



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

EKOTOXICITA PĚNOVÝCH HASEBNÍCH PROSTŘEDKŮ

ECOTOXICITY OF FIREFIGHTING FOAM

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Mária Belisová

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

MVDr. Helena Zlámalová Gargošová,
Ph.D.

BRNO 2017

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1127/2016
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Studentka: **Mária Belisová**
Studijní program: Chemie a chemické technologie
Studijní obor: Chemie pro medicínské aplikace
Vedoucí práce: **MVDr. Helena Zlámalová Gargošová, Ph.D.**
Akademický rok: 2016/17

Název bakalářské práce:

Ekotoxicita pěnových hasebních prostředků

Zadání bakalářské práce:

- 1 Bude vypracována literární rešerše týkající se hasebních prostředků se zaměřením na environmentální dopady jejich použití
2. U hasební prostředků na bázi tenzidů budou provedeny vybrané testy ekotoxicity.
3. Na základě získaných výsledků bude posouzen jejich vliv na akvatický ekosystém.

Termín odevzdání bakalářské práce: 19.5.2017

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

Mária Belisová
student(ka)

MVDr. Helena Zlámalová Gargošová,
Ph.D.
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2017

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Táto bakalárska práca sa zaoberá ekotoxicitou vybraných hasiacich prípravkov so zameraním na penotvorné látky (tenzidy) obsiahnuté v penových hasiacich prístrojoch. Jedná sa o pevné zmáčadlá TS TURBO a TS ECO. V tejto bakalárskej práci bol posudzovaný ich ekotoxikologický účinok na vybraných testoch ekotoxicity v akvatickom prostredí, na vodnej rastline *Lemna minor* a na kôrovcovi *Thamnocephalus platyurus*. Ide o sladkovodné organizmy, na ktorých je možné rýchlo a pomerne jednoducho stanoviť mieru kontaminácie vody. Ďalej boli tieto hasiace prostriedky testované z hľadiska akútnej toxicity pre pôdne organizmy ekotoxikologickými testami v kontaktnom usporiadaní na dážďovke hnojnej *Eisenia fetida* a na semienkach šalátu siateho *Lactuca sativa*. Nakoniec bola testovaná biodegradácia oboch prostriedkov, kedy bola pozorovaná zmena v ekotoxikologickom účinku po 24 hodinách a po jednom mesiaci. Zmena ekotoxicity bola opäť otestovaná na organizme *Thamnocephalus platyurus*. Na základe výsledkov testov boli spočítané hodnoty LC50 a IC50 pre testované hasiace prípravky a bola porovnaná ich ekotoxická.

ABSTRACT

This bachelor thesis deals with ecotoxicity of selected fire extinguishing agents concentrated on surface-active agents (surfactants) contained in foam fire extinguishers. Tested substances were solid humectants TS TURBO and TS ECO. In this bachelor thesis the ecotoxicological effects were assessed through aquatic ecotoxicity tests with an aquatic plant *Lemna minor* and a crustacean *Thamnocephalus platyurus*. They are fresh-water organisms on which the water contamination can be quickly and quite easily assessed. Also these fire extinguishers were tested for acute ecotoxicity of soil organisms by ecotoxicological contact tests with *Eisenia fetida* and seeds of *Lactuca sativa*. Finally, the biodegradation of both fire extinguishing agents was tested, observing the change between 24 hour exposition and one month exposition of tested agents. The change of toxicity was tested with *Thamnocephalus platyurus*. Based on experimental results of extinguishing agents the value of LC50 and IC50 was calculated and the ecotoxicity was compared.

Kľúčové slová

Ekotoxická, hasiaci prípravok, ekotoxikologické testy, zmáčadlo, životné prostredie.

Keywords

Ecotoxicity, fire extinguishing agent, ecotoxicology tests, humectant, environment.

BELISOVÁ, M. *Ekotoxicita pěnových hasebních prostředků*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2017. 35 s. Vedoucí bakalářské práce MVDr. Helena Zlámalová Gargošová, Ph.D..

PREHLÁSENIE

Prehlasujem, že som bakalársku prácu vypracovala samostatne a že všetky použité literárne zdroje som správne a úplne citovala. Bakalárska práca je z hľadiska obsahu majetkom Fakulty chemickej VUT v Brne a na komerčné účely môže byť využitá iba so súhlasom vedúceho bakalárskej práce a dekana FCH VUT.

.....
podpis študenta

POĎAKOVANIE

Chcela by som poďakovať vedúcej bakalárskej práce pani MVDr. Helene Zlámalovej Gargošovej, Ph.D. za cenné rady, ochotu a všestrannú pomoc.

OBSAH

1. ÚVOD.....	7
2. TEORETICKÁ ČASŤ	8
2.1 Hasiace látky.....	8
2.1.1 Voda	8
2.1.2 Pena	9
2.1.3 Oxid uhličitý, CO ₂	9
2.1.3 Prášok	9
2.1.4 Halóny	9
2.2 Tenzidy	10
2.2.1 Anionické tenzidy.....	10
2.2.2 Kationické tenzidy	11
2.2.3 Amfotérne tenzidy	11
2.2.4 Neionické tenzidy	12
2.2.5 Vplyv penových hasiacich prístrojov na životné prostredie	12
2.3 Ekotoxikológia a vybrané ekotoxikologické biotesty	12
2.3.1 Test toxicity Thamnotoxkit F TM	13
2.3.2 Test inhibície rastu Žaburinky menšej (<i>Lemna minor</i>)	13
2.3.3 Test únikového správania na dážďovke hnojnej (<i>Eisenia fetida</i>).....	15
2.3.4 Screeningový test klíčivosti šalátu siateho (<i>Lactuca sativa</i>).....	15
3. EXPERIMENTÁLNA ČASŤ	16
3.1 Charakteristika vybraných hasiacich prostriedkov	16
3.1.1 Pyrocom TS TURBO	16
3.1.2 Pyrocom TS ECO.....	16
3.2 Príprava vzoriek a ekotoxikologické testy.....	17
3.2.1 Akvatické usporiadanie testov ekotoxicity	18
3.2.1.1 Test toxicity Thamnotoxkit F TM	18
3.2.1.2 Test inhibície rastu Žaburinky menšej (<i>Lemna minor</i>)	19
3.2.2 Terestrické usporiadanie testov ekotoxicity	20
3.2.2.1 Test únikového správania na dážďovke hnojnej (<i>Eisenia fetida</i>).....	20
3.2.2.2 Screeningový test klíčivosti šalátu siateho (<i>Lactuca sativa</i>)	21
3.2.3 Stanovenie biodegradácie testovaných hasiacich prostriedkov	22
Príprava vodných výluhov hasiacich prostriedkov.....	22
4. VÝSLEDKY	24
4.1 Test toxicity Thamnotoxkit F TM	24
4.2 Test inhibície rastu Žaburinky menšej (<i>Lemna minor</i>)	25

4.3	Test únikového správania na dážďovke hnojnej (<i>Eisenia fetida</i>).....	25
4.4	Screeningový test klíčivosti šalátu siateho (<i>Lactuca sativa</i>).....	26
4.5	Stanovenie biodegradácie testovaných hasiacich prostriedkov	26
5.	DISKUSIA	28
5.1	Diskusia výsledkov testov v akvatickom prostredí	28
5.2	Diskusia výsledkov testov v terestrickom prostredí	30
5.3	Diskusia výsledkov testu biodegradácie	31
6.	ZÁVER.....	32
7.	ZOZNAM POUŽITÝCH ZDROJOV	33
8.	ZOZNAM PRÍLOH.....	35

1. ÚVOD

Využitie ohňa bolo pre človeka závažným krokom v prispôsobení sa drsným životným podmienkam. Oheň hrial, umožňoval prípravu potravy, bol pomocníkom pri spracovaní nástrojov. Človek sa však nenaučil ovládať oheň úplne. Oheň často unikol z pod kontroly a vtedy sa z ohňa pomocníka stal živel, ktorý ohrozoval majetok a životy ľudí.

Už v dobe kamennej (2,5 mil. – 10 000 pr.n.l) *Homo erectus*, človek vzpriamený, objavil a ovládal oheň ako prvý. Predchodcovia súčasných ľudí sa postupne zdokonaľovali v jeho používaní ale aj v preventívnej ochrane a riešení vzniknutého požiaru.

Prvé prostriedky na hasenie ohňa, ktoré ľudia používali bola voda a piesok, prípadne zem. V období stredoveku, kedy o požiare nebola núdza, sa hasenie neraz obmedzovalo len na búranie slamených striech ležiacich v smere vetra. Nebolo dostatok hasiacich zariadení, nástrojov a často chýbala aj voda na účinný zásah.

Neskôr boli vydané nariadenia, ktoré prikazovali búranie slamených striech a výstavbu riadnych komínov.

S príchodom priemyselnej revolúcie v 19.storočí už hasenie vodou, respektíve pieskom nebolo dostačujúce a na likvidáciu požiarov ropných produktov sa začali používať chemické peny. Neskôr sa začali používať mechanické peny a v 50.rokoch 20.storočia sa vo väčšom začali využívať peny obsahujúce syntetické tenzidy.

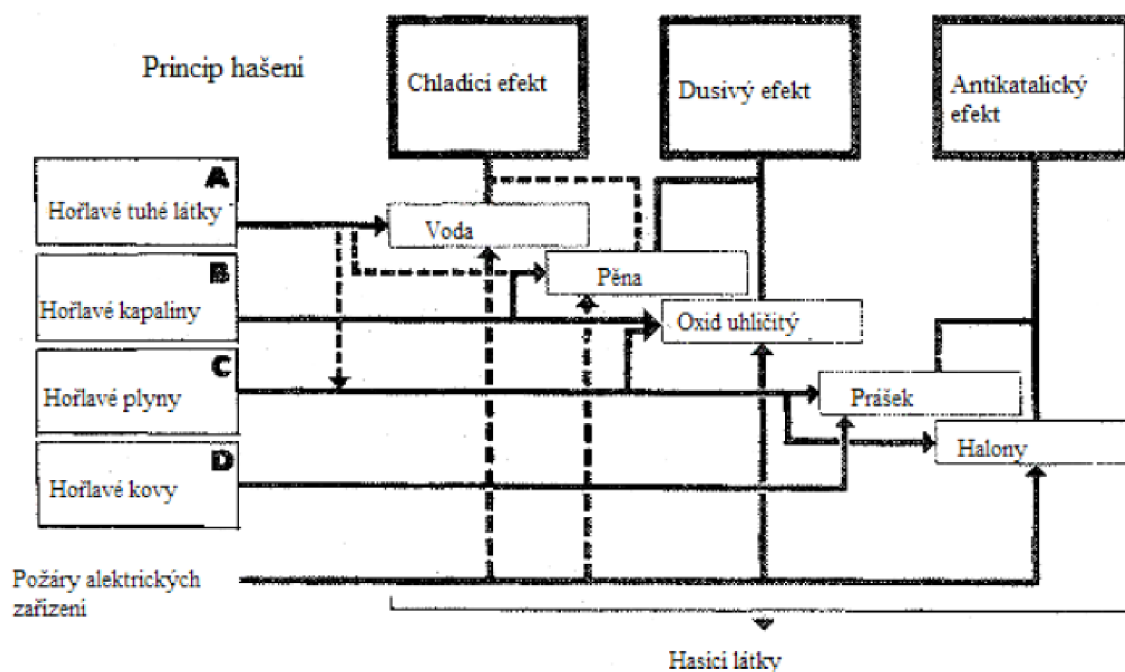
Avšak človek si uvedomil, že používanie takýchto látok ohrozuje životné prostredie. Po preniknutí do pôdy, do povrchových a podzemných vôd môžu ohroziť flóru a faunu vyskytujúcu sa v danej oblasti, kde bol požiar hasený inými látkami ako vodou. Ich dopad na životné prostredie je skúmaný prostredníctvom ekotoxikologických testov, ktoré hodnotia negatívne účinky testovaných látok.

