací na cca 1010 ng/kg tělesné hmotnosti na den pro muže a ještě o něco vyšší hodnotu, 1060 ng/kg tělesné hmotnosti na den, u žen v Číně. Podobnou studii [19] prováděl stejný autor ve stejném roce i v USA. Pro nápoje byla zjištěna průměrná koncentrace všech parabenů 14,2 ng/g, pro skupinu tuků a olejů pouze 0,271 ng/g. Hodnoty nalezených koncentrací parabenů v potravinách v USA byly tedy až několikanásobně nižší než koncentrace v čínské studii.

### 1.3. Legislativa

Poprvé byly parabeny použity jako konzervační prostředky v polovině 20. let minulého století <sup>[20]</sup>. V Evropě je použití parabenů regulováno od roku 2009. Podle nařízení komise EU č. 358/2014 <sup>[21]</sup> upravující zákon 1223/2009 byla koncentrace methylparabenu, ethylparabenu, propylparabenu a butylparabenu stanovena takto: nejvýše 0,4% pro jednotlivé a 0,8% pro jejich směs. Toto nařízení uvádí v platnost zákaz výskytu isopropylparabenu, isobutylparabenu, fenylparabenu, benzylparabenu a pentylparabenu v kosmetických prostředcích. Nařízení bylo v Dánsku rozšířeno o zákaz propylparabenu, butylparabenu, jejich izoformem a solí v kosmetických prostředcích pro děti do tří let věku.

Další nařízení 1004/2014 <sup>[22]</sup> uvádí v platnost následující omezení: methyl-, a ethylparaben nejvýše 0,4 %. Pokud směs obsahuje další parabeny, nesmí být celkový obsah větší než 0.8 %, ale s tím omezením, že obsah propylparabenu a butylparabenu nesmí být větší než 0,14%. Dále je použití propylparabenu a butylparabenu zakázáno pro dětské produkty používané v okolí plen z důvodu možného podráždění. Toto omezení se týkalo produktů uvedených na trh od 16. dubna 2015.

Jiná je legislativa používání parabenů v USA. V roce 1984 byly organizací CIR (Cosmetic Ingredient Review) schváleny jako bezpečné pro použití v kosmetice a od té doby se legislativa nezměnila <sup>[20]</sup>.

Americký ústav pro kontrolu potravin a léčiv (US FDA) dále přiřadil methylparabenu a propylparabenu v koncentraci do 0,1 %, status GRAS <sup>[23]</sup> (Generally Recognized as Safe) - takový status je udělován úřadem těm potravinovým ingrediencím, které jsou považovány za zdravotně nezávadné a mohou být používány v potravinářském průmyslu. Nicméně revize z května 2016 dále uvádí v platnost sankce za přidávání parabenů nepřímou cestou prostřednictvím obalového materiálu.



## 1.4 Expozice u člověka

Největším problémem spojeným s expozicí parabenů u člověka je obtížnost přesného stanovení množství, jemuž je člověk vystaven za určité časové období. Hodnota se může lišit u jednotlivých jedinců v důsledku používání rozdílných prostředků pro osobní péči, kosmetiky, farmaceutických prostředků i potravin, kde všude je možné parabeny detekovat <sup>[4]</sup>.

Pro denní expozici člověka parabenům jsou dostupná data především pro dva z nejvíce komerčně využívaných parabenů – methylparaben a propylparaben. Podle studie Soni et al. <sup>[6]</sup> využívající dat Národní akademie věd Spojených států amerických a Úřadu pro kontrolu potravin a léčiv, je průměrný člověk (60 kg) je vystaven až 0,6 mg/den (0,01 mg/kg/den) methylparabenu a 0,78 mg/den (0,013 mg/kg/den) propylparabenu prostřednictvím potravy. V součtu s parabeny, které se do těla dostávají prostřednictvím farmaceutických a kosmetických produktů, se celkové množství všech parabenů denního příjmu rovná 76 mg/den; přibližně 1 mg/den pro potraviny, 25 mg/den pro farmaceutické prostředky a 50 mg/den pro kosmetické prostředky.

Jiná studie <sup>[24]</sup> se od té předchozí výrazně liší a doplňuje hodnoty denních expozic i pro ethylparaben a butylparaben. Nejvyšší koncentraci připisuje stejně jako předchozí studie Soni et al. <sup>[6]</sup> propylparabenu (2,07 mg/den), následován v dnešní době nejvíce omezovaným butylparabenem (0,105 mg/den). Publikovali též denní expozice methylparabenu (0,0276 mg/den) a ethylparabenu (0,00177 mg/den).

Některé studie <sup>[25]</sup> stanovují denní expozici díky používání prostředků pro osobní péči pro dospělého jedince dokonce až na 17,76 g parabenů za den. Nižší množství pak pro jedince nedospělé - 378 mg parabenů za den.

Parabeny (methylparaben, ethylparaben, propylparaben a butylparaben) jsou dobře odbouratelné v těle <sup>[24]</sup>. Methylparaben má navíc nízký potenciál pro bioakumulaci v lidském těle ( $\log K_{ow}^1=1,96$ ), ethylparaben má již střední potenciál pro akumulaci v organismu s hodnotou  $\log K_{ow}=2,47$ . Parabenem, jež má již plný potenciál k tomu se hromadit v těle, je propylparaben s hodnotou  $\log K_{ow}=3,04$ . Sloučeninou s vysokým potenciálem pro bioakumulaci je butylparaben ( $\log K_{ow}= 3,57$ ) <sup>[24]</sup>.

---

<sup>1</sup>  $K_{ow}$ = Rozdělovací koeficient n-oktanol/voda definován jako poměr rovnovážných koncentrací rozpuštěné látky ve dvoufázovém systému dvou omezeně mísitelných rozpouštědel - n-oktanol a voda:  $K_{ow} = C_o/C_w$

Do těla člověka se tyto parabeny dostávají především penetrací skrz pokožku a prostřednictvím gastrointestinálního traktu. Biotransformace parabenů zahrnuje především hydrolýzu esterové vazby prostřednictvím enzymů esteráz a následné glukuronidové reakce za účasti enzymu UDP-glukuronát transferázy<sup>[26]</sup>. Hydrolýza probíhá na 4-hydroxybenzoovou kyselinu; ta může dále tvořit konjugáty se sloučeninami obsahujícími sulfoskupinu, s kyselinou glukuronovou či s glycinem.

Jak ukazuje práce Abbase et al.<sup>[26]</sup>, parabeny jsou stabilní v krevní plasmě, ale k rychlému odbourávání dochází v játrech. Stabilita parabenů v lidské plazmě závisí na struktuře bočního řetězce, methylparaben a ethylparaben jsou stabilní - uvádějí až 95 % zůstatek pro methylparaben a 94,4 % zůstatek počáteční koncentrace pro ethylparaben po 24h inkubaci při 37°C. Propylparaben je v plasmě méně stabilní, po 24 hodinách dochází k 53 % úbytku počáteční koncentrace se znatelným úbytkem již po 6 hodinách inkubace. Úbytek počáteční hodnoty koncentrace butylparabenu je zřejmý již v první hodině inkubace, po 24 hodinách klesá jeho koncentrace v plasmě na 40 % počáteční koncentrace.

V játrech je naopak nejrychleji metabolizován methylparaben (poločas rozpadu 21,65 min., o něco pomaleji ethylparaben (poločas rozpadu 34,65 min.). Další dva parabeny, propylparaben a butylparaben mají hodnoty poločasu rozpadu ještě delší, propylparaben 69,3 min. a butylparaben 86,2 min<sup>[26]</sup>.

Výskytu parabenů a jejich metabolitů v lidské moči<sup>[27,28,29]</sup> se věnuje řada prací. Calafat et al.<sup>[27]</sup> detekovali parabeny v populaci amerických občanů starších než 6 let. Methylparaben a propylparaben byly nalezeny v 99,1 % resp. 92,7 % z 2548 stanovovaných vzorků moči; a to v koncentracích 63,5 µg/l pro methylparaben a 8,7 µg/l pro propylparaben. Ethylparaben a butylparaben byly též přítomny, avšak v koncentracích o jeden řád nižší než u methylparabenu a propylparabenu.

Podobnou studii též v USA prováděl Ye et al.<sup>[28]</sup>. Měřeno bylo 100 vzorků moči dospělých anonymních dárců různého věku. Methylparaben byl detekován v maximální koncentraci 43,9 ng/ml. Nejvyšší změřená koncentrace pro propylparaben činila 9,1 ng/ml. Oba nejpoužívanější zástupci parabenů byly ve vzorcích močí nalezeny ve více než 96 % případů.

Možnost odbourávání parabenů jinou cestou uvádí studie Wang et al.<sup>[29]</sup>. Přicházejí s tím, že parabeny nejsou v těle metabolizovány pouze na 4-hydroxybenzoovou kyselinu, ale i na alkyl deriváty 3,4-dihydroxykyseliny benzoové (tzv. protokatecháty). Studie srovnávala

koncentrace parabenů (volných i vázaných glykosidickou vazbou na kyselinu glukuronovou) a jejich alkyl protokatechátů (volných i vázaných) v 70-ti vzorcích moči dětí i dospělých. Výsledky tedy poukazují na to, že alkyl deriváty 3,4-dihydroxykyseliny benzoové se v moči vyskytují především jako konjugované (glukuronové formy), minimálně jako volné; ve formě metabolitů dceřiných parabenů.

V devadesátých letech minulého století začaly výsledky studií zkoumající účinky parabenů na lidské tělo naznačovat, že parabeny mohou vykazovat slabou estrogenní aktivitu, která se zvyšuje s velikostí alkylové skupiny <sup>[1,24,26,30,31]</sup>. To by znamenalo, že mají schopnost napodobit přirozeně se vyskytující estrogenu v těle a ovlivňovat tak fyziologické funkce endogenních hormonů. Díky těmto poznatkům jsou parabeny zahrnovány do kategorie látek zvané endokrinní disruptory či hormonálně aktivní látky. Ze čtyř nejznámějších a nejvíce využívaných parabenů s nejsilnějšími estrogenními vlastnostmi jsou propylparaben a butylparaben, ale jejich účinky jsou o pět řádů slabší než účinky 17 $\beta$ -estradiolu <sup>[30]</sup>.

Studie se též snažily prokázat, zda aplikace kosmetických prostředků (jako například antiperspirantů) s obsahem parabenů, může způsobovat nebo urychlit rakovinu prsu. Podle Barra et al. <sup>[32]</sup> parabeny mohou být absorbovány pokožkou, a již v pokožce jsou metabolizovány. Výsledky ukazují přítomnost pěti parabenů v prsních tumorech ve studii prováděné v letech 2005 – 2008 v Anglii. Zdroj přítomnosti v tkáních tumoru nebyl odhalen. Přítomnost parabenů však byla potvrzena i pro 7 ze 40 zúčastněných, které nikdy nepoužily kosmetiku v podpaží. Dále nebyla zjištěna žádná věková závislost výskytu parabenů (37-91 let) ani v délce kojení mateřským mlékem (0-23 měsíců).

Detekce parabenů v tumorech prsů žen zapříčinila zájem o možnou přítomnost v mateřském mléce. Byla vyvinuta nová metoda pro stanovení parabenů v lidském mateřském mléce <sup>[33]</sup>, díky které došlo ve vzorcích mateřského mléka prokázání výskytu methylparabenu a propylparabenu. Stejně tak Schlumpf et al. <sup>[34]</sup> výskyt parabenů v lidském mateřském mléce potvrzují. Testováno bylo 54 vzorků odtučněného mateřského mléka. Odhalena byla přítomnost methylparabenu u 34,1 % vzorků, ethylparaben byl detekován v 19,5 % případů a propylparaben byl nalezen v 14,6 % zkoumaných exemplářů. Výzkum byl prováděn ve švýcarské Basileji v letech 2004 - 2006. Stanovený medián pro denní příjem parabenů prostřednictvím mateřského mléka pro kojence byl stanoven na 192,5 - 301,3 ng/kg/den.

Nové metody pro detekci parabenů (methyl-, ethyl-, propyl-, a butylparaben) v lidské placentě byly také vyvinuty <sup>[35,36]</sup>. Jimenéz-Díaz et al <sup>[35]</sup> ve všech 50-ti vzorcích placenty

objevili minimálně jeden ze zkoumaných parabenů. Procentuální přítomnost parabenů (methyl-, ethyl-, propyl-, a butylparabenu), průměrné hodnoty a maximální nalezené koncentrace jsou uvedeny v Tab. I.

**Tab. I:** Přítomnost parabenů v lidské placentě <sup>[35]</sup>.

vzorek	přítomnost v 50 vzorcích (%)	detekce v 50 vzorcích (%)	průměrná koncentrace (ng/g)	maximální koncentrace (ng/g)
Methylparaben	96	94	2,6	10
Ethylparaben	66	40	0,8	5,3
Propylparaben	90	90	0,6	2,2
Butylparaben	16	8	0,4	0,6

Parabeny byly též studovány pro přítomnost v tumorech vaječnicků u žen <sup>[37]</sup>, kdy vyšší koncentrace parabenů byly detekovány v maligních nádorových tkáních ve srovnání se vzorky benigních nádorů.

Výzkumy prováděné na krysách ukazovaly negativní vliv na reprodukční systém pro propylparaben <sup>[38]</sup> a butylparaben <sup>[39]</sup>. Nové studie <sup>[40,41]</sup> zkoumající prostřednictvím lidské moči možné negativní účinky parabenů v Japonsku i USA, nenašly žádné důkazy o nežádoucím působení parabenů na reprodukční systém u mužů, kteří navštívili reprodukční kliniky z důvodu možné neplodnosti. Přesto uvádějí nutnost dalších studií z důvodu možnosti například nízké koncentrace parabenů, či malého množství vzorku.

## 1.5 Přítomnost parabenů v přírodních vodách

Navzdory faktu, že byly parabeny využívány již od dvacátým let minulého století, poprvé byla jejich přítomnost ve vodě potvrzena až v roce 1996. S rozvojem moderních analytických metod, jako je například spojení chromatografie s hmotnostní spektrometrií, se rozšiřuje možnost přesného stanovení koncentrací parabenů ve vodním prostředí. Ačkoli parabeny nepatří k biologicky rezistentním látkám, z důvodu masivního používání vstupují do životního prostředí v takových množstvích, že jsou detekovány jak v povrchových vodách, tak v sedimentech <sup>[42]</sup>.

Podle údajů EUSES <sup>[24]</sup> (The European Union System for the Evaluation of Substances) je ročně jen v Evropě vyrobeno až 500 tun methylparabenu. Ethylparaben je produkován asi v 10x menším množství než methylparaben – přibližně 50 tun za rok. Propylparabenu a butylparabenu je vyrobeno cca 10 tun ročně. Do vodního prostředí se dostávají přibližně 2 % vyrobeného množství každého z nich, tj. až 10 tun methylparabenu, 1 tuna ethylparabenu, 200 kg propylparabenu a 200 kg butylparabenu za rok.

Podobná situace s parabeny ve vodním prostředí jako ve vyspělých západních zemích je i v jiných částech světa <sup>[24]</sup>.

Loraine et al. <sup>[43]</sup> porovnávali změny koncentrací vybraných látek (včetně parabenů) v závislosti na ročním období v pitné i odpadní vodě v Jižní Kalifornii. Methylparaben byl detekován v odpadních vodách v rozmezí koncentrací 0,52 - 79,6 µg/l s nejčastěji pozorovanou koncentrací 46,0 µg/l v období od ledna do června, 18,6 µg/l od srpna do listopadu. V pitné vodě parabeny přítomny nebyly <sup>[43]</sup>. Výjimku tvoří studie Ferreira et al. <sup>[44]</sup>, kteří publikovali přítomnost methylparabenu v kohoutkové vodě v německém Lipsku v průměrné koncentraci okolo 17 ng/l.

Studie z roku 2008 zkoumala přítomnost parabenů (i jiných látek obsažených v produktech pro osobní péči) v povodí Pearl River v jižní Číně. Pro methylparaben byla zjištěna koncentrace až do maximálních 1062 ng/l a propylparaben v nejvyšší koncentraci 2142 ng/l <sup>[45]</sup>.

V evropských vodách byly parabeny též detekovány. Zgoła-Grzeškowiak et al. <sup>[46]</sup> zjišťovali koncentraci parabenů v polských řekách a jezerech. Nejvyšší naměřené koncentrace byly až 466 ng/l pro methylparaben a 144 ng/l pro propylparaben a to v měsíci červenci. Vysoká variabilita výsledných koncentrací přítomných parabenů byla

prokázána v závislosti na roční době odběru vzorků, což souvisí zejména s množstvím dešťů, tedy s množstvím vody ve vodních tocích.

Yamamoto et al. <sup>[31]</sup>, kteří se zabývali výskytem parabenů v komunálních splašcích japonských měst Tushima a Osaka potvrzují přítomnost až 670 ng/l methylparabenu, 207 ng/l ethylparabenu a 163 ng/l *n*-butylparabenu.

Přítomnost parabenů ve vodách je jasně spojená s jejich detekcí na čistírnách odpadních vod. Nejčastěji detekované parabeny v odpadních vodách byly methylparaben, a propylparaben, odrážející jejich největší zastoupení na poli konzervačních látek. Přesné koncentrace parabenů (methylparabenu, ethylparabenu, propylparabenu a butylparabenu) detekovaných na přítocích a odtocích na čistírnu odpadních vod ve světě jsou uvedené v Tab. II.

**Tab. II:** Rozsah koncentrací methylparabenu, ethylparabenu, propylparabenu a butylparabenu naměřených na přítocích a odtocích na čistírny odpadních vod po celém světě. (ND=nedetekován) <sup>[47]</sup>.

Místo (rok)	lokalizace	MP	EP	PP	BP
		ng/l			
Švédsko <sup>[42]</sup> (1996)	výtok	ND-300			
Kanada <sup>[48]</sup> (2005)	přítok	100-1470	20-270	200-2430	20-260
	výtok	20-30	<10	<10-40	<10
USA <sup>[43]</sup> (2006)	přítok	12500-79600			
	výtok	ND-3830			
Švýcarsko <sup>[49]</sup> (2009)	přítok	65-9880	2,2-719	43-1540	9,7-864
	výtok	4,6-423	<0,3-17	<0,5-28	<0,2-12
Portugalsko <sup>[50]</sup> (2010)	výtok	13-31	<0,3-6-6	<0,5-21	0,2-3,9
Španělsko <sup>[51]</sup> (2011)	přítok	290-10000	250-1600	520-2800	39-270
	výtok	6,1	ND-9,8	ND-21	ND
Japonsko <sup>[52]</sup> (2012)	přítok	1400-2400	52-57	2200-2600	370-450

Z tab. II je patrné, že koncentrace parabenů v odpadních vodách se vyskytují celosvětově.

Řádově podobnou koncentraci pro propylparaben jako González-Mariño et al. [51] uvádí Ferreira et al. [53]. Jejich studie se zabývala přítomností parabenů v upravované i neupravované odpadní vodě v oblasti německého města Lipsko. Nalezená koncentrace pro propylparaben na přítoku do čističky byla 502 ng/l. Methylparaben, propylparaben a butylparaben byly detekovány, z důvodu nízké koncentrace však nebyly kvantifikovány.

Parabeny byly též nalezeny v čistírenských kalech ve Španělsku. Albero et al. [54] analyzovali 19 vzorků odpadních kalů se sídlem v různých městských, průmyslových a venkovských oblastech provincie Madrid, především z důvodu snahy postihnout oblasti s různou hustotou zalidnění. Methylparaben byl nalezen ve většině ČOV vzorků (95 %), přítomnost propylparabenu byla zjištěna u 74 %. V jednom ze vzorků z ČOV byl detekován zakázaný isopropylparaben. Jeho obsah se však snížil a ve vzorku již dále stanoven nebyl. V nejvíce zalidněné oblasti byla průměrná koncentrace methylparabenu společně s propylparabenem 23,8 ng/g. V nejméně osídlené oblasti byl součet koncentrací methylparabenu a propylparabenu 10,7 ng/g. Zajímavá je skutečnost, že největší koncentrace dosahovala oblast s průměrnou zalidněností s 49,3 ng/g methylparabenu v součtu s propylparabenem.

Průměrná efektivita odstraňování parabenů na čistírnách odpadních vod je podle dosavadních zdrojů vysoká, v některých případech dokonce až 90-99 % s poločasem rozpadu menším než 4 dny. I přes tuto vysokou efektivitu odbourávání na ČOV, jsou parabeny detekovány na výtoku v koncentraci až 3830 ng/l [49, 51]. Dominantními parabeny detekovanými na výtoku jsou methylparaben a propylparaben, což souvisí s jejich zastoupením v produktech pro osobní péči [13,14,15,16].

Z výše uvedených faktů vyplývá, že čistírny odpadních vod mohou být považovány za jeden z hlavních bodových zdrojů parabenů unikajících do vodního prostředí z důvodů nekompletní eliminace těchto sloučenin [1].

Výskyt parabenů v povrchových vodách vedla různé vědecké skupiny ke zkoumání případného negativního působení na vodní organismy [31,55,56]. Toxicita u ryb, dafnií i řas roste s alkylovým řetězcem.

Dobbins et al. <sup>[55]</sup> posuzovali toxicitu parabenů pro *D. magna* a Jelečka velkohlavého (*Pimephales Promela*). Stanovovali LC<sub>50</sub>, což je koncentrace, která způsobí smrt 50 % zkoumaných živočichů. Získané údaje shrnuje Tab. III.

**Tab. III:** Hodnoty LC<sub>50</sub> methyl-, ethyl-, propyl-, a butylparabenu pro *D. magna* a Jelečka velkohlavého <sup>[55]</sup>.

Paraben	hodnota LC <sub>50</sub> (mg/l)	
	Jeleček velkohlavý	<i>Daphnia magna</i>
Methylparaben	>160	24,6
Ethylparaben	34,3	18,7
Propylparaben	9,7	12,3
Butylparaben	4,2	5,3
Benzylparaben	3,3	4,0

Výsledky ukazují podobnost u obou organismů. Rozdílnost v citlivosti se projevila řádově pouze u methylparabenu, kdy hodnota LC<sub>50</sub> u Jelečka velkohlavého byla 6x vyšší v porovnání s hodnotou pro *Daphnia magna*.

Studie Bazina et al. <sup>[56]</sup> potvrzuje výsledky Dobbins et al. <sup>[55]</sup> a uvádí podobné hodnoty. Zkoumané bylo potenciální nebezpečí parabenů pro čtyři druhy vodních mikroorganismů (*Vibrio fischeri*, *Photobacterium leiognathi*, *Daphnia magna* a *Tetrahymena thermophila*).

Výsledky jsou vyjádřeny jako EC<sub>50</sub> – neboli koncentrace, při níž dojde k úhynu či imobilizaci 50 % organismů. Výsledný účinek parabenů se lišil podle typu použitých testů.