V súčasnej dobe sa ľudia pokúšajú vyvíjať látky, ktoré by mali čo najmenší negatívny dopad na životné prostredie, na živočíchy ale aj na ľudí samotných a to na základe skúmania a sledovania účinkov škodlivých chemických látok v laboratórnych (umelo vytvorených) podmienkach [1, 2].

2. TEORETICKÁ ČASŤ

2.1 Hasiace látky

Požiar je každé nežiaduce horenie, pri ktorom vznikajú škody na majetku, životnom prostredí alebo ktorého následkom je usmrtená alebo zranená fyzická osoba alebo uhynuté zviera. Priebeh požiaru je charakterizovaný viacerými chemickými a fyzikálnymi javmi, ktoré navzájom súvisia. Horenie prebieha v tenkej povrchovej vrstve, kde je horľavina zahriata na zápalnú teplotu. Základné javy, ktoré sa vyskytujú pri každom požiare sú chemická reakcia horenia, uvoľňovanie a prenos tepla, vznik a prenos produktov horenia a výmena plynov. Rozvoj požiaru závisí od množstva horľavej látky, jej chemických vlastností, zvláštností výmeny plynov (výbuchy), poveternostných podmienok a podmienok prenosu tepla. K zabráneniu horenia je nutné narušiť jednotlivé zložky, predovšetkým odvieť také množstvo tepla, ktoré preruší horenie poklesom teploty na povrchu horľavej látky a zabrániť vzniku ďalších horľavých plynných produktov. V dnešnej dobe sa na prerušenie horenia najčastejšie používajú princípy chladiaceho efektu, dusivého a antikatalického efektu [1, 3, 4].



Obrázok č. 1: Princípy hasenia horľavých látok [1]

2.1.1 Voda

Hasiace prístroje vodné využívajú predovšetkým chladivý účinok. Hasiaci účinok vody je najstarším a najefektívnejším prostriedkom proti požiaru. Princíp spočíva v ochladzovaní ohniska požiaru, čím dochádza k odoberaniu tepla. Tento princíp je najefektívnejší, pretože voda má významnú schopnosť odoberať teplo a odvádzať ho do okolitého prostredia odparením. Je však možné ho použiť len na hasenie požiarov tuhých látok, elektrické zariadenia je možné hasiť len po odstavení elektrického prúdu (odporúča sa však použiť iný typ hasiaceho prístroja, napr. CO₂). Nesmie sa používať na hasenie kovov, horľavých plynov a látok ktoré prudko reagujú s vodou [1, 5].

2.1.2 Pena

Penové hasiace prístroje sú kombináciou chladiaceho a dusivého efektu, pretože je to zmes vody a penidla, ktoré sa primiešava do vody počas vyprázdňovania obsahu hasiaceho prístroja. Takýto hasiaci prístroj možno mimo tuhých látok použiť aj na hasenie polárnych a nepolárnych kvapalín (ropné látky a alkoholy), pričom ich nie len ochladzuje ale hlavne vytvára na povrchu vzduchom nepreniknuteľnú penu, ktorá zabraňuje prístupu kyslíka [5].

2.1.3 Oxid uhličitý, CO₂

Hasiace prístroje obsahujúce oxid uhličitý sú tiež známe ako snehové hasiace prístroje. Tento typ hasiacej látky využíva princíp dusivého efektu. Oxid uhličitý je bezfarebný plyn bez zápachu, dobre rozpustný vo vode a je ťažší ako vzduch. Nie je toxický, ale koncentrácia väčšia ako 10 obj.% je nebezpečná a koncentrácia nad 20 obj.% môže spôsobiť smrť udusením. Hasiaca koncentrácia je asi 35%. Jeho použitie je efektívne hlavne v uzavretých priestoroch, kde sa môže naplno využiť jeho dusivý hasiaci účinok. Zvýšenie koncentrácie oxidu uhličitého v priestore horenia, spôsobí vytlačenie kyslíka a značné obmedzenie jeho prísunu, čím sa požiar zlikviduje. Oxid uhličitý sa môže používať na hasenie horľavých plynov, kvapalín, tuhých látok aj elektrických zariadení. Nemôže sa používať na hasenie alkalických kovov [5].

2.1.3 Prášok

Práškové hasiace prístroje využívajú antikatalický efekt (inak aj tzv. stenový efekt), ktorý spočíva v tom, že do plameňa sa vnáša prášok, pričom musí byť zasiahnuté celé pásmo horenia a počet častíc prášku v objemovej jednotke musí prevyšovať tzv. kritické množstvo. Každá častica prášku, ktorá vstupuje do reakcie horenia musí mať aktivačnú energiu. Ak sa častica horľaviny zrazí s časticou prášku, klesne jej aktivačná energia a nevstúpi do reakcie horenia – horenie sa preruší. Teda čím viac častíc prášku, tým viac zrážok, tým rýchlejšie sa horenie preruší. V súčasnosti je to najpoužívanejší a najrozšírenejší typ hasiaceho prostriedku. Prášok nie je toxický. Je možné s ním hasiť elektrické zariadenia, nakoľko použitá látka nie je elektricky vodivá (platí pre elektrické zariadenia s napätím do 1000V), ďalej sa používa na hasenie horľavých plynov a kovov [5].

2.1.4 Halóny

Halónové hasiace prístroje používajú ako hasiacu látku chlórfluorované uhl'ovodíky, ktoré sú najúčinnnejšími, avšak zároveň sú to zlúčeniny ničiace ozónovú vrstvu našej planéty a tak sa od ich používania upustilo respektíve vznikli obmedzenia pre niektoré druhy halónov. Ekologickou náhradou za tieto hasiace látky sú tzv. halónové alternatívy, ktoré sú rovnako účinné ale sú neškodné voči životnému prostrediu a nespôsobujú koróziu. Inhibujú (antikatalický efekt) chemickú reťazovú reakciu medzi časťami horľavého súboru (kyslík a palivo) a fyzikálne ochladzujú požiar. Počas 2.svetovej vojny boli používané na hasenie tankov a lietadiel [5].

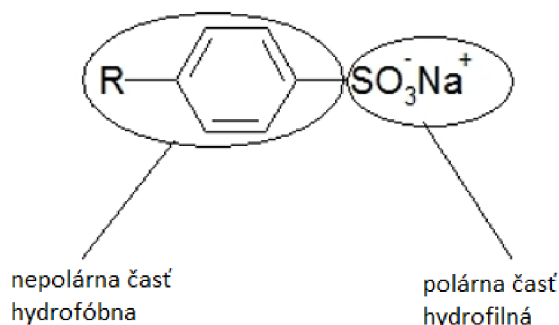
2.2 Tenzidy

Tenzidy sú povrchovo aktívne organické látky (PAL), ktoré sa v malej koncentrácii hromadia na fázovom rozhraní, a tým znižujú medzifázovú energiu. Tenzidy sa používajú hlavne v čistiacich a pracích prostriedkoch, ďalej ako súčasť emulzných, penotvorných (penové hasiace prístroje) a zmäkčovacích prostriedkov. Detergent je zmes tensidov a ďalších látok, ktorá je schopná prevádzať nečistotu z pevného povrchu do kvapaliny. Saponát je starší názov pre syntetické tensidy.

Molekula tensidu sa skladá z hydrofilnej (polárnej) a hydrofóbnej (nepolárnej) časti (viz obrázok č. 2). Tenzid sa nepolárnym koncom naviaže na nepolárnu časticu, v dôsledku toho sú častice nečistôt obklopené tensidom, odstránené z povrchu materiálu a dispergované v kvapaline (zvyčajne vo vodnom roztoku).

Jedna z dôležitých konštánt, ktorá charakterizuje ich fyzikálne chemickú podstatu je micelárna koncentrácia. O micelárnej koncentrácii platí, že pri nízkych koncentráciách netvorí koloidnú sústavu, naopak pri vyšších koncentráciách sa molekuly začnú zhlukovať a vytvárajú micely koloidných rozmerov. Ďalšou vlastnosťou tensidov je hydrofilne-lipofilná rovnováha, ktorá udáva pomer medzi hydrofilnou a lipofilnou časťou molekuly tensidu.

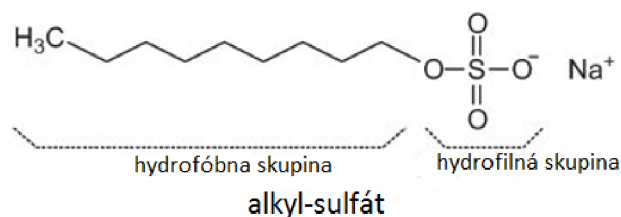
Podľa charakteru polárnej skupiny delíme tensidy do dvoch skupín- ionické a neionické. Ionické tensidy sa ďalej delia na anionické, kationické a amfotérne [6, 7, 8, 9].



Obrázok č. 2: Štruktúra tensidu [6]

2.2.1 Anionické tensidy

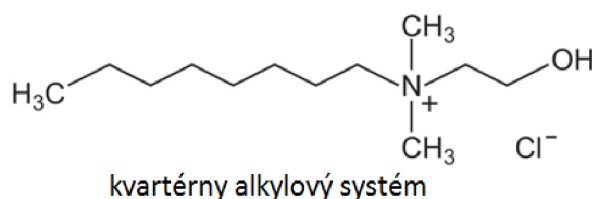
Anionické tensidy sú ionické tensidy, ktoré disociujú na povrchovo aktívny anión. V praxi patria medzi najbežnejšie používané. Uplatňujú sa predovšetkým ako zmáčacie, emulgačné, penetračné, dispergačné a detergenčné prípravky. Zaradujeme sem mydlá, alkylsulfáty, alkanosulfáty, atď [6, 7, 8, 9, 10].