Všechny testy však společně potvrdily nejvyšší toxicitu pro organismy u benzylparabenu. Chování ostatních parabenů v závislosti na testu se mírně liší. Test s použitím *Vibrio fischeri* a *Photo* (Microtox) neobjevil významný rozdíl v toxicitě mezi ethylparabenem, propylparabenem a butylparabenem.

Testy na dafniích Daphtoxkit a test Protoxkit ukazovaly vliv velikosti alkylového řetězce na toxicitu. Zjištěné hodnoty EC<sub>50</sub> byly 32-54 mg/l pro methylparaben, 25 mg/l pro ethylparaben,



9,7-13 mg/l pro propylparaben, 5,3-6,2 mg/l, pro butylparaben a 4,3-5,2 mg/l pro benzylparaben.

Zajímavým zjištěním je fakt, že čas expozice parabenů (od 15 minut do 48 hodin) nemá vliv na odpověď mikroorganismu – krátká expozice má stejné účinky jako expozice dlouhá. Autoři předpokládají vysokou akutní toxicitu těchto sloučenin.

V současné době se k odstranění polutantů znečišťujících vody zkoumá využitelnost technik zvaných „Advanced oxidation processes“, AOP <sup>[57]</sup>. Jedná se o postupy využívající kombinaci ozařování a reaktivních forem kyslíku, a to buď přidávaných do reakční směsi či *in situ* vznikajících v průběhu reakce. K reaktivním formám kyslíku jsou řazeny hydroxylové radikály, peroxoradikály, ozón, singletový kyslík <sup>[57]</sup>. Nejčastěji používanou formou AOP je metoda využívající tzv. heterogenní fotokatalýzu, kdy katalyzátorem je polovodič, např. TiO<sub>2</sub> <sup>[58,59]</sup> přítomný v heterogenní fázi v pevném skupenství. Nejčastěji se využívá jeho mobilizovaná forma, která je výhodnější než prášková forma katalyzátoru. Tu je nutné z roztoku po ukončení odstranit. Komerčně nejvíce využívaná forma TiO<sub>2</sub> je prášek P-25 <sup>[60]</sup>.

TiO<sub>2</sub> je používán z důvodu jeho stability, cenové dostupnosti a netoxicity <sup>[60]</sup>. Ozařením polovodiče o větší E než je energie tzv. zakázaného pásu (rozdíl energie mezi HOMO a LUMO orbitaly), která je pro TiO<sub>2</sub> = 3,2 eV, dojde k vytvoření páru díra-elektron. Tyto částice pak reagují s rozpouštědlem (vodou) a rozpuštěným kyslíkem za vzniku reaktivních forem kyslíku (hydroxyradikálů a peroxyradikálů); tyto reaktivní formy kyslíku následně oxidují organické látky (polutanty) adsorbované na povrchu polovodiče. K vytvoření páru elektron – díra u TiO<sub>2</sub> je zapotřebí energie 3,2 V, což odpovídá záření o vlnové délce kratší než 387 nm, tedy v oblasti UV záření. <sup>[57,58,59]</sup>

Reaktivní kyslíkové částice mohou působit oxidaci polutantů i v homogenním prostředí. Mohou být do reakční směsi přidávány (ozón <sup>[61]</sup>, peroxid vodíku <sup>[62]</sup>), mohou vznikat např. katalytickou tvorbou OH radikálů v tzv. Fentonově <sup>[63]</sup> či foto-Fentonově reakci <sup>[64]</sup>, či sensitizovanou tvorbou singletového kyslíku <sup>[65]</sup>. V homogenní reakci může docházet též k fotokatalyzované oxidaci organického substrátu molekulárním kyslíkem za přítomnosti fotochemicky generované katalyticky aktivní formy kovu <sup>[66]</sup>.

## 2 Cíl práce

Cílem této práce bylo jednak zjistit, zda ve vodném prostředí může docházet za podmínek podobných přírodním vodám k fotochemickému rozkladu methylparabenu, jednak prozkoumat rychlost fotochemického odbourávání uvedených parabenů v přítomnosti polovodiče  $\text{TiO}_2$  jako katalyzátoru. V průběhu experimentální části byl základní cíl práce rozšířen o prozkoumání fotochemické degradace dalších dvou parabenů, ethylparabenu a propylparabenu.

### 3 Materiál a metody

Methylparaben a ethylparaben zakoupeny od firmy Sigma-Adrich v čistotě  $\leq 99,0\%$ . Propylparaben zakoupen též od firmy Sigma-Adrich v čistotě „pharmaceutical secondary standard“. Pro další použití byly připraveny nasycené roztoky rozpuštěním 15,5 mg methylparabenu ( $c=5,09 \cdot 10^{-4}$  mol/l) 14,7 mg ethylparabenu ( $c=4,42 \cdot 10^{-4}$  mol/l) a 10,5 mg propylparabenu ( $c=4,08 \cdot 10^{-4}$  mol/l) v ultračisté vodě. Acetonitril v čistotě pro použití v HPLC byl zakoupen od firmy PENTA. Deionizace ultračisté vody probíhala na přístroji ULTRAPUR 10, WATREX. Při homogenní katalýze byl využíván roztok  $\text{FeCl}_3$  v koncentraci 8,9mg Fe/l. ( $1,6 \cdot 10^{-4}$  mol/l). Filtrace vzorků byla prováděna přes nylonový membránový filtr firmy MILLIPORE s póry 0,2  $\mu\text{m}$ .

Vzorky byly ozařovány jak v homogenní fázi, tak na imobilizovaném  $\text{TiO}_2$ . Ozařování v homogenní fázi bylo prováděno v reaktoru Rayonet osazeném lampami RPR-3000Å (21 W,  $4 \cdot 10^{17}$  fotonů za minutu), záření o vlnových délkách pod 300 nm bylo odfiltrováno pomocí optického skla (3 ml vzorku byly ozařovány ve skleněných kyvetách s víčkem). Ozařování na imobilizovaném  $\text{TiO}_2$  (vrstvy  $\text{TiO}_2$  na podložních mikroskopovacích sklíčkách byly poskytnuty z VŠCHT Ing. Zlámalem) bylo prováděno v krystalizačních miskách s plochým dnem, kam bylo napipetováno 5 ml vzorku. Na dno misky s roztokem byla vložena vrstva  $\text{TiO}_2$ . Zdrojem záření byla UV-lampa Philips TL-D 15W/08, emitující záření o vlnových délkách 350 – 400 nm, s maximem u 365 nm. Intenzita světla byla měřena pomocí Lutron UV light meter (UVA 365) s hodnotou 1,8  $\text{mW}/\text{cm}^2$ . Míchání vzorků zajišťovala pětimístná magnetická míchačka JK IKA, typ RO 5. Po ukončení ozařování byly vzorky kvantitativně převedeny do odměrných baněk o objemu 10 ml, doplněny  $\text{H}_2\text{O}$  a následně přefiltrovány k analýze.

UV-VIS spektrum vzorků methylparabenu, ethylparabenu a propylparabenu bylo měřeno UV-VIS spektrofotometrem Shimadzu 1601 se softwarem UV Probe.

HPLC analýza úbytku substrátů byla prováděna pomocí vysokotlaké pumpy ConstaMetric 3200, UV detektoru Delta Chroma UVD 200 (Watrex) a kolony Phenomenex Luna C18 (250 x 4,6; 5 $\mu\text{m}$ ), s mobilní fází acetonitril/voda v poměru 65/35 a průtokem 1 ml/min. Eluce byla prováděna isokraticky. Vlnová délka pro detekci byla 254 nm. Mobilní fáze byla před použitím 15 minut odplyněna pomocí ultrazvukové lázně Netz K2. Vzorky byly dávkovány mikrostříkačkou Hamilton po 20  $\mu\text{l}$  metodou přeplněné smyčky. Chromatografická data byla dále zpracována v programu ClarityLife.

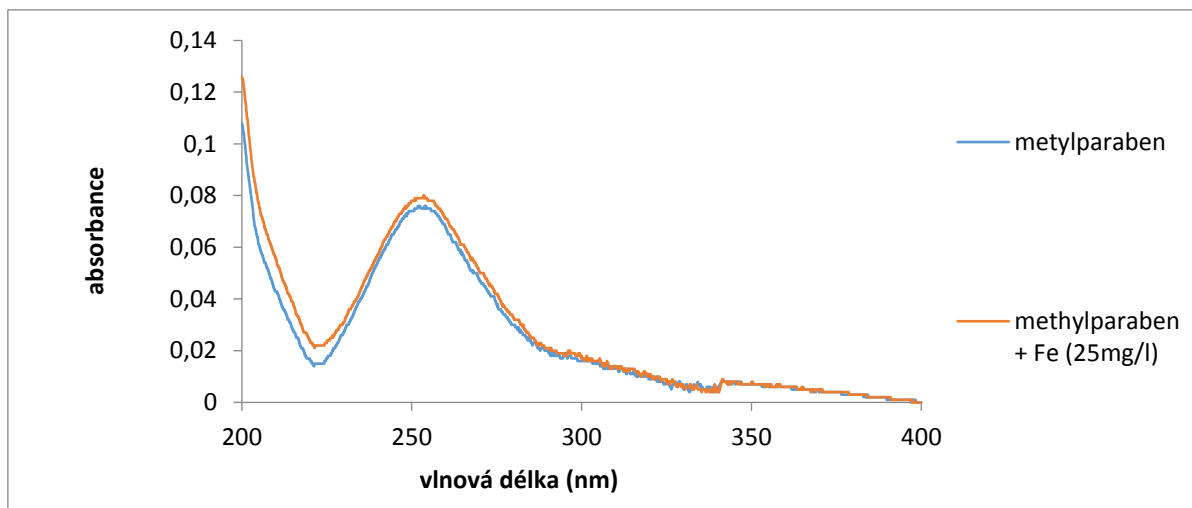
HPLC analýza hydroxybenzoových kyselin byla prováděna na přístroji Thermo Scientific Dionex Ultimate systém (USA) se spektromfotometrickou, fluorescenční a elektrochemickou detekcí na koloně Phenomenex Luna C18 (250 x 4,6; 5  $\mu$ m).

Jako mobilní fáze byl použit roztok 5 mM octanu amonného ve vodě s přídavkem kyseliny mravenčí (1 ml/l).

Analýza celkového organického uhlíku (TOC analýza) by provedena s použitím reaktoru Elementar Vario TOC Cube (Německo), v němž byl vzorek spálen v oxidačním prostředí při 850 °C s použitím platiny ke katalytickému štěpení. Množství uhlíku ve formě CO<sub>2</sub> je stanoveno pomocí IČ spektra.