Obrázok č. 3: Anionický tenzid [11]

2.2.2 Kationické tenzidy

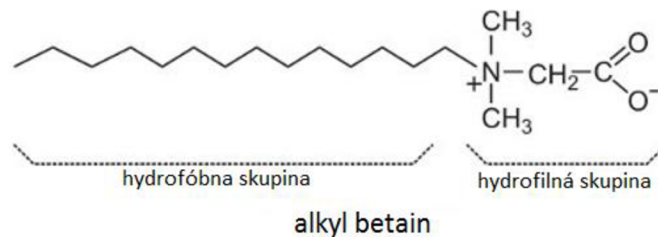
Kationické tenzidy, disociujúce na povrchovo aktívny kation, sú zlúčeniny s jednou alebo viacerými funkčnými skupinami, ktoré vo vodnom roztoku disociujú, pričom vznikajú kladne nabité organické ióny, ktoré sú nositeľmi povrchovej aktivity. Vďaka týmto vlastnostiam sa silne adsorbujú na väčšinu pevných povrchov, ktoré sú zvyčajne záporne nabité. Kationické tenzidy majú predovšetkým dezinfekčné, zmäkčovacie a antistatické účinky. K hlavným nevýhodám patrí ich nízka detergenčná schopnosť a v porovnaní s anionickými a neionickými tenzidmi sú drahšie. Najbežnejšie sú alkylamíny s dĺžkou reťazca C8-18. Vyskytujú sa vo forme primárnych až kvartérnych aminov. Tieto zlúčeniny obsahujú aspoň jeden hydrofóbny uhlíkovodíkový reťazec spojený s pozitívne nabitým atómom dusíku a ďalšie alkylové skupiny – metyl alebo benzyl skupiny ako substituenty. Najčastejšie sú používané v avivážnych prostriedkoch a vlasových kondicionéroch [6, 7, 8, 9].



Obrázok č. 4: Kationický tenzid [11]

2.2.3 Amfotérne tenzidy

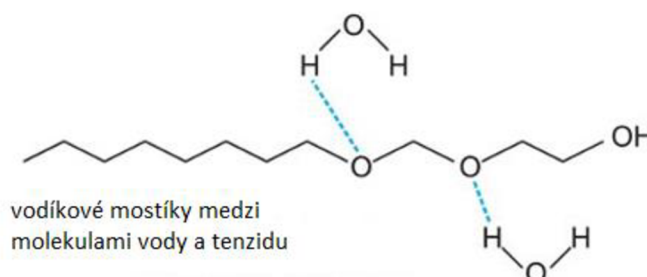
Amfotérne tenzidy sú charakterizované prítomnosťou dvoch hydrofilných skupín, kyslé (karboxylové, sulfoskupiny) a zásadité (aminoskupiny alebo amoniové skupiny), ktoré molekule udeľujú amfotérny charakter, a to v závislosti na pH prostredia. V alkalickom prostredí sa správajú ako anionické a v kyslom prostredí ako kationické tenzidy. K výhodám amfotérnych tenzidov patrí ich kombinovateľnosť so všetkými ostatnými typmi tenzidov a v porovnaní s nimi menej dráždia pokožku a oči. Výhoda tejto kombinácie spočíva v zaistení vynikajúcich čistiacich schopností vďaka prítomnosti anionických tenzidov a menšiu dráždivosť a dobrú penotvornosť, ktorú poskytujú látky amfotérne. K ich nevýhodám patrí predovšetkým nerozpustnosť vo väčšine organických rozpúšťadlách, vrátane ethanolu. Zmesi amfotérnych a anionických tenzidov sú častou súčasťou šampónov, tekutých mydiel a iných tekutých prípravkov. Medzi hlavné typy patrí alkylbetainy, sulfobetainy, acylaminoalkylbetainové deriváty a ďalšie [6, 7, 8, 9].



Obrázok č. 4: Amfotérny tenzid [11]

2.2.4 Neionické tenzidy

Neionické tenzidy sú zlúčeniny, ktoré vo vodnom roztoku nedisociujú na ióny. Ich rozpustnosť je spôsobená silnou hydratačnou schopnosťou polárnych hydrofilných skupín, zastúpených napr. aminoskupinami, hydroxylovými skupinami alebo kyslíkovými mostíkmi. Hydrofóbna časť je tvorená alifatickým uhlíkovým reťazcom alebo reťazcom alkyľfenolovým. Medzi vlastnosti neionických PAL patrí nízka citlivosť na prítomnosť elektrolytov a pH roztoku a opačná teplotná závislosť rozpustnosti v porovnaní s ionickými PAL. S výhodou sú aplikované v zmesiach s anionickými tenzidmi, s ktorými vykazujú synergické efekty v oblasti povrchového napätia roztokov a penotvorných schopností. Medzi významné skupiny neionických tenzidov patrí predovšetkým ethoxylované masťné alkoholy a alkyľpolyglykosidy, ktoré pochádzajú z obnoviteľných rastlinných zdrojov a sú dokonale biologicky rozložiteľné [6, 7, 8, 9].



Obrázok č. 5: Neionický tenzid [11]

2.2.5 Vplyv penových hasiacich prístrojov na životné prostredie

Hasiace prístroje na báze tenzidov (PAL, penotvorných látok) sú nebezpečné predovšetkým pre akvatické systémy. Prítomnosť tenzidov v penových hasiacich prístrojoch znižuje schopnosť vody adsorbovať atmosférický kyslík, čím hrozí postupné udusenie vodných organizmov. Anionické, kationické a neionické povrchové látky sú všeobecne toxické pre vodné organizmy [2, 12].

2.3 Ekotoxikológia a vybrané ekotoxikologické biotesty

Ekotoxikológia je interdisciplinárny vedný obor kombinujúci poznatky vedy študujúcej ekosystémy (ekológia) a vedy študujúcej interakcie chemických látok s živými organizmami (toxikológia). Ekotoxikológia sa zaoberá štúdiom pôsobenia škodlivých látok na ekosystém, študuje toxické vplyvy v prírode, v organizmoch, predovšetkým vplyvy v populáciách a

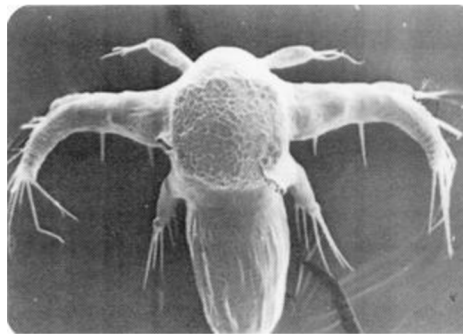
spoločenstvách, monitoruje a predpovedá osud a vplyvy cudzorodých látok v prostredí [12, 13, 14].

Ďalej budú vysvetlené princípy dvoch vybraných ekotoxikologických biotestov použitých na akvatických organizmoch.

2.3.1 Test toxicity Thamnotoxkit F™

Testovací organizmus je *Thamnocephalus platyurus*, sladkovodný kôrovec, ktorý sa bežne používa na rýchlu detekciu kontaminácie vody. K testovaniu sa používajú pokojové štádia, teda vajíčka a cysty.

Doba liahnutia *Thamnocephalus platyurus* je 20 hodín, doba inkubácie testovacích organizmov je 24 hodín potom sa sleduje ich mortalita. Z výsledkov mortality sa vypočíta hodnota 24hLC₅₀ (letálna koncentrácia, pri ktorej dôjde k úhynu 50 % testovacích organizmov). Testovací organizmus vo forme cyst sa 20 až 22 hodín pred začiatkom testu uvedie do aktívneho štádia. Cysty sa kultivujú v inkubátore pri teplote 25 °C a pri osvetlení 3 000 až 4 000 Lux. V rámci testu sa používa 5 rôznych koncentrácií testovanej látky v 3 paralelných opakovaníach pre každú koncentráciu, pričom do každej šachty testovacej doštičky sa nasadí 10 jedincov. Pri vyhodnocovaní výsledkov mortality jedincov v kontrolnej skupine nesmie presiahnuť 10 % [8, 15].



Obrázok č. 7: *Thamnocephalus platyurus* [16]

2.3.2 Test inhibície rastu Žaburinky menšej (*Lemna minor*)

Žaburinku menšiu zaradíme do čelade rastlín *Lemnaceae*. Žaburinka menšia je drobná vodná rastlina s plochými lístkami, ktorých počet v zdravej kolónii je dva až päť lístkov na jedného jedinca. Je možné ju nájsť v stojatých sladkých vodách, kde je potravou pre ryby a vodné vtáctvo [17, 18].

Testy inhibície rastu *Lemna minor* sa používajú k vyhodnoteniu toxicity suspenzií, roztokov, odpadných a povrchových vôd. Lístky žaburinky menšej sú ponechané rásť v rôznych koncentráciách testovanej látky, ktorá je pripravená riedením živného roztoku a danej látky. Zároveň sa lístky nasadia do živného roztoku, ktorý je kontrolou. Rastliny žaburinky menšej sú inkubované po dobu 7 dní (168 hod) pri laboratórnej teplote a pod zdrojom svetla o intenzite 6500 až 10 000 Lux. Po 7 dňoch sa spočíta počet lístkov a určí sa biomasa. Cieľom testu je

zistenie hodnoty 168hIC50. Vyhodnotenie testu sa robí podľa rastovej rýchlosti a podľa množstva biomasy, ktorá sa určí podľa vzťahu pre výpočet 168hIC50 [18, 19].



Obrázok č. 8: *Lemna minor* [17]

Vzťahy na výpočet 168hIC50

Vzťah pre výpočet rastovej rýchlosti:

$$(1) \quad \mu = \frac{\ln N_n - \ln N_o}{t_n}$$

kde μ je rastová rýchlosť;

N_n je počet lístkov na konci testu;

N_o je počet lístkov na začiatku testu (9);

t_n je doba trvania testu v hodinách.

Vzťah pre výpočet inhibície:

$$(2) \quad I_\mu = \frac{\mu_c - \mu_i}{\mu_c} \cdot 100$$

kde I_μ je inhibícia *Lemna minor* pre danú koncentráciu;

μ_c je rastová rýchlosť v kontrole;

μ_i je rastová rýchlosť v danej koncentrácii [20].

Príkladom testovania ekotoxicity na *Lemna minor* je „Sledovanie toxicity sedimentov Dunaja“ od Tóthovej, Makovinskej a Velickej, ktoré v dňoch 18.08. až 5.09.2014 odoberali vzorky vody na 30 miestach a podrobili ich testom. Okrem testov na *Lemna minor* používali aj iný testovací organizmus ako *Vibrio fischeri* a *Daphnia magna*. Vyhodnotili 59 vzoriek a z výsledkov usúdili, že najcitlivejším organizmom bol *Vibrio fischeri*, kde sa toxický účinok inhibície pohyboval v rozmedzí 12 až 77 % a najmenej citlivým bola *Daphnia magna*. Zaujímavosťou je, že najsilnejší toxický účinok sa prejavil vo vzorkách sedimentu z ľavej strany Dunaja, čo

mohlo byť spôsobené tým, že na tejto strane je priemysel aj poľnohospodárstvo intenzívnejšie a teda aj škodlivejšie pre životné prostredie [21].

2.3.3 Test únikového správania na dážďovke hnojnej (*Eisenia fetida*)

Dážďovka hnojná je patrí do kmeňa obrúčkavcov, *Annelida*, triedy máloštetinavcov, *Oligochaeta*, a čeľade dážďovkovité, *Lumbriculidae*. Je to stredne veľký červ žijúci v hnijúcej vegetácii, komposte alebo v hnoji. Žije vo vlhkom prostredí ale nikdy nie priamo vo vode [22].

Dážďovky sú vystavené toxickým účinkom látok dermálnym aj orálnym spôsobom, prostredníctvom priameho kontaktu citlivej pokožky s okolitou pôdou a prijímaním potravy. Vďaka tomuto sa môžu využívať na stanovenie toxicity pôdy. Pripravená artificiálna pôda je z polovice ovlhčená deionizovanou vodou na 50 % vodnej kapacity pôdy a do druhej polovice pôdy sa pridáva testovaná toxická látka tiež v takom množstve, aby vodná kapacita pôdy bola 50 %. Nádoby s pripravenou pôdou a 10 organizmami na jednu nádobu sa uchovávajú v klimatizovanej miestnosti prikryté potravinárskou fóliou, za stáleho svetelného režimu a teploty 24 °C. Po 48 hodinách bola vyhodnotená miera únikovosti na základe vzťahu (3):

$$(3) \quad A = \frac{N_0 - N_x}{N_0} \cdot 100$$

kde A je únikovosť (%), N_0 je predpokladaný počet jedincov v kontrole a N_x je počet jedincov nájdených v kontaminovanej matrici. Pre výpočet bolo predpokladané, že distribúcia jedincov je homogénna, teda 50% podiel jedincov v kontrole a 50% podiel v kontaminovanej matrici [23].

2.3.4 Screeningový test klíčivosti šalátu siateho (*Lactuca sativa*)

Šalát siaty patrí do rozsiahlej skupiny kvitnúcich rastlín z čeľade astrovité, *Asteraceae*, a rodu *Lactuceae* [24].

Test na šaláte siatom patrí medzi pôdne kontaktné testy, ktoré sú používané na hodnotenie fyto toxického účinku na rast koreňa. Princípom testu je porovnanie dĺžky koreňov šalátu v kontrole s koreňmi vyklíčenými v pôde s testovanou toxickou látkou. Pripravená artificiálna pôda sa zvlhčuje na 70 % vodnej kapacity pôdy, do každej nádoby sa nasadí 15 vopred vyklíčených semienok a prikryje sa potravinárskou fóliou. Takto pripravené nádoby sa inkubujú 120 ± 2 hod v termostate pri teplote 24 °C. Z výsledkov testu sa vyhodnocuje inhibícia, respektíve stimulácia rastu koreňa podľa vzťahu (4):

$$(4) \quad I = \frac{L_c - L_v}{L_c} \cdot 100$$

kde I je inhibícia (stimulácia) rastu koreňa (%), L_c je priemerná dĺžka koreňa v kontrole (mm), L_v je priemerná dĺžka koreňa v testovanej matrici. Ak je $I < 0$, ide o stimuláciu rastu koreňa [25].

3. EXPERIMENTÁLNA ČASŤ

3.1 Charakteristika vybraných hasiacich prostriedkov

Úlohou mojej bakalárskej práce bolo prostredníctvom dostupných ekotoxikologických testov posúdiť ekotoxicitu vybraných penových hasiacich prostriedkov na akvatický ekosystém.

Boli vybrané dva hasiace prostriedky od firmy Pyrocom a.s, a to TS TURBO a ekologická verzia TS ECO.

3.1.1 Pyrocom TS TURBO

Tuhé zmáčadlo s výrazne penivými účinkami s aditívami typu AFFF / AR určené na požiare s potrebou vysokej intenzity zásahu, k haseniu požiarov triedy A, teda požiare pevných látok zvyčajne organického pôvodu (drevo, seno, papier, uhlie). Zmáčadlo sa používa ako prísada do vody samovoľným spôsobom primiešavania z kartuše vlozenej do tubusu prúdnice či primiešavača. Vďaka veľkej výdatnosti a výraznému zníženiu spotreby vody nachádza využitie predovšetkým pri požiarioch trávnatých a lesných porastov, kde je zásobovanie vodou značne problematické, ďalej tiež pri požiarioch senníkov, stohov a podobne, kde zmáčadlo uľahčuje pretekánie hasiva dovnútra horľavého materiálu. Zmáčadlo vyhovuje požiadavkám na ekologicky šetrné výrobky. To znamená, že ich použitie neznamená zvýšenie ekologickej záťaže [26, 27].

Tabuľka 1: Charakteristika penového hasiaceho prostriedku TS TURBO [26]

Pyrocom TS TURBO	
Vlastnosti	Hodnota
hustota	1,15 g/ml
hmotnosť kartuše	600 g
pH	6,0 - 8,0
rozpusťnosť vo vode	100%
zníženie povrchového napätia vody	viac ako 60 %
výdatnosť	1700 až 2500 l
obsah fluorovaných tenzidov	áno
biologická odbúrateľnosť za 28 dní	92 %
teplota skladovania	20°C až +35 °C
životnosť	minimálne 5 rokov

3.1.2 Pyrocom TS ECO

Tuhé zmáčadlo určené na hasenie požiarov triedy A. Slúži ako náplň pre zariadenie programu Aqua Eco. Zmáčadlo bolo vyvinuté na použitie predovšetkým tam, kde je potrebné používať vodu vo veľkých objemoch, ktoré sa používaním zmáčadla zníži. Podobne ako TS TURBO sa využíva na hasenie požiarov trávnatých a lesných porastov [26].

Tabuľka 2: Charakteristika penového hasiaceho prostriedku TS ECO [26]

Pyrocom TS ECO	
Vlastnosti	Hodnota
hustota	1,18 g/ml
hmotnosť kartuše	600 g
pH	6,0 - 8,0
rozpusťnosť vo vode	100%
zníženie povrchového napätia vody	viac ako 60 %
výdatnosť	1700 až 2500 l
obsah fluorovaných tenzidov	nie
biologická odbúrateľnosť za 28 dní	94 %
teplota skladovania	20°C až +35 °C
životnosť	minimálne 5 rokov

3.2 Príprava vzoriek a ekotoxikologické testy

Pre účely tejto bakalárskej práce boli pripravené zásobné roztoky penidla TS TURBO a TS ECO o koncentrácii 100 %. Udávaná výdatnosť hasiacich prostriedkov bola spriemerovaná na 2 100 l a bola spočítaná potrebná navážka. Na výsledný objem 0,5 l bolo navázaných 0,143 g penidla. Na doplnenie objemu do odmernej banky 500 ml bola použitá destilovaná voda.

Na začiatku sa u oboch penidiel pracovalo s koncentračnou radou 25, 50 a 100 %. Roztoky sa pripravovali vždy nariedením pôvodnej koncentrácie. Boli používané odmerné banky 100 ml. Koncentrácia 100 % bola pripravená odobratím 100,0 ml zo zásobného roztoku, koncentrácia 50 % bola pripravená odobratím 50,0 ml zo zásobného roztoku a doplnením po rysku príslušným živným médiom, a koncentrácia 25 % bola pripravená odobratím 50,0 ml z roztoku o 50% koncentrácii a doplnením po rysku príslušným živným médiom.

Vďaka výsledným meraniam bola stanovená finálna koncentračná rada a to na 10, 20, 40, 60 a 80 %. Boli použité odmerné banky 50 ml. Na prípravu 10% roztoku bol pipetovaný objem 5,0 ml zo zásobného roztoku a zvyšný objem bol doplnený po rysku príslušným živným médiom. Na prípravu 20% roztoku bolo pipetovaných 10,0 ml zo zásobného roztoku, na 40% roztok 20,0 ml, na 60% roztok 30,0 ml a na 80% roztok bol pipetovaný objem 40,0 ml a odmerná banka bola doplnená po rysku príslušným médiom.

Ekotoxikologické testy prevedené v akvatickom usporiadaní:

- *Thamnocephalus platyurus* : Test toxicity Thamnotoxkit F™
- *Lemna minor* : Test inhibície rastu Žaburinky malej.

Ekotoxikologické testy prevedené v terestrickom usporiadaní:

- Test únikového správania na dážďovke hnojnej *Eisenia fetida*
- Screeningový test klíčivosti šalátu siateho *Lactuca sativa*.

3.2.1 Akvatické usporiadanie testov ekotoxicity

3.2.1.1 Test toxicity Thamnotoxkit FTM

Test toxicity Thamnotoxkit FTM patrí medzi alternatívne ekotoxikologické testy. Ide o mikrobiotesty, ktoré vyrába a predáva vo forme kitov spoločnosť MicroBioTests Inc. Ide o veľmi citlivý test na sladkovodnom kôrovcovi *Thamnocephalus platyurus*, ktorý žije vo veľmi čistých a špecifických vodách.

Dodávaný kit obsahuje kompletný materiál na prevedenie šiestich testov, to znamená mikroorganizmy vo forme cýst, multišachtové doštičky, sada zásobných roztokov solí, informačný materiál, pipety, parafilm a Petriho misky.

Samotný test trvá 24 hodín, po ktorých je stanovená mortalita v rôznych koncentráciách a následne je vypočítaná hodnota 24hLC50 [28].



Obrázok č. 10: Thamnotoxkit FTM [28]

Príprava riediacej vody

Sada ampuliek so zásobnými roztokmi solí NaHCO₃, CaSO₄, MgSO₄ a KCl bola kvantitatívne prevedená do odmernej banky 1 000 ml a zvyšný objem bol doplnený po rysku MQ vodou.

Príprava nariedenej riediacej vody

Z riediacej vody bol do kadičky odobraný objem 2,5 ml a bolo pridaných 17,5 ml MQ vody. Táto nariedená riediacia voda bola potom pred každým použitím (oživením cýst) 15 minút okysličovaná.