## 4 Výsledky

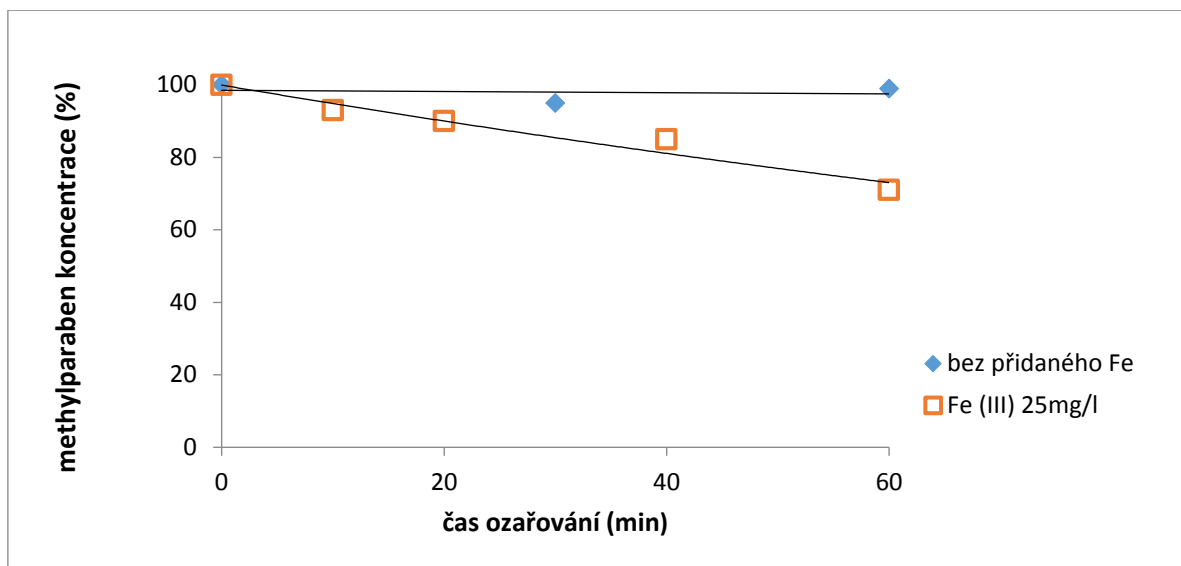
Naměřené absorpční spektrum vodného roztoku methylparabenu a roztoku methylparabenu s přídavkem Fe(III) jsou uvedeny na Obr. 2.



**Obr. 2:** Absorpční spektrum methylparabenu a methylparabenu v přítomnosti Fe(III). Koncentrace methylparabenu =  $5,09 \cdot 10^{-4}$  mol/l, koncentrace Fe(III) =  $4,48 \cdot 10^{-4}$  mol/l.

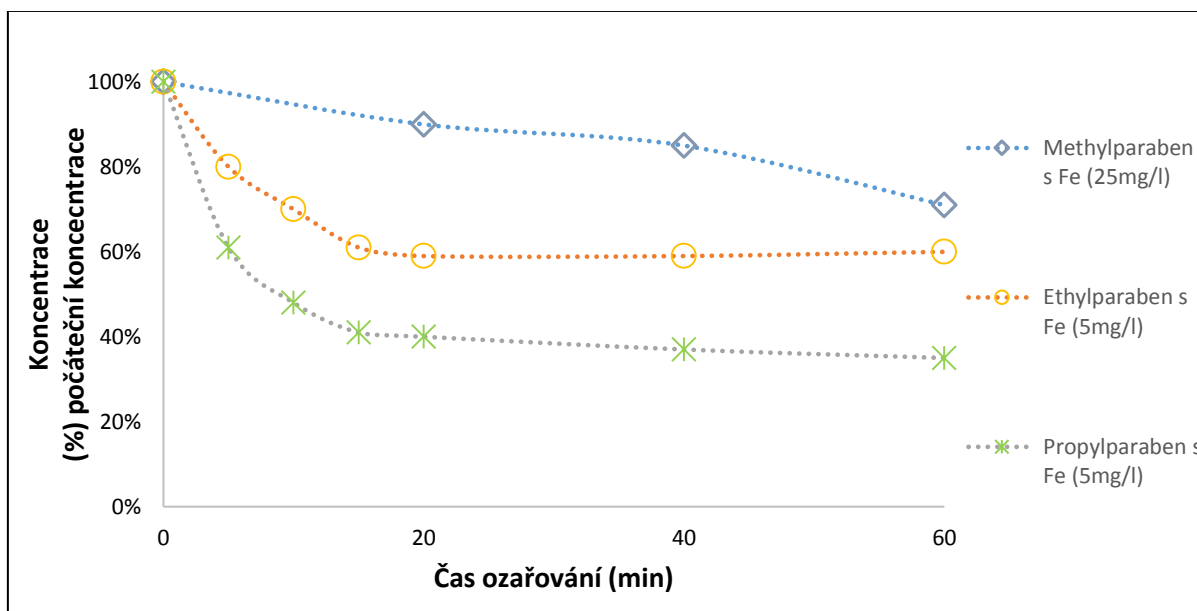
Jak je patrné z Obr. 2., v oblasti nad 300 nm je absorpce samotného methylparabenu i methylparabenu s přidaným Fe(III) malá, nicméně záření o vlnových délkách 300 – 360 nm je roztokem absorbováno. Není prakticky rozdíl mezi absorpčním spektrem samotného parabenu a parabenu v přítomnosti Fe(III).

Při ozařování v homogenní fázi nebyla pozorována žádná reakce, pokud byl v reakční směsi přítomen pouze samotný methylparaben. Přídavek Fe(III) se výrazněji projevil až v koncentraci 25 mg/l – v tomto případě se po 60 minutách ozařování odbouralo 29 % methylparabenu (Obr. 3).



**Obr. 3:** Výsledky odbourávání methylparabenu při ozařování v homogenní fázi bez přídavku Fe a s přídavkem Fe(III) v koncentraci  $4,48 \cdot 10^{-4}$  mol/l. Koncentrace methylparabenu =  $5,09 \cdot 10^{-4}$  mol/l.

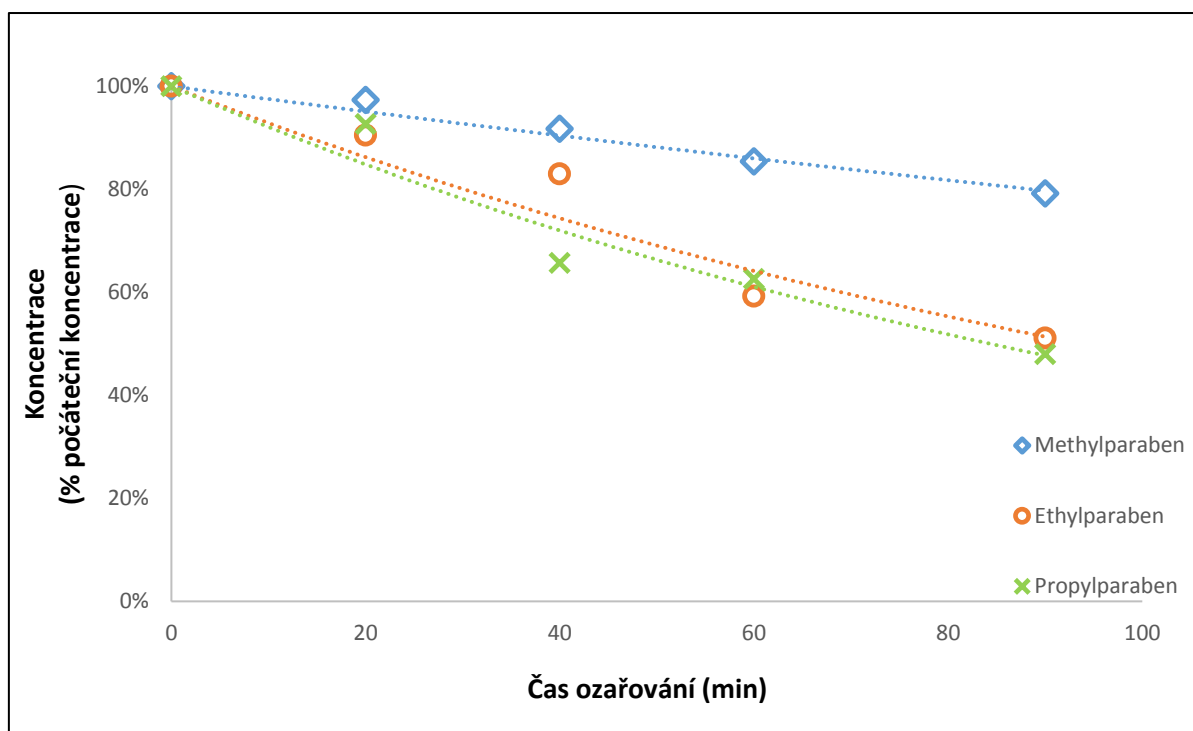
Porovnání reaktivity tří studovaných parabenů, methyl-, ethyl- a propylparabenu v reakční směsi s přídavkem Fe(III) ukazuje Obr. 4.



**Obr. 4:** Výsledky odbourávání parabenů při ozařování v homogenní fázi s přídavkem Fe(III). Koncentrace methylparabenu =  $5,09 \cdot 10^{-4}$  mol/l, koncentrace ethylparabenu =  $4,42 \cdot 10^{-4}$  mol/l, koncentrace propylparabenu =  $4,08 \cdot 10^{-4}$  mol/l. Koncentrace Fe(III) u methylparabenu  $4,48 \cdot 10^{-4}$  mol/l, ethylparaben a propylparaben  $8,9 \cdot 10^{-5}$  mol/l.

Jak je patrné z Obr. 4. ethylparaben a propylparaben jsou odbourávány s větší efektivitou i při pětikrát nižší koncentraci přidaného Fe(III) ve srovnání s methylparabenem. Po 60 minutách ozařování v přítomnosti Fe(III) v koncentraci 5 mg/l se koncentrace ethylparabenu snížila na 60 % počáteční koncentrace, u propylparabenu pak dokonce na 35 %.

Výsledky poklesu koncentrace parabenů při ozařování na imobilizovaném TiO<sub>2</sub> jsou znázorněny na Obr. 5.



**Obr. 5:** Výsledky odbourávání parabenů v heterogenní fázi na TiO<sub>2</sub>. Koncentrace methylparabenu =  $5,09 \cdot 10^{-4}$  mol/l, koncentrace ethylparabenu =  $4,42 \cdot 10^{-4}$  mol/l, koncentrace propylparabenu =  $4,08 \cdot 10^{-4}$  mol/l.

Při reakci za přítomnosti TiO<sub>2</sub> jako katalyzátoru se opět ukázal jako nejméně reaktivní methylparaben - po 90 minutách ozařování bylo odbouráno 21 % z počáteční koncentrace. Ethylparaben a propylparaben se jeví jako více reaktivní - počátečního množství v reakční směsi v přítomnosti TiO<sub>2</sub> došlo k degradaci 48 % přítomného ethylparabenu po 90 minutách ozařování. Propylparaben reagoval ještě o něco rychleji, 52 % z počáteční koncentrace bylo odbouráno po 90 minutách ozařování.

Získané hodnoty rychlostních konstant pro oba typy reakcí (tj. Pro homogenní reakční směsi s přidavkem Fe(III) i pro reakční směs v přítomnosti TiO<sub>2</sub> shrnuje Tab. IV.

**Tab. IV:** Rychlostní konstanty studovaných substrátů v homogenní reakční směsi a v reakční směsi s TiO<sub>2</sub>. Koncentrace methylparabenu =  $5,09 \cdot 10^{-4}$  mol/l, koncentrace ethylparabenu =  $4,42 \cdot 10^{-4}$  mol/l, koncentrace propylparabenu =  $4,08 \cdot 10^{-4}$  mol/l.

vzorek	rychlostní konstanta (min <sup>-1</sup> )	
	Reakce v homogenní fázi	Reakce na TiO <sub>2</sub>
methylparaben	$5,0 \cdot 10^{-3}$ koncentrace Fe(III) $4,48 \cdot 10^{-4}$ mol/l	$3,1 \cdot 10^{-3}$
ethylparaben	$1,3 \cdot 10^{-2}$ koncentrace Fe(III) $8,9 \cdot 10^{-5}$ mol/l	$7,0 \cdot 10^{-3}$
propylparaben	$2,4 \cdot 10^{-2}$ koncentrace Fe(III) $8,9 \cdot 10^{-5}$ mol/l	$8,2 \cdot 10^{-3}$

Pro zjištění, zda při reakcích v homogenní a v heterogenní fázi dochází k případné mineralizaci (tj. oxidaci uhlíku až na CO<sub>2</sub>), byl v reakční směsi obou typů ozařování stanoven přítomný organický uhlík (TOC = total organic carbon). Pro stanovení byly použity reakční směsi ozařované 90 minut v přítomnosti Fe (25 mg/l pro methylparaben, 5 mg/l pro ethyl- a propylparaben) a 120 minut s imobilizovaným TiO<sub>2</sub>. Výsledky jsou shrnuty v Tab. V.