Liahnutie cýst

Z nariedenej riediacej vody bol pipetovaný objem 1,0 ml do ampulky s cystami, ktorá bola následne pretrepávaná po dobu 10 minút. Po pretrepávaní bol obsah ampulky vyliaty na Petriho misku spolu so zvyšnou nariedenou riediacou vodou. Petriho miska bola umiestnená pod zdroj svetla a ponechaná inkubácii po dobu 24 hodín.

Nasadenie testu

Do multišachtovej doštičky boli postupne po 1,0 ml pipetované jednotlivé koncentrácie, vždy od najmenej koncentrovaného roztoku po najkoncentrovanejši. Následne bolo pomocou pipety prenesených 30 oživených jedincov do rozplavovacej šachty , z ktorej boli postupne prenesené po 10 jedincoch do testovacích šacht. Multišachtová doštička bola teda naplnená tak, že v prvom stĺpci bola kontrola a v ďalších stĺpcoch jednotlivé koncentrácie roztokov, pričom prvý riadok boli rozplavovacie šachty a šachty B, C a D boli testovacie. Nakoniec bola multišachtová doštička prelepená parafilmom a vložená do zatemneného inkubátoru nastaveného na 25 °C. Po 24 hodinách bol test vyhodnotený spočítaním mŕtvych jedincov v jednotlivých šachtách a bolo vypočítaná percentuálna mortalita.

3.2.1.2 Test inhibície rastu Žaburinky menšej (*Lemna minor*)

Tento ekotoxikologický test spočíva v nasadení žaburinky menšej do koncentračnej rady a to vždy v rovnakom počte lístkov. V nasledujúcich testovaniach bolo vždy nasadených 9 lístkov na jednu kadičku.

Skúmajú sa nielen akútne účinky testovanej látky na organizmus ale aj účinky na budúce generácie. Ide o 7 dňový test, kedy sú do kadičiek s roztokmi o určitých koncentráciách testovanej látky nasadené testované rastliny a ako kontrola slúži kadička s živným médiom. Na konci testu sa stanovuje hodnota 168hIC50 [20].

V tomto prípade bola podobne ako v predchádzajúcom teste vytvorená koncentračná rada 25, 50 a 100 % z každej testovanej látky. Do prvých dvoch kadičiek bolo naliatych asi 100,0 ml živného média a bolo nasadených 9 lístkov rastliny *Lemna minor*.

Test vychádza z normy ISO 20079:2005 Kvalita vody. Stanovenie toxických účinkov zložiek vody a odpadovej vody na *Lemna minor* (žaburinku). Skúška inhibície rastu [20].

Príprava riediacej vody

Z vopred pripravených zásobných roztokov na prípravu Steinbergerovho média boli pipetované potrebné objemy, a to z roztokov I., II. a III. bolo pipetovaných 20,0 ml a z roztokov IV., V., VI., VII. a VIII. po 1,0 ml. Zvyšný objem bol doplnený MQ vodou po rysku 1000ml odmernej banky.

Tabuľka 3: Zásobné roztoky na prípravu Steinbergerovho média

č.roztoku	makrozložky		č.roztoku	mikrozložky	
	zlúčenina	koncentrácia [g.dm ⁻³]		zlúčenina	koncentrácia [mg.dm ⁻³]
I.	KNO ₃	17,5	IV.	H ₃ BO ₃	120
I.	KH ₂ PO ₄	4,5	V.	ZnSO ₄ .7H ₂ O	180
I.	K ₂ HPO ₄	0,63	VI.	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	44
II.	MgSO ₄ .7H ₂ O	5	VII.	MnCl ₂ .4H ₂ O	180
III.	Ca(NO ₃).4H ₂ O	14,75	VIII.	FeCl ₃ .6H ₂ O	760
			VIII.	EDTA	1500

Nasadenie testu

Do pripravených kadičiek o objeme 150 ml boli naliate roztoky o jednotlivých koncentráciách a to vždy tak, že jednej koncentrácii prislúchali vždy dve kadičky. Do každej kadičky bolo pomocou sklenenej tyčinky prenesených 9 lístkov a po nasadení do všetkých kadičiek boli umiestnené pod zdroj svetla po dobu 7 dní.

3.2.2 Terestrické usporiadanie testov ekotoxicity

Príprava artificálnej pôdy

V tomto prípade bola artificálna pôda vopred pripravená. Najskôr bola dôkladne zhomogenizovaná a potom zvážená. Celková hmotnosť pripravenej artificálnej pôdy bola takmer 8,3 kg. Artificálna pôda je vhodným umelým prostredím na prevedenie testov. Pôda je pripravovaná z rašeliny, kaolínu a piesku v pomere 1:2:7 [29].

Stanovenie vodnej kapacity pôdy (VKP)

Pred tým ako bola artificálna pôda v jednotlivých testoch ovlhčená, bolo nutné stanoviť vodnú kapacitu pôdy. VKP je údaj predstavujúci množstvo kvapaliny, ktoré je pôda schopná udržať.

Pre jej stanovenie je najskôr potrebné vypočítať sušinu pôdy. Tá sa stanovuje vysušením 1 g pôdy v sušiarňi až do ustálenia hmotnosti. Následne sa vypočíta percentuálne zastúpenie sušiny podľa vzťahu (9):

$$(9) \quad VKP = \frac{S - T - D}{D} \cdot 100$$

kde VKP je vodná kapacita pôdy (%), S je hmotnosť Petriho misky s nasýtenou pôdou (g), T je hmotnosť vysušenej misky (g) a D je hmotnosť suchej vzorky (g) [30].

3.2.2.1 Test únikového správania na dážďovke hnojnej (*Eisenia fetida*)

Test únikového správania na dážďovkách hnojných je rýchly screeningový test, ktorý odráža biologickú dostupnosť kontaminantu v pôde. Jeho princípom je vystavenie určitého počtu dospelých jedincov *Eisenia fetida* pôde, ktorá je kontaminovaná testovanou toxickou látkou a pôde kontrolnej, ktorá je nasýtená deionizovanou vodou [23].

Príprava pôdy a nasadenie testu

V pripravenej miske bolo zmiešaných 250 g artificálnej pôdy s takým množstvom deionizovanej vody, aby VKP nepresiahlo 50 %. Pôda bola dôkladne premiešaná a vložená do jednej polovice plastovej nádoby, ktorá bola predelená vystuženou papierovou priehradkou. Do druhej polovice bola vložená rovnako pripravená pôda. Týmto spôsobom bola pripravená kontrola s výslednou hmotnosťou 500 g.

Po vybratí priehradky, bolo do vzniknutej priehlbiny vložených 10 jedincov s hmotnosťou 300 ± 10 mg, nádoba bola prikrytá potravinárskou fóliou. Podobným spôsobom boli pripravené ďalšie nádoby s testovanými látkami TS TURBO a TS ECO, vždy v 3 opakovaníach. Tieto nádoby boli rozdelené tak, že 250 g pôdy bolo nasýtených testovanou látkou a druhá polovica pôdy bola nasýtená vodou. Všetky nádoby boli uchovávané v klimatizovanej miestnosti za

stáleho svetelného režimu po dobu 48 hodín pri teplote 24 °C. Na záver bola vypočítaná miera únikovosti.



Obrázok č. 11: Testované organizmy nasadené do testu únikového správania (vlastný zdroj).



Obrázok č. 12: Pripravené nádoby s testovanými organizmami (vlastný zdroj).

3.2.2.2 Screeningový test klíčivosti šalátu siateho (*Lactuca sativa*)

Veľkou výhodou screeningového testu klíčivosti šalátu siateho je ľahká dostupnosť semien, nenáročný prebeh testu a cenová dostupnosť.

Predklíčenie semien a nasadenie testu

Pred nasadením testu bolo potrebné nechať semienka šalátu vykličiť. Semienka boli predklíčené na filtračnom papieri ovlhčenom destilovanou vodou v Petriho miske a boli

ponechané klíčiť 22 až 24 hodín v tme za laboratórnej teploty. Po vyklíčení boli vybraté také semená, ktorých koreň nepresiahol 2 mm.

Pred samotným nasadením testu boli pripravené plastové nádoby s artificiálnou pôdou nasýtenou na 70 % VKP. Do každej nádoby bolo navážených 400 g artificiálnej pôdy a pravidelne rozložených 15 semienok šalátu do vyhlbených jamiek. Plastové nádoby boli prikryté potravinárskou fóliou a vložené do termostatu vyhriateho na 24 °C. Takýmto spôsobom bola pripravená kontrola, ktorá bola nasýtená destilovanou vodou a nádoby s testovanými látkami, vždy v 3 opakovaníach. Test bol vyhodnotený po 120 ± 2 hodinách [25].



Obrázok č. 13: Nádoby s kontaminovanou pôdou po 120 hodinovej inkubácii (vlastný zdroj).

3.2.3 Stanovenie biodegradácie testovaných hasiacich prostriedkov

Príprava vodných výluhov hasiacich prostriedkov

Do plastovej nádoby bolo navážených 500 g pôdy, ktorá bola nasýtená testovanými látkami na 70 % VKP. Takto boli postupne pripravené štyri nádoby. Z toho dve nádoby, jedna pre TS ECO a druhá TS TURBO, predstavovali akútnu toxicitu, kedy bola pôda vystavená pôsobeniu toxickej látky po dobu 24 hodín. Zvyšné dve nádoby boli ponechané pôsobeniu po dobu jedného mesiaca. Týmto spôsobom bola pripravená pôda na stanovenie biodegradácie testovaných hasiacich prostriedkov.

Po uplynutí potrebného času bolo do vysušenej kovovej vzorkovnice navážené určité množstvo z tejto vopred pripravenej pôdy a vysušené v sušiarňi pri teplote 105 ± 5 °C do konštantnej hmotnosti. Podiel sušiny bol vypočítaný podľa vzťahu (10):

$$(10) \quad DR = 100 \cdot \frac{M_D}{M_W}$$

kde DR je podiel sušiny vo vzorke (%), M_D je hmotnosť vysušenej vzorky (kg) a M_W je navážka vzorky na stanovenie podielu sušiny (kg).

Následne boli pripravené vodné výluhy o objeme 1,0 l pre každú testovanú látku podľa vzťahu (11):

(11)

$$M = 100 \cdot \frac{M_T}{DR}$$

kde M je hmotnosť analytickej vzorky na prípravu vodného výluhu (kg), M_T je teoretická navážka sušiny analytickej vzorky (kg), pre ktorú platí, že pre 1,0 l vody je jej hodnota $M_T = 0,1$ kg.

Vypočítaná hmotnosť analytickej vzorky M bola prevedená do plastových vzorkovníc a bolo k nej pridané množstvo vody vypočítané podľa vzťahu (12):

(12)

$$L_A = M_T \cdot \frac{11 - 100 / DR}{\rho_{H_2O}}$$

kde L_A je množstvo pridanej vody (dm³), M_T je teoretická navážka sušiny analytickej vzorky (kg), DR je podiel sušiny vo vzorke (%) a ρ_{H_2O} je hustota vody (1 kg.dm⁻³).