**Tab. V:** Hodnoty TOC pro ozařování v homogenní a heterogenní fázi.

vzorek	Ozařování v přítomnosti Fe(III)		Ozařování na TiO <sub>2</sub>	
	Úbytek vzorku (% počátečního množství)	Úbytek organického uhlíku (% počátečního množství)	Úbytek vzorku (% počátečního množství)	Úbytek organického uhlíku (% počátečního množství)
<b>methylparaben</b>	33	5	21	17,5
<b>ethylparaben</b>	40	8,4	48	15,7
<b>propylparaben</b>	70	13,5	52	40

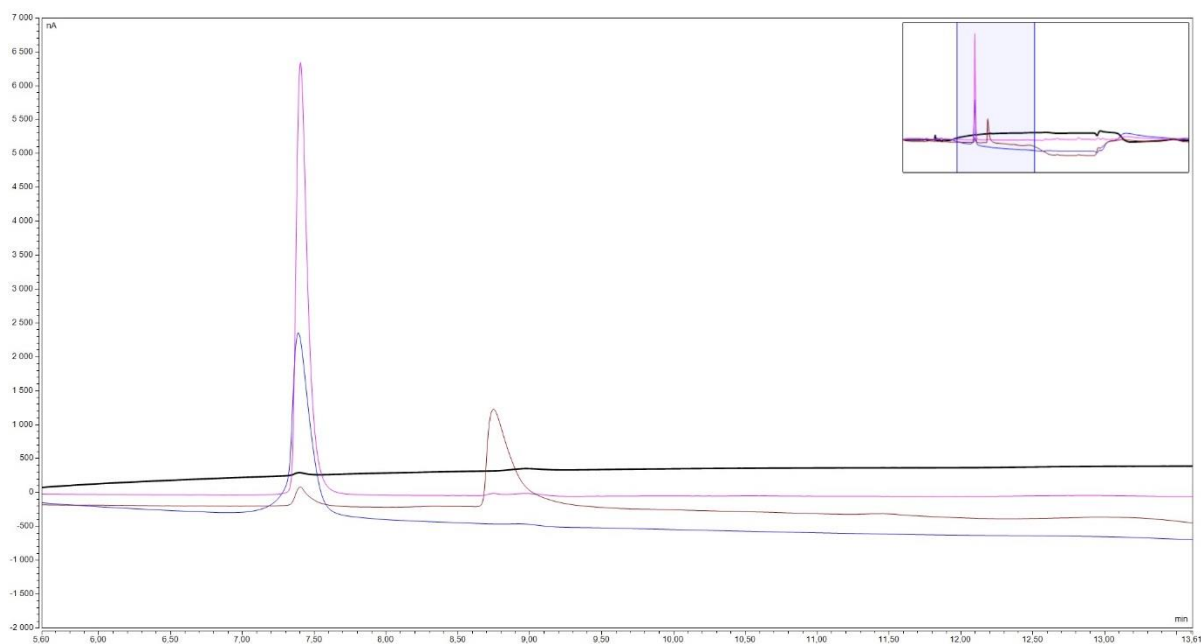
V homogenní reakční směsi činil úbytek methylparabenu 33 % počáteční koncentrace, úbytek organického uhlíku byl 5 %. Z toho vyplývá, že jen malá část organického substrátu je oxidována až na CO<sub>2</sub>. Při ozařování na TiO<sub>2</sub> byl sice úbytek substrátu o něco nižší, ale prakticky veškerý odbouraný substrát byl mineralizován na CO<sub>2</sub>. Ethylparaben degradoval v homogenní reakční směsi na 60 % počáteční koncentrace. Stejně jako u methylparabenu byla mineralizace organického uhlíku malá, pouze 8,4 %. V reakci na TiO<sub>2</sub> bylo po reakci přítomno 48 % počátečního množství substrátu, ale mineralizace činila téměř dvojnásobek oproti reakci v homogenní reakční směsi. Nejvíce byl v homogenní fázi degradován propylparaben, dokonce 70 % počátečního množství. Avšak pouze 13,5 % zreagovaného substrátu bylo odbouráno až na CO<sub>2</sub>. Ozařováním za přítomnosti TiO<sub>2</sub> přineslo 52 % úbytek počáteční koncentrace, kdy mineralizováno bylo více než  $\frac{3}{4}$  z celkového úbytku substrátu během ozařování; tedy 3x více propylparabenu bylo mineralizováno během ozařování na TiO<sub>2</sub> v porovnání s ozařováním v přítomnosti Fe(III).

Srovnáním jednotlivých parabenů je vidět, že v homogenní reakci v přítomnosti Fe(III) dochází jen k malé mineralizaci, která se zvyšuje od methylparabenu k propylparabenu.

V reakční směsi ozařované v přítomnosti TiO<sub>2</sub> se rovnoměrně zvyšuje úbytek substrátu, úbytek organického uhlíku je prakticky stejný pro methyl- a ethylparaben (pro ethylparaben dokonce nižší než pro methylparaben), ale ve vztahu k úbytku substrátu činí u methylparabenu úbytek organického uhlíku 83 % úbytku substrátu, zatímco u ethylparabenu

je to pouze 32,7 %. U propylparabenu se tento poměr opět zvýšil, při 40 % úbytku organického uhlíku na 52 % úbytku substrátu činí úbytek organického uhlíku 77 % úbytku substrátu.

Vznik hydroxybenzoových kyselin (4-hydroxybenzoové a 3,4-dihydroxybenzoové) byl testován v reakčních směsích pomocí HPLC s elektrochemickým detektorem. HPLC diagram pro standardy je uveden na Obr. 6.

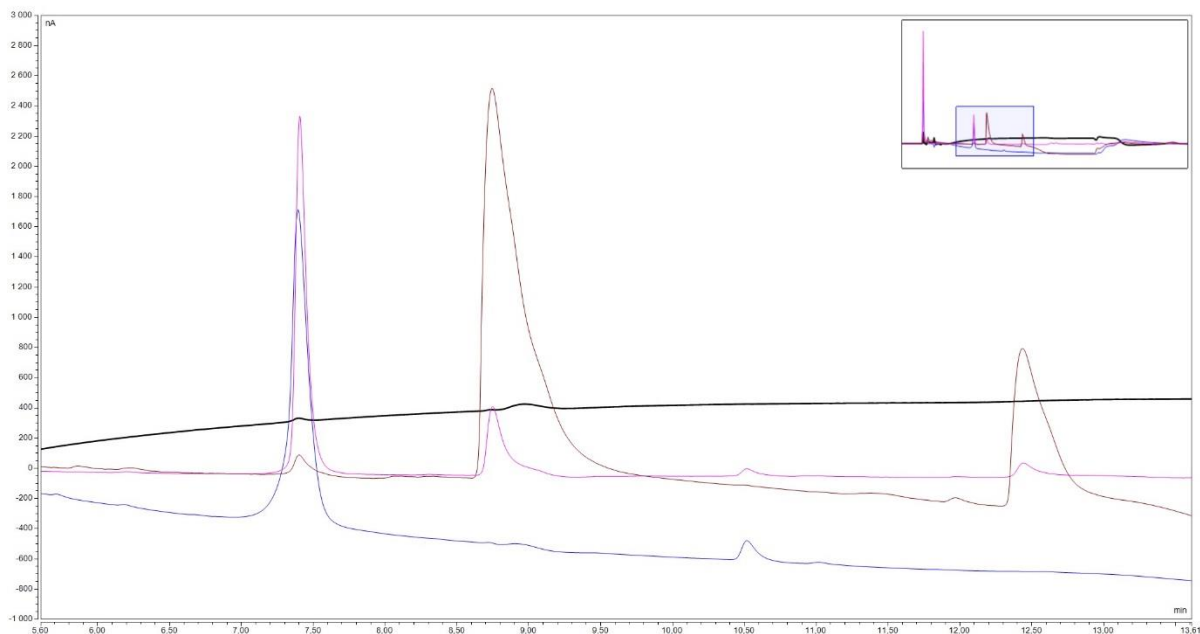


**Obr. 6:** HPLC diagram pro standardy 4-hydroxybenzoovou kyselinu a 3,4-dihydroxybenzoovou kyselinu: černá křivka – 250 mV, modrá křivka – 500 mV, fialová křivka 750mV a hnědá křivka – 1000 mV.

Změřením standardů byly zjištěny nejen přesné retenční časy obou testovaných hydroxykyselin, ale též poměry jejich signálů při různých potenciálech elektrochemického detektoru.

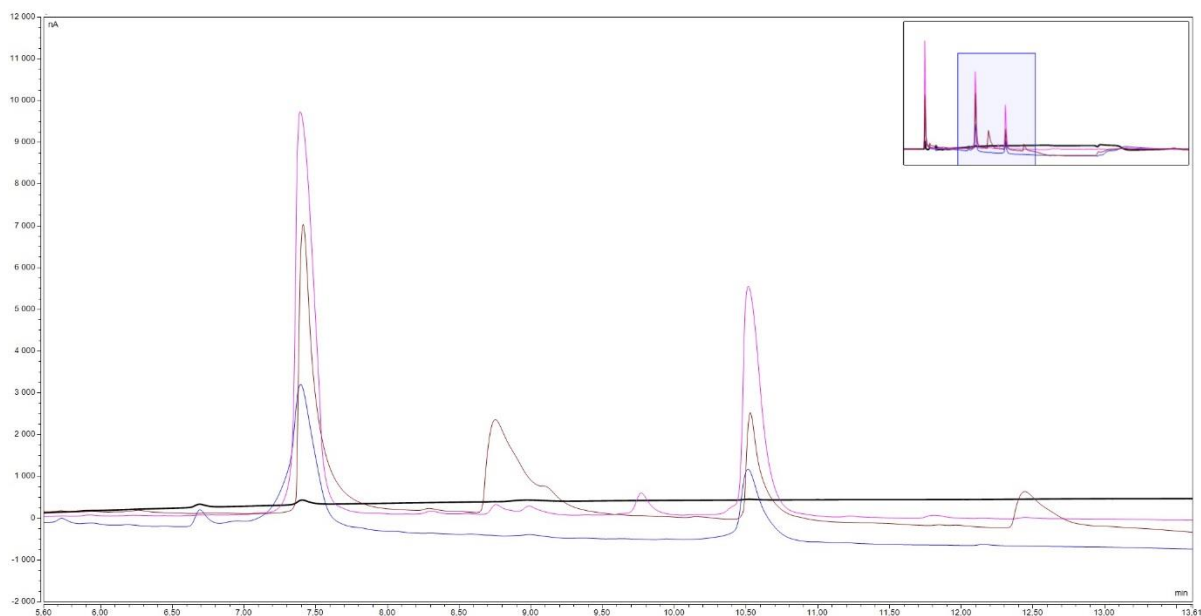
Obr. 7. zachycuje chromatogram neozářeného vzorku methylparabenu. Je vidět, že vzorek methylparabenu obsahuje příměs obou těchto kyselin, v chromatogramu methylparabenu je přítomen slabý signál, jak 4-hydroxybenzoové kyseliny, tak i 3,4-dihydroxybenzoové kyseliny. Na Obr. 7. jsou tyto píky vidět při retenčních časech 7,4 min.

pro 3,4-dihydroxybenzoovou a 8,75 min. pro 4-hydroxybenzoovou kyselinu. Pík při retenčním čase 12,5 min. odpovídá samotnému methylparabenu.



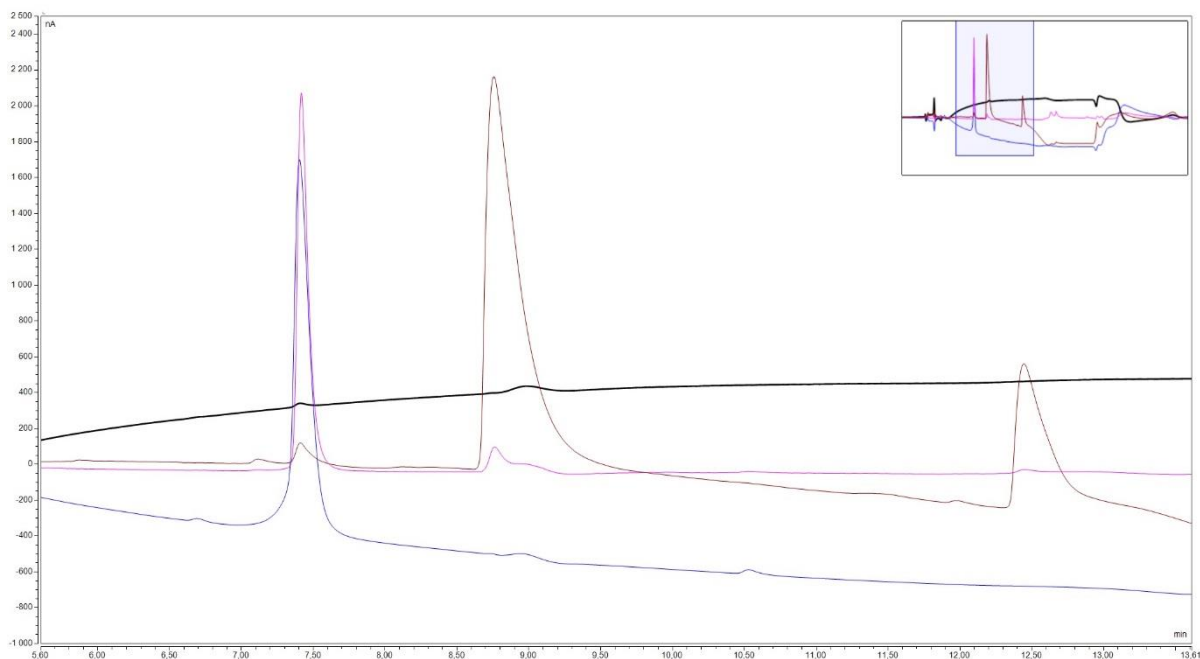
**Obr. 7:** HPLC diagram pro neozařovaný vzorek methylparabenu: černá křivka – 250 mV, modrá křivka – 500 mV, fialová křivka 750mV a hnědá křivka – 1000 mV.

Ve vzorku methylparabenu ozářeném v přítomnosti Fe(III) po dobu 90 minut (Obr. 8.) se nemění plocha píku 4-hydroxybenzoové kyseliny, pík v retenčním čase 3,4-dihydroxybenzoové se zvyšuje, ale mění se poměr při různých potenciálech detektoru, což znamená, že dochází ke koeluci s jinou dihydroxykyselinou.



**Obr. 8:** HPLC diagram ozařování methylparabenu po 90 minutách v homogenní fázi v přítomnosti Fe(III): černá křivka – 250 mV, modrá křivka – 500 mV, fialová křivka 750mV a hnědá křivka – 1000 mV.

Ve vzorku methylparabenu ozářeném po dobu 120 minut v přítomnosti TiO<sub>2</sub> vzniká další elektrochemicky aktivní produkt při retenčním čase 6,7 min., vzniká také určité množství 3,4-dihydroxybenzoové kyseliny (Obr. 9).



**Obr. 9:** HPLC diagram ozařování methylparabenu po 120 minutách v homogenní fázi v přítomnosti  $\text{TiO}_2$ : černá křivka – 250 mV, modrá křivka – 500 mV, fialová křivka 750mV a hnědá křivka – 1000 mV.

U vzorků ethylparabenu a propylparabenu je patrný v reakční směsi ozařované v přítomnosti  $\text{Fe(III)}$  vznik nového produktu, který není ani 4-hydroxybenzoovou ani 3,4-dihydroxybenzoovou kyselinou, je analogický novému produktu u methylparabenu (jeho retenční čas se u ethylparabenu posouvá k 12,1 min. a u propylparabenu k 13,7 min.) – jde tedy o ethyl- a propyl derivát.

Při ozařování v přítomnosti  $\text{TiO}_2$  naopak tento produkt vzniká jen v malé míře u ethylparabenu a vůbec nevzniká u propylparabenu. U propylparabenu ozařovaného v přítomnosti  $\text{TiO}_2$  však dochází ke vzniku 4-hydroxybenzoové kyseliny.

## 5 Diskuse

Vzhledem k tomu, že parabeny prakticky neabsorbují sluneční záření dopadající na zemský povrch (tedy záření nad 300 nm), jak ukazuje Obr. 2, jejich přímá excitace a následná fotochemická přeměna slunečním světlem nemůže významně přispívat k jejich odbourávání v přírodních vodách. Skutečně také, jak je patrné z Obr. 3. u methylparaben bez přídavku Fe(III) nedochází k výraznému odbourávání ve vodném roztoku, kdy po 90 minutách ozařování nedošlo k pozorovatelnému úbytku substrátu. Podobný výsledek publikovali Lin et al.<sup>[67]</sup>, kdy ozařovali methylparaben v koncentraci 10 mg/l UV lampou s maximem vlnové délky okolo 365 nm. Pokles koncentrace po 120 minutách ozařování neprokázal výraznou fotodegradaci – pouze 5 % počáteční koncentrace bylo degradováno. Je zajímavé, že v této práci pozorovali vůbec nějaký úbytek methylparabenu, když reakční směs ozařovali zářením o vlnových délkách, které nejsou rozpuštěným methylparabenem absorbovány. Parabeny též netvoří komplexy s železitými ionty – tyto komplexy u mnoha jiných polutantů posouvají absorpci do oblasti vlnových délek, které jsou zahrnuty ve slunečním spektru na zemský povrch dopadajícím<sup>[68,69]</sup>.

Dalším možným mechanismem, který by mohl vést k fotochemické degradaci v přírodních vodách, je fotokatalyzovaná reakce s ionty Fe jako katalyzátorem, která byla popsána pro některé polutanty<sup>[68,69]</sup> či přirozené organické látky<sup>[66]</sup> v přírodních vodách. Methylparaben se ale podle výsledků jeví jako poměrně rezistentní k fotochemickému odbourávání. Bez přídavku velkých koncentrací železitých iontů nedochází k pozorovatelné fotochemické degradaci v homogenní směsi.

K odbourávání methylparabenu dochází až při extrémně vysokých koncentracích přidaných železitých iontů, 25 mg Fe/l, což odpovídá koncentraci  $4,48 \cdot 10^{-4}$  mol/l. Ozařováním methylparabenu s přídavkem Fe(III) v této koncentraci došlo k úbytku cca 33 % počáteční koncentrace methylparabenu. Koncentrace Fe v hodnotách 25 mg/l však není typická pro říční a jezerní vody v České republice<sup>[70]</sup>. Ethyl a propylparaben vykazovaly podstatně vyšší reaktivitu, jak je patrné z Obr. 4., jejich úbytek při 60 minutovém ozařování činil 40 % z počáteční koncentrace pro ethylparaben a 65 % pro propylparaben. S délkou řetězce tedy dochází v homogenní fázi ke zvyšování degradace tří zkoumaných parabenů, což je výsledek, který je spíše překvapivý.

Procesy degradace s využitím heterogenní katalýzy v přítomnosti  $\text{TiO}_2$  [58,60], či „Advanced oxidation processes“, AOP jsou v poslední době hojně využívané metody diskutované v možnosti využití pro odstranění parabenů z vod [57].

V experimentech popisovaných v této práci se stejně jako u reakce v homogenní fázi degradace za přítomnosti  $\text{TiO}_2$  výrazně zvyšuje s rostoucí délkou postranního řetězce, tedy od methylparabenu, u něhož po 90 minutách ozařování klesla koncentrace pouze o 21 %, s dalším ozařováním již dále nedocházelo k jeho fotodegradaci, přes ethylparaben, kde po 90 minutách ubylo 48 % substrátu (a také dále nedocházelo k úbytku substrátu) až k propylparabenu, kde celkový úbytek substrátu činil po 90 minutách 52 % (a stejně jako u ostatních dvou studovaných parabenů delší ozařování k dalšímu poklesu substrátu nevedlo).

Dle výsledků ukázaných v Tab. V. reakce methylparabenu s přidavkem  $\text{Fe(III)}$  v koncentraci 25 mg/l a ethylparabenu a propylparabenu s přidavkem 5 mg/l v obou případech nevede k výrazné mineralizaci přítomných parabenů i přes výraznější úbytek substrátu během ozařování v porovnání s heterogenní katalýzou.

Vyšší mineralizace parabenů v reakční směsi s  $\text{TiO}_2$  napovídá, že studované parabeny jsou náchylné k oxidaci hydroxyradikály, které jsou hlavní oxidační částicí v reakcích heterogenní fotokatalýzy na polovodiči [58,59].

Gmurek et al. [71] uvádí hydroxylaci jako hlavní cestu pro reakci parabenů s hydroxy radikály, hlavní meziprodukty ozařování jsou dle jejich výsledků mono, di a trihydroxylované parabeny. Hlavními produkty fotochemické degradace pak (UV-254nm, za přítomnosti  $\text{H}_2\text{O}_2$ , detekce byla prováděna pomocí Ultra – High – Pressure – Liquid – Chromatography s detekcí QTOF-MS) hydroxykyseliny – jednak 4- hydroxybenzoová kyselina, která vznikne odštěpením příslušného alkylového zbytku, jednak její oxidační produkt, 3,4-dihydroxybenzoová kyselina.

V reakčních směsích studovaných parabenů nebyl vznik uvedených hydroxybenzoových kyselin, které uvádí Gmurek et al [71] prokázán. Pouze u methylparabenu byl pozorován vznik produktu, který měl stejný retenční čas jako 3,4-dihydroxybenzoová kyselina, ale vzhledem k jiné intenzitě signálu při různých potenciálech detektoru, než odpovídalo této kyselině, je možné předpokládat, že vzniklý produkt byl dihydroxybenzoová kyselina, ale s jiným umístěním OH skupin na benzenovém jádře.

Pro degradaci jednotlivých parabenů na TiO<sub>2</sub> byly stanoveny rychlostní konstanty reakce s hodnotami  $k = 3,1 \cdot 10^{-3} \text{ min}^{-1}$  pro methylparaben,  $k = 7,0 \cdot 10^{-3} \text{ min}^{-1}$  pro ethylparaben a  $k = 8,2 \cdot 10^{-3} \text{ min}^{-1}$  pro propylparaben.