Plastové vzorkovnice boli dôkladne uzatvorené a vložené do trepačky, kde boli pretrepávané 24 hodín spôsobom „hlava-päta“ rýchlosťou 5 až 10 otáčok za minútu.

Na záver boli výluhy opatrne odpipetované a prefiltrované cez filtračný papier pomocou vodnej vývevy [31].

Zo získaných výluhov boli pripravené koncentračné rady 12,5; 25; 50 a 100 % pre testovanie na organizme *Thamnocephalus platyurus*. Test bol prevedený rovnako ako v kapitole „3.2.1.1 Test toxicity Thamnotoxkit FTM“.

4. VÝSLEDKY

Akvatické usporiadanie testov ekotoxicity

4.1 Test toxicity Thamnotoxkit FTM

Na oboch testovaných látkach bol najskôr prevedený predbežný test, teda test na koncentračnej rade 25, 50 a 100 %. Kvôli vysokej úmrtnosti v koncentráciách predbežného testu bola vytvorená nová koncentračná rada pre základný test 10, 20, 40, 60 a 80 %.

Tabuľka 4: Výsledky predbežných testov na *Thamnocephalus platyurus*.

TS TURBO				
c [mg/l]	0	71,43	142,85	285,7
počet mŕtvych jedincov	0	4	19	20
mortalita [%]	0	20	95	100
TS ECO				
c [mg/l]	0	71,43	142,85	285,7
počet mŕtvych jedincov	0	4	19	20
mortalita [%]	0	20	95	100

Tabuľka 5: Výsledky základných testov na *Thamnocephalus platyurus*.

TS TURBO						
c [mg/l]	0	28,57	57,14	114,28	171,42	228,56
počet mŕtvych jedincov	0	1	2	26	30	30
mortalita [%]	0	3,33	6,67	86,67	100	100
TS ECO						
c [mg/l]	0	28,57	57,14	114,28	171,42	228,56
počet mŕtvych jedincov	0	4	18	28	30	30
mortalita [%]	0	13,13	60	93,3	100	100

Po vytvorení grafu závislosti mortality na koncentrácii, boli vzniknuté body preložené trendovou spojnicou a z rovnice lineárnej regresie bola spočítaná hodnota 24hLC50 pre TS TURBO 0,079 g/l a pre TS ECO 0,054 g/l. Výsledky testu boli prepočítané aj na probity pomocou tabuľky. Hodnota 24hLC50 pre TS TURBO bola pomocou probitov vypočítaná na 0,071 g/l a pre TS ECO 0,049 g/l. Výsledky sú si v oboch prípadoch podobné. Tabuľka pre prepočet probitov sa nachádza v Zozname príloh [32].

4.2 Test inhibície rastu Žaburinky menšej (*Lemna minor*)

Na oboch testovaných látkach bol najskôr prevedený predbežný test, teda test na koncentračnej rade 25, 50 a 100 % a neskôr aj základný test na koncentráciách 10, 20, 40, 60 a 80 %.

Tabuľka 6: Výsledky predbežných testov na *Lemna minor*.

TS TURBO				
c [mg/l]	0	71,425	142,85	285,7
N _N	184	27	10	14
μ [den ⁻¹]	0,01795	0,0065	0,00063	0,00263
Iμ [%]		63,5616	96,5054	85,3455
TS ECO				
c [mg/l]	0	71,425	142,85	285,7
N _N	184	41	16	31
μ [den ⁻¹]	0,01795	0,00903	0,00343	0,00736
Iμ [%]		49,7064	80,9166	58,9796

Tabuľka 7: Výsledky základných testov na *Lemna minor*.

TS TURBO						
c [mg/l]	0	28,57	57,14	114,28	171,42	228,56
N _N	209	41	19	9,5	8	7
μ [den ⁻¹]	0,018721	0,0090259	0,0044477	0,0003218	-0,000701	-0,0014959
Iμ [%]		51,7871	76,242	98,2089	103,745	107,9903
TS ECO						
c [mg/l]	0	28,57	57,14	114,28	171,42	228,56
N _N	209	58	25	17	15	12,5
μ [den ⁻¹]	0,018721	0,0110906	0,0060813	0,0037857	0,0030406	0,0019554
Iμ [%]		40,758237	67,516197	79,778487	83,758098	89,555084

Na základe vypočítanej inhibície rastovej rýchlosti a zlogaritmovanej koncentrácií bol vytvorený graf, vzniknuté body boli preložené trendovou spojnicou a z rovnice lineárnej regresie bola spočítaná hodnota 168hIC₅₀ pre TS TURBO 0,0238 g/l a pre TS ECO 0,0346 g/l.

Terestrické usporiadanie testov ekotoxicity

4.3 Test únikového správania na dážďovke hnojnej (*Eisenia fetida*)

V tomto ekotoxikologickom teste bol prevedený iba základný test. Koncentrácia v únikovom teste bola 285,7 mg/l, teda 100 %.

Tabuľka 8: Výsledky testov na *Eisenia fetida*.

TS TURBO		
c [mg/l]	priemerný počet jedincov v kontaminovanej pôde	A [%]
285,7	6	-20
TS ECO		
c [mg/l]	priemerný počet jedincov v kontaminovanej pôde	A [%]
285,7	5,67	-13,4
Kontrola		
c [mg/l]	priemerný počet jedincov v kontaminovanej pôde	A [%]
285,7	4,67	6,6

Z výsledkov vyplýva, že najväčšia únikovosť bola v kontrole 6,6 %. Tieto výsledky však pravdepodobne nie sú správne, pretože podľa diplomovej práce Barbory Jabandžievej, ktorá tiež pracovala s hasiacimi prípravkami TS TURBO a TS ECO, má najväčšiu mieru únikovosti TS TURBO a to 95 %.

4.4 Screeningový test klíčivosti šalátu siateho (*Lactuca sativa*)

Podobne ako pri teste únikového správania na dážďovke hnojnej, bol aj v tomto prípade prevedený iba základný test na 100% roztoku testovaných látok.

Tabuľka 9: Výsledky screeningového testu na *Lactuca fetida*.

prostriedok	Lc [mm]	Lv [mm]	I [%]
TS TURBO	51,9	42,3	18,5
TS ECO	51,9	45,1	13,1

Z výsledkov vyplýva, že najväčší inhibičný účinok bol dokázaný u zmáčadla TS TURBO, u ktorého bola jeho hodnota stanovená na 18,5 %. TS ECO má o niečo nižší inhibičný účinok, stanovený na 13,1 %.

4.5 Stanovenie biodegradácie testovaných hasiacich prostriedkov

Nasledovné testy slúžili na porovnanie toxicity skúmaných hasiacich prípravkov. Ekotoxicita bola otestovaná na organizme *Thamnocephalus platyrus* z pôdných výluhov po 24 hodinách a jednom mesiaci.

Tabuľka 10: Výsledky testu biodegradácie na *T. platyurus*.

TS ECO po 24 hod					
c [mg/l]	0	35,71	71,43	142,85	285,7
počet mŕtvych jedincov	0	13	19	20	20
mortalita [%]	0	65	95	100	100
TS ECO po 1 mesiaci					
c [mg/l]	0	35,71	71,43	142,85	285,7
počet mŕtvych jedincov	0	11	11	19	20
mortalita [%]	0	55	55	95	100
TS TURBO po 24 hod					
c [mg/l]	0	35,71	71,43	142,85	285,7
počet mŕtvych jedincov	0	10	15	20	20
mortalita [%]	0	50	75	100	100
TS TURBO po 1 mesiaci					
c [mg/l]	0	35,71	71,43	142,85	285,7
počet mŕtvych jedincov	0	16	16	20	20
mortalita [%]	0	80	80	100	100

Z výsledkov je možné určiť za biologicky ľahšie odbúrateľný hasiaci prípravok TS ECO, pretože jeho toxicita sa rádozo znížila. Napríklad 95% mortalita po 24 hodinách pri koncentrácii 71,43 mg/l sa po jednom mesiaci znížila na 55 %. Tieto výsledky potvrdzujú údaje poskytované výrobcom, ktorý udáva, že biologická odbúrateľnosť je lepšia u prípravku TS ECO.

V porovnaní s prípravkom TS TURBO sa ekotoxicita mierne zvýšila. Je to možné pozorovať pri koncentrácii 71,43 mg/l, kedy sa mortalita po 24 hodinách zvýšila z 75 % na 80 %.

5. DISKUSIA

V tejto bakalárskej práci boli z ekotoxikologického hľadiska posudzované dva hasiace prostriedky, zmáčadlá TS TURBO a TS ECO. Testy boli prevedené v akvatickom a terestrickom protredí. Zástupcovia akvatického prostredia boli drobný kôrovec *Thamnocephalus platyurus* a rastlina *Lemna minor*. Zástupcovia terestrického prostredia boli obrúčkavec *Eisenia fetida* a vyššia rastlina *Lactuca sativa*. Výsledky testov sa mierne líšia od požadovaných rozmedzí. Tieto chyby mohli byť napríklad spôsobené nepresným navážením testovaných látok, prípadne použitím kontaminovaného skla.

Tabuľka 11: Súhrnné výsledky testov na všetkých testovaných organizmoch..

	TS ECO	TS TURBO
T.platyurus 24hLC50 [g/l]	0,054	0,079
L.minor 168hIC50 [g/l]	0,035	0,024
E.fetida A [%]	-13,4	-20
L.sativa I [%]	13,1	18,5

Z výsledkov vyplýva, že pre organizmus *T.platyurus* je toxickejší hasiaci prostriedok TS ECO s hodnotou LC50 0,054 g/l. Naopak v prípade testovania na *L.minor* sa ako toxickejší ukázal prostriedok TS TURBO. Podľa testu únikového správania na dážďovke hnojnej sa TS ECO prejavil ako toxickejší, aj keď tieto výsledky nie je možné považovať za validné. Väčší inhibičný účinok na rast koreňov *L.sativa* mal TS TURBO s hodnotou 18,5 %.