Fotokatalytická degradace parabenů na TiO<sub>2</sub> byla též sledována studií Lin et al.<sup>[67]</sup>. Ozařování bylo prováděno vysokotlakou Hg lampou (125W) s maximem emise okolo 365 nm a koncentrací methylparabenu 10 mg/l. Uváděná výsledná hodnota rychlostní konstanty byla  $1,8 \cdot 10^{-2} \text{ min}^{-1}$ , což je v porovnání s naší hodnotou rychlostní konstanty pro methylparaben ( $k = 3,1 \cdot 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ ) o jeden řád nižší. To mohlo být způsobeno například vyšším tokem fotonů z lampy u uvedené studie či vyšším množstvím přítomného TiO<sub>2</sub>.

Hodnoty získané v této práci jsou shodné s hodnotami, které uvádí Gmurek et al.<sup>[72]</sup>. Ti publikují hodnoty pro rychlostní konstanty následovně:  $k = 1,6 \cdot 10^{-3} \text{ min}^{-1}$  pro methylparaben,  $k = 1,8 \cdot 10^{-3} \text{ min}^{-1}$  pro ethylparaben a  $k = 2,1 \cdot 10^{-3} \text{ min}^{-1}$  pro propylparaben. V jejich práci byly hodnoty rychlostních konstant stanoveny za naprosto odlišných podmínek – při ozařování nízkotlakou Hg lampou se zářením o vlnové délce 254 nm. To by znamenalo, že rychlost fotolýzy (přímé disociace vazeb po excitaci) je podobná jako rychlost fotokatalyzované reakce.



## 6 Závěr

Reakce v homogenní fázi za přítomnosti Fe(III) představuje možnost, jak k odbourávání methyl-, ethyl-, a propylparabenu může docházet v přírodních vodách velmi bohatých na obsah železa; reakce vede ke snížení koncentrace výchozích látek (parabenů), ale nepřináší dostatečnou mineralizaci substrátů.

Rychlostní konstanta pro methylparaben byla stanovena na  $k = 5,0 \cdot 10^{-3} \text{ min}^{-1}$ , pro ethylparaben  $k = 1,3 \cdot 10^{-2} \text{ min}^{-1}$  a propylparaben  $k = 2,4 \cdot 10^{-2} \text{ min}^{-1}$  při reakci v přítomnosti přidaného Fe(III) v koncentraci  $4,48 \cdot 10^{-4} \text{ mol/l}$  pro methylparaben,  $8,9 \cdot 10^{-5} \text{ mol/l}$  pro ethylparaben a pro propylparaben.

Heterogenní katalýza vede k výraznější mineralizaci substrátu, mineralizace se zvyšuje s rostoucí délkou alkylového řetězce. Rychlostní konstanty pro odbourávání jednotlivých substrátů při heterogenní fotokatalytické reakci na  $\text{TiO}_2$  jsou  $3,1 \cdot 10^{-3} \text{ min}^{-1}$  pro methylparaben,  $7,0 \cdot 10^{-3} \text{ min}^{-1}$  pro ethylparaben a  $8,2 \cdot 10^{-3} \text{ min}^{-1}$  pro propylparaben.

## 7 Seznam použité literatury

- [1] Yu Y., Huang Q., Wang Z., Zhang K., Tang C., Cui J., Feng J., Peng X.: Occurrence and behavior of pharmaceuticals, steroid hormones, and endocrine-disrupting personal care products in wastewater and the recipient river water of the Pearl River Delta, South China. *Journal of Environmental Monitoring* **13**, 871-878, 2011.
- [2] Shen H.-Y., Jiang H.-L., Mao H.-L., Pan G., Zhou L., Cao Y.-F: Simultaneous determination of seven phthalates and four parabens in cosmetic products using HPLC-DAD and GC-MS methods. *Journal of Separation Science* **30**, 48–54, 2007. Staženo dne 2017-01-30 z: <http://onelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jssc.200600215/full>
- [3] Dobbins L. L., Usenko S., Brain R. A. Brooks, B. W.: Probabilistic ecological hazard assessment of parabens using *Daphnia magna* and *Pimephales promelas*. *Environmental Toxicology and Chemistry* **28**, 2744–2753, 2009. Staženo dne 2017-01-30 z: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1897/08-523.1/full>
- [4] Gryglik D., Gmurek M.: The photosensitized oxidation of mixture of parabens in aqueous solution. *Environmental Science and Pollution Research*, 1-11, 2015.
- [5] Haman C., Dauchy X., Rosin C., Munoz J. F.: Occurrence, fate and behavior of parabens in aquatic environments: a review. *Water research* **68**, 1-11, 2015.
- [6] Soni M. G., Carabin I. G., Burdock G. A.: Safety assessment of esters of p-hydroxybenzoic acid (parabens). *Food and chemical toxicology* **43**(7), 985-1015, 2015.
- [7] Sellappan S., Akoh C. C., Krewer G.: Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-grown blueberries and blackberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50**(8), 2432-2438, 2002.

- [8] Kang Y. H., Parker C. C., Smith A. C., Waldron K. W.: Characterization and distribution of phenolics in carrot cell walls. *Journal of agricultural and food chemistry* **56**(18), 8558-8564, 2008.
- [9] Baardseth P., Russwurm H.: Content of some organic acids in cloudberry (*Rubus chamaemorus* L.). *Food Chemistry* **3**(1), 43-46, 1978.
- [10] Zhang S., Mueller C.: Comparative analysis of volatiles in traditionally cured Bourbon and Ugandan vanilla bean (*Vanilla planifolia*) extracts. *Journal of agricultural and food chemistry* **60**(42), 10433-10444, 2012.
- [11] Li W., Sun Y., Joseph J., Fitzloff J. F., Fong H. H., Van Breemen R. B.: p-Hydroxybenzoic acid alkyl esters in *Andrographis paniculata* herbs, commercial extracts, and formulated products. *Journal of agricultural and food chemistry* **51**(2), 524-529, 2003.
- [12] Fotografie Právenky latnaté [online], staženo dne 2016-06-28 z: <http://vinaturae.cz/herbar/andrographis-pravenka-latnata.html>
- [13] Peng X., Adachi K., Chen C., Kasai H., Kanoh K., Shizuri Y., Misawa N.: Discovery of a marine bacterium producing 4-hydroxybenzoate and its alkyl esters, parabens. *Applied and environmental microbiology* **72**(8), 5556-556, 2006. Staženo dne 2016-10-11 z: <http://aem.asm.org/content/72/8/5556.short>
- [14] Yazar K., Johnsson S., Lind M. L., Boman A., Lidén C.: Preservatives and fragrances in selected consumer-available cosmetics and detergents. *Contact Dermatitis* **64**(5), 265-272, 2011. Staženo dne 2016-10-22 z: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1600-0536.2010.01828.x/full>

- [15] Memon, N., Bhanger M. I., Khuhawer M. Y.: Determination of preservatives in cosmetics and food samples by micellar liquid chromatography. *Journal of separation science* **28**(7), 635-638, 2005. Staženo dne 2016-11-25  
z: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jssc.200500060/full>
- [16] Baranowska I., Wojciechowska I.: The determination of preservatives in cosmetics and environmental waters by HPLC. *Polish Journal of Environmental Studies* **22**(6), 1609-1694, 2013.
- [17] Myers E. A., Pritchett T. H., Brettell T. A.: Determination of Preservatives in Cosmetics and Personal Care Products by LC-MS-MS. *Special Issues* **33**(4), 16-22, 2015.
- [18] Liao C., Chen L., Kannan K.: Occurrence of parabens in foodstuffs from China and its implications for human dietary exposure. *Environment international* **57**, 68-74, 2013. Staženo dne 2017-03-01 z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0160412013000810>
- [19] Liao C., Liu F., Kannan K.: Occurrence of and dietary exposure to parabens in foodstuffs from the United States. *Environmental science & technology* **47**(8), 3918-3925, 2013. Staženo dne 2017-03-01 z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es400724s>
- [20] Autor neuveden: Final report on the safety assessment of methylparaben, ethyl paraben, propyl paraben, and butylparaben. *Journal of the American College of Toxicology* **3**(5), 1984.
- [21] NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) č. 358/2014 [online], staženo dne 2016-10-09  
z: [http://www.khskk.cz/khsdata/hv/pbu/narizeni\\_eu\\_358\\_2014.pdf](http://www.khskk.cz/khsdata/hv/pbu/narizeni_eu_358_2014.pdf)

[22] NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) č. 1004/2014, [online], staženo dne 2016-09-11 z: <http://www.eurlex.cz/dokument.aspx?celex=32014R1004>

[23] U.S. Food & Drug, GRAS list [online], <https://www.fda.gov/food/ingredientpackaginglabeling/gras/scogs/ucm260472.htm>

[24] Study on enhancing the Endocrine Disrupter priority list with a focus on low production volume chemicals [online], staženo den 2016-09-09 z: [http://ec.europa.eu/environment/chemicals/endocrine/pdf/final\\_report\\_2007.pdf](http://ec.europa.eu/environment/chemicals/endocrine/pdf/final_report_2007.pdf)

[25] Autor neuveden: Final amended report on the safety assessment of Methylparaben, Ethylparaben, Propylparaben, Isopropylparaben, Butylparaben, Isobutylparaben, and Benzylparaben as used in cosmetic products. *International Journal of Toxicology* **27**(4), 1-82, 2008.

[26] Abbas S., Greige-Gerges H., Karam N., Piet M. H., Netter P., Magdalou J.: Metabolism of parabens (4-hydroxybenzoic acid esters) by hepatic esterases and UDP-glucuronosyltransferases in man. *Drug metabolism and pharmacokinetics* **25**(6), 568-577, 2010. Staženo dne: 2017-03-03 z: [https://www.jstage.jst.go.jp/article/dmpk/25/6/25\\_DMPK-10-RG-013/\\_article/-char/ja/](https://www.jstage.jst.go.jp/article/dmpk/25/6/25_DMPK-10-RG-013/_article/-char/ja/)

[27] Calafat A. M., Ye X., Wong L.- Y., Bishop A. M., Needham L. L.: Urinary concentrations of four parabens in the US population: NHANES 2005-2006. *Environmental health perspectives* **118**(5), 679-685, 2010. Staženo dne 2016-11-11 z: [https://www.jstage.jst.go.jp/article/dmpk/25/6/25\\_DMPK-10-RG-013/\\_article](https://www.jstage.jst.go.jp/article/dmpk/25/6/25_DMPK-10-RG-013/_article)

[28] Ye X., Bishop A. M., Reidy J. A., Needham L. L., Calafat A. M.: Parabens as urinary biomarkers of exposure in humans. *Environmental health perspectives* **114**, 1843-1846, 2006. Staženo dne 2016-12-12 z: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.280.18&rep=rep1&type=pdf>

[29] Wang L., Kannan K.: Alkyl protocatechuates as novel urinary biomarkers of exposure to p-hydroxybenzoic acid esters (parabens). *Environment international* **59**, 27-32, 2013.

Stażeno dne 2016-12-12  
z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0160412013000937>

[30] Routledge E. J., Parker J., Odum J., Ashby J., Sumpter J. P.: Some alkyl hydroxy benzoate preservatives (parabens) are estrogenic. *Toxicology and applied pharmacology* **153**(1), 12-19, 1998. Staženo dne 2016-12-01

z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0041008X98985441>

[31] Yamamoto H., Tamura I., Hirata Y., Kato J., Kagota K., Katsuki S., Tatarazako N. Aquatic toxicity and ecological risk assessment of seven parabens: individual and additive approach. *Science of the Total Environment* **410**, 102-111, 2011.

[32] Barr L., Metaxas G., Harbach C. A., Savoy L.A., Darbre P. D.: Measurement of paraben concentrations in human breast tissue at serial locations across the breast from axilla to sternum. *Journal of Applied Toxicology* **32**(3), 219-232, 2012.

[33] Ye X., Bishop A. M., Needham L.L., Calafat A. M.: Automated on-line column-switching HPLC-MS/MS method with peak focusing for measuring parabens, triclosan, and other environmental phenols in human milk. *Analytica Chimica Acta* **622**(1-2), 150-156, 2008.

[34] Schlumpf M., Kypke K., Wittassek M., Angerer J., Mascher H., Vokt C., Birchler M., Lichtensteiger W.: Exposure patterns of UV filters, fragrances, parabens, phthalates, organochlor pesticides, PBDEs, and PCBs in human milk: correlation of UV filters with use of cosmetics. *Chemosphere* **81**(10), 1171-1183, 2010.

[35] Jiménez-Díaz I., Vela-Soria F., Zafra-Gómez A., Navalón A., Ballesteros O., Fernández M. F., Olea N., Vilchez J. L.: A new liquid chromatography-tandem mass

spectrometry method for determination of parabens in human placental tissue samples. *Talanta* **84**(3), 702-709, 2011. Staženo dne 2017-03-03 z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039914011001287>

[36] Vela-Soria F., Ballesteros O., Camino-Sánchez F. J., Zafra-Goméz A., Ballesteros L., Navalón A.: Matrix solid phase dispersion for the extraction of selected endocrine disrupting chemicals from human placental tissue prior to UHPLC-MS/MS analysis. *Microchemical Journal* **118**, 32-29, 2015. Staženo dne 2017-03-05 z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026265X14001519>

[37] Sajid M., Basheer C., Narasimhan K., Choolani M., Lee H. K.: Application of microwave-assisted micro-solid-phase extraction for determination of parabens in human ovarian cancer tissues. *Journal of Chromatography B* **1000**, 192-198, 2015.

[38] Oishi S.: Effects of propyl paraben on the male reproductive system. *Food and Chemical Toxicology* **40**(12), 1807–1813, 2002.

[39] Oishi S.: Effects of butylparaben on the male reproductive system in rats. *Toxicology and Industrial Health* **17**(1), 31-39, 2001.

[40] Nishihama Y., Toshima H., Yoshinaga J., Mizumoto Y., Yoneyama, M., Nakajima D., Tokuoka S.: Paraben exposure and semen quality of Japanese male partners of subfertile couples. *Environmental Health and Preventive Medicine* **22**(5), 2017. Staženo dne 2017-02-16 z: <https://environhealthprevmed.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12199-017-0618-7>

[41] Meeker J. D., Yang T., Ye X., Calafat A. M., Hauser R.: Urinary concentrations of parabens and serum hormone levels, semen quality parameters, and sperm DNA damage. *Environmental health perspectives* **119**(2), 252-257, 2011. Staženo dne 2017-01-18 z: <http://search.proquest.com/openview/fd58eb38a702c815b2c6fdd55e16403b/1?pq-origsite=gscholar&cbl=48869>

- [42] Paxéus N.: Organic pollutants in the effluents of large wastewater treatment plants in Sweden. *Water Research* **30**(5), 1115-1122, 1996.
- [43] Loraine G. A., Pettigrove M. E.: Seasonal Variations in Concentrations of Pharmaceuticals and Personal Care Products in Drinking Water and Reclaimed Wastewater in Southern California. *Environmental Science & Technology* **40**(3), 687-695, 2006.
- [44] Ferreira A. M., Moder. M., Laespada M. E.: Stir bar sorptive extraction of parabens, triclosan and methyl triclosan from soil, sediment and sludge with in situ derivatization and determination by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **1218**(35), 3837-3844, 2011.
- [45] Peng X., Yu Y., Tang C., Huang Q., Wang Z.: Occurrence of steroid estrogens, endocrine-disrupting phenols, and acid pharmaceutical residues in urban riverine water of the Pearl River Delta, South China. *Science of the Total Environment* **397**(1-3), 158-166, 2008.
- [46] Zgoła-Grześkowiak A., Jeszka-Skowron M., Czarczyńska-Goślińska B., Grześkowiak T.: Determination of Parabens in Polish River and Lake Water as a Function of Season. *Analytical Letters* **49**(11), 1734-1747, 2016.
- [47] Bledzka D., Gromadzinska J., Wasowicz W.: Parabens. From environmental studies to human health. *Environment International* **67**, 27-42, 2014.
- [48] Lee H. B., Peart T. E., Svoboda M. L.: Determination of endocrine-disrupting phenols, acidic pharmaceuticals, and personal-care products in sewage by solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **1094**(1-2) 122-129, 2005.



- [49] Jonkers N., Kohler H. P. E., Dammshäuser A., Giger W.: Mass flows of endocrine disruptors in the Glatt River during varying weather conditions. *Environmental pollution* **157**(3), 714-723, 2009.
- [50] Jonkers N., Sousa A., Galante-Oliveira S., Barroso C. M., Kohler H. P. E., Giger W.: Occurrence and sources of selected phenolic endocrine disruptors in Ria de Aveiro, Portugal. *Environmental Science and Pollution Research* **17**(4), 834-843, 2010. Staženo dne 2016-12-12 z: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11356-009-0275-5>
- [51] González-Mariño I., Quintana J. B., Rodríguez I., Cela R.: Evaluation of the occurrence and biodegradation of parabens and halogenated by-products in wastewater by accurate-mass liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight-mass spectrometry (LC-QTOF-MS). *Water Research* **45**(20), 6770–6780, 2011.
- [52] Terasaki M., Takemura Y., Makino M.: Paraben-chlorinated derivatives in river waters. *Environmental chemistry letters* **10**(4), 401-406, 2012.
- [53] Casas Ferreira A. M., Moder M., Fernandez Laespada M. E.: GC-MS determination of parabens, triclosan and methyl triclosan in water by in situ derivatisation and stir-bar sorptive extraction. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **399**(2), 945-53, 2011.
- [54] Albero B., Pérez R. A., Sánchez-Brunete C., Tadeo, J. L.: Occurrence and analysis of parabens in municipal sewage sludge from wastewater treatment plants in Madrid (Spain). *Journal of hazardous materials* **239**, 48-55, 2012. Staženo dne 2017-02-01 z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304389412004992>
- [55] Dobbins L. L., Usenko S., Brain R. A., Brooks B. W.: Probabilistic ecological hazard assessment of parabens using *Daphnia magna* and *Pimephales promelas*. *Environmental*

*toxicology and chemistry* **28**(12), 2744-2753, 2009. Staženo dne 2016-10-03 z: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1897/08-523.1/full>

[56] Bazin I., Gadal A., Touraud E., Roig B.: Hydroxy benzoate preservatives (parabens) in the environment: data for environmental toxicity assessment. *Xenobiotics in the urban water cycle* **16**, 245-257, 2009.

[57] Cesaro A., Belgiorno V.: Removal of Endocrine Disruptors from Urban Wastewater by Advanced Oxidation Processes (AOPs): A Review. *The Open Biotechnology Journal* **9**(1), 2015. Staženo dne 2017-03-18 z: <https://benthamopen.com/FULLTEXT/TOBIOTJ-10-151>

[58] Schneider J., Matsuoka M., Takeuchi M., Zhang J., Horiuchi Y., Masakazu A., Bahnemann D. W.: Understanding TiO<sub>2</sub> Photocatalysis: Mechanisms and Materials. *Chemical Reviews* **114**(19), 9919-9986, 2014. Staženo dne 2016-11-22 z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/cr5001892>

[59] Nakata K., Fujishima A.: TiO<sub>2</sub> photocatalysis: design and applications. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews* **13**(3), 169-189, 2012.

[60] Ohno T., Sarukawa K., Tokieda K., Matsumura M.: Morphology of a TiO<sub>2</sub> Photocatalyst (Degussa, P-25) Consisting of Anatase and Rutile Crystalline Phases. *Journal of Catalysis* **203**(1), 82-86, 2001. Staženo dne 2016-10-09 z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021951701933160>

[61] Esplugas S., Bila D. M., Krause L. G. T., Dezotti M.: Ozonation and advanced oxidation technologies to remove endocrine disrupting chemicals (EDCs) and pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in water effluents. *Journal of Hazardous Materials* **149**(3), 631-642, 2007.

- [62] Lin S. S., Gurol M. D.: Heterogeneous catalytic oxidation of organic compounds by hydrogen peroxide. *Water Science and Technology* **34**(9), 57-64, 1996.
- [63] Pignatello J. J., Oliveros E., MacKay A.: Advanced oxidation processes for organic contaminant destruction based on the Fenton reaction and related chemistry. *Critical reviews in environmental science and technology* **36**(1), 1-84, 2006.
- [64] Garcia J. C., Oliveira J. L., Silva A. E. C., Oliveira C. C., Nozaki J., De Souza N. E. Comparative study of the degradation of real textile effluents by photocatalytic reactions involving UV/TiO<sub>2</sub>/H<sub>2</sub> O<sub>2</sub> and UV/Fe<sup>2+</sup>/H<sub>2</sub> O<sub>2</sub> systems. *Journal of Hazardous Materials* **147**(1), 105-110, 2007.
- [65] García N. A. New trends in photobiology: singlet-molecular-oxygen-mediated photodegradation of aquatic phenolic pollutants. A kinetic and mechanistic overview. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* **22**(3), 185-196, 1994.
- [66] Klementová Š., Wagnerová D. M.: Photocatalytic Effect of Fe(III) on Oxidation of Two-Carbon Organic Substances Related to Natural Waters. *Collection of Czechoslovak Chemical Communications* **59**(6), 1066-1076, 1994. Staženo online dne 2017-01-05 z: <http://cccc.uochb.cas.cz/59/5/1066/>
- [67] Lin Y., Ferronato C., Deng N., Wu F., Chovelon, J. M.: Photocatalytic degradation of methylparaben by TiO<sub>2</sub>: multivariable experimental design and mechanism. *Applied Catalysis B: Environmental* **88**(1), 32-41, 2009. Staženo dne 2016-10-10 z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926337308003767>
- [68] Klementová Š., Zemanová M.: UV Photochemical Degradation of a Phenyl-Urea Herbicide Chlorotoluron. *Research Journal of Chemistry and Environment* **12**(4), 5 – 11, 2008.

[69] Klementová Š, Hamsová K.: Catalysis and Sensitization in Photochemical Degradation of Triazines. *Research Journal of Chemistry and Environment* **4** (2), 7 – 12, 2000.

[70] Porcal P., Frejlachová K., Kopáček J., Nedoma J., Šavrdová T.: Photochemical cleaving of allochthonous organic-metal complexes contributes to phosphorus immobilization in surface waters. *Chemosphere* **167**, 374-381, 2017.

[71] Gmurek M., Miller J. S., Ledakowicz S.: Kinetics of the photosensitized degradation of benzyl 4-hydroxybenzoate in homogeneous aqueous solution under visible-light irradiation. *Chemical engineering journal* **210**, 417-424, 2012. Staženo dne 2016-11-11 z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1385894712011710>

[72] Gmurek M., Rossi, A. F., Martins R. C., Quinta-Ferreira R. M., Ledakowicz S.: Photodegradation of single and mixture of parabens—Kinetic, by-products identification and cost-efficiency analysis. *Chemical Engineering Journal* **276**, 303-314, 2015. Staženo online dne 2016-10-15 z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1385894715005835>