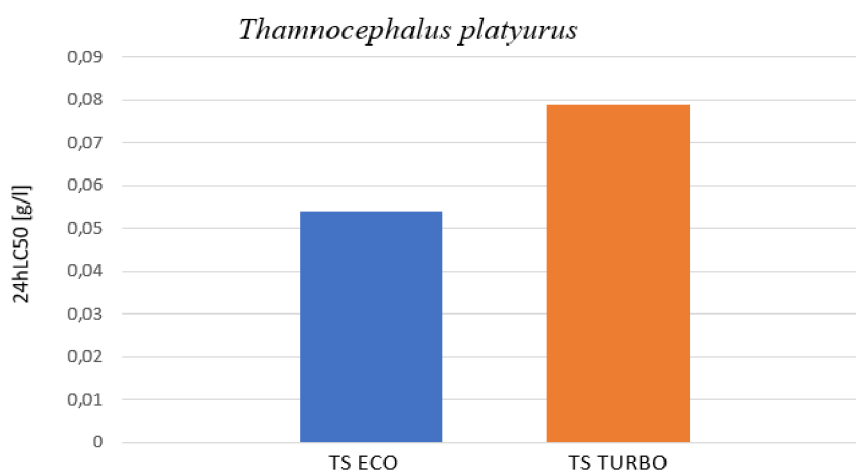
Vyššie uvedené výsledky boli spracované do podoby grafov.

5.1 Diskusia výsledkov testov v akvatickom prostredí

Vybrané penové hasiace prostriedky boli na posúdenie akútnej ekotoxicity testované na organizmoch *Thamnocephalus platyurus* a *Lemna minor*.

V nasledujúcich dvoch grafoch sú zobrazené hodnoty 24hLC50 pre *T.platyurus* a 168hIC50 pre *L.minor*.

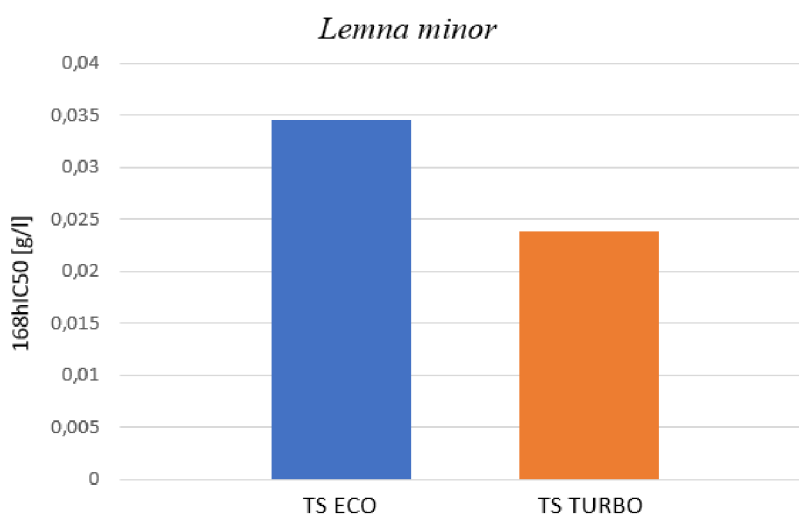
Thamnotoxkit F™



Graf č. 1: Porovnanie hodnôt 24hLC50 jednotlivých hasiacich prostriedkov.

Z grafu vyplýva, že pre organizmus *Thamnocephalus platyurus* je toxickejší penový hasiaci prostriedok TS ECO, pretože koncentrácia potrebná na usmrtenie 50 % jedincov je 0,054 g/l v porovnaní s TS TURBO, ktorého koncentrácia bola 0,079 g/l. To znamená, že na usmrtenie 50 % jedincov je potrebná vyššia koncentrácia, teda v rovnakom množstve ako TS ECO by bol jeho toxický účinok menší.

Test inhibície rastu Žaburinky malej (*Lemna minor*)



Graf č. 2: Porovnanie hodnôt 168hIC50 jednotlivých hasiacich prostriedkov.

Z grafu inhibície rastu žaburinky menšej vyplýva, že väčší ekotoxikologický účinok má hasiaci prostriedok TS TURBO s hodnotou 168hIC50 0,024 g/l. Menej ekotoxikologické účinky vykazuje TS ECO s hodnotou 168hIC50 0,035 g/l.

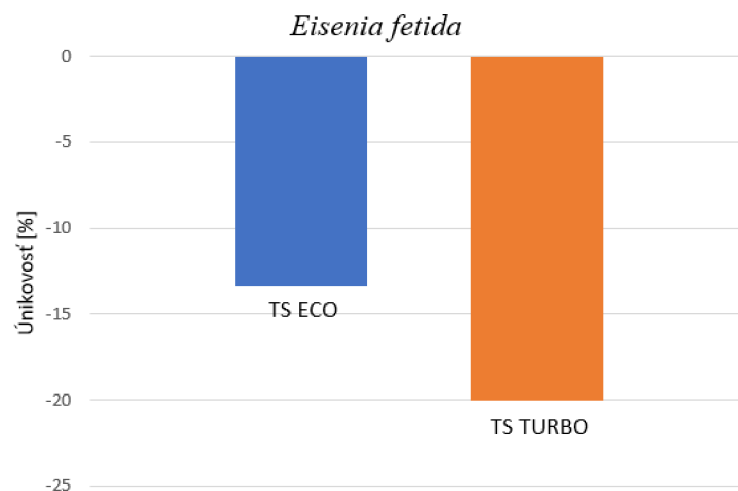
Zo všeobecných výsledkov vyplýva, že vodný organizmus citlivejší na testované zmáčadlá je žaburinka menšia.

5.2 Diskusia výsledkov testov v terestrickom prostredí

Penové hasiace prostriedky boli v rámci kontaktného usporiadania testované na organizmoch *Eisenia fetida* a *Lactuca sativa*.

V nasledujúcich dvoch grafoch je zobrazená únikovosť dážďoviek A v % a inhibícia rastu koreňa šalátu siateho I v %.

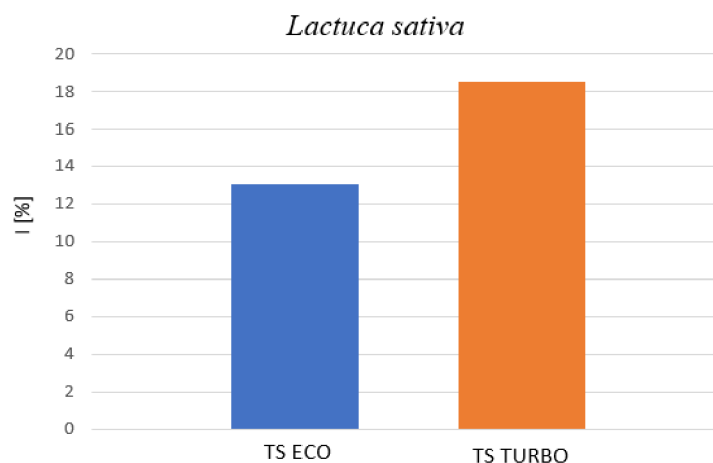
Test únikového správania na dážďovke hnojnej (*Eisenia fetida*)



Graf č. 3: Porovnanie miery únikovosti v jednotlivých hasiacich prostriedkoch.

Výsledky týchto testov nie je možné považovať za validné, pretože sa predpokladá, že únikovosť dážďoviek by mala byť väčšia ako nulová. Dážďovky by sa mali nachádzať predovšetkým v kontrole a nie v matici s kontaminujúcou látkou. Odhliadnuc od tohoto faktu, vyššiu mieru únikovosti vykazuje zmáčadlo TS ECO s hodnotou únikovosti -13,4 %. Hodnota únikovosti pre TS TURBO bola -20 %.

Screeningový test klíčivosti šalátu siateho (*Lactuca sativa*)

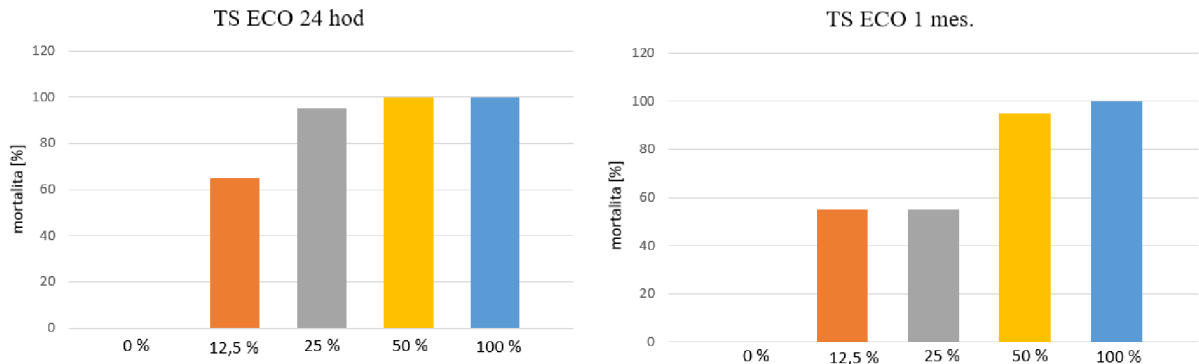


Graf č. 4: Porovnanie inhibície rastu koreňa v jednotlivých hasiacich prostriedkoch.

Z výsledkov screeningového testu klíčivosti šalátu siateho môžeme usúdiť, že inhibícia rastu koreňa sa viac prejavila pri kontaminácii pôdy prostriedkom TS TURBO, s výslednou hodnotou inhibície 18,5 %. Zmáčadlo TS ECO vykazuje 13,1% inhibíciu rastu koreňov.

5.3 Diskusia výsledkov testu biodegradácie

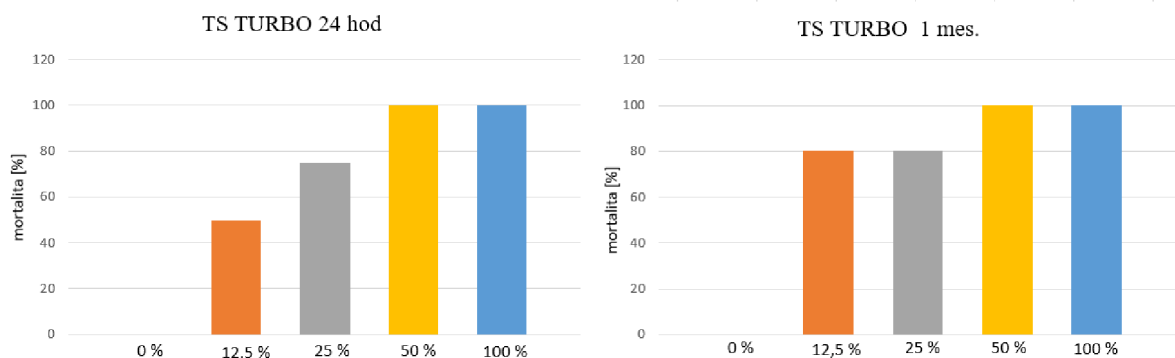
V tejto kapitole bola na základe testovania výluhov po 24 hodinách a po jednom mesiaci, pre každé zmáčadlo, vyhodnotená mortalita organizmov *Thamnocephalus platyurus*. Výsledky preto neboli spracované do podoby hodnôt 24hLC50.



Graf č. 5: Porovnanie mortality TS ECO po 24 hodinách a po 1 mesiaci na TP.

Z grafu vyplýva, že mortalita organizmov sa v priebehu času mierne zmenila vo všetkých koncentráciách okrem 100%. Najbadateľnejší pokles pozorujeme v 25% koncentrácii (71,43 g/l) kedy mortalita klesla z 95 % na 55 % čo predstavuje takmer 42% pokles. V ostatných koncentráciách je priemerný pokles 15 ± 5 %. Tieto výsledky sa však nezhodujú s údajmi od výrobcu, pretože podľa technického listu by sa biologická odbúrateľnosť mala blížiť 94 %. Dôvodom tohto rozdielu môže byť použitie inej pôdy, ako bolo v tomto teste. V rámci tejto bakalárskej práce sa pracovalo s pôdou, ktorá simulovala poľné prostredie dážďoviek, teda obsahovalo veľké množstvo humusu.

V nasledujúcom grafe je zobrazená mortalita organizmov v roztoku zmáčadla TS TURBO po 24 hodinách a po jednom mesiaci.



Graf č. 6: Porovnanie mortality TS TURBO po 24 hodinách a po 1 mesiaci na TP.

V prípade testovaného hasiaceho prostriedku TS TURBO sa podľa výsledkov mortalita mierne zvýšila. Najväčšia zmena mortality bola pozorovaná v 12,5 % roztoku (35,713 g/l), kedy sa mortalita zvýšila o 60 %. V 25% roztoku sa mortalita zvýšila takmer o 6% a vo zvyšných koncentráciách zmena nebola pozorovaná. Podobne ako u prostriedku TS ECO, sa ani tieto výsledky nezhodujú s údajmi od výrobcu, ktorý tvrdí, že biologická odbúrateľnosť by mala byť 92 %.

6. ZÁVER

Cieľom tejto bakalárskej práce bolo načrtnúť teoretickú problematiku ekotoxikologických biotestov so zameraním na zástupcov vodných a terestrických organizmov. Pomocou týchto ekotoxikologických biotestov sa skúma negatívny vplyv chemických látok, v tomto prípade pevných zmáčadiel TS ECO a TS TURBO, penových hasiacich prostriedkov (na báze tenzidov), na vodný a pôdny ekosystém, ktorý môže byť zasiahnutý pri hasení požiarov v prírode. Takéto látky sú pre organizmy toxické a ich ďalšie testovanie bude prínosné nie len pre organizmy žijúce v kontaminovanej oblasti, ale v konečnom dôsledku aj pre ľudí.

Za zástupcov vodného ekosystému boli vybratí kôrovec *Thamnocephalus platyurus* a rastlina žaburinka menšia *Lemna minor*. Zástupcami pôdneho ekosystému boli obrúčkavec dáždovka hnojná *Eisenia fetida* a vyššia rastlina šalát siaty *Lactuca sativa*.

Testy boli prevedené podľa príslušných noriem a v prípade žaburinky menšej a *T.platyurus* boli vykonané referenčné aj základné testy. U ostatných organizmov boli z časových dôvodov vykonané iba základné testy. Z výsledkov testov vyplýva, že za najcitlivejší organizmus bola určená *L.minor*, ktorej hodnota IC50 bola najnižšia a to u zmáčadla TS TURBO, 0,024 g/l. *T.platyurus* bol naopak citlivejší na prostriedok TS ECO, kde jeho hodnota LC50 dosiahla 0,054 g/l. Keďže však výsledky testov neboli v prijateľnom rozmedzí, nie je ich možné považovať za validné. Napriek tomu, však bolo dokázané, že tieto látky sú, či už pre vodné alebo pôdne organizmy, toxické.

Nevýhodou skúmaných hasiacich prostriedkov TS ECO a TS TURBO je to, že výrobca neudáva presné zloženie zmáčadla a teda nie je možné stanoviť, ktorá zložka je pre organizmy toxická. Z testov je možné usúdiť, že najcitlivejšími organizmami sú tie vodné.

Do budúca by sa malo myslieť na to, že je potrebné tieto, pre nás neznáme, toxické zložky nahrádzať čo najmenej toxickými, aby sa predchádzalo zbytočným kontamináciám podzemných a povrchových vôd.

7. ZOZNAM POUŽITÝCH ZDROJOV

1. BALOG, Karol. *Hasiace látky a jejich technologie*. Ostrava: Sdružení požárního a bezpečnostního inženýrství, 2004. ISBN 80-86634-49-3.
2. MIZERSKI, Andrzej, Mirosław SOBOLEWSKI a Bernard KRÓL. *Hasicí pěny*. V Ostravě: Sdružení požárního a bezpečnostního inženýrství, 2009. Spektrum (Sdružení požárního a bezpečnostního inženýrství). ISBN 978-80-7385-075-3.
3. *Požiar* [online]. [cit. 2016-05-11]. Dostupné z: <http://www.firecontrol.sk/poziar>
4. Zákon č. 314/2001 Z. z. o ochrane pred požiarmi a vyhláška č. 121/2002.
5. *Hasiace prístroje* [online]. [cit. 2016-05-11]. Dostupné z: <https://poziar.wordpress.com/about/hasiace-pristroje/>
6. BLAŽEJ, A., a kol. *Tenzidy*. 1. vydání. Bratislava: Alfa, 1977. 481 s. ISBN 63-173-77.
7. PITTER, Pavel. *Hydrochemie*. 4., aktualiz. vyd. Praha: Vydavatelství VŠCHT Praha, 2009. ISBN 978-80-7080-701-9.
8. *Experimentální modely ekotoxicity pro bezobratlé živočichy* [online]. [cit. 2016-05-11]. Dostupné z: <http://is.muni.cz/el/1431/jaro2010/Bi5620/um/Ekotoxbiotesty-Bezobratli.pdf>
9. ŠMÍDRKAL, J. *Tenzidy a detergenty dnes*. Chemické listy [online]. 1999, č. 93 [cit. 2016-05-11]. Dostupné z: http://w.chemicke-listy.cz/docs/full/1999_07_421-427.pdf
10. LANGMAIER, Ferdinand, Milan MLÁDEK a Michael RADIL. *Pomocné přípravky kožedělného průmyslu: vysokoškolská příručka*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1985.
11. *Surfactants* [online]. [cit. 2016-05-11]. Dostupné z: <http://www.essentialchemicalindustry.org/materials-and-applications/surfactants.html>
12. PAVLÍKOVÁ, Daniela. *Ekotoxikologie*. 2., dopl. a přeprac. vyd. V Praze: Česká zemědělská univerzita, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, 2008. ISBN 978-80-213-1843-4.
13. HORÁK, Josef, Igor LINHART a Petr KLUSOŇ. *Úvod do toxikologie a ekologie pro chemiky*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2004. ISBN 80-7080-548-X.
14. *Ekotoxikologie* [online]. [cit. 2016-05-11]. Dostupné z: http://soudni.lf1.cuni.cz/file/5684/04_NT_Ekotoxikologie.pdf
15. *Standard operational procedure: Thamnotoxkit FTM: Crustacean toxicity sreening test for freshwater*. Belgium: Microbiotests Inc., 1995. 28 p.
16. *Thamnocephalus platyurus* [online]. [cit. 2012-05-1]. Dostupné z: http://www.ebpi.ca/index.php?option=com_content&view=article&id=54&Itemid=68
17. *LEMNA MINOR – okřehek menší/žaburinka menšia* [online]. [cit. 2016-12-08]. Dostupné z: <http://botany.cz/cs/lemna-minor/>
18. SVOBODOVÁ Z.: *Ekotoxikologie, praktická část cvičení I.*, Brno 2000, 70 stran, ISBN 80-85114-95-X

19. ŘÍHOVÁ AMBROŽOVÁ, J.: *Aplikovaná a technická hydrobiologie*. Skriptum VŠCHT Praha, 2003. 226s.
20. ČSN EN ISO 20079 (757745). *Jakost vod – Stanovení toxických účinků složek vody a odpadní vody na okřehek (Lemna minor)- Zkouška inhibice růstu okřehek*. Český normalizační institut, 2007.
21. *TOXICITA SEDIMENTOV DUNAJA* [online]. [cit. 2017-02-18]. Dostupné z: http://www.vuvh.sk/download/kniznica/zborniky/zb_sedimenty/17_Tohtova_Makovinska_Velicka.pdf
22. FRANC, Valerián.: *Systém a fylogeneza živočichov – bezchordáty* [online]. [cit. 2017-05-15]. Dostupné z: <http://web.archive.org/web/20070410070650/http://www.fpv.umb.sk/kat/kb/text/knihy/Skripta/Scr.pdf>
23. 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)*.
24. *Lactuca sativa* [online]. [cit. 2017-05-15]. Dostupné z: <http://eol.org/pages/468144/overview>
25. ISO 17126:2005. *Soil quality – Determination of the effects of pollutants on soil flora – Screening test for emergence of lettuce seedlings (Lactuca sativa)*.
26. *AQUA ECO produktový list* [online]. [cit. 2017-04-02]. Dostupné z: <https://www.probo-nb.cz/Services/Media.ashx?mid=1008&key=ZGpmIyQwNUZfMTAwOA==>
27. *TECHNICKÝ LIST TUHÉ SMÁČEDLO TURBO* [online]. [cit. 2017-04-02]. Dostupné z: <https://www.probo-nb.cz/Services/Media.ashx?mid=1009&key=ZGpmIyQwNUZfMTAwOQ==>
28. *THAMNOTOXKIT F MICROBIOTESTS* [online]. [cit. 2017-04-02]. Dostupné z: <http://www.microbiotests.be/toxkits/thamnotoxkitf.pdf>
29. *Laboratorní praktikum z půdní ekotoxikologie* [online]. [cit. 2017-05-15]. Dostupné z: https://is.muni.cz/el/1431/podzim2013/Bi7533c/um/Navody_2013.pdf
30. ISO 11269-2:2012. *Soil quality – Determination of the effects of pollutants on soil flora – Part 2: Effect of contaminated soil on the emergence and early growth of the higher plants*.
31. Metodické pokyny: *Metodický pokyn k hodnocení vyluhovatelnosti odpadů*. In: Ministerstvo životního prostředí. Praha: ALQ Plus, s.r.o, 2002, s 12-27. ISBN 0862-9013
32. *Probit analysis* [online]. [cit. 2017-05-15]. Dostupné z: <http://userwww.sfsu.edu/efc/classes/biol710/probit/ProbitAnalysis.pdf>

8. ZOZNAM PRÍLOH

Príloha 1: Tabuľka percentuálnych hodnôt odpovedí organizmov prevedených na probity [32].

Table 3.2 Transformation of percentages to probits

%	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	—	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
10	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33
—	0.0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
99	7.33	7.37	7.41	7.46	7.51	7.58	7.65	7.75	7.88	8.